

NOVOS ESTUDOS IMMUNOLOGICOS SOBRE A SUBSTANCIA COAGULANTE DO VENENO DE *BOTHROPS JARARACA*

POR

D. VON KLOBUSITZKY & P. KÖNIG

Em publicações anteriores escrevemos sobre a fixação da substancia coagulante, obtida da secreção natural da glandula venenifera da *Bothrops jararaca*, como tambem sobre a Bothropotoxina por meio de diferentes antivenenos (1,2,3,4). Dos nossos resultados conclue-se que os referidos componentes do veneno assim purificados se fixam por outras regras e proporções, como era de esperar á base da fixação do veneno natural. Conforme communicamos em continuação a estas pesquisas, resolvemos realizar imunizações com estas substancias e examinar a capacidade de fixação do sôro dos animaes empregados.

O objecto das pesquisas que relataremos agora é a determinação das qualidades dos sôros, que são obtidos por meio de imunização com uma fracção coagulante do veneno natural da serpente mencionada.

O soluto usado, contendo 0,85% NaCl, tinha as seguintes características, ao ser iniciada a imunização: dose minima letal (D.M.L.) — 1,6 cc. (D.M.L. é a dose minima sufficiente para matar, por via intravenosa, um pombo adulto, em 20 minutos); 1 cc. do soluto coagulou 5 cc. de sangue de cavallo, contendo 0,3% (COONa)₂, em 2'20. "A quantidade correspondente á D.M.L. provocou a coagulação da mesma quantidade de sangue oxalatado em 1'50": o soluto foi empolado, conservado constantemente no frigo a 4°C e as empolas necessarias á imunização foram retiradas da geladeira 1-2 horas antes da inoculação. Apesar deste modo de conservação, o soluto mostrou actividade bem differente após 8 semanas, isto é, ao fim da imunização: sua D.M.L. subiu a 3,5 cc.; o tempo de coagulação por 1cc. foi de 7' e pela D.M.L., de 1'20". O nitrogenio do soluto era de 2,4 mg % (micro-Kjeldahl).

Afim de poder comparar o poder coagulante dos varios solutos de veneno, isto é, das substancias coagulantes purificadas, escolhemos uma dose que denominamos de unidade, assim definida: unidade coagulante é a quantidade minima

que em 1 cc. é sufficiente para coagular completamente 5 cc. de sangue oxalatado de cavallo na temperatura ambiente (20-22°C), em 5 minutos (*). No inicio da immunização, o soluto continha 3,5 e, no fim, 1,6 unidades coagulantes por 1 cc., razão pela qual tomámos como base, em nossas posteriores experiencias os valores medios. Desta maneira resultou que todos os animaes receberam, em 77,4 cc. de soluto inoculado, 162 unidades coagulantes e 30 D.M.L. Applicando veneno natural na immunização, a proporção entre a D.M.L. e a unidade coagulante seria de 1:1,5, ao passo que o mesmo em nosso caso foi de 1:5,4.

Para a immunização, escolhemos uma cabra (C 1) e um bode (C 2) nos quaes inoculámos o soluto por via subcutanea. Como este, ao nosso ver, é o primeiro caso, em que se usou veneno de cobra fraccionado e livre de corpos albuminosos typicos, achamos necessario relatar minuciosamente o curso da immunização.

Data	Quantidade inoculada	Cabra 1 ♀		Cabra 2 ♂	
		temperatura media diaria	peso	temperatura media diaria	peso
13.8	0,2	38,1°C	18 kilos	38,5°C	27 kilos
16.8	0,4	38,1		38,5	
19.8	0,6	38,0		38,1	
22.8	0,9	37,8		38,4	
23.8			19		28
25.8	1,2	38,3		38,5	
28.8	1,5	37,5		37,6	
30.8			17		25
31.8	1,8	38,2		37,9	
3.9	2,2	38,4		38,5	
7.9	2,7	38,0		38,2	
10.9	3,2	37,8		37,9	
13.9	3,7	38,1	22,5	38,2	25
15.9	4,5	38,3		38,4	
18.9	5,0	38,0		38,1	
21.9	5,5	38,1		38,2	
24.9	6,0	38,4		38,4	
27.9			18		28
28.9	7,0	38,2		37,8	
30.9	7,0	38,2		38,0	
3.10	8,0	38,2		38,0	
4.10			20		30
4.10		Exame de sangue			
5.10	8,0	38,1		38,4	
8.10	8,0	38,1		38,3	
9.10		Exame de sangue			

(*) Consideramos coagulação completa o ponto attingido pelo sangue ao formar no tubo u'a massa dura.

METHODO

As misturas obtidas com os solutos de veneno natural e com os fraccionados mais sôro foram postas na estufa durante $\frac{1}{2}$ hora, antes da applicação. A fixação da substancia neurotoxica foi determinada por meio de injeccão das misturas na veia asillar de pombos de 300-350 gms. de peso, escolhendo as quantidades de tal modo, que correspondiam pelo menos a uma D.M.L.. Afim de determinar a capacidade de fixação de referencia á qualidade coagulante, foram postos 5 cc. de sangue oxalatado de cavallo nas misturas usadas para injeccão e medido com um relógio de parada o tempo de coagulação completa. O sangue oxalatado provinha do mesmo cavallo em descanso. A respeito das oscillações diarias do tempo de coagulação, daremos nos varios quadros somente os resultados de pesquisas realizadas no mesmo dia e com a mesma amostra de sangue.

Parte experimental

Em primeiro lugar, determinámos a capacidade neutralizante do sôro caprino em relação ao veneno natural. Empregámos para esse fim dois venenos diferentes de *Bothrops jararaca*. Uma amostra de veneno, denominada veneno *a*, o qual foi colhido bem fresco e seccado; outra, chamada veneno *b*, o qual provinha de nosso "stock" accumulado durante annos. As características dessas duas amostras de veneno podem-se resumir no seguinte:

Veneno <i>a</i>	Veneno <i>b</i>
D. M. L. = 0,04 mg.	D. M. L. = 0,13 mg.
tempo de coagulação por D. M. L. = 4,1	tempo de coagulação por D. M. L. = 3'30"
D. M. L. = 1,4 unidade coagulante	1 D. M. L. = 2 unidades coagulantes.

I. *Experiencia com solutos de venenos naturales.*1. Experiencia com veneno *a* e sôro C 1.

O soluto de veneno applicado continha por cc. 0,04 mgs., isto é, um conteúdo secco correspondente a 1 D. M. L.

a) Fixação da actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Quantidade inoculada	Resultado
	soluto de veneno	sôro		
I	4 cc.	2 cc. dil. 1:10	1,5 cc.	morte após 27' symptomas leves, sobrevida nenhum symptoma } não foram injectadas
II	4 cc.	4 cc. dil. 1:10	2,0 cc.	
III	4 cc.	4 cc. dil. 1:8	2,0 cc.	
IV	4 cc.	2 cc. não dil.		
V	4 cc.	4 cc. não dil.		

b) Fixação do poder coagulante.

1,5 cc. da mistura I	produzem coagulação em 4'
2,0 cc. " " II	" " " 6,40"
2,0 cc. " " III	" " " 6,50"
1,5 cc. " " IV	" " " 8'
2,0 cc. " " V	" " " 21'

2. Experiencias com veneno a e sôro C 2.

a) Fixação da actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Quantidade inoculada	Resultado
	soluto de veneno	sôro		
VI	4 cc.	4 cc. dil. 1:17	2 cc.	morte após 8' symptomas leves, sobrevida nenhum symptoma nenhum symptoma } não foi injectada
VII	4 cc.	4 cc. dil. 1:15	2 cc.	
VIII	4 cc.	4 cc. dil. 1:12	2 cc.	
IX	4 cc.	4 cc. dil. 1:10	2 cc.	
X	4 cc.	4 cc. dil. 1:5		

b) Fixação do poder coagulante.

2 cc. da mistura VI	produzem coagulação em 4'10"
2 cc. " " VII	" " " 4'30"
2 cc. " " VIII	" " " 4'40"
2 cc. " " IX	" " " 4'40"
2 cc. " " X	" " " 8'20"

3. Experiencias com veneno *b* e sôro C 1.

O soluto de veneno applicado continha por cc. 0,1 mg.; a D. M. L. era de 1,3 cc.

a) Fixação da actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Quantidade inoculada	Resultado
	soluto de veneno	sôro		
XI	5,2 cc.	0,8 cc. dil. 1:1	1,5 cc.	morte após 15'
XII	5,2 cc.	1,2 cc. dil. 1:1	1,6 cc.	symptomas graves, sobrevida
XIII	5,2 cc.	1,6 cc. dil. 1:1	1,7 cc.	symptomas leves, sobrevida
XIV	5,2 cc.	2,4 cc. dil. 1:1	1,9 cc.	nenhum symptoma
XV	5,2 cc.	2,0 cc. não dil.		não foi injectada

b) Fixação do poder coagulante.

1,5 cc. da mistura	XI	produzem coagulação em	7'40"
1,6 cc. " "	XII	" " "	6'
1,7 cc. da mistura	XIII	produzem coagulação em	" 3,20"
1,9 cc. " "	XIV	" " "	" 3,30"
1,8 cc. " "	XV	" " "	" 8,50"

4. Experiencias com veneno *b* e sôro C 2.

a) Fixação da actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Quantidade inoculada	Resultado
	soluto de veneno	sôro		
XVI	5,2 cc.	0,4 cc. dil. 1:2	1,4 cc.	morte após 18'
XVII	5,2 cc.	0,8 cc. dil. 1:2	1,5 cc.	nenhum symptoma
XVIII	5,2 cc.	1,6 cc. dil. 1:2		não foi injectada

b) Fixação do poder coagulante.

1,4 cc. da mistura	XVI	produzem coagulação em	2,40"
1,5 cc. " "	XVII	" " "	" 2,40"
1,7 cc. " "	XVIII	" " "	" 2,45"

II. *Experiencias com um soluto fraccionado de veneno, DB.*

O soluto *DB* foi obtido por meio de precipitação, seguida de adsorção da fracção de globulinas. Como descrevemos o methodo de fabricação e purificação em outro trabalho (5), mencionaremos aqui somente que a fracção de globulinas foi obtida por meio de precipitação com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ até a meia saturação, e que a adsorção foi feita por meio de $\text{Cr}(\text{OH})_3$. Ao soluto dialysado foi juntado NaCl até atingir 0,9%. Este soluto mostrou-se, do mesmo modo que o applicado para a immunização, coagulante em alto grau e menos neurotoxico do que os solutos de veneno natural, (*) tendo as seguintes características na diluição de 1:2,5:

D. M. L. = 0,8 cc.

Tempo de coagulação por cc. = 1'25"

Tempo de coagulação por D. M. L. = 1,35"

1 D. M. L. = 6 unidades coagulantes.

1. Experiencias com o soluto *DB* e sôro C1.

a) Fixação da actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Quantidade inoculada	Resultado
	soluto de veneno	sôro		
XIX	3,2 cc.	4 cc. dil. 1,5:	1,8 cc.	morte após 13' nenhum symptoma
XX	3,2 cc.	2 cc. não dil.	1,3 cc.	

b) Fixação do poder coagulante.

1,8 cc. da mistura XIX produzem coagulação em 3,45"

1,3 cc. " " XX " " " " 1,15"

(*) Não foi possível applicar o soluto usado para a immunização nas experiencias de fixação, devido à diminuição de sua actividade neurotoxica. Quando diminuimos o soluto, por meio de ultrafiltração a 1/4 de seu volume original, verificámos, talvez devido á adsorção desigual na membrana ultrafiltrante, que houve uma modificação na proporção actividade neurotoxica: poder coagulante, o que tornou o soluto semelhante ao veneno natural. Assim:

a) antes da ultrafiltração: D.M.L. = 3,5 cc.; tempo de coagulação por cc. = 2'20"; tempo de coagulação por D.M.L. = 1,20";

b) depois da ultrafiltração: D.M.L. = 1,2 cc.; tempo de coagulação por cc. = 4'; tempo de coagulação por D.M.L. = 3'40".

2. Experiencias com o soluto DB e sôro C2.

a) Fixação da actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Quantidade inoculada	Resultado
	soluto de veneno	sôro		
XXI . . .	3,2 cc.	4 cc. dil. 1:5	1,8 cc.	morte após 9'
XXII . . .	3,2 cc.	2 cc. não dil	1,3 cc.	morte após 13'
XXIII . . .	3,2 cc.	4 cc. não dil.	1,8 cc.	nenhum symptoma

b) Fixação do poder coagulante.

1,8 cc. da mistura	XXI	produzem coagulação em 3'
1,3 cc. " "	XXII	" " " 6'
1,8 cc. " "	XXIII	" " " 8'

III. Experiencia com veneno de Cascavel.

No decurso de nossas pesquisas anteriores, pudemos determinar que o sôro anti-crotalico, obtido por immunização com o veneno natural de Cascavel sul-americana (*Crotalus terrificus terrificus*), neutraliza, do mesmo modo que o sôro anti-bothropico especifico, a neurotoxina purificada da *Bothrops jararaca*, embora a capacidade de fixação do sôro anti-crotalico seja bem menor em relação ao veneno natural da *Bothrops jararaca* (3). Pudemos tambem mostrar que o veneno de Cascavel possui um certo poder coagulante e que a substancia coagulante nelle contida é fixada pelo sôro anti-bothropico (4). Afim de completar a determinação, procedemos a um exame do poder de fixação do nosso sôro caprino em ligação ao veneno natural de Cascavel. Em relação á alta actividade neurotoxica e ao poder coagulante relativamente pequeno deste veneno, as duas especies de fixação foram determinadas em dois solutos de concentrações diferentes. Para experiencias de coagulação applicamos um soluto de 1% e, para o exame da fixação da neurotoxina, uma diluição de 1:2000 do mesmo.

O quadro seguinte mostra o poder coagulante:

1 cc. do soluto original	produz coagulação em 0,55"
1 cc. " " "	diluido a 1:1 produz coagulação em 1'15"
1 cc. " " "	" a 1:4 " " 2'
1 cc. " " "	" a 1:8 " " 4'
1 cc. " " "	" a 1:16 " " 7'
1 cc. " " "	" a 1:32 " " 10,30"

A D. M. L. foi determinada igualmente em pombos por injeção intravenosa; fixamos, porém, o tempo de observação em 24 horas, devido ao lento desenvolvimento da actividade do veneno. 0,2 cc. do soluto original diluido a 1:2000, correspondentes a 0,001 mg. de substancia secca: nenhum symptoma. 0,3 cc. da diluição mencionada, correspondentes a 0,0015 mg. de substancia secca: morte. 0,4 cc. da diluição, correspondentes a 0,002 mg. de substancia secca: morte.

Por conseguinte, na concentração por nós applicada, a D. M. L. era de 0,3 cc., isto é, 0,0015 mg..

1. Experiencias com sôro C 1.

a) Fixação da actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Quantidade inoculada	Resultado
	soluto de veneno	sôro		
XXIV . . .	0,6 cc.	3 cc. não dil.	1,8 cc.	nenhum symptoma
XXV . . .	0,6 cc.	2 cc. não dil.	1,3 cc.	morte
XXVI . . .	0,6 cc.	2 cc. dil. 1:1	1,3 cc.	morte

b) Fixação do poder coagulante.

Para esta experiencia diluimos o soluto original a 1:6. 1 cc. dessa diluição produziu coagulação em 2,50" e 0,5 cc., diluido com 0,5 cc. NaCl (sol. physiol), em 4,50". Desta e de determinações anteriores concluimos que 1 D. M. L. corresponde a 0,0019 de unidade coagulante.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Volume usado	Coagulação em:
	Sol. original dil. a 1:6	sôro		
XXVII	1 cc.	1 cc. não dil.	1 cc.	3'15"
XXVIII	1 cc.	1 cc. dil. 1:1	1 cc.	3'50"
XXIX	1 cc.	1 cc. dil. 1:2	1 cc.	3'50"
XXX	1 cc.	1 cc. dil. 1:5	1 cc.	4'
XXXI	1 cc.	1 cc. dil. 1:8	1 cc.	4'40"
XXXII	1 cc.	1 cc. dil. 1:10	1 cc.	4'20"
XXXIII	1 cc.	1 cc. dil. 1:20	1 cc.	3'15"

2. Experiencias com sôro C 2.

a) Fixação da actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Quantidade inoculaça	Resultado
	Sol. original dil. a 1:2000	sôro		
XXXIV	0,6 cc.	3 cc. não dil.	1,8 cc.	morte
XXXV	0,6 cc.	2 cc. não dil.	1,3 cc.	morte
XXXVI	0,6 cc.	2 cc. dil. 1:1	1,3 cc.	nenhum symptoma

b) Fixação do poder coagulante.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa		Volume usado	Coagulação em:
	Sol. original dil. a 1:6	sôro		
XXXVII	1 cc.	1 cc. não dil.	1 cc.	3'5''
XXXVIII	1 cc.	1 cc. dil. 1:1	1 cc.	4'10''
XXXIX	1 cc.	1 cc. dil. 1:2	1 cc.	4'
XL	1 cc.	1 cc. dil 1:5	1 cc.	4'
XLI	1 cc.	1 cc. dil. 1:8	1 cc.	4'30''
XLII	1 cc.	1 cc. dil. 1:10	1 cc.	4'40''
XLIII	1 cc.	1 cc. dil. 1:20	1 cc.	3'15''

IV *Experiencias para controlo com sôro anti-bothropico.*

Afim de comparar o poder neutralizante do nosso sôro caprino com o do sôro anti-bothropico commum, obtido por immunização com veneno natural, repetimos todas as experiencias com um sôro anti-bothropico concentrado monovalente, fabricado neste Instituto para fins therapeuticos. Este sôro neutralizava por cc. 2,2 mgs. de veneno natural da *Bothrops jararaca*. Os resultados dessas pesquisas são resumidos em seguida:

Capacidade neutralizante do sôro anti-bothropico.

a) Actividade neurotoxica.

Denominação da mistura	Mistura posta na estufa	Quantidade inoculada	Resultado
XLIV . . .	4 cc. veneno <i>a</i> + 4 cc. sôro dil. 1:50	2 cc.	symptomas leves, sobrevida
XLV . . .	5,2 cc. » <i>b</i> + 0,8 cc. » » 1:10	1,5 cc.	symptomas leves, sobrevida
XLVI . . .	5,2 cc. » <i>b</i> + 1,2 cc. » » 1:10	1,6 cc.	nenhum symptoma.
XLVII . . .	3,2 cc. <i>DB</i> dil. 1:2,5 + 4 cc. » » 1:25	1,8 cc.	symptomas graves, sobrevida
XLVIII . . .	3,2 cc. <i>DB</i> dil. 1:2,5 + 2 cc. » » 1:10	1,3 cc.	nenhum symptoma.
XLIX . . .	3,2 cc. <i>DB</i> dil. 1:2,5 + 4 cc. » » 1:10	não foi injectada.	

b) Poder coagulante.

2 cc. da mistura	XLIV	produzem coagulação em	51'
1,5 cc. " "	XLV	" "	14'
1,6 cc. " "	XLVI	" "	50'
1,8 cc. " "	XLVII	" "	20'
1,3 cc. " "	XLVIII	" "	60'
1,8 cc. " "	XLIX	" "	90'

Discussão dos resultados.

Um ligeiro exame dos quadros anteriores mostra-nos que os sôros obtidos de caprinos infectados com as fracções fixaram bem menos o poder coagulante do veneno natural como tambem do soluto fraccionado *DB*, do que o anti-sôro obtido por immunização com veneno natural. O seguinte quadro mostra os respectivos dados de comparação.

		Veneno <i>a</i>	Veneno <i>b</i>	Soluto <i>DB</i>
Sôro anti-bothropico	D.M.L. fixada por cc.	55	55	30
	1 D.M.L. + quantidade de sôro neutralizante retarda a coagulação por	47'	10'30''	18'
C 1	D.M.L. fixada por cc.	10	5	2
	1 D.M.L. + quantidade de sôro neutralizante retarda a coagulação por	2'40''	0'	0'
C 2	D.M.L. fixada por cc.	15	15	1
	1 D.M.L. + quantidade de sôro neutralizante retarda a coagulação por	0'	0'	2'30''

Conforme se vê claramente por este quadro, o sôro C 2 foi excepcionalmente activo, quanto á sua capacidade de fixação neurotoxica, apesar das pequenas quantidades de D. M. L. usadas, pois o sôro anti-bothropico era concentrado, enquanto que os sôros caprinos não o eram. O poder neutralizante dos dois soros caprinos relativamente ao poder coagulante era pequeno. Seria falho tomar as unidades coagulantes contidas em 1 D. M. L. como base de comparação, porque as experiencias estão provando que a quantidade de sôro, que neutraliza o effeito neurotoxico estritamente correspondente á unidade coagulante, não augmenta o tempo de coagulação de maneira correspondente. Desse quadro parece poder-se concluir que o sôro C 1, que neutralizava menos D. M. L., era mais activo relativamente á substancia coagulante, do que o sôro C 2, estabelecendo-se assim, uma proporção invertida entre a capacidade de fixação em relação ao componente neurotoxico e o poder coagulante. Si isto é um facto não se pode affirmar com certeza, á base das pesquisas realizadas, porque para isso seria necessario fazer experiencias seriadas com diluições bem differentes. Essa duvida ainda augmenta em vista de parecerem os sôros caprinos, em maiores concentrações, apressar a coagulação (Vide as misturas XIII, XIV, XVI, XVII, XVIII). Aqui queremos assignalar que, comparando-se as quantidades de sôro necessarias para augmentar o tempo de coagulação de 1 D. M. L. por um certo tempo, digamos 4 minutos, os dois sôros caprinos se mostram equivalentes conforme o quadro seguinte:

Quantidades de sôro, que augmentam o tempo de coagulação de 1 D. M. L. em 4'.

Sôro anti-bothropico		C 1	C 2
Veneno <i>a</i>	0,01 cc.	0,5 cc.	0,2 cc.
Veneno <i>b</i>	0,02 cc.	0,4 cc.	0,4 cc.
Sol. <i>DB</i>	0,04 cc.	1,0 cc.	0,8 cc.

Até agora só se pode affirmar com certeza que o sôro immune obtido por meio de immunização com uma dessas fracções de veneno, que têm maior actividade coagulante e poder neurotoxico mais baixo do que o veneno natural, é bem mais fraco em relação ao poder coagulante do que o antisôro por meio de immunização normal, isto é, por veneno natural. Esse resultado se poderia explicar facilmente, considerando-se a substancia coagulante como uma haptena, isto é, uma substancia que, separada do componente neurotoxico, não possui caracter antigenico. A pequena capacidade neutralizante dos nossos sôros caprinos, observada relativamente á substancia coagulante, pode ser atribuida á interferencia de componentes activos existentes em estado natural no soluto applicado para a immunização. O caracter de haptena da substancia coagulante explicaria tambem o facto de os sôros caprinos terem um effeito visivelmente menor em relação ao soluto fraccionado *DB* do que relativamente ao veneno natural. No decurso das experiencias de immunização, sobre as quaes falaremos mais tarde, procuraremos verificar si a substancia neurotoxica purificada do veneno natural, a bothropo-toxina, que, conforme sabemos, não possui poder coagulante algum, se comporta á maneira de uma haptena.

A's experiencias com veneno de cascavel temos muito pouco a acrescentar. Os resultados referentes ao poder coagulante (1,5 cc. de sôro não retarda a coagulação) confirmam a nossa affirmação anterior de que a substancia coagulante do veneno de Cascavel deve ser differente da substancia coagulante do veneno bothropico. O effeito coagulante mais rapido, observado nos soros caprinos (Vide as misturas XXVII, XXVIII, XXIX, XXX) pode ser devido, de um lado, ao pequeno poder anti-coagulante deste veneno, e, de outro lado, ao calcio addicionado aos soros. Em experiencias em que addicionamos 5 cc. de sangue equino normal a 2 cc. de soros caprinos não diluidos ou diluidos a 1:1, 1:5, 1:10, 1:20, não notámos a influencia dos soros caprinos sobre o tempo de coagulação.

RESUMO

Dois soros caprinos obtidos por meio de immunização com um soluto purificado, obtido por fraccionamento e seguido de adsorpção do veneno natural da

Jararaca (*Bothrops jararaca*), por meio de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ demonstraram a seguinte capacidade de fixação, apesar de possuir esse soluto, em comparação com o veneno natural, maior poder coagulante e menor actividade neurotoxica:

1. Os sôros caprinos neutralizaram os componentes neurotoxicos do veneno natural e uma fracção coagulante obtida desse veneno, bem mais do que o poder coagulante do mesmo.

2. O poder coagulante do veneno da Cascavel (*Crotalus terrificus*) não foi neutralizado pelos soros.

A' base desses resultados de nossas pesquisas, parece que os componentes coagulantes do veneno de serpente, separados de sua fixação natural, se devem considerar como haptenas.

ABSTRACT

Two sera obtained from goats immunized with a solution of *Bothrops jararaca* venom previously purified by means of fractionation and adsorption with $\text{Cr}(\text{OH})_3$ showed a certain capacity of fixation although the purified antigen used possessed a higher coagulating power and a lower neurotoxic activity than the original poison:

1. They neutralized more completely both the neurotoxic constituents of the natural poison (*Bothrops jararaca*) and the coagulating fraction extracted from it than its original coagulating activity.

2. They failed to neutralize the original coagulating activity of the rattlesnake poison (*Crotalus terrificus*).

In the light of these findings it seems that the coagulating constituents of those snake poisons, after separation from their natural binding substances, should be considered as haptens.

BIBLIOGRAPHIA

1. von Klobusitzky, D. & König, P. — Mem. Inst. Butantan 10:233.1937 et Arch. f. exp. Path. & Pharmakol. 181:387.1936.
2. von Klobusitzky, D. & König, P. — Mem. Inst. Butantan 10:245.1937 et Zschr. f. Immunitätsf. 89:145.1936.
3. von Klobusitzky, D. & König, P. — Mem. Inst. Butantan 10:205.1937 et Zschr. f. Immunitätsf. 87:202.1936.
4. von Klobusitzky, D. & König, P. — Mem. Inst. Butantan 10:217.1937 et Zschr. f. Immunitätsf. 87:330.1936.
5. von Klobusitzky, D. & König, P. — Mem. Inst. Butantan et Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol. a ser publicado.

(Trabalho da Secção de Physico-Chimica do Instituto Butantan, recebido em novembro de 1937; a ser publicado tambem em alemão in Zschr. f. Immunitätsf. Dado á publicidade em dezembro de 1937).