

## ESCORPIÕES E ESCORPIONISMO NO BRASIL

### 2. *Atividade das peçonhas de Tityus serrulatus e T. bahiensis sobre camundongos*

WOLFGANG BUCHERL

(Laboratório de Animais Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil)

### INTRODUÇÃO

Muitos pesquisadores têm procurado averiguar a ação da peçonha dos dois escorpiões sul-americanos, *Tityus serrulatus* (do Brasil) e *T. bahiensis* (Argentina, Paraguai e principalmente Brasil). Entre outros devem ser mencionados H. Maurano (1) que estabeleceu a dose mínima mortal do veneno seco, obtido por choque elétrico do *T. bahiensis*, como sendo de 1,5 mg para o cobaio, em injeção subcutânea.

V. Brasil (2), ao relatar suas experiências com a fabricação do primeiro soro anti-escorpionico, monovalente, contra o *T. bahiensis*, titulou este soro em cobaios.

O. Magalhães (3) fez diversos ensaios de dosagem das peçonhas tanto de *bahiensis* como de *serrulatus*.

Longe de querer desmerecer estes pesquisadores e pioneiros, vemos, contudo, a necessidade de proceder a novas dosagens, possivelmente mais rigorosas e reproduzíveis, estabelecendo não mais as doses mortais mínimas, mas a LD50, tanto por via venosa como subcutânea das peçonhas das duas espécies.

Era de interesse também, não dosar somente o veneno em bruto, mas possivelmente separar as diversas colheitas, isto é, o veneno correspondente às gotículas límpidas, hialinas, o das gotas opalescentes e o das últimas gotas, leitoso, espesso, para estabelecer qual das frações era mais ativa.

### OBTENÇÃO DA PEÇONHA

Os escorpiões das duas espécies estão sendo mantidos vivos no laboratório de Animais Peçonhentos. Duas a três vezes por semana recebem alimento que consiste principalmente em aranhas.

---

Entregue para publicação em 30 de Junho de 1953.

Cada 15 a 20 dias, em média, é retirada dêles a peçonha, empregando-se nisto dois processos: o da simples extração manual e o do choque elétrico.

O *T. bahiensis* costuma fornecer nas primeiras 2 gotículas um veneno líquido, transparente, hialino, que pasaremos a chamar de "fração hialina". Na medida que seca ostenta movimentos brownianos. Em estado sêco aparecem figuras com aspecto de cristais, com agulhas muitas vezes ramificadas (Fotos 1 e 2).

As gotículas seguintes são opalescentes, aqui chamadas de "Fração opalescente" e as últimas gôtas, finalmente, têm aspecto leitoso. Secam estas sem movimento browniano perceptível. Em estado sêco apresentam um aspecto uniforme, granular, com raras formações "cristalóides". Esta peçonha chamamos de "fração leitosa" (fotos 3 e 4).

No *Tityus serrulatus* existem igualmente estas 3 frações, ainda que, na maioria dos indivíduos, já o primeiro veneno se apresente opalescente, portanto com as frações leitosas e hialina misturadas.

Também nesta espécie a microfotografia mostra o aspecto "cristalóide" da fração hialina e o amorfo, de grânulos, na fração leitosa (Fotos 5 e 6).

Não é assunto dêste trabalho analisar as frações ou a verdadeira natureza principalmente do veneno leitoso e do hialino, de maneira que a expressão "cristalóide" deve significar aqui apenas um termo que permita distinguir facilmente de que fração de peçonha se trata.

Das duas espécies escorpionicas foram isoladas as três frações e depositadas, separadamente, em pequenos vidros de relógio, exatamente tarados. Os venenos foram secos à temperatura ambiente, em vácuo. Após secagem pesava-se rigorosamente a placa, para verificação da quantidade de veneno sêco. Este era guardado sêco, em vácuo, sobre cloreto de cálcio, em ambiente escuro.

Cada 15 ou 20 dias repetia-se o processo de extração, juntando-se as diferentes frações, cada uma por si, para resguardo em vácuo, sobre clorêto de cálcio.

#### PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES DA PEÇONHA

Cada fração dos três venenos das duas espécies era rigorosamente pesada em balança ultra-sensível. Preparava-se, em seguida, uma solução em água destilada mais cloreto de sódio a 8,5 por mil. Com esta solução faziam-se as diluições, também com água fisiológica, empregando-se em todo o processo de diluição o máximo rigor (uso de pipetas calibradas; tubinhos de dosagem bem limpos e rigorosamente secos; ausência de bolhas de ar, etc.).

Empregamos interpelações entre 0,001 mg e 0,01 ou entre 0,01 mg e 0,1 mg de veneno sêco, estabelecendo em cada escala de dosagem 7 termos, com

o fator de diluição 1,468. As soluções de peçonha eram diluídas com salina de maneira que o total do inoculum correspondia a 0,5 cm<sup>3</sup>, quando injetado na veia e a 0,3 cm<sup>3</sup>, quando injetado subcutaneamente.

A injeção venosa era feita na veia caudal dos camundongos e a subcutânea sobre o músculo da perna. No último caso não se tinha garantia absoluta de a injeção não ter penetrado ocasionalmente dentro do músculo, mas via de regra podia ela ser considerada como subcutânea.

Como animal de ensaio empregamos camundongos dos biotérios do Instituto. Foram pesados imediatamente antes dos ensaios, admitindo-se apenas desvios de 2 gramas sobre o peso standard de 20 gramas por animal. Não ligamos importância ao sexo, empregando indiretamente machos e fêmeas.

Terminada a dosagem foram os camundongos observados durante o tempo de intoxicação e mais ainda durante as seguintes 24 horas. De uma certa quantidade deles, principalmente dos que foram injetados subcutaneamente, fizeram-se necrópsias para descobrimento de possíveis lesões, determinadas pela peçonha.

No preparo das soluções de veneno temos constatado que a fração do veneno seco que correspondia ao veneno hialino é muito higroscópica, dissolvendo-se facilmente na salina e fornecendo uma solução límpida, principalmente no *T. bahiensis*.

As frações de peçonhas correspondentes ao veneno opalescente forneciam nas duas espécies soluções levemente opalescentes, com uma quantidade mínima de substância que não se dissolvia.

As frações da peçonha seca provenientes dos venenos leitosos dissolviam-se com alguma dificuldade na proporção de 1 mg, mais ou menos, para 8 cm<sup>3</sup> de água fisiológica. A solução apresentava aspecto opalescente, havendo mesmo pequenos grumos e flócos indissolúveis no permeio.

Corno em nossos ensaios tivéssemos trabalhado sempre apenas na ordem de 1 a 4 mg de veneno seco, não tínhamos à mão meios de pesar rigorosamente este resíduo insolúvel. A igualação do pH da solução ao do veneno natural também não favorecia a solução. Pensamos que estes resíduos devem ser restos de células glandulares do aparelho venenífero do escorpião.

Nas dosagens empregamos seringas rigorosamente calibradas, praticando-se a injeção lentamente principalmente quando dada na veia.

#### DETERMINAÇÃO DA LD<sub>50</sub> EM CAMUNDONGOS

Na titulação da dose 50% letal para camundongos, por via venosa e subcutânea, das peçonhas secas, rigorosamente pesadas e dissolvidas em salina, empregamos o método de Reed Muench (4), entrando no resultado o cálculo das mortalidades acumuladas e sucessivas de todos os grupos de animais ensaiados.

1. Titulação da  $LD_{50}$  do veneno "hialino, cristalóide"*Tityus serrulatus*

(via venosa)

| Dose mg.                                     | Camundongos |       |        | Acumulação dos resultados |        |       | % de mortalidade  |
|----------------------------------------------|-------------|-------|--------|---------------------------|--------|-------|-------------------|
|                                              | total       | vivos | mortos | vivos                     | mortos | total |                   |
| 0,01                                         | 5           | 5     | 0      | 14                        | 0      | 14    | 0 %               |
| 0,015                                        | 5           | 5     | 0      | 9                         | 0      | 9     | 0 %               |
| 0,021                                        | 5           | 3     | 2      | 4                         | 2      | 6     | 33 %              |
| 0,032                                        | 5           | 1     | 4      | 1                         | 6      | 7     | 85,5 %            |
| 0,146                                        | 5           | 0     | 5      | 0                         | 11     | 11    | 100 %             |
| 0,068                                        | 5           | 0     | 5      | 0                         | 16     | 16    | 100 %             |
| 0,1                                          | 5           | 0     | 5      | 0                         | 21     | 21    | 100 %             |
| Fator de diluição<br>1,468                   | 35          | 14    | 21     | 28                        | 56     | 84    | $LD_{50} = 0,024$ |
| $LD_{50}$ por grama de camundongo = 0,012 mg |             |       |        |                           |        |       |                   |

Repetiu-se a mesma dosagem com uma partida de veneno seco, proveniente do veneno líquido hialino de *Tityus serrulatus*, já com 8 meses de laboratório e submetido a 14 extrações.

A toxicidade variou muito pouco, sendo a  $LD_{50} = 0,0016$  mg por grama de camundongo.

*Tityus bahiensis*

(via venosa)

| Dose mg.                                      | Camundongos |       |        | acumulação dos resultados |        |       | % de mortalidade  |
|-----------------------------------------------|-------------|-------|--------|---------------------------|--------|-------|-------------------|
|                                               | total       | vivos | mortos | vivos                     | mortos | total |                   |
| 0,1                                           | 5           | 5     | 0      | 11                        | 0      | 11    | 0                 |
| 0,16                                          | 5           | 4     | 1      | 6                         | 1      | 7     | 14,3              |
| 0,25                                          | 5           | 2     | 3      | 2                         | 4      | 6     | 66,6              |
| 0,40                                          | 5           | 0     | 5      | 0                         | 9      | 9     | 100               |
| 0,63                                          | 5           | 0     | 5      | 0                         | 14     | 14    | 100               |
| 1,00                                          | 5           | 0     | 5      | 0                         | 19     | 19    | 100               |
| Fator de diluição<br>1,585                    | 30          | 11    | 19     | 19                        | 47     | 66    | $LD_{50} = 0,225$ |
| $LD_{50}$ por grama de camundongo = 0,011 mg. |             |       |        |                           |        |       |                   |

Nesta partida de veneno tomou-se o cuidado de aproveitar apenas a primeira gotícula do hialino, límpido e muito transparente.

Repetimos a mesma dosagem, também com veneno líquido hialino, mas apenas da segunda e terceira gotícula. Nesta segunda titulação a dose 50%

letal para camundongos, por via venosa, era de 0,002 mg por grama de camundongo.

Verifica-se, portanto, uma variação bastante acentuada entre a primeira gotícula e as gotículas seguintes, tôdas elas de aspecto hialino, transparente.

*Tityus serrulatus*  
(via subcutânea)

A titulação da dose 50% letal para camundongos, por via subcutânea, feita com o mesmo fator de diluição como na via venosa (1,468) e com a mesma partida de peçonha, deu em 35 camundongos num ensaio 0,002 miligramas por grama de animal, e num segundo ensaio 0,0018 mg por gr. de camundongo.

A dose 50% letal por via subcutânea é, portanto, apenas 1 e meia vezes mais elevada do que a venosa.

*Tityus bahiensis*  
(via subcutânea)

A mesma peçonha, empregada na titulação por via venosa, com o mesmo fator de diluição (1,585) deu como dose 50% letal por grama de camundongo 0,025 mg, quando se aproveitava apenas a primeira gota de veneno; nas duas gotas seguintes a dose 50% letal era de 0,004 mg por grama de camundongo.

Entre as doses subcutânea e intravenosa da fração hialina de *T. bahiensis* há, portanto, o dobro.

2. Titulação da  $LD_{50}$  do veneno sêco, proveniente da peçonha opalescente

*Tityus serrulatus*  
(via venosa)

Tomando-se novamente 1,468 como fator de diluição da peçonha e praticando-se as injeções na veia em 7 séries de camundongos do mesmo pêso (5 animais em cada série), verificou-se em 35 camundongos que a dose 50% mortal era numa amostra de veneno 0,0009 miligramas por grama de animal e de uma outra amostra 0,0011 mg por grama.

Houve, portanto, muito pouca diferença entre as duas titulações.

O veneno sêco proveniente da fração líquida opalescente é, portanto, um pouco mais ativo do que o "hialino", ainda que talvez não significativamente.

*Tityus bahiensis*  
(via venosa)

Fator de diluição das soluções de veneno opalescente: 1,468. 7 séries de experiências com 5 camundongos cada série.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,0009 miligramas numa experiência e 0,002 miligramas numa segunda titulação.

Verificam-se aqui dois fatos: a) O veneno opalescente já é mais uniforme em sua ação sobre camundongos do que foi o veneno "hialino", que mostrara diferenças nas duas titulações que variavam entre 2 e 11 gamas; b) o veneno "leitoso" é significativamente mais ativo do que o "hialino".

*Tityus serrulatus*

(via subcutânea)

Fator de diluição da peçonha seca, proveniente do veneno opalescente, igual a 1,468.

7 séries de dosagens com 5 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,0009 miligramas numa titulação e 0,0014 miligramas numa outra.

A inoculação parenteral do veneno de *T. serrulatus*, nesta fração de peçonha, é, portanto, praticamente igual à injeção intravenosa.

*Tityus bahiensis*

(via subcutânea)

Fator de diluição da peçonha seca, proveniente da fração opalescente: 1,468.

7 séries de dosagens com 5 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,002 miligramas numa titulação e a 0,004 miligramas numa outra por grama de animal.

Nesta espécie a dose subcutânea, si bem que não seja igual à intravenosa (como acontece na peçonha opalescente de *T. serrulatus*), aproxima-se, contudo, bem de perto da mesma, sendo 2 vezes mais elevada.

### 3. Titulação da $LD_{50}$ do veneno seco, proveniente da peçonha leitosa.

*Tityus serrulatus*

(via venosa)

| Dose mg.            | Camundongos |       |        | Acumulação dos resultados |        |       | % de mortalidade          |
|---------------------|-------------|-------|--------|---------------------------|--------|-------|---------------------------|
|                     | total       | vivos | mortos | vivos                     | mortos | total |                           |
| 0,0046              | 10          | 7     | 3      | 9                         | 3      | 12    | 25                        |
| 0,068               | 10          | 2     | 8      | 2                         | 11     | 13    | 85                        |
| 0,01                | 5           | 0     | 5      | 0                         | 16     | 16    | 1000                      |
| 0,015               | 5           | 0     | 5      | 0                         | 21     | 21    | 1000                      |
| 0,21                | 5           | 0     | 5      | 0                         | 26     | 26    | 1000                      |
| 0,032               | 5           | 0     | 5      | 0                         | 31     | 31    | 1000                      |
| Fator dil.<br>1,468 | 40          | 9     | 31     | 11                        | 108    | 119   | $LD_{50} = 0,0059$<br>mg. |

Dose 50% mortal por grama de camundongo = 0,0003 mg.

Numa segunda titulação do mesmo veneno leitoso, pelo mesmo processo, chegamos à dose 50% mortal por grama de camundongo = 0,0005 mg.

*Tityus bahiensis*  
(via venosa)

Fator de diluição da peçonha seca, proveniente de veneno leitoso = 1,468.  
6 séries de 10 camundongos cada.

Resultado: — LD<sub>50</sub> por grama de camundongo = 0,0005 miligramas numa titulação e 0,00065 miligramas numa segunda.

A peçonha seca, obtida do veneno líquido, de aspecto leitoso e que corresponde às últimas gotículas da extração manual ou elétrica, constitui em *T. serrulatus* e *T. bahiensis* o tipo de peçonha sem dúvida mais ativo e mais uniforme em sua ação.

A não existência de uma diferença significativa entre as titulações repetidas caracterizam a uniformidade em cada amostra. Interessante é igualmente o fato de que estes venenos têm quase o mesmo grau de atividade nas duas espécies escorpiônicas, ainda que a peçonha de *T. serrulatus* pareça um pouco mais ativa.

*Tityus serrulatus*  
(via subcutânea)

A mesma amostra de veneno, que forneceu uma LD<sub>50</sub> intravenosa igual a 0,0003 mg, deu, nas mesmas condições de trabalho e com o mesmo número de animais, uma dose 50 % mortal, por via subcutânea igual a 0,0003 mg.

A segunda amostra, com LD<sub>50</sub> venosa = 0,0005 mg deu titulação, por via subcutânea = 0,00062 mg.

Verifica-se, portanto, que em *T. serrulatus*, no veneno leitoso, as LD<sub>50</sub> são as mesmas, tanto na veia como por via subcutânea.

*Tityus bahiensis*  
(via subcutânea)

Fator de diluição da peçonha "leitosa" = 1,468.

6 séries de 10 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal = 0,0007 miligramas numa titulação e 0,0009 miligramas numa segunda.

A mesma amostra de veneno que deu uma LD<sub>50</sub> venosa = 0,0005 miligramas forneceu 0,0007 miligramas como média mortal subcutânea; a de 0,00065 miligramas venosas deu 0,0009 miligramas por via subcutânea.

Há, novamente, portanto, uma grande concordância na atividade da peçonha de *T. bahiensis* de um lado nas duas vias de inoculação e do outro com a peçonha de *T. serrulatus*, apenas um pouco mais ativa mas que mal chega, a nosso ver, a ser significava.

### COMPORTAMENTO DOS CAMUNDONGOS

Nas 24 titulagens para verificação de LD<sub>50</sub> temos sempre anotado também o *tempo de morte* ou o tempo das crises de intoxicação, ou quando se começavam a verificar as melhoras e a recuperação completa.

Nas duas espécies de escorpiões estes tempos ofereciam um perfeito paralelismo no seguinte sentido:

“Quando as doses eram acima das mortais, tanto na veia como subcutaneamente, e na medida que eram mais concentradas, os animais morriam já dentro de 1-2 minutos nas doses *venosas* altas, dentro de meia hora a duas horas e meia (quando logo acima de 50% mortal na *veia*) e dentro de 3 horas a 4 horas, quando em torno da 50% mortal *venosa*.

Passado este tempo, isto é, depois de 3 ou 4 horas, já se iniciava a fase de recuperação, o que demonstra que, por via venosa, ambas as peçonhas escorpiônicas são de *eliminação rapidíssima*.

Por via subcutânea repetia-se o mesmo: morte já dentro de 15 a 30 minutos com doses bem concentradas, acima das letais 50%, dentro de 1 a 3 horas nas doses pouco acima das letais e dentro de 3 a 5 horas nas letais 50%, com o início de recuperação após 6 horas, com normalização completa já dentro de 8-10 horas.

Isto constitui nova prova da rápida eliminação das peçonhas”.

Pelo comportamento dos camundongos confirma-se um fato já sabido: o da ação da peçonha de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* sobre o sistema nervoso central, principalmente. No princípio da intoxicação há uma *fase excitatória*, aliada à dor. Os camundongos se tornam irascíveis, mordem-se, brigam, dão pulos para o alto com gritos agudos, isto principalmente nas injeções subcutâneas.

Como primeiro sinal sobrevém então o eriçamento dos pêlos na nuca e lacrimejamento.

Depois vem a fase da *depressão cerebral*, cada vez mais generalizada e progressiva. O animal fica quieto; suores abundantes na nuca são constantes; perturbações visuais até cegueira total são a regra; os suores progridem rapidamente e se estendem pelo corpo inteiro. O pulso se acelera; tremores gerais sobrevêm; paresias, primeiro das pernas posteriores e depois generalizadas; ataques de dispnéia e a posição de cabeça para baixo são a regra. A dispnéia

e os suores aumentam. Os animais parecem sufocar. Antes de sobrevir a morte, os suores são tão profusos que o animal parece ter sido emergido da água. Finalmente é esvasiada invariavelmente a bexiga e a morte se verifica por sufocação, instalando-se logo a rigidez tetânica.

A profusão dos suores é muito acentuada justamente com amostras de peçonha provenientes do veneno líquido *límpido*, ao passo que é menor com o veneno leitoso, ainda que o suor sempre exista na intoxicação escorpionica.

Também a dor parece ser menor com o veneno leitoso.

Como, por outro lado, tivéssemos constatado que é justamente a peçonha leitosa a mais ativa, impõe-se a suspeita de que haja no veneno dos dois escorpiões uma substância estranha, mais freqüente na fração chamada *límpida*. Esta substância parece incrementar a sudorese e aumentar a dor, embora fosse menos tóxica do que a do veneno amorfo, granular.

De fato, o aspecto microscópico de uma gotícula de veneno hialino, apresenta quadros completamente diferentes do veneno granular, amorfo (Fotografias).

É claro que, na prática, tanto na extração artificial da peçonha como por ocasião de uma picada, sempre se misturam as frações do veneno hialino, opalescente e leitoso, de maneira que a sintomatologia deve ser encarada como sendo consequência do conjunto.

Foram feitas necrópsias de diversos camundongos após a morte, retirando-se não somente partes do pulmão, do fígado, do intestino, da vesícula e do músculo, mas inspecionando-se ao mesmo tempo a zona da injeção subcutânea. Não foi verificado nada de anormal, confirmando-se a ação primordial da peçonha dos dois escorpiões sobre o cérebro, como já foi descrito por muitos pesquisadores.

Eliminação rápida, ação praticamente igual tanto por via intra-venosa como subcutânea, sudorese muito acentuada — são os característicos principais do envenenamento escorpionico.

#### DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Quanto à *obtenção dos venenos secos*, de peso constante, conservados em dessecador escuro, em vácuo, sobre cloreto de cálcio, quer pelo método da *extração manual* ou por *excitação elétrica*, cremos que tenhamos chegado a um resultado positivo. Positivo no sentido da *quantidade* e da *qualidade* e *bôa conservação*.

Quantitativamente falando é possível armazenar durante meses algumas centenas de miligramas de *T. serrulatus* e *T. bahiensis*. Secando-se êstes venenos em vácuo e conservando-se os mesmos em escuro, no vácuo, sobre clo-

reto de cálcio, conservam seu aspecto de pó branco bem como tôdas as propriedades tóxicas.

É, pois, possível estocar-se as peçonhas, juntando a quantidade extraída cada quinzena ou cada 20 dias ao estoque. Nisto não é necessário separarem-se as chamadas frações hialinas, opalescentes e leitosas, mas pode estocar-se perfeitamente o veneno "in toto". No momento do uso para qualquer experiência ou imunização, basta dosar-se previamente a  $LD_{50}$  em camundongos.

A estocagem do veneno sêco representa sem dúvida uma grande vantagem sobre os métodos de conservarem-se os venenos escorpiônicos em *solução*. Vital Brazil (2) e H. Maurano (1) têm aconselhado soluções aquo-glicerinadas; Vianna Martins (5) empregava soluções fisiológicas com toluol e mais tarde com formol. Todos êles partiam sempre de triturados de glândulas inteiras, acentuando tanto Maurano (1) como Vianna (5) que a contaminação por germes aeróbios e anaeróbios e a conseqüente putrefação das soluções, constituíam um dos maiores empecilhos de qualquer trabalho mais exato sobre as peçonhas escorpiônicas.

Vital Brazil (2) exige mesmo o preparo de veneno sêco para qualquer experiência mais acurada.

Já Belleme (1874), depois C. Phisalix e de Varigny (6), Calmette (1896) e entre nós H. Maurano (1) têm submetido os escorpiões à excitação elétrica e obtinham veneno. Entretanto, as quantidades de todos êles eram muito pequenas para qualquer estudo comparado em grandes séries de animais de experiência.

O estabelecimento exato da *atividade* da peçonha escorpiônica pela *titulação*  $LD_{50}$  em animais de laboratório não está isento de dificuldades. Tendo-se um grande estoque de veneno sêco, pode determinar-se facilmente a dose 50% mortal para determinado grupo de animais (aconselhamos os camundongos pelo pouco pêso e pelas reações precisas), repetindo-se cada vez esta titulação, quando se assume um veneno diferente.

A questão, entretanto, muda de figura, quando se pretendem titular pequenas amostras de veneno, colhidas dos escorpiões para êste fim. Neste caso o veneno sêco "total", isto é, o obtido de tôdas as gotas, hialinas, opalescentes e leitosas, terá atividade diferente por exemplo do veneno hialino ou do leitoso, como se deduz pelas nossas determinações das doses 50% mortais com os diferentes tipos de peçonha.

Estas diferenças serão ainda mais acentuadas por via subcutânea do que na veia e variarão grandemente segundo a espécie.

Temos constatado que em *T. serrulatus* e em *T. bahiensis* as peçonhas sêcas provenientes das gotas leitosas, que apareciam na ponta do ferrão por último nas extrações, eram justamente as *mais ativas*. Viu-se igualmente que justamente estas frações eram as *mais constantes* em sua atividade, mesmo

quando eram de amostras e extrações diferentes. O mesmo não se dá com as frações *hialinas*, isto é, com o veneno seco das gotas transparentes, que aparecem em primeiro lugar na extração.

É um veneno que varia bastante em sua atividade, principalmente no *T. bahiensis*, podendo ser numa amostra de 5-6 vezes mais ativa do que numa outra ou terceira.

Este fato está em contradição com o que foi constatado por Phisalix e de Varigny (6) que extraíram por excitação elétrica as peçonhas de *Priourus australis*, separando em recipientes especiais as gotículas hialinas, as opalescentes e as últimas, leitosas e constataram que justamente as primeiras, hialinas, eram as mais ativas, com uma dose mínima letal subcutânea para cobaio, de 0,1 mg, enquanto que eram precisos 0,15 mg, para matar com o veneno leitoso.

Ou, empregaram poucos animais, e não chegaram a conclusões precisas pela mínima mortal, ou existem realmente diferenças biológicas no escorpião africano que o distingam das duas espécies do Brasil. Em todo caso, acharam os dois pesquisadores, em vista de seus resultados, que o último veneno do escorpião, o leitoso, era uma peçonha *ainda não amadurecida*; que ela tinha que estar em contato com o líquido dos canais eferentes das bolsas de veneno e amadurecer aí, dando então veneno límpido, maduro, ativo.

Em nossas experiências nas extrações repetidas já durante anos, chegamos à conclusão de que a fração que temos chamado de "opalescente" é realmente apenas intermediária entre o hialino e o leitoso, contendo elementos de ambos. Entretanto, estas duas extremas, devem conter, ao que nos parece, substâncias iguais umas e diferentes outras.

Nas fotomicrografias (veja no fim do trabalho) do veneno hialino vêm-se configurações na peçonha seca que lembram a figuras cristalóides, enquanto que o veneno leitoso apresenta aspecto granular, homogêneo.

Quando ao pH diferem muito pouco estes dois venenos, enquanto que a fração hialina é muito mais higroscópica do que a leitosa e se dissolve facilmente — e completamente na água fisiológica — o que não acontece com a última. A suspensão aquosa desta apresenta-se fortemente opalescente quando em proporção de 1 mg de veneno seco para 8 cm<sup>3</sup> de água fisiológica. Submetendo-se a solução à centrifugação, torna-se mais límpida, aparecendo um depósito relativamente volumoso.

Este depósito, após centrifugação demorada, perfaz, mais ou menos, a metade do peso do veneno seco leitoso e parece constar de elementos epiteliais e celulares, insolúveis em água e inativos.

Tomando-se em conta este fato, então ressalta que o veneno escorpiônico, particularmente a fração derivada da leitosa, é ainda duas vezes mais ativa na dose 50% letal para camundongos, do que a referida por nós, pois não

tomamos em consideração o peso deste depósito, porque trabalhamos sempre, nas titulações, com 1 a duas miligramas. Assim as  $LD_{50}$  das frações leitosas poderiam ser calculadas para *T. serrulatus* como sendo de 0,15 gamas a 0,3 gamas na veia e por via subcutânea e em *T. bahiensis* de 0,25 a 0,32 na veia e 0,35 a 0,45 gamas subcutaneamente por grama de camundongo.

Num acidente real por picada de escorpião, entretanto, é sempre arrojada em primeiro lugar a fração hialina da peçonha. Quase sempre o aracnídeo tenta diversos golpes com seu dardo, de maneira que são injetadas também as frações opalescentes e, finalmente, as leitosas. Quanto maior fôr, portanto, o número de picadas, mais intenso será o envenenamento do acidentado, não somente em virtude da maior quantidade de peçonha arrojada mas também em razão dos diversos componentes ativos da peçonha total.

Sem querer divagar pelo terreno especulativo em casos de acidentes humanos por envenenamento escorpiônico, cremos poder afirmar que é quase sempre inoculada a peçonha total nos acidentes graves e de média gravidade.

Das titulações das frações hialinas e leitosas em camundongos ressalta também o seguinte: — Em *T. bahiensis* a  $DL_{50}$  por via subcutânea é o dôbro da por via endovenosa e em *T. serrulatus* também quase o dôbro, no veneno hialino, ao passo que no leitoso as mesmas quantidades de peçonha são, aproximadamente, de potência igual por via venosa e por via subcutânea.

Quanto à *sintomatologia* do envenenamento parece-nos que ambas as frações sejam igualmente atuantes sobre o sistema nervoso central, sobre o bulbo, com destruição bulbar e das funções vegetativas dos neurônios bulbares, como já foi demonstrado por diversos pesquisadores, como O. Magalhães (3).

A incrível *rapidez de ação* bulbar, que já se verifica em camundongos dentro de alguns minutos, mesmo por via subcutânea, e no homem também dentro de 15 a 30 minutos (O. Magalhães), é comum às frações hialinas e leitosas, bem como a *eliminação rápida* pelo organismo e o restabelecimento à normalidade já dentro de algumas horas, quando as doses de peçonha forem subletais.

Observamos igualmente que os sintomas *dôr* e a *sudorese* dos camundongos eram os mesmos nas duas frações. Na sintomatologia humana elas já foram descritas minuciosamente por O. Magalhães, insistindo este autor, em 1935, que existe no bulbo cerebral um centro de secreção sudorípara, na região do 4.º ventrículo bulbar e que este é prejudicado em suas funções normais.

Não, sem razão, poder-se-ia, portanto, deduzir que provavelmente existem as mesmas substâncias tóxicas nas frações hialinas e leitosas ou elementos diversos, mas com ação idêntica sobre o bulbo cerebral e com a mesma rapidez de ataque e eliminação.

Creemos também que existam as mesmas substâncias venenosas em ambas as frações, mas estamos inclinados, além disso, a suspeitar da presença de elementos diferentes, de igual ação cerebral (aspecto fotomicrográfico diferente das duas frações e do grau de toxicidade diferente, principalmente na via subcutânea da fração hialina). Para avaliar devidamente esta nossa opinião deve-se ter em mente que as titulações sempre foram feitas com veneno seco, de peso constante. No caso da fração hialina, portanto, correspondia o veneno seco principalmente às configurações cristalóides da fotomicrografia, enquanto que o veneno seco leitoso tem aspecto granular.

Este ponto precisa ainda de melhor estudo, também pelo lado químico e fisiológico.

Não queríamos abandonar este capítulo sem estabelecer um quadro de *toxicidade comparada* entre os dois escorpiões do Brasil e outros representantes perigosos em outros continentes e países, como *Centruroides gracilis*, *noxius*, *suffusus* e *limpidus* do México e *Buthus occitanus*, *B. quinquestriatus*, *Prionurus australis* e *amoreuxi* do Norte da África e Palestina.

De todas estas espécies, inclusive as nossas duas, constam documentadamente casos humanos fatais pelo envenenamento.

Infelizmente não possuímos dados sobre DL<sub>50</sub> % em camundongos ou outros animais de laboratório, feitos com veneno seco, de peso constante.

Apenas Tetsch, e Wolff, (7) titularam exatamente a peçonha de um escorpião da Síria, sem dizerem a espécie, com uma DL<sub>50</sub> % por grama de camundongo em torno de 0,9 gamas.

E. Sergent, estabeleceu em, 1935, as doses mínimas mortais para camundongos, via subcutânea, como sendo de 1 glândula em *Buthus occitanus*, 0,30 glândula em *Buthus arenicola* e 0,05 glândula em *Prionurus australis*. Já anteriormente houve dosagens da mínima letal. Segundo Calmette 0,5 mg de um escorpião africano mata um cobaio; segundo Kubota 0,015 mg de um escorpião mexicano mata um camundongo. Phisalix e de Varigny dão 0,1 até 0,2 mg de *Buthus australis* como suficientes para matar cobaio; enquanto que C. Phisalix consegue matar cobaios com doses que variavam entre 0,14 a 0,5 mg, estabelecendo como mínima letal 0,1 mg.

Em *Buthus quinquestriatus* foi igualmente estabelecida a dose mínima letal por kg de cobaio como sendo 0,1 mg.

Infelizmente, ou não foi identificada a espécie, ou não se dosava a mortal 50%, ou ainda não se empregava veneno seco, de maneira que os dados acima não justificam em absoluto a afirmação de H. Maurano, de que a toxicidade de *T. bahiensis* (ele não conhecia ainda o *T. serrulatus* como espécie própria, embora tenha trabalhado com ela, misturando os dois venenos, provavelmente), era fraca em comparação com a de *B. occitanus* e *B. quinquestriatus*.

## CONCLUSÕES

A peçonha de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* pode ser retirada manualmente ou por excitação elétrica cada 15 ou 20 dias, de escorpiões mantidos em viveiros.

Esta peçonha pode ser seca facilmente em vácuo e guardada em estado de pó branco em vácuo, no escuro, sobre cloreto de cálcio, sem perda de atividade.

Com o veneno seco podem-se titular as  $DL_{50}$  %, mas é mister repetir-se sempre a titulação toda vez que se assume novo veneno, porque cada estoque, mesmo da mesma espécie, pode ter atividade um tanto diferente.

Para dosagens rigorosas e determinações exatas da atividade das peçonhas escorpiônicas recomenda-se colher em separado as gotículas límpidas e as últimas leitosas; secá-las à parte e titulá-las separadamente.

As  $DL_{50}$  % de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* têm-se mostrado diferentes no veneno hialino e no veneno leitoso, menores no último e mais uniformes, maiores e mais discordantes no primeiro.

O *Tityus serrulatus* é, mais ou menos, duas vezes mais venenoso do que o *T. bahiensis* — fato este que se deve principalmente à particularidade biológica de, em geral, o *T. serrulatus* ter muito menos veneno hialino do que o *T. bahiensis* e de inocular já na primeira agulhoada veneno chamado opalescente (granular).

A inoculação de simples veneno límpido, hialino, como pode acontecer facilmente com *T. bahiensis* (com  $DL_{50}$  % subcutânea para camundongos entre 4 a 25 gamas por grama) determina no homem, em geral, apenas dor ligeira, mas não intoxicação grave.

As peçonhas de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* são de rápida eliminação, devendo verificar-se as melhoras no homem já depois de 6 a 8 horas, via de regra, quando forem apenas arrojadas doses sub-letais.

Casos de morte de pessoa adulta por picada de *T. serrulatus* e ainda mais por *T. bahiensis* constituem raras exceções entre o número de acidentados, mas podem acontecer.

Para indivíduos de pouco peso (crianças até 10 ou 15 kg) podem os acidentes escorpiônicos revestir-se de gravidade e terminar mesmo com a morte.

Dada a rapidez da ação da peçonha, deve-se instalar a soroterapia já dentro de meia a 1 hora, o mais tardar, nos casos graves, dada a irreversibilidade das lesões bulbares nas doses letais.

## RESUMO

Demonstra-se que, quando se extraem as peçonhas do *Tityus serrulatus* e do *T. bahiensis*, o aspecto das primeiras gotículas de veneno é de uma substância transparente, hialina, principalmente em *T. bahiensis*.

As gotículas seguintes têm aspecto mais *turvo*, *opalescente* e as últimas gotas apresentam *aspecto leitoso* e são de consistência *espessa*.

Estas frações do veneno líquido podem ser separadas melhor na simples extração, feita à mão; na extração pelo choque elétrico elas se misturam, sendo o primeiro jorro, mais límpido, seguido por veneno leitoso.

No *T. serrulatus* muitas vezes já as primeiras gotas têm aspecto opalescente.

Na secagem do veneno líquido em vácuo, sobre cloreto de cálcio, obtêm-se dos 3 tipos de veneno um pó amorfo, esbranquiçado, com leve tonalidade para o amarelo. O pó proveniente do veneno hialino é muito higroscópico e dissolve-se facilmente em salina, enquanto que o proveniente do leitoso, espesso, é bem menos solúvel em salina, sobrando mesmo uma boa quantidade de substâncias não solúveis.

A ação dos dois venenos sobre o camundongo é *rapidíssima*. Quando injetados na *veia*, em quantidades acima de LD<sub>50</sub>, sucumbem os animais já dentro de segundos, minutos ou nas primeiras 2 horas, conforme as diversas concentrações do veneno. Os sintomas são preponderantemente nervosos, cerebrais, com pronunciada hipersecreção das glândulas salivares, aumento da diurese, dispnéia e paresias. A sudorese, que principia na nuca, é invariavelmente tão alta que os camundongos, ao morrerem, estão tão molhados que parecem ter saído de um banho geral. O tetanismo post mortem é imediato.

Os animais, com quantidades de peçonha abaixo da LD<sub>50</sub>, têm sudorese menor ou mesmo só circunscrita à região da nuca e melhoram após 2 horas, normalizando-se completamente dentro de 4-5 horas.

Nas injeções *subcutâneas* repetem-se os mesmos sintomas de intoxicação como na *veia*. Como elemento novo acresce a sintomatologia da dor, traduzida nos camundongos por irritabilidade, agressão mútua, pulos desordenados e gritos agudos, até que sobrevenha a prostração e sudorese, com dispnéia e paralisia progressiva. A morte é novamente muito rápida, ocorrendo dentro de 4 horas no máximo. Depois deste tempo os animais restabelecem-se aos poucos, estando normais depois de 7-8 horas.

É demonstrado ainda que, pelo menos nas frações que, por comodidade de expressão chamamos de leitosas, espessas, a LD<sub>50</sub> venosa não difere quase da LD<sub>50</sub> subcutânea, o que não soe acontecer com outros venenos animais, por exemplo, venenos de *Crotalus terrificus* ou das serpentes botrópicas.

O autor empregou na determinação de LD<sub>50</sub> o método descrito por Reed e Muench (4). De cada veneno seco das duas espécies foram feitas desde 1951 até Maio de 1953 nada menos de 24 dosagens, 12 intravenosas e 12 subcutâneas. Os camundongos eram dos biotérios do Instituto e pesavam 20 gramas cada um.

Sem querer discutir a natureza do veneno sêco, foi êste separado em 3 porções, o proveniente das gotículas hialinas, transparentes, o proveniente de gotas opalescentes e o das gotas leitosas, brancas, espessas.

Cada uma desta 3 partidas foi injetada na veia e subcutâneamente, fornecendo as seguintes LD<sub>50</sub> por grama de camundongo:

| <i>T. serrulatus</i> | veia           | subcut.        |                |
|----------------------|----------------|----------------|----------------|
|                      | 1,2-1,6 gamas  | 1,8-2,2 gamas  | veneno límpido |
|                      | 0,9-1,1 "      | 0,9-1,4 "      | " opalescente  |
|                      | 0,29-0,58 "    | 0,3-0,62 "     | " leitoso      |
| <i>T. bahiensis</i>  |                |                |                |
|                      | 2,0-11,0 gamas | 4,0-25,0 gamas | veneno límpido |
|                      | 0,9-2,0 "      | 2,0- 4,0 "     | " opalescente  |
|                      | 0,5-0,65 "     | 0,7- 0,9 "     | " leitoso      |

Dêstes protocolos pode inferir-se: 1.<sup>o</sup> que o veneno "leitoso" é o mais ativo nas duas espécies, não diferindo quase a dose venosa da subcutânea; 2.<sup>o</sup> que o veneno do *T. serrulatus* é, em linha geral, duas vezes mais ativo do que o do *T. bahiensis*; 3.<sup>o</sup> que na peçonha, proveniente da fração de aspecto límpido, transparente (mais comum em *T. bahiensis*) a LD<sub>50</sub> subcutânea é geralmente o dôbro da LD<sub>50</sub> venosa e que esta última fração, principalmente em *T. bahiensis*, está sujeita a gradações de intensidade de ação bem marcadas (4 gamas até 25 gamas subcutâneas ou 2 gamas e 11 gamas venosas).

Demonstra-se ainda que as diferenças na LD<sub>50</sub> são menores em *T. serrulatus* do que em *T. bahiensis*. Não há diferença quase na chamada fração leitosa nas duas espécies. A diferença de atividade da peçonha escorpionica, particularmente em *T. bahiensis*, corre por conta do chamado veneno límpido, hialino.

Tomando-se em conta as quantidades máximas, médias e mínimas, que podem ser injetadas numa picada por um dêstes escorpiões e que foram calculadas pelo autor, em outro trabalho, como sendo de 3 mg, 0,3 mg e 0 mg, respectivamente, então chega-se à conclusão de que, em vista das LD<sub>50</sub>, êstes escorpiões poderiam matar até 7 ou 10 kg de camundongo, devendo considerar-se que o organismo humano é ainda mais sensível.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Nimmt man den beiden giftigsten Skorpionen Brasiliens, *Tityus serrulatus* und *T. bahiensis* das Gift ab, so erscheinen die ersten Tropfen meistens als

klare Flüssigkeit, die nächsten haben trübes Aussehen und die letzten sind milchig und zähflüssig.

Während das bei *T. bahiensis* fast die Regel ist, kommen bei *serrulatus* oft die ersten Tropfen schon trübe heraus.

Von beiden Arten wurden diese drei Giftflüssigkeiten getrennt abgenommen, dann im Vakuum getrennt getrocknet. Alle drei geben einen weisslichen Staub, der sich im Vakuum, über Kalziumchlorit sehr lange erhält, ohne seine Wirksamkeit zu verlieren.

Der Staub der klaren Giftflüssigkeit ist sehr hygroskopisch und lässt sich sehr leicht vollständig in physiologischer Kochsalzlösung lösen, während der des milchigen Giftes viel weniger löslich ist und fast die Hälfte seines Gewichtes als unlöslicher Rückstand abzentrifugiert werden kann.

Beide Trockengifte zeigen eine äusserst schnelle Wirkung auf die Mäuse. Bei intravenöser Verabreichung sterben die Tiere schon in Sekunden, Minuten oder innerhalb zwei Stunden, ja nachdem die Giftmengen über der Dosis laethalis media (LD 50 %) liegen. Die Vergiftungserscheinungen liegen ausgesprochen im Gehirn (Nervengifte), mit zunehmender Steigerung der Speicheldrüsen und Schweissdrüsentätigkeit (deren regulierende Zentren im Gehirne liegen). Blindheit, Tränenfluss, Nackenlähmung, Dispnoe und Atmungslähmung treten dann auf, bis der Erstickungstod die nun ganz von Schweiss gebadeten Tiere erlöst. Nach dem Tode tritt eine vollkommene tetanische Rigidität ein.

Erhalten die Tiere kleinere, unter der 50 prozentigen tödlichen Menge liegende Dosen, bleibt der Schweissfluss meist nur auf die Nackenregion beschränkt, mit mehr oder minderer Vergiftungsbeteiligung auf nervöser Basis und die Tiere erholen sich schon innerhalb von 2 Stunden und sind nach 4-5 Stunden wieder normal.

Bei subcutanen Injektionen wiederholen sich die gleichen Symptome, auch zeitlich, mit Todeseintritt innerhalb von Minuten bis spätestens 4 Stunden oder Erholung und vollständige Genesung nach 4 Stunden respektive 7-8 Stunden.

Bei den Skorpiongiften der beiden Arten konnten wir feststellen, dass die subkutane Verabreichung mengenmässig und zeitlich hinter der venösen Einverleibung kaum zurückbleibt, was als Neuheit unter den tierischen Giften zu bezeichnen ist, da doch bei den meisten Schlangengiften, zum Beispiel, die subcutanen Dosen oft das 4-6 fache der intravenösen sein müssen, um die gleichen Vergiftungserscheinungen hervorzurufen.

Zur exakten Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis (DL<sub>50</sub>) wandten wir weisse Mäuse an. Alle von 20 Gramm Gewicht. Die Lösungen wurden intravenös und subcutan gespritzt, intravenös mit je einem halben Kubikzentimeter und subcutan mit drei zehntel.

Sowohl bei *T. serrulatus* als auch bei *T. bahiensis* wurden die transparenten, die trüben und die milchigen Gifte getrennt im Vakuum getrocknet und von jeder so gewonnenen Giftart je drei Lösungen hergestellt (mit physiologischer Kochsalslösung).

Seit 1951 bis Mai 1953 wurden so von jeder Giftart je 12 Dosierungen vorgenommen, intravenös und subcutan, zusammen 24 Dosierungen. Jede Dosierung basierte auf 7 Verdünnungen der Stammlösung und bei jeder Verdünnung wurden 5-10 gleichschwere Mäuse benutzt, also 35 bis 70 Mäuse pro Versuch.

Die Ergebnisse der Titulierung der LD<sub>50</sub>% sind pro Gramm Maus:

| <i>T. serrulatus</i> | intravenös       | subcutan         | Giftart            |
|----------------------|------------------|------------------|--------------------|
|                      | 0,0012-0,0016 mg | 0,0018-0,0022 mg | klares Flüssigkeit |
|                      | 0,0009-0,0011 mg | 0,0009-0,0014 mg | trübe "            |
|                      | 0,0003-0,0005 mg | 0,0003-0,0006 mg | milchige *         |
| <i>T. bahiensis</i>  |                  |                  |                    |
|                      | 0,0020-0,0111 mg | 0,0040-0,0250 mg | klare Flüssigkeit  |
|                      | 0,0009-0,0020 mg | 0,0020-0,0040 mg | trübe "            |
|                      | 0,0005-0,0006 mg | 0,0007-0,0009 mg | milchige *         |

Aus der Tabelle kann man sehen: — 1°. Dass das Trockengift von der milchigen Fraktion, die als letzte bei der Giftentnahme erscheint, die wirksamste ist, wobei die venösen Mengen von den subcutanen kaum verschieden sind; 2°. Dass das Gift von *T. serrulatus* im allgemeinen 2 mal wirksamer als das von *T. bahiensis* ist; 3°. Dass das aus der klaren Flüssigkeit gewonnene Gift, besonders bei *T. bahiensis*, weit weniger einheitlich ist und dass subcutan eine doppelte Menge der intravenösen nötig ist zum gleichen Vergiftungseffekt; 4°. Je milchiger das Gift, um so einheitlicher und stärker, je klarer, um so schwächer.

Da wir in einer anderen Arbeit dargelegt haben, dass die maximalen, mittleren und minimalen Trockengiftmengen, die bei einem Stich eingespritzt werden können, um 3 mg, 0,3 mg und 0 mg liegen können, ist leicht zu sehen, dass 7-10 kg Maus eventuell von einem Skorpion getötet werden können, dass also menschliche Todesfälle, besonders von Kindern von 10 bis 20 kg Gewicht, vorkommen können und auch tatsächlich sich ereignen. Todesfälle Erwachsener kommen vor, sind aber selten.

### SUMMARY

It is shown that on extracting the venoms of *Tityus serrulatus* and *T. bahiensis* the first drops form a substance of transparent, *hyaline* aspect, principally in the case of *T. bahiensis*. The subsequent drops have a more turbid, *opalescent* appearance and the last drops of venom are *milky* and viscous.

These fractions of the liquid venom may best be separated by simple "manual" extraction; during the extraction by the "electric shock method" they get mixed generally, the first issue being clearer, followed by opalescent and milky venom.

With the *T. serrulatus* quite frequently even the first drops have an opalescent appearance.

By drying the liquid venom under vacuum, over calcium chloride, the 3 types of venom yield an amorphous whitish powder with a slight yellow tinge. The dry residue of the hyaline venom is very hygroscopic and dissolves easily in saline solution, whereas that from the milky, viscous venom is less soluble and leaves a considerable quantity of insoluble material.

The action of these two venoms on mice is extremely rapid. When quantities above the  $LD_{50}$  are injected intravenously, the animals die within seconds, minutes or the first two hours, according to the various concentrations of the venom. The symptoms are nervous, cerebral, with pronounced hypersecretion of the salivary and lacrimaly glands, increased diuresis, dyspnoia and paresy. Sweating which begins at the neck becomes unvariably so intense that the dying mice are so drenched as if they had just come out of a bath. Post mortem tetanism sets in immediately.

The animals with venom doses below the  $LD_{50}$  showed a limited degree of sweating in the neck region only and recovered after two hours, with complete normalization within 4 to 5 hours.

On subcutaneous injections the symptoms of intoxication are the same as when the venom is administered intravenously. There enters, however, the symptomatology of pain as a new element which becomes evident by the irritability of the mice, their mutual aggressivity, disorderly leaps and shrieks, until they are overcome by prostration and sudoresis, dyspnea and progressive paralysis. Death follows rapidly within 4 hours at the utmost. Any survivors after this time recover gradually and become normal already after 7 to 8 hours.

It is further shown that, at least with the so-called milky, viscous venom fractions, there is hardly any difference between the intravenous and

subcutaneous LD<sub>50</sub>, contrary to what is observed with other animal poisons, as for example with venoms from *Crotalus terrificus* or the bothropic snakes.

For determining the LD<sub>50</sub> the author used method described by Reed and Muench. Every batch of venom from the two species was submitted to not less than 24 evaluations, 12 by the intravenous and 12 by the subcutaneous route, between 1951 and May of 1953. The mice came from the animal rooms of the Instituto Butantan and had a weight of 20 g.

Without entering into a discussion about its nature, the dried venom was separated into 3 portions, one from the hyaline droplets, another from the opalescent drops and the third from the milky, viscous venom. Each of these 3 lots was injected intravenously and subcutaneously, giving the following LD<sub>50</sub> per gramme mouse:

| <i>T. serrulatus</i> | intravenous     | subcutaneous    | venom type       |
|----------------------|-----------------|-----------------|------------------|
|                      | 1,2-1,6 gammas  | 1,8-2,2 gammas  | clear venom      |
|                      | 0,9-1,1 "       | 0,9-1,4 "       | opalescent venom |
|                      | 0,3-0,58 "      | 0,3-0,62 "      | milky venom      |
| <i>T. bahiensis</i>  | 2,0-11,0 gammas | 4,0-25,0 gammas | clear venom      |
|                      | 0,9-2,0 "       | 2,0- 4,0 "      | opalescent venom |
|                      | 0,5-0,65 "      | 0,7- 0,9 "      | milky venom      |

From these results it may be concluded that: 1-the milky venom is the more active in both species, and its intravenous dose hardly differs from the subcutaneous one; 2- the venom of *T. serrulatus* is, on the whole, twice as active as that of *T. bahiensis*; 3- the subcutaneous LD<sub>50</sub> of the venom from the clear, hyaline fraction (which is more common in *T. bahiensis*) is usually twice as large as the intravenous LD<sub>50</sub>, this venom fraction, especially in the *T. bahiensis*, being subject marked variations of intensivity (4 to 25 gammas subcutaneously or 2 to 11 gammas intravenously).

It is further shown that the difference in the LD<sub>50</sub> is smaller in *T. serrulatus* than in *T. bahiensis*. There is hardly any difference in the so-called milky fractions of the two species. The different activity of scorpion venom, particularly in *T. bahiensis*, may be attributed to the so-called hyaline clear fraction.

Considering the maximum, mean and minimum amounts which could be injected by the generally repeated stings of one of these scorpions and which had been calculated by the author, in another publication, as 3 mg, 0,3 mg and

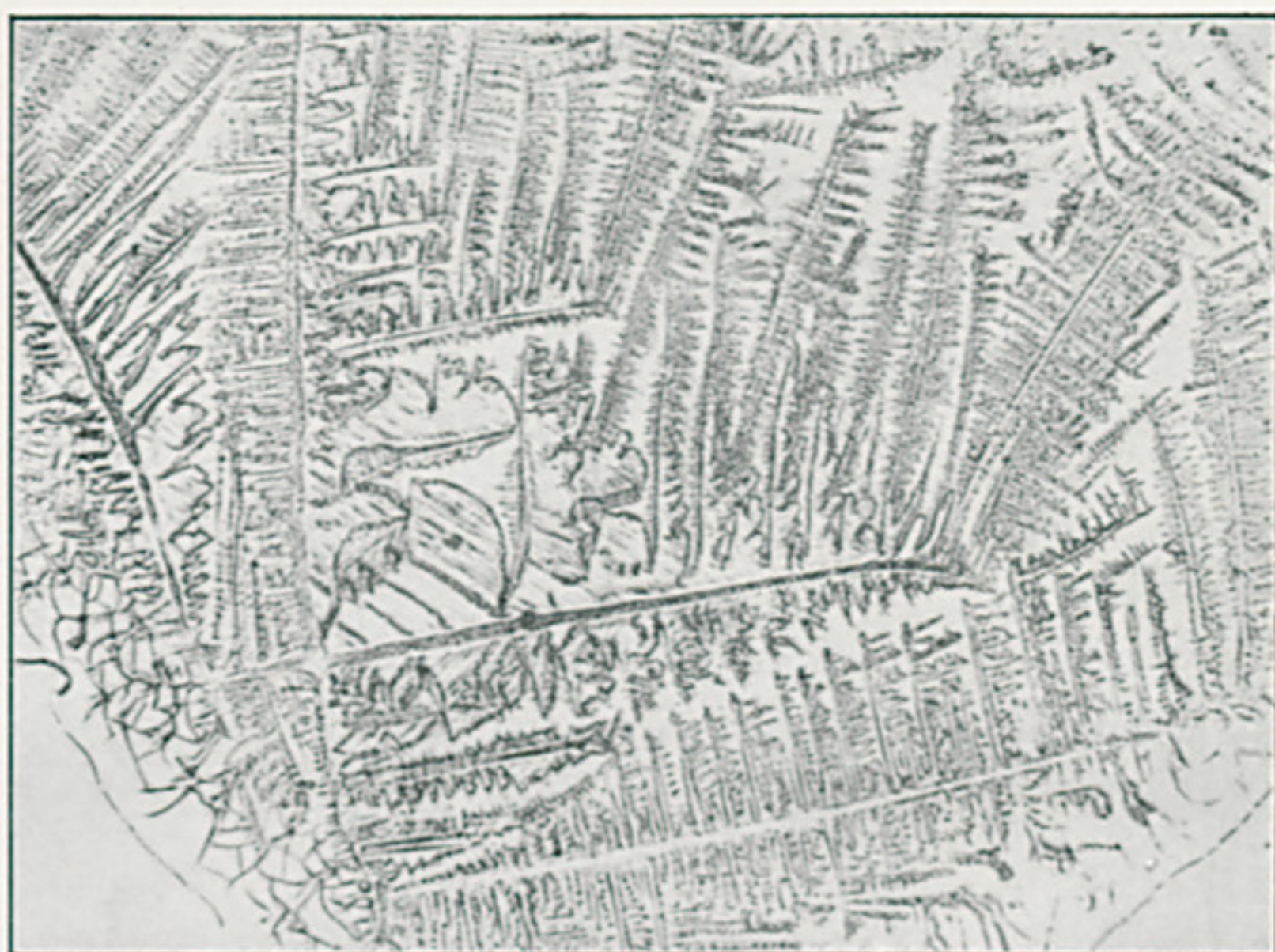
0 mg respectively, the conclusion may be drawn that in view of the LD<sub>50</sub> these scorpions are able to kill 7 or 10 kg of mouse, keeping in mind that the human organism is even more sensitive.

*Agradecimentos:* Agradecemos aos auxiliares do Laboratório de Animais Peçonhentos do Instituto Butantan a valiosa colaboração. O sr. José Navas, as srtas. Laurinda Pucci e Luzia Seabra ajudaram na alimentação e na retirada das peçonhas dos escorpiões; a srta. Nicolina Pucca prestou eficiente colaboração nas pesagens e nas titulações das peçonhas e o sr. Francisco Rocha Nobre colaborou nas necrópsias e nos cortes histológicos dos animais mortos pelo veneno escorpiônico. Ao sr. Seixas, fotógrafo do Instituto, os nossos agradecimentos pelas fotomicrografias.

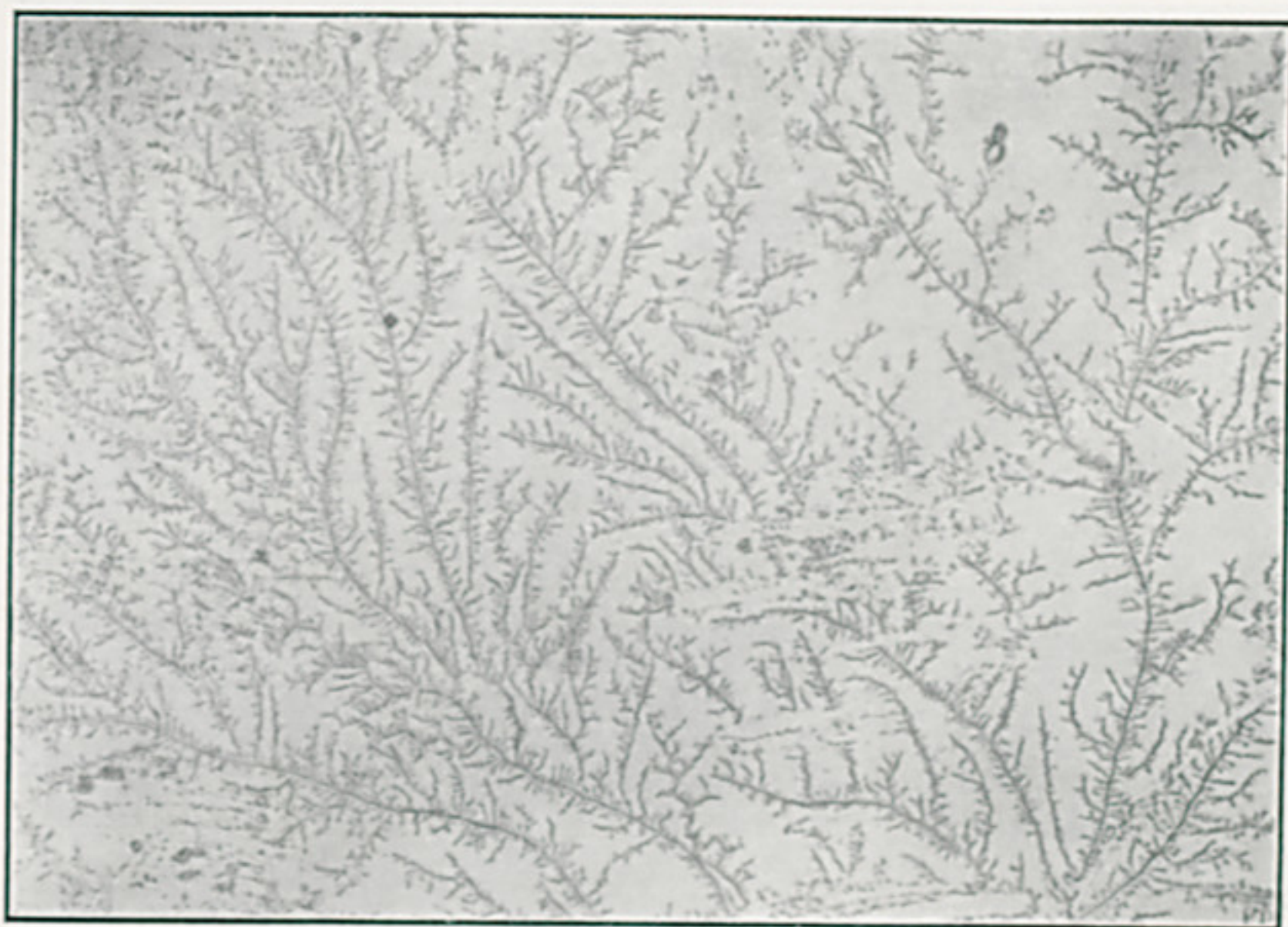
#### BIBLIOGRAFIA

1. Maurano, H. — *Do Escorpionismo*, Tese Fac. Med. Rio de Janeiro, 1915.
2. Brazil, V. — *Mem. apres. ao VI.º Congr. Brasileiro Med. e Cir., S. Paulo, 1907; Rev. Med. de S. Paulo* 10: 385-390, 1907; *Mem. Inst. Butantan* 1: 47-52, 1918.
3. Magalhães, O. de — *O Hospital* 21: 709-723, 942; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 21: 5-155, 1928; *Anais Fac. Med. Belo Horizonte* 4: 1-52, 1935; *ibidem* 1: 69-111, 1929.  
*Magalhães, O. de & Tupinambá, A. — O Hospital* 17: 77-95, 1940.  
*Magalhães, O. de & Guimarães, E. — Mem. Inst. Ezequiel Dias, Belo Horizonte*, 3-4: 139-194, 1939-40.
4. Reed, L. J. & Muench, H. — *Amer. J. Hyg.* 27: 493-497, 1938.
5. Martins, A. Vianna — *Brasil-Medico* 57: 248-251, 1943.
6. Phisalix, M. & De Varigny — *Bull. Mus. Hist. Nat.* 2: 67, 1866.
7. Tetsch, Chr. & Wolff, K. — *Biochem. Zeitschr.* 290: 394-397, 1937.

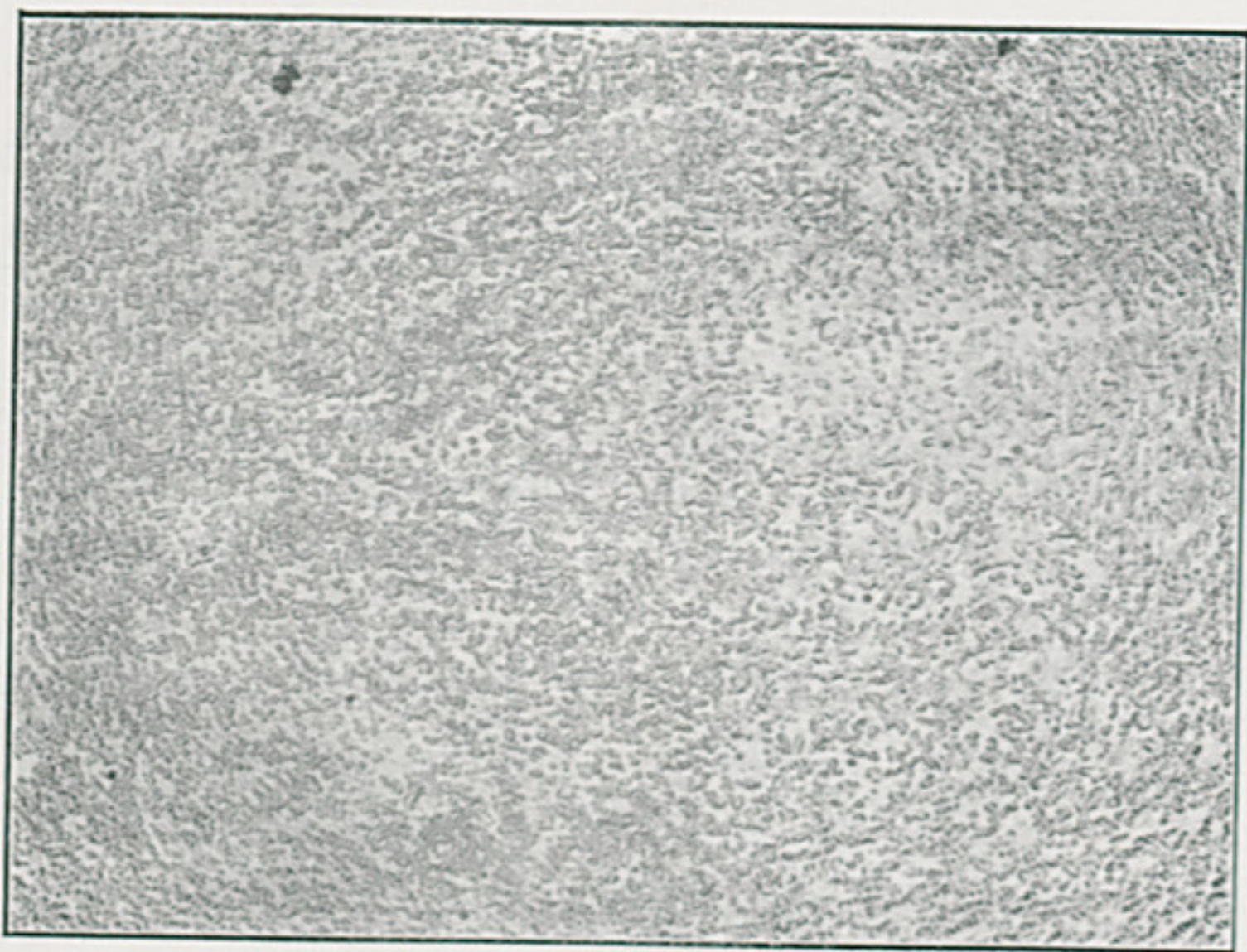




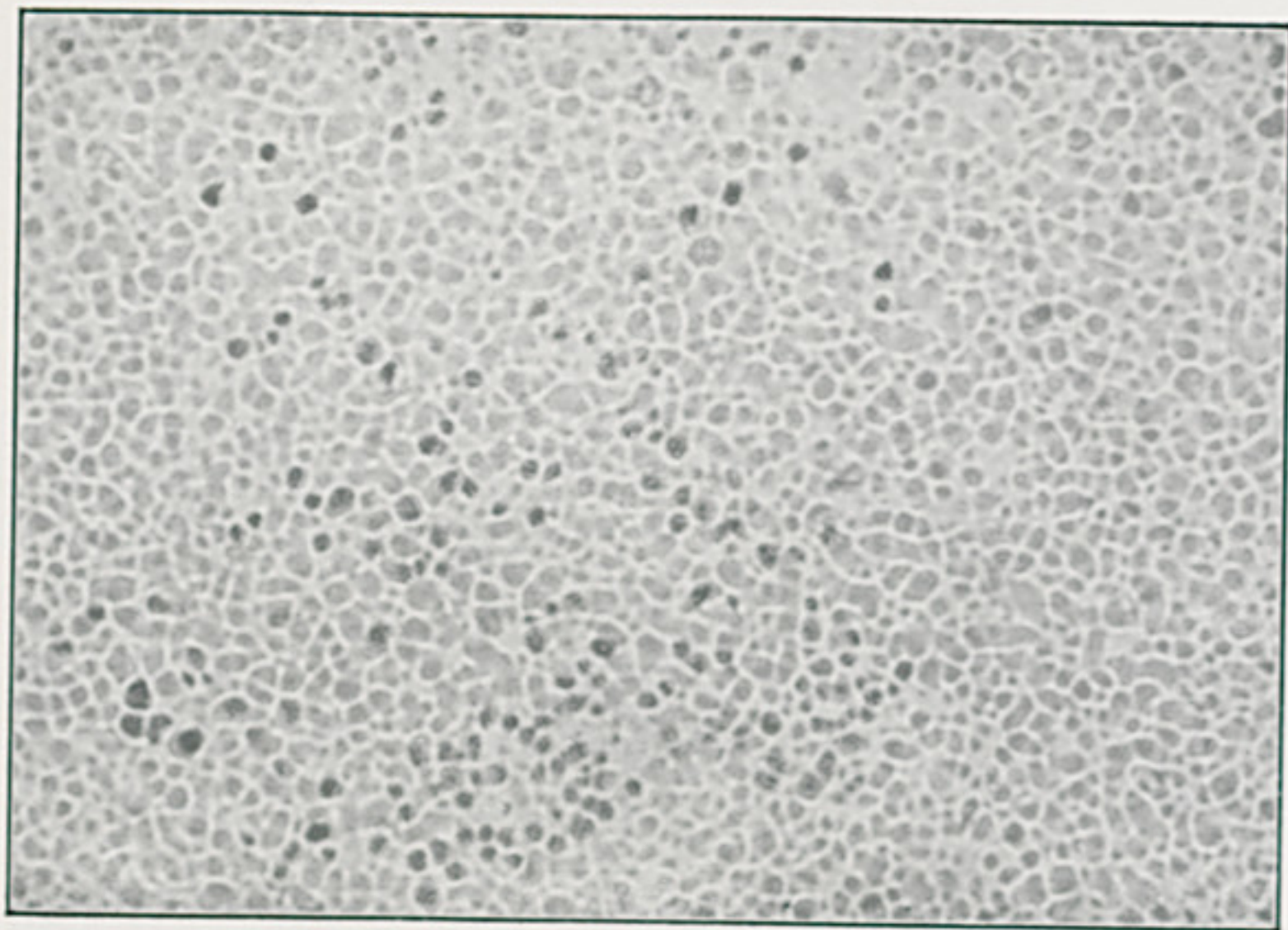
Fotomicrografia. 1: — *T. bahiensis* — Veneno hialino (300 vezes)



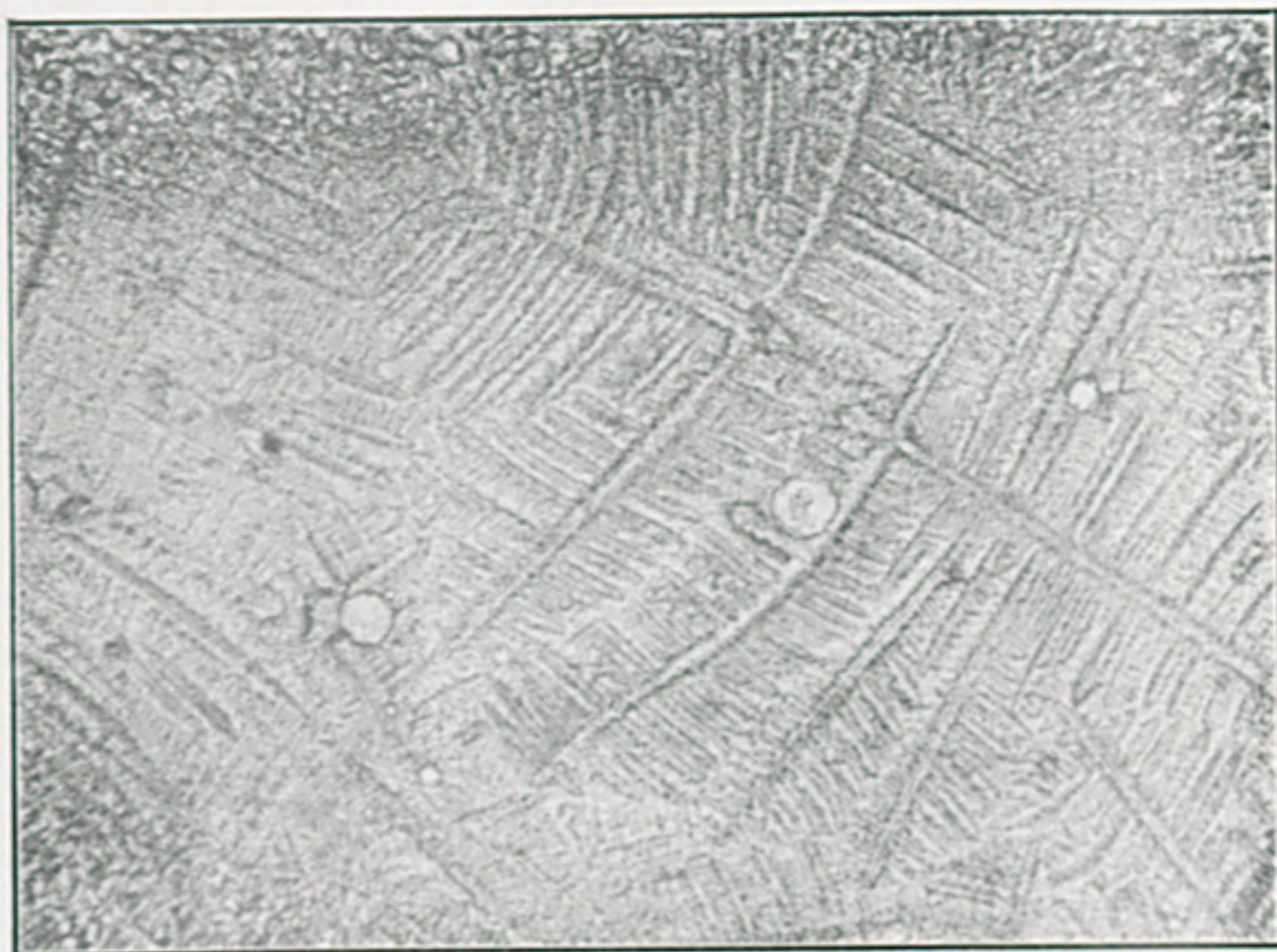
Fotomicrografia, 2: — *T. bahiensis* — Veneno hialino, esfregaço — (300 vezes.)



Fotomicrografia 3: — *T. bahiensis* — Veneno leitoso (300 vezes)



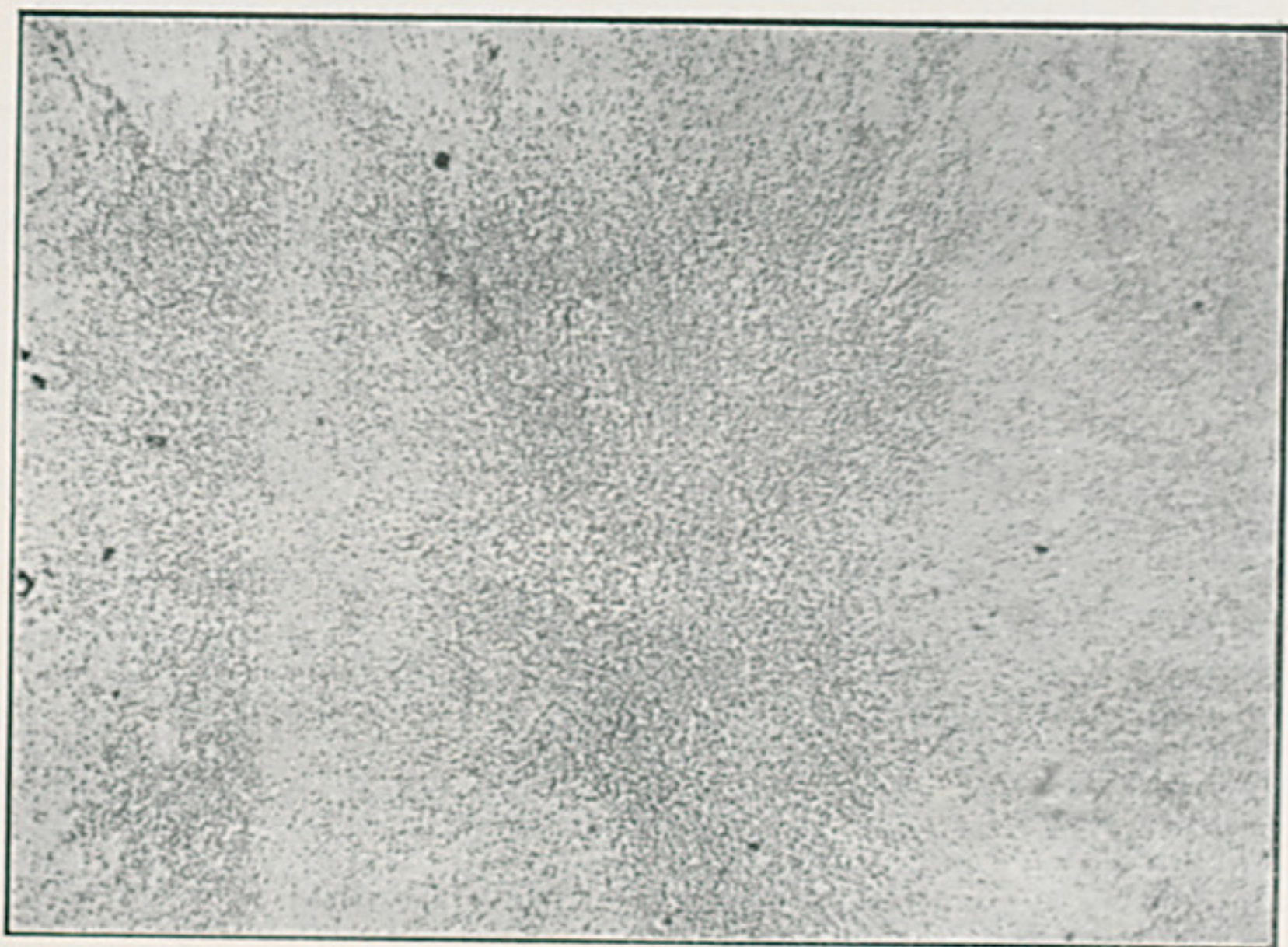
Fotomicrografia 4: — Veneno leitoso (900 vezes)



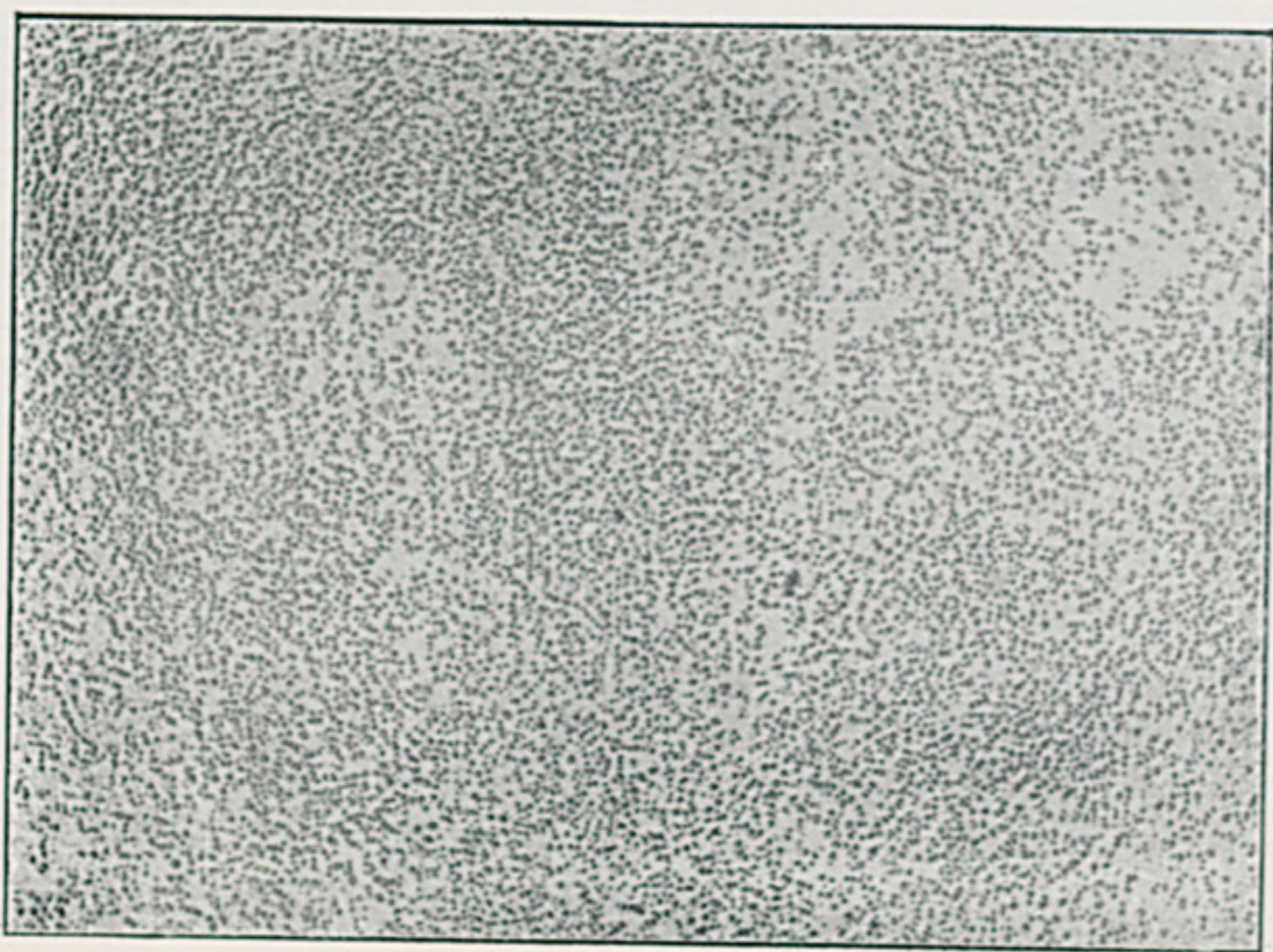
Fotomicrografia 5: — *T. serrulatus* — Veneno hialino (300 vezes)



Fotomicrografia 5: — *T. serrulatus* — Veneno hialino (300 vezes)



Fotomicrografia 6a: — *T. serrulatus* — Veneno leitoso (600 vezes)



Fotomicrografia 6: — *T. serrulatus* — Veneno leitoso (900 vezes)