SOBRE A FIXAÇÃO DA SUBSTANCIA COAGULANTE DO VENENO DE BOTHROPS JARARACA PELO SORO ANTIOPHIDICO

POR

D. VON KLOBUSITZKY & P. KÖNIG

O effeito coagulante da secreção natural das glandulas venenosas, não só de *B. jararaca*, como de muitas outras serpentes venenosas, foi encarado na literatura (1), não sómente sob os aspectos physiologico e physico-chimico, mas tambem explicado de modo differente por diversos auctores como um problema immunologico.

A questão de ser a acção coagulante do veneno bothropico causada por uma substancia especifica ou pelo elemento neurotoxico, pode ser considerada resolvida, porquanto julgamos ter conseguido demonstrar que os dois componentes são differentes (2, 3). Tambem pode-se considerar resolvida a questão, mencionada em trabalhos até agora publicados, de poderem os antisoros, produzidos por immunização com venenos ophidicos, neutralizar a propriedade coagulante dos venenos respectivos (4, 5, 6, 7, 8, 9). Porém, os trabalhos publicados não esclarecem si esta propriedade neutralizante dos antisoros é especificada ou não. Arthus. Brazil e Pestana como tambem Houssay e seus collaboradores consideram esta fixação bem especifica, mas Link registou uma neutralização, em parte, não especifica. Os dados deste auctor a respeito da influencia do antisoro crotalico norte-americano (Antivenin Inst. of America) sobre a acção anticoagulante do veneno da cobra indiana (Naja naja) devem-se registar com reserva, dado que tal antiveneno é preparado por immunização com 9 venenos differentes (7 especies nearcticas de Crotalus e 2 de Agkistrodon) (*). Alguns destes venenos são coagulantes ou anticoagulantes, de tal modo que da acção dum soro assim polyvalente não se pode tirar nenhuma conclusão segura.

^(*) Conforme communicação particular do dr. Thomas S. Githens.

Memorias do Instituto Butantan - Tomo X

Durante nossas experiencias agora publicadas, appareceu um novo trabalho de Cesari e Boquet (11) mostrando que, apesar de o antiveneno contra a vibora europea (Vipera aspis) não neutralizar o principio toxico do veneno da vibora africana (Cerastes cornutus), elle, ainda que em proporção menor do que o soro especifico, fixa os elementos coagulantes e hemolyticos do veneno da Cerastes. A especificidade rigorosa dos soros immunizantes em relação ao poder coagulante apparece limitada mesmo nos venenos naturaes.

Tendo conseguido, ha pouco tempo, como foi acima mencionado, separar do veneno natural da Bothrops jararaca uma substancia coagulante livre dos outros elementos da secreção, resolvemos estudal-a do ponto de vista immunologico. Conforme communicamos antes (12, 13), comportam-se os antivenenos da surucucú (Lachesis muta) e o da cascavel sulamericana (Crotalus terrificus terrificus) em relação á bothropotoxina, parte purificada neurotoxica do veneno da Bothrops jararaca, de modo completamente não específico, fixando-se sobre esta in vitro e in vivo, por via intravenosa, da mesma maneira que o antisoro específico bothropico, monovalente. Ao contrario, como assignalou Brazil, o veneno bothropico natural fixa o antiveneno crotalico somente em parte pequena (14). Interessava-nos, em primeiro lugar, saber si a fixação pela substancia coagulante purificada é específica ou não, á maneira do que se passa com a bothropotoxina.

I. METHODO

A substancia coagulante foi preparada, conforme o nosso methodo (2), da secreção das glandulas venenosas em forma de solutos muito diluidos, completamente livres de albuminas e elementos de biureto. O nosso melhor preparado foi 12 × menos toxico (calculado em residuo secco) do que o soluto de partida e o seu poder coagulante, verificado no sangue oxalatado de cavallo, era maior do que o da substancia de partida em concentração optima.

Para estas nossas experiencias, escolhemos 2 solutos chamados T-IB e V-I A N F (*) com quantidades pequenas de albumina, de proposito (**).

O soluto T-IB tinha a composição e propriedades physiologicas seguintes: residuo secco: 0,0242%, com albumina: 0,0150%. Dóse minima letal (D.M.L.) nos pombos, via intra venosa, igual a 2,5 cc., quer dizer expresso em residuo secco: 0,61 mg.; propriedade coagulante: 1 cc. coagulava completamente, em 3 minutos, 5 cc. de sangue de cavallo com teor de 0,3% de (COONa)₂. As pro-

^(*) O soluto T-IB foi todo gasto durante as nossas experiencias, de modo que precisámos trabalhar com outro.

^(**) A propriedade congulante do soluto, quando completamente livre de albumina e de electrolytos, desapparece rapidamente.

priedades do soluto V-IANF eram os seguintes: 3 cc., não continham nenhum residuo secco ponderavel (q. d. menos de 0,1 mg); prova de Spiegler: negativa; 3 cc. deste soluto 2 × concentrado não causaram nenhum phenomeno de envenenamento (nos pombos); 1 cc. de soluto não concentrado coagulava, em 4 minutos, 5 cc. do sangue oxalatado de cavallo. Para fins de esterilidade ajuntámos a estes solutos 0,2% de phenol (*) e, para tornal-os isotonicos, addicionámos 0,9% de NaCl.

Sobre o effeito da substancia coagulante ou de seus solutos, in vitro e in vivo (nos pombos), já tratámos numa outra publicação (2, 16). Aqui queremos sómente mencionar que o soluto T-IB, por via intravenosa, em quantidades de 1.10-8 g., calculadas em residuo secco, da substancia coagulante reduziu, em 20', de 4' para 30" a coagulação do sangue de pombos de 300-350 gs. sem provocar outros effeitos secundarios nocivos ou pathologicos.

Em algumas experiencias usámos solutos de veneno não modificados para comparar os dados de Brazil e Pestana com os nossos resultados. Estes solutos foram preparados duma partida de veneno secco, cuja D. M. L. era de 0,27 mg. e fora retirada de uma mistura de venenos colhidos no Instituto durante os ultimos 25 annos.

Para as experiencias de fixação usamos antivenenos monovalentes bothropico, crotalico e lachetico, como também bivalentes elapidicos, preparados, respectivamente, pela immunização com os venenos das correspondentes especies ophidicas (Bothrops jararaca, Crotalus terrificus terrificus, Micrurus frontalis e M. corallinus).

Além disso, fizemos algumas experiencias para verificar a influencia exercida pelo soro normal de cavallo, suas fracções albuminosas, e antitoxinas gangrenosa polyvalente, tetanica e diphterica.

Sendo differentes a technica e a ordem das experiencias, conforme a questão a resolver, achamos mais pratico explical-as antes de cada quadro em vez de as descrever sob a forma de um resumo. Queremos sómente mencionar que o sangue normal de cavallo foi fornecido sempre pelo mesmo animal, especialmente reservado para esta finalidade e que se deve affirmar haver coagulação completa quando o sangue forma uma massa adherida ás paredes do tudo de ensaio.

Observe-se que os quadros contêm os dados de experiencias feitas num mesmo dia, porque só assim se podiam evitar os erros dependentes das differenças de temperatura.

Nas provas de controlo, o soro foi substituido por igual quantidade de soluto physiologico.

^(*) Foi preciso desistir da filtração por filtros bacterianos, porque elles absorvem a substancia congulante.

II. PARTE EXPERIMENTAL

1) Fixação pelo antiveneno concentrado bothropico.

Foram usados: sangue normal de cavallo contendo 0,3% de (COONa)₂, soluto T-IB, antiveneno bothropico, de que 1 cc. neutralizava 2,4 mg. de veneno.

Ordem das experiencias: collocaram-se num tubo de ensaio 5 cc. de sangue, depois 0,5 cc. de soro diluido com soluto physiologico e, no fim, 0,5 cc. de soluto coagulante. O tempo da coagulação foi determinado com um relogio de parada.

QUADRO I

Diluição do soro	Tempo de coagulação	Diluições do soro	Tempo de coagulação
1:2	não coagula	1:20	29' 20"
1:5	> >	1:30	20' 25"
not busing	começa a coagular	1:40	15'
William Property	depois de 6 ½ horas;	1:80	9' 30"
1:10	em 3 dias ainda nenhuma	1:160	6' 30"
	coagulação completa	1:320	5' 30"

Testemunha: coagula em 4' e 20"

As experiencias anteriores foram feitas tambem da maneira seguinte: preparamos misturas de solutos T-IB e do antiveneno e guardamol-as 1/2 hora na estufa de 37º C, conforme as regras de doseamento dos antivenenos. Os dados obtidos demonstram-nos a propriedade maxima da neutralização dos antivenenos.

QUADRO II

As quantidades usadas e a ordem das provas como para o Quadro I.

	Tempo de coagulação				
Diluições do soro	A mistura foi addicionada ao san- gue depois de permanecer ½ hora na estufa	A mistura foi logo addicio- nada ao sangue.			
1:50	20*	10'			
1:100	15'	8'			
Testemunha	5' 30"	5' 30"			

2) Fixação pelo antiveneno lachetico concentrado.

Foram usados: além do sangue de cavallo, o soluto V-IANF e antiveneno lachetico concentrado, de actividade neutralizante = 0,8 mg. de veneno por 1 cc..

Ordem das provas como na anterior. As misturas da substancia coagulante e do antiveneno foram usados depois de permanecer 1/2 hora na estufa.

QUADRO III

Diluições do soro	Tempo de coagulação	Diluições do soro	Tempo de coagulação
1:10	não coagula	1:40	30'
1:20	depois de 3 horas começa a	1:80	17'
	coagular; depois das 2 ho-	1:160	6' 30"
	ras seguintes ainda nenhuma	1:320	5' 30"
	coagulação completa.	a mintana da	

Testemunha: coagula em 5 minutos.

3) Fixação pelo antiveneno elapidico concentrado.

Foram usados sangue de cavallo e o soluto V-I ANF como antes e antiveneno elapidico bivalente concentrado, neutralizando ao todo 0,4 mg. de veneno (0,15 mg. do veneno de M. corrallinus e 0,25 mg. do de M. frontalis).

Ordem das provas: como a mencionada para o Quadro III.

QUADRO IV

Diluições do soro	Tempo de coagulação
Sem diluição	Começa a coagular depois de 4 h. 20°. Durante 24 h. nenhuma coagulação completa
1:10	-17"
1:20	8' 40"
1:40	5'

Testemunha: coagula em 5'.

O antiveneno aqui usado foi tirado de burro (No. 350) e de cavallo (No. 219). O cavallo fôra antes immunizado contra o veneno da *B. jararaca*. Este caso será ainda mencionado no decurso da discussão das nossas experiencias.

4) Fixação pelo plasma anticrotalico.

Foram usados sangue de cavallo como anteriormente, o soluto V-IANF e o plasma anticrotalico oxalatado, neutralizando 0,3 mg. de veneno por 1cc..

Ordem das experiencias: como a anterior.

QUADRO V

Diluição do soro	Tempo de coagulação
Sem diluição	8' 30"
1:10	5'
1:20	5'

Testemunha: coagula em 8' 35"

Fizemos as experiencias com plasma e não com soros concentrados, por terem os ultimos sido preparados do sangue de varios animaes. Por motivo de ordem technica, é frequentemente necessario immunizar contra o veneno crotalico cavallos que primeiro foram immunizados contra o veneno bothropico. Assim, não pudemos trabalhar com antiveneno concentrado crotalico, retirado de animaes nunca immunizados contra outro veneno. A influencia desta circumstancia sobre os resultados pode-se verificar dos dados seguintes: 0,5 cc. do antiveneno conc. (1) + 0,5 cc. do soluto T-IB + 5 cc. sangue oxalatado — coagula em 11' e 30".

- 0,5 cc. do antiveneno diluido 1:1 + 0,5 cc. de soluto T-IB + 5 cc. de sangue oxalatado coagula em 5' e 40".
- 0,5 cc. do plasma anticrotalico + 0,5 cc. do soluto T-IB + 5 cc. de sangue oxalatado coagula em 5' e 30".

Testemunha: coagula em 5' e 30".

E' provavel, pois, que certas fixações não especificas citadas por alguns auctores, tenham dependido de immunizações assim mixtas.

⁽¹⁾ Poder antitoxico = 0,9 por 1 cc.

Influencia do sôro normal e das suas fracções albuminosas e tambem de varios antivenenos não especificos.

Os resultados obtidos com plasma anticrotalico demonstram que estes, em certas diluições, podem accelerar a coagulação (vide Quadro V). Agindo o veneno crotalico sulamericano como coagulante, poder-se-ia esperar antes uma fixação da substancia coagulante pelo plasma immune e, como resultado, um phenomeno anticoagulante. Pensamos então na possibilidade de uma especie de actividade causada por albuminas e a acceleração observada não dependerem das propriedades do plasma applicado. Por isso, procuramos tambem conhecer as propriedades do soro normal, do plasma, de algumas fracções albuminosas e dos antivenenos não específicos. Os resultados encontram-se no Quadro seguinte:

Foram empregados sangue oxalatado de cavallo, como antes, solutos T-IB e V-I ANF, soro normal desfibrinado de cavallo, plasma de cavallo, com 0,3% de (COONa)₂, solutos electrodialysados de soroalbumina e de pseudoglobulina a cerca de 3%, antitoxinas concentradas tetanica, gangrenosa polyvalente e diphterica.

Ordem das provas: como anteriormente, as misturas de soro + substancia coagulante foram usadas sem se deixarem a amadurecer na estufa.

QUADRO VI

Soro usado ou corpos albuminosos	Diluição do soro	Solução coagulante usada	Tempo de coagulação
Soro normal	sem diluição	V-I ANF	6' 20"
> >	1:10	> >	5' 40"
> >	1:20	> >	5' 10"
Plasma normal	sem diluição	> >.	6' 40"
> >	1:10	> >	6' 20"
> >	1:20	> >	6'
Soralbumina	sem diluição	T-IB	4' 30"
,	1:5	>	4' 20"
Pseudoglobulina	sem diluição	>	5' 30"
3	1:5	>	5' 30"
Antitoxina tetanica	sem diluição	>	3' 40"
> >	1:10 *	>	4"
Antitoxina gangrenosa	sem diluição	>	5'
> >	1:50	>	5' 10"
Antitoxina diphterica	sem diluição	>	4' 20"
> >	1:10	>	4' 10"

Testemunhas: com o soluto V-I ANF coagula em 5' 50".
" " T-IB " " 5' 15".

6) Acção do veneno natural sobre o plasma antibothropico.

Foram empregados plasma bothropico monovalente com 0,3% de (COONa)₂, neutralizando, por 1 cc., 0,8 mg. de veneno da *B. jararaca* e um soluto de veneno da *B. jararaca* a 6,75% (em NaCl physiologico), preparada da secreção natural secca da serpente mencionada.

Ordem das experiencias: Foi addicionado 1 cc. de varias diluições do soluto de veneno a 5 cc. do plasma e determinado o tempo de coagulação.

Diluição da solução venenosa	Tempo da coagulação.	
sem diluição	não coagula	
1:5	1'	
1:25	1'	
1:50	3'	
1:75	não coagula	
1:100	3 3	

QUADRO VII

7) Influencia do veneno natural sobre o plasma anticrotalico.

Foram empregados plasmas anticrotalico com 0,3% de (COONa)₂; 1 cc. destes neutralizava 0,3 mg. de veneno de *Crotalus terrificus terrificus*; e um soluto do veneno de jararaca a 1.35% em varias diluições.

Ordem das experiencias como anteriormente.

QUADRO VIII

Diluição da solução de veneno	Tempo da coagulação	Diluição da solução de veneno	Tempo da coagulação
1:50	1' 40"	1:500	4' 40"
1:100	2' 5"	1:2000	9' 20"
1:200	2' 30"	1:1000	15' 30"
		1:5000	43'

III. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Para dar valor ás nossas experiencias, achamos necessario fazer uma analyse separada de cada typo de provas.

A respeito de fixação da substancia coagulante pelo antiveneno monovalente específico para Bothrops jararaca, os nossos resultados concordam com os dados dos outros auctores. Seria necessario fazer restricções aos resultados de Brazil e Pestana, quando dizem que um contacto prolongado do veneno com o antiveneno na estufa é indispensavel para a fixação; taes restricções são necessarias, porquanto a neutralização tambem apparece, quando o veneno é misturado com o sangue antes da addição do soro. O antiveneno comporta-se então da mesma maneira em relação á substancia coagulante e á bothropotoxina.

Em sentido quantitativo, os nossos resultados são applicaveis de tal maneira, que podemos conhecer a quantidade maxima da substancia coagulante contida no soluto empregado. Admittindo-se que o soluto T-IB se compõe sómente de corpos albuminosos, principio coagulante e neurotoxico (isto não está bem provado, porquanto não conseguimos ainda insular o principio coagulante em estado puro), resulta que tal soluto conterá no maximo, por 1 cc.: 0,056 mg. da substancia coagulante; residuo secco: 0,0242 mg.; albuminas: 0,0150 mg.; substancias neurotoxicas: 0,036 mg. (16). Os resultados do Quadro I demonstram que a propriedade fixadora de 1:320 cc. do antiveneno foi quasi completamente neutralizada por 1 cc. do soluto T-IB. Por outro lado pode-se verificar á base dos nossos calculos anteriores (12), que são necessarios 1/22 do antiveneno de titulo de 2,4 mg. por 1 cc. para a neutralização de 0,036 mg. da substancia neurotoxica. Em consequencia, o antiveneno especifico é pelo menos 15 vezes mais activo em relação á substancia coagulante do que á neurotoxica.

O antiveneno lachetico comportou-se como o antiveneno bothropico (contra B. jararaca), conforme era de esperar, fixando tambem a bothropotoxina da mesma maneira, de accordo com nossos resultados anteriores.

Não tendo o soluto V-I ANF nenhum residuo secco ponderavel, era impossivel verificar exactamente si era ou não igual a propriedade fixadora de antiveneno lachetico e do bothropico. Tomando, porém, em consideração: 1.º que o antiveneno para B. jararaca neutralizava 3 × mais de veneno natural do que o antiveneno para Lachesis muta; 2.º) que o soluto T-IB era mais activo do que o soluto V-I ANF; 3.º) finalmente, que a propriedade fixadora do antiveneno para B. jararaca em diluição 1:320 pelo soluto T-IB não foi completamente exgottada ao contrario do antiveneno para Lachesis muta, que não mos-

trava nenhum poder fixador nestes solutos, pode-se deduzir que a substancia coagulante purificada é fixada por ambos os antivenenos na mesma medida.

Além destes objectivos nas experiencias, queriamos saber si o poder fixador do antiveneno de *Lachesis* se accentua do mesmo modo relativamente á substancia coagulante purificada e á acção coagulante do veneno natural. Para isso, tratamos de verificar a acção coagulante do veneno de surucucú (*L. muta*) e a fixação da propriedade coagulante do veneno natural de jararaca (*B. jararaca*) pelos respectivos antivenenos lachetico e bothropico.

Os resultados foram os seguintes:

Foram empregados: sangue de cavallo com 0.3% de (COONa)₂ e um soluto a 0,1% da secreção venenosa secca natural da *Lachesis muta*.

Ordem das experiencias: foi addicionado 1 cc. do soluto venenoso diluido com sol. physiologica de NaCl aos 5 cc. do sangue e foi determinado o tempo da coagulação completa (em temperatura de laboratorio).

QUADRO IX

Diluição da solução venenosa	sem diluição	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Tempo de coagulação	2' 5"	2" 50"	3*	3' 10"	4' 20"	10°	24' 30"	52"

Comparando estes tempos de coagulação com os de veneno de *B. jararaca* publicados num trabalho anterior (15), verificámos que a propriedade coagulante de ambos os venenos naturaes é a mesma.

A proposito destes resultados, devemos accentuar que, em relação ao poder coagulante deste veneno, os trabalhos de Calmette, de um lado, e de Brazil e Pestana, d'outro lado, são discordantes entre si. Calmette caracteriza o veneno de B. jararaca como coagulante, emquanto os 2 outros auctores mencionados, pelo contrario, o classificam como anticoagulante. O motivo desta differença deve residir no facto de terem aquelles auctores empregado quantidades diversas de veneno, porque o veneno de surucucú (L. muta) é anticoagulante quando occorre no sangue numa certa concentração (± 0,3%).

Foram empregados: sangue oxalatado de cavallo, soluto a 1,35% de veneno natural da *Bothrops jararaca* e antiveneno lachetico concentrado, neutralizando por 1 cc 0,8 de veneno natural correspondente.

Ordem das experiencias: Foram addicionados aos 5 cc. de sangue oxalatado misturas de 0,5 cc. de antiveneno e de 0,5 cc. das diluições, em sol. physiologica de NaCl, do soluto do veneno. As misturas foram logo empregadas.

QUADRO X

Diluição da solução de veneno	Tempo da coagulação	Testemunha:	
sem diluição	1' 20"	1' 20"	
1:10	5.	1' 50"	
1:20	15'	2'	
1:50	não coagula	4' 45"	

Foram empregados: sangue de cavallo e soluto de veneno, antiveneno para jararaca, neutralizando, depois de uma diluição correspondente, para 1 cc., 0,8 mg. do veneno específico.

Ordem das experiencias: como anteriormente, mas em vez do antiveneno para Lachesis, o de jararaca foi empregado e de mistura com o soluto de veneno.

QUADRO XI

Diluição da solução de veneno	Tempo da coagulação	Testemunha:
sem diluição	1' 30"	1' 30"
1:10	não coagula	1' 30"
1:20	, ,	2' 5"

Os resultados deste quadro demonstram bem claro que o poder fixador de ambos os antivenenos em relação á acção coagulante do veneno da *B. jararaca* é bem differente, apesar de ser a acção coagulante de ambos os venenos a mesma.

Acontece aqui o mesmo que na fixação do veneno natural e da bothropotoxina. A mesma capacidade de fixação só occorre em relação á substancia coagulante purificada e á bothropotoxina.

Os resultados obtidos com o nosso antiveneno elapidico mostraram que este soro, ao invés de ter effeito sobre a bothropotoxina, podia parcialmente neutralizar a substancia coagulante purificada. Tendo sido usado tambem sangue dum animal que fora immunizado 2 vezes antes contra o veneno da jararaca, para preparação do respectivo antiveneno, conforme foi mencionado na pag. 250, deduzimos que esta propriedade fixadora, assim verificada, é de certa importancia e consequente a esta immunização anterior.

Tomando em consideração que não tinhamos outro antiveneno elapidico e não acnando nenhum dado na literatura compulsada sobre a propriedade coagulante do veneno de *M. corallinus* (o veneno de *M. frontalis* é anticoagulante segundo Brazil e Pestana), o nosso primeiro passo consistiu em verificar a acção coagulante deste veneno ophidico. Pelas experiencias se verificou existir: 1.º) acção anticoagulante no veneno de *M. frontalis*; 2.º) uma acção coagulante minima no veneno de *M. corallinus*.

Acção coagulante do veneno de Micrurus corallinus

Ordem das experiencias: Aos 5 cc. de sangue de cavallo com 0,3% de (COONa)₂ addicionou-se 1 cc. de soluto a 0,1% da secreção natural, secca, das glandulas venenosas em varias diluições:

QUADRO XII

Diluição da solução de veneno	sem diluição	1:1	1:2	1:4
Tempo da coagulação	30'	60'	4 horas	liquido em 12 horas

A acção coagulante deste veneno é então igual á de ± 1:40 do veneno de B. jararaca e de L. muta. Tomando ainda em consideração que o antiveneno tem uma pequena propriedade fixadora (0,15 mg. por 1 cc.) em relação ao veneno elapidico, é impossível que a fixação notada na substancia coagulante seja causada pela immunização com tal veneno. A nossa opinião é que esta fixação foi causada pela immunização anterior com o veneno de B. jararaca.

Queriamos chamar a attenção dos especialistas sobre este facto, para que verifiquem em experiencias semelhantes a importancia dos antecedentes dos animaes immunizados com venenos differentes.

O antiveneno crotalico, não fixando nada da substancia coagulante, comportou-se da mesma maneira em relação ao poder coagulante do veneno natural de jararaca, conforme resalta das experiencias de Brazil e Pestana. Este resultado é tanto mais interessante quanto aquelle antiveneno, como demonstramos antes (12), neutraliza a bothropoxina in vitro e, por via endovenosa, in vivo, da mesma maneira que o faz o antiveneno específico para jararaca.

As observações de Brainard (1854) sobre o poder coagulante do veneno crotalico sul-americano foram muitas vezes verificadas (1). Só Link não lhe attribuiu nenhuma acção coagulante. Todavia para comparar o effeito coagulante deste veneno com o de jararaca preparámos de veneno secco solutos a 1% e fizemos a prova no sangue oxalatado de cavallo, pelo modo já mencionado. Como exemplo damos aqui uma serie de experiencias:

Ordem das experiencias: como no Quadro XII, com a unica differença de ter sido empregado a secreção natural, secca das glandulas venenosas. *Crotalus t. terrificus* em solução a 1%.

QUADRO XIII

Diluição da solução de veneno	sem diluição	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
Tempo da coagulação	1'30'	1'30"	1'45"	2'30"	5'	10'50"	30.

Então a acção coagulante do veneno de *C. terrificus* é menor do que a de *B. jararaca* ou de *L. muta*, mas é bastante forte para impor ao seu antiveneno o poder fixador. Não occorrendo nenhuma fixação, temos que acceitar que os componentes neurotoxicos do veneno de *C. terrificus* e de *B. jararaca* são bem proximos ou mesmo semelhantes; as suas substancias coagulantes são, porém, completamente differentes.

Para provar nossa opinião por um outro modo, preparámos misturas de veneno de B. jararaca com plasma immune de B. jararaca e do mesmo veneno com plasma immune de C. terrificus. Os resultados obtidos (vide Quadros VII e VIII) provam, mais uma vez, que as substancias coagulantes dos venenos mencionados devem ser differentes. Quanto á acção coagulante do veneno de

B. jararaca, já em diluição a 1:20 destruida pelo plasma immune contra B. jararaca, coagulava o mesmo veneno misturado com plasma immune contra C. terrificus ainda em diluição a 1:5000. Nesta grande differença não tem nenhuma importancia o facto de ser o plasma anti-jararaca 3 vezes mais activo contra o veneno de B. jararaca do que é o plasma anti-cascavel contra o veneno de C. terrificus. A' base destas experiencias, somos levados a crer que as substancias coagulantes destes dois venenos naturaes sejam differentes do ponto de vista immunologico e provavelmente também do chimico.

Aos dados do Quadro VI queremos accrescentar que o soro normal de cavallo, como tambem as antitoxinas concentradas tetanica e diphterica, e a soroalbumina, á semelhança do que se passa com o antiveneno crotalico, parece que augmentam o poder da substancia coagulante purificada. Não tendo estes dados nada em commum com a immunização e parecendo-nos muito importantes, faremos neste ramo outras experiencias, cujos resultados publicaremos mais tarde.

RESUMO

- Os solutos de substancia coagulante, preparados de secreção das glandulas venenosas de Bothrops jararaca, são neutralizadas igualmente pelo antiveneno contra B. jararaca e pelo antiveneno contra Lachesis muta.
- 2) O antiveneno bivalente elapidico (contra Micrurus corallinus e Micrurus frontalis) e o crotalico sul-americano (contra Crotalus terrificus terrificus) não demonstram neuhum poder fixador em relação áquella substancia coagulante. A fixação parcial pelo antiveneno elapidico dependia apparentemente da immunização anterior contra o veneno de jararaca.
- O veneno natural de Micrurus corallinus mostra poder coagulante sobre o sangue oxalatado.
- 4) A relação quantitativa entre a substancia coagulante e o poder neutralizante do antiveneno de jararaca foi objecto de estudo.
- 5) Os dados de Link, que considera o veneno crotalico sul-americano como não coagulante, parece não terem fundamento.
- 6) Baseando-se nas experiencias anteriores e nas aqui publicadas, foi acceita a relação seguinte da identidade immunologica e provavelmente chimica das substancias coagulantes nos varios venenos, bem como das neurotoxicas:

SUBSTANCIAS NEUROTOXICAS		COMPONENTES COAGULANTES			
identicas com a bothropotoxina	2 (1) não identicas com a bothropotoxina	identicos com a nossa substancia coagulante	não identicos com a nossa substancia coagulante		
Bothrops jararaca Lachesis muta Crotalus t. terrificus	Micrurus fontalis » corallinus	B. jararaca L. muta	C. t. terrificus M. corallinus		

⁽¹⁾ Deixamos por enquanto de lado a questão da identidade ou não entre os elementos das columnas 2 e 4.

ABSTRACT

Solutions of the coagulating substance prepared with the Bothrops jararaca venom are equally neutralized by the B. jararaca antivenin and the Lachesis muta antivenin. Neither the bivalent elapidic antivenin (against Micrurus corallinus and M. frontalis) nor the crotalic antivenin (againt Crotalus terrificus) shows any fixation power as regards the coagulating substance. The Micrurus corallinus poison exerts a coagulating action upon the oxalated blood. Link's data considering C. terrificus poison as non-coagulating seem to be groundless. The quantitative relationship between the coagulating substance and the neutralizing power of the jararaca antivenin was investigated. The relationship between the action of the coagulating substance and that of the neurotoxic principle of various poisons was tentatively established in the light of the present experiments and those already published.

BIBLIOGRAPHIA

- Phisalix, M. Animaux venimeux et venins, T. 2, p. 659 et seq. Paris, Masson & Cia., 1922.
- von Klobusitzky, D. Mem. Inst. Butantan X:201.1936 et Arch. exp. Pathol. Pharmakol. CLXXX:479.1936.
- von Klobusitsky, D. & König, P. Mem. Inst. Butantan X:223.1936 et Arch. exp. Pathol. Pharmakol. CLXXXI:387.1936.
- 4. Stephens, J. W. W. & Myers, W. Journ. Pathol. Bacteriol. V:279.1898.

- 5. Brazil, V. & Rangel Pestana, Br. Rev. Med. de S. Paulo XII:439.1909.
- 6. Arthus, M. Arch. Intern. Physiol. IX:265.1912.
- 7. Houssay, B. A. & Sordelli, A. Rev. Inst. Bact. Buenos Aires II:38.1919.
- 8. Sordelli, A. & Negrete, J. Rev. Inst. Bact. Buenos Aires II.52.1919.
- 9. Césari, E. & Boquet P. Ann. Inst. Pasteur de Paris LV:307.1935.
- 10. Link, Th. Zeitschr. f. Immunitätsf. LXXXV:504.1935.
- 11. Césari, E. & Boquet, P. Ann. Inst. Pasteur de Paris LVI.171.1936.
- von Klobusitzky, D. & König, P. Mem. Inst. Butantan X:205.1936 et Ztch. f. Immunitätsf. LXXXVII:202.1936.
- 13. von Klobusitzky, D. & König, P. Mem. Inst. Butantan X:217.1936 et Ztch. f. Immunitätsf. LXXXVII:330.1936.
- 14. Brazil, V. Rev. Med. de S. Paulo X:457.1907.
- ton Klobusitzky, D. Mem. Inst. Butantan IX:259.1935 et Arch. Exp. Pathol. Pharm. CLXXIX:204.1935.
- von Klobusitzky, D. & König, P. Mem. Inst. Butantan X:237.1936 et Arch. Pathol. und Pharmakol CLXXXII:577.1936.
- 17. Calmette, A. Les venins, p. 200, Paris, Masson & Cia. 1907.

(Trabalho da secção de Physico-Chimica do Instituto Butantan, publicado em alemão in Zeitschrift f.Immunitätsforschung. LXXXIX: 145. 1936. Dado à publicidade em maio de 1937).