

VERIFICAÇÃO DA AÇÃO BACTERICIDA DO "PROMIN", "SULPHETRONE" e SULFANILAMIDA SÔBRE O "*MYCO- BACTERIUM LEPPRAEMURIUM*" (APLICAÇÃO DO TESTE DE REDUÇÃO DO AZUL DE METILENO) (*)

N. PLANET (**)
B. S. OLIVEIRA JR. (**)

C. M. CARVALHO (***)
A. C. MAURI (***)

Em trabalho anterior ¹ verificamos as condições de técnica para o estudo do comportamento do *M. lepraemurium* nos testes de redução do azul de metileno e do tetrazólio, com a finalidade de medir a atividade redutora desse bacilo.

O emprêgo dessas técnicas tão simples ampliam as possibilidades de estudo de numerosos problemas relacionados com a biologia do bacilo de Stefansky e mesmo do bacilo de *Hansen*.

A ação bactericida de agentes quimioterápicos ou de natureza diversa pode ser evidenciada por diferentes meios; no entanto, no caso particular do agente, etiológico da lepra, os métodos mais conhecidos não podem ser aplicados em virtude da impossibilidade de cultivar esses bacilos.

Tendo-se em vista que o *M. lepraemurium* é capaz de reduzir o azul de metileno, pensamos na possível verificação de uma ação direta de drogas sôbre esse bacilo, evidenciável através do teste.

Para esse fim realizamos uma série de experiências utilizando material e técnicas como descritas em trabalho anterior ¹. Nesta comunicação relataremos somente os resultados obtidos com o emprêgo do teste do azul de metileno.

As suspensões bacilares foram preparadas a partir de lesões viscerais de ratos inoculados por via peritonial há 6 meses. A técnica de preparação destas suspensões está descrita em trabalho anterior ¹.

Para êstes ensaios as drogas escolhidas foram o *Promin*, o *Sulphetrone* e a sulfanilamida.

(*) Trabalho realizado em parte no Serviço de Pesquisas Científicas do Departamento de Profilaxia da Lepra e, em parte, no Instituto Biológico de São Paulo.

(**) Instituto Biológico de São Paulo.

(***) Serviço de Pesquisas Científicas do D.P.L. do Estado de São Paulo e Fundação Paulista Contra a Lepra.

As suspensões bacilares foram deixadas em contato com as drogas durante 15 horas em tubos de Thunberg, em geladeira; procuramos com isso evitar o desenvolvimento de eventuais germes de contaminação. Após esse período juntou-se o sistema ácido succínico-azul de metileno e determinou-se o tempo de redução do corante em relação a uma suspensão bacilar mantida em idênticas condições, porém livre do contato das várias drogas. Em outros tubos, foram feitos os contrôles das várias drogas, utilizando-se uma suspensão de bacilos mortos pelo calor. Também foi testado o líquido de suspensão dos bacilos onde pesquisamos a existência de substâncias capazes de reduzir o corante.

Uma experiência típica está esquematizada no quadro da página seguinte.

Pela análise do quadro, verifica-se que no tubo 4, no qual é testada a atividade redutora da suspensão bacilar, houve descoramento total do azul de metileno em cerca de 4 horas. O contacto das drogas com essa mesma suspensão bacilar (tubos 1, 2 e 3) durante 15 horas não modificou a atividade redutora dos bacilos, no que diz respeito ao tempo de descoramento do azul de metileno.

A suspensão de bacilos mortos pelo calor (tubo 8) e o líquido sobrenadante da suspensão bacilar original (tubo 9) não possuem capacidade redutora do azul de metileno, aliás, como era de se esperar.

Nossos resultados indicam claramente que nestas condições experimentais os derivados sulfônicos di-substituídos (*Promin* e *Sulphetrone*) e a sulfanilamida não possuem qualquer atividade bactericida ou "desinfetante" sobre o *M. lepraemurium*.

No entanto, a possibilidade de uma ação bactericida não pode, de forma alguma, ser excluída, pois as condições em que se poderia demonstrar ação deste tipo seriam inteiramente diversas.

Deve ser notado, todavia, que Zetterberg ² afirma que a sulfanilamida e o *Promin* possuem atividade bactericida sobre bacilos tuberculosos, quando em elevadas concentrações e tempos de contato relativamente longos (8 a 10 dias), o que sem dúvida torna esses resultados de valor relativo. Além disso os métodos empregados são inteiramente diversos (cultura).

CONCLUSÕES

1. A capacidade do *Mycobacterium lepraemurium* de reduzir o azul de metileno não é modificada pela ação do *Promin*, *Sulphetrone* e sulfanilamida, em solução contendo 40 miligramas por 100 ml., durante 15 horas.

2. Essas drogas não possuem ação bactericida ou "desinfetante" sobre o *M. lepraemurium*, estando portanto praticamente excluída, dentro das limitações das nossas experiências, qualquer ação direta destas substâncias.

Tubos		Droga *	Soro fisiológico		Sol. ácido succínico	Sol. azul metileno	Hora	Descoramento total
	Suspensão bacilar			Refrigerador a 1°C durante 15 horas				
1	0.5 ml	0.3 ml Promin	0.1 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.40	13.45	
2	0.5 ml	0.3 ml Sulphetrone	0.1 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.37	13.45	
3	0.5 ml	0.3 ml Sulfanilamida	0.1 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.35	13.45	
4	0.5 ml	—	0.4 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.32	13.45	
	Suspensão de bacilos mortos pelo calor **			Refrigerador a 1°C durante 15 horas				
5	0.5 ml	0.3 ml Promin	0.1 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.30	—	
6	0.5 ml	0.3 ml Sulphetrone	0.1 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.23	—	
7	0.5 ml	0.3 ml Sulfanilamida	0.1 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.20	—	
8	0.5 ml	—	0.4 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.16	—	
9	Sobrenadante *** 0.5 ml	—	0.4 ml	0.5 ml	0.1 ml	9.12	—	

* As concentrações finais das drogas foram de 40 miligramas por 100 ml.

** Ebulição durante 15 minutos.

*** Obtido após centrifugação da suspensão bacilar durante 45 minutos a 4.500 r.p.m.

SUMMARY

The AA. have made bactericidal studies of drug solutions (*Promin*, *Sulphetrone* and sulfanilamide) at 40 miligrams per 100 ml. upon *M. lepraemurium* suspensions and using the method described in previous report, they tested the capacity of these bacillary suspensions in reduce the methylene blue.

By these method they failed to show any bactericidal activity of these drugs on the *M. lepraemurium*.

REFERÊNCIAS

- 1 — Planet, N., Oliveira Jr., B. S., Carvalho, C. M., Sr Mauri, A. C. — O comportamento do *Mycobacterium lepraemurium* nos testes de redução do azul de metileno e do tetrazólio. Rev. Brasil. Leprol., **20**:209, 1952.
- 2 — Zetterberg, Bo. — Effects on tubercle bacilli of bacteriostatics, respiration inhibitors and bactericides. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, Supplementum **82**. Ejnar Munksgaard, Copenhagen, 1949, pg. 105.