

HEMAGLUTININAS NOS VENENOS DE SERPENTES SULAMERICANAS

POR F. W. EICHBAUM

(Do Laboratório de Bacteriologia do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil)

A atividade hemolítica de certos venenos ofídicos tem sido objeto de cuidadosos trabalhos, o mesmo não ocorrendo com o poder hemaglutinante destas substâncias cuja bibliografia é relativamente escassa.

Os primeiros autores (Weir-Mitchell; Lacerda, 1860) que observaram um "fusionamento" das hemátias em contato com os venenos, aparentemente ainda não distinguiram bem os fenômenos da aglutinação e da hemólise (Phisalix). Só nos trabalhos posteriores de Flexner e Noguchi (1), Noc (8) e outros (4, 5, 6, 9, 10,) foi feita uma distinção entre o poder hemaglutinante e hemolisante dos venenos ofídicos. Houssay & Negrette (2) classificaram os diversos venenos de acordo com o seu poder aglutinante na ordem seguinte: *Ancistrodon blomhoffi*, *L. jararacussu*, *L. lanceolatus*, *L. neuwiedii*, *L. atrox*, *Ancistrodon piscivorus*, *L. alternatus*, *Bitngarus fasciatus*, *L. ammodytoides*. Nos demais venenos (não enumerados pelos autores) não foram obtidas reações bem nítidas, si bem que muitos deles, em concentrações fortes, tivessem aquela propriedade. Os glóbulos mais aglutináveis eram os de coelho, depois os de homem, carneiro, cavalo e cobaia. O aquecimento a 70 graus destruiu o poder aglutinante de *L. alternata*.

Kitijima (3) verificou também uma destruição da ação aglutinante do veneno de *Lachesis trimeresurus* pelo aquecimento a 70 graus durante meia hora, processo que não alterava a atividade das hemolisinas. Michel (7) conseguiu separar a fração aglutinante da fração tóxica e hemolisante do veneno de *Crotalus adamanteus*, passando o veneno por um filtro coloidal que reteve em primeiro lugar as aglutininas.

O presente estudo que abrange as observações em 9 espécies de serpentes venenosas brasileiras e uma espécie de Costa Rica, revela a existência de grandes diferenças quantitativas e qualitativas no poder aglutinante dos seus venenos. O conhecimento dessas diferenças poderia auxiliar a classificação de cer-

tos exemplares morfológicamente próximos, como também auxiliaria na identificação de um veneno de proveniência desconhecida. Citaremos 2 exemplos a título demonstrativo dessas afirmações: 1) um veneno de *Bothrops atrox*, original de Costa Rica não possui poder aglutinante contra hemátias de coelho, de cão, de homem, etc., enquanto que o veneno de *Bothrops atrox* brasileira aglutina fortemente hemátias de coelho. Esta diferença no poder aglutinante entre serpentes tidas como da mesma espécie, corre paralela com a observação de que o veneno original de Costa Rica é mal neutralizado pelos soros antibotrópicos sulamericanos (comunicação pessoal do Dr. J. B. Arantes, subdiretor do Instituto Butantan). Tais fatos parecem sugerir uma revisão da sistemática relativa aos vários representantes de *Bothrops atrox*.

2) Há pouco tempo recebemos no nosso Instituto uma remessa de veneno seco de *Bothrops atrox* (proveniente de Minas Gerais), cuja aparência fazia suspeitar estar o mesmo de mistura, pelo menos em parte, com veneno de outra espécie ofídica. O test de aglutinação revelou uma aglutinação característica para a *Bothrops jararara* (resp. jararacuçu) e não de *B. atrox*. Como mostrarão os protocolos detalhados, tal classificação é possível somente em certos casos; em outros a classificação poderá ser feita por exclusão.

MÉTODOS

Foi testado o poder aglutinante do veneno de 9 espécies ofídicas brasileiras contra as hemátias de 7 espécies de mamalias e 1 espécie de aves, (cf. os protocolos sub-sequentes).

1. Test qualitativo: Aglutinação em lâmina. Uma gota da solução de veneno a 10 mg/cm³ (= 1%) (*) — preparada do veneno seco — era misturada com uma gota da suspensão de hemátias a 10%. Os dois líquidos eram emulsionados com o canto de uma lâmina e os resultados foram lidos 5 minutos após.

2. Test quantitativo: Uma solução de veneno a 1% (10 mg/cm³) foi diluída em progressão geométrica (à razão de 2) e distribuída para 15 tubos de maneira que cada um continha 0,5 cm³ de diluições consecutivas de veneno.

(*) As soluções de veneno a 1% foram preparadas com venenos secos, provenientes da coleção do Instituto. Estes venenos representam misturas de numerosos exemplares pertencentes à mesma espécie, de maneira que eventuais diferenças individuais aqui não aparecem. O veneno obtido em estado seco (seco em estufa a 37 graus) era redissolvido em água fisiológica a 0,9% no caso dos venenos botrópicos; nas demais espécies os venenos eram dissolvidos num pequeno volume de solução salina concentrada de 15-18% e em seguida levados à concentração fisiológica pela adição de água destilada.

O 15º tubo — que serviu como contrôlo — continha unicamente 0.5 cm³ de NaCl fisiol. Esta série de diluição (15 tubos) foi preparada em 8 filas paralelas, correspondendo as 8 espécies de hemátias que foram juntadas em seguida em quantidade de 0,05 cm³ de uma suspensão a 20% para cada tubo.

As leituras de aglutinação foram feitas depois de uma hora à temperatura ambiente e depois de 20 horas na geladeira.

A intensidade da aglutinação foi notada da seguinte maneira:

++++	=	aglutinação fortissima (sobrenadante branco)
+++	=	" forte
++	=	" média
+	=	" fraca
±	=	" duvidosa
0	=	" ausente

Outros fenômenos, como hemólise, que ocorreu principalmente nas concentrações mais fortes dos venenos, ou a transformação da hemoglobina em methe-moglobina, não são registrados nestes protocolos e serão tratados detalhadamente em outra publicação.

Resultados:

I. Test qualitativo (em lâmina)

TABELA I
Agglutinação em lâminas (test qualitativo)

Veneno	Hemátias							
	coelbo	cavalo	cobaia	cão	carneiro	(*) homem	boi	galinha
<i>B. jararaca</i>	++++	o	++	++++	o	++++	++++	o
<i>B. atrox</i>	+++	o	o	o	o	o	o	o
<i>B. jararacussu</i>	++++	o	++	++++	o	++++	++++	o
<i>B. alternata</i>	o	o	o	o	o	o	o	o
<i>B. newwedii</i>	++++	++	++++	++++	++	++++	++++	++
<i>B. itapetiningae</i>	o	o	o	o	o	o	o	o
<i>B. cotiara</i>	±	o	o	o	o	o	o	o
<i>C. terrificus terrificus</i>	±	+	o	o	o	o	o	o
<i>Micrurus frontalis</i> ...	o	o	o	o	o	o	o	+
[<i>B. atrox</i> Costa Rica	o	o	o	o	o	o	o	o]

(*) As hemátias dos 4 grupos sanguíneos são aglutinados da mesma forma.

TABELA II

*Aglutinação em tubos (test quantitativo)**Limite da ação hemaglutinante em γ /cc dos vários venenos (*)*

Resultados depois de 1 hora e de 20 horas

Veneno	H E M A T I A S															
	coelho		cavalo		cobaia		cão		carneiro		boi		homem		galinha	
	1 h	20 h	1 h	20 h	1 h	20 h	1 h	20 h	1 h	20 h	1 h	20 h	1 h	20 h	1 h	20 h
<i>B. jararaca</i>	39	1	—	—	312	78	156	78	—	—	2500	1250	625	78	—	—
<i>B. atrox</i>	1250	312	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5000	—	—
<i>B. jararacussu</i>	4	1	—	—	18.5	2	18.5	2	—	—	312	156	156	78	—	18.5
<i>B. alternata</i>	—	312	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5000
<i>B. newwedii</i>	78	1	156	156	2	1	78	18.5	625	39	312	156	312	312	312	39
<i>B. itapetiningae</i> ...	—	2500	—	—	—	2500	—	—	—	—	—	—	—	10000	—	—
<i>B. cotiara</i>	5000	625	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	156
<i>Crotalus terrificus</i> ..	—	10000	10000	5000	—	10000	—	2500	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Micrurus frontalis</i> ..	10000	625	2500	625	10000	625	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10000

(*) Note-se que o maior poder aglutinante corresponde ao valor mais baixo em γ .

II. Test quantitativo em tubos

A Tabela II dá o título máximo de aglutinação das diferentes hemátias pelos vários venenos.

Como reação positiva (título final) foram consideradas nesta Tabela somente as aglutinações de ++ a +++++, omitindo-se as aglutinações fracas e duvidosas.

Resultado: Nesta Tabela, o número de venenos que aglutinam várias hemátias aparece maior, em comparação com o test qualitativo (Tabela I), especialmente devido a inclusão das aglutinações depois de 20 horas e dos venenos que aglutinam só nas concentrações mais fortes (10 000, 5 000 e 2 500 gamas ou seja nas diluições 1/1 1/2 e 1/4 da sol. de veneno a 1%).

Os venenos de *Bothrops jararaca* e de *Bothrops jararacussu*, que no test qualitativo se comportam iguais, distinguem-se no test quantitativo pela intensidade da reação. Sem um exame comparativo do veneno de vários indivíduos destas duas espécies, não se pode concluir, se esta diferença quantitativa tem alguma significação para distinguir os dois venenos.

A Tabela III dá um exemplo de um protocolo detalhado de um test quantitativo de aglutinação.

Neutralização das aglutíminas dos venenos botrópicos pelo soro anti-Bothrops jararaca

O poder aglutinante do veneno de *Bothrops jararaca* sobre as hemátias de coelho é inibido em presença do soro anti-*Bothrops jararaca*. Como resulta da Tabela seguinte (IV), o poder antiaglutinante de um soro não tem nenhuma relação com o seu poder antineurotóxico (*) (dosado em pombos). Assim, o soro 19 que neutraliza 2,4 mg de veneno (por cada cm³ de soro) possui um poder antiaglutinante 4 vezes menor do que o soro 18 que neutraliza só 2,2 mg.

O soro anti-*Bothrops jararaca* inibe também a aglutinação das hemátias de coelho provocada por outros venenos botrópicos (*B. jararacussu*, *B. atrox* e *B. newwiedii*); ocorre ainda com o mesmo soro um fenômeno interessante, isto é,

(*) Chamamos de poder antineurotóxico aquela qualidade de soro que neutraliza a ação tóxica geral do veneno, manifestando-se nos pombos injetados intravenosamente por espasmos clônicos, geralmente mortais. Deixamos fóra de discussão si este efeito tóxico é causado por uma fração neurotóxica específica ou devido a ação conjunta de vários princípios tóxicos adjuvantes como a histamina libertada, a coagulase, causadora de uma coagulação intravasal, ou ainda outros fatores.

TABELA III

1ção hemaglutinante do veneno de B. jararaca

Tubo No.	Veneno 1% Diluição	Quantidade de veneno (em gamas) por cm³	Aglutinação com hemátias (*) de															
			coelho		cavalo		cobaia		cão		carneiro		boi		homem		galinha	
			depois de															
			60'	20 h	60'	20 h	60'	20 h	60'	20 h	60'	20 h	60'	20 h	60'	20 h	60'	20 h
1	1:1	10 000	++++	++++	o	o	++++	++++	++++	++++	o	o	++++	++++	++++	++++	o	+
2	1:2	5 000	++++	++++	o	o	++++	++++	++++	++++	o	o	++++	++++	++++	++++	o	±
3	1:4	2 500	++++	++++	o	o	++++	++++	++++	++++	o	o	++++	++++	++++	++++	o	o
4	1:8	1 250	++++	++++	o	o	++++	++++	++++	++++	o	o	±	++++	++++	++++	o	o
5	1:16	625	++++	++++	o	o	+++	+++	++++	++++	o	o	o	+++	+++	++++	o	o
6	1:32	312	++++	++++	o	o	++	+++	+++	++++	o	o	o	o	+	++++	o	o
7	1:64	156	+++	++++	o	o	+	++	++	++++	o	o	o	±	o	++++	o	o
8	1:128	78	+++	++++	o	o	+	++	+	+++	o	o	o	o	o	+++	o	o
9	1:256	39	++	++++	o	o	±	+	o	±	o	o	o	o	o	+	o	o
10	1:512	18.5	±	++++	o	o	o	+	o	o	o	o	o	o	o	±	o	o
11	1:1 024	9.25	o	++++	o	o	o	+	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
12	1:2 048	4.125	o	++++	o	o	±	+	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
13	1:4 096	2.06	o	+++	o	o	±	±	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
14	1:8 192	1.03	o	++	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
15	NaCl fisiol.	—	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o

(*) 0,05cc de uma suspensão a 20%.

TABELA IV

Ação inibidora de 4 soros anti-Bothrops jaracaca sobre a aglutinação de hemátias de coelho pelo veneno de Bothrops jararaca

Tubo No.	Veneno 1 mg/cm ³	Hemátias de coelho 2%	NaCl fisiol.	Soro (16, 17, 18 e 19)		Aglutinação depois de 1 hora em presença do soro (temperatura ambiente)			
				Diluição	Quantidade	Soro No. 16 (*) (2,1 mg)	Soro No. 17 (*) (1,9 mg)	Soro No. 18 (*) (2,2 mg)	Soro No. 19 (*) (2,4 mg)
1	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:1	0,25	o	o	o	o
2	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:2	0,25	o	o	o	o
3	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:4	0,25	o	o	o	o
4	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:8	0,25	+	±	o	++
5	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:16	0,25	++	+++	o	++++
6	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:32	0,25	+++	++++	++	++++
7	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:64	0,25	++++	++++	++++	++++
8	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:128	0,25	++++	++++	++++	++++
9	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:250	0,25	++++	++++	++++	++++
10	0,25 cm ³	0,5 cm ³	—	1:512	0,25	++++	++++	++++	++++
11	0,25 cm ³	0,5 cm ³	0,25	—	—	++++	++++	++++	++++
12	—	0,5 cm ³	0,5	—	—	o	o	o	o

(*) Os mg entre parêntesis indicam o poder antineurotóxico por cm³ de soro testado em pombos (técnica de Vital Brazil).

inibe a ação aglutinante do veneno *B. neuwiedii* sobre as hemátias de carneiro (e menos nitidamente, sobre as hemátias de cavalo), muito embora o próprio veneno de *Bothrops jararaca* não possua aglutininas dirigidas contra estas duas espécies de hemátias (Tabela V).

TABELA V

Hemátias	Veneno	Mistura do veneno com:			
		a	b	c	d
		NaCl fis.	Soro normal cavalo (*)	Soro anti- <i>B. jararaca</i> (*)	Soro anti- <i>Cro- talu</i> <i>terri- cus</i> (*)
AGLUTINAÇÃO					
Coelho	<i>B. jararaca</i>	++++	++++	o	++++
Carneiro	<i>B. jararaca</i>	o	o	o	o
Coelho	<i>B. neuwiedii</i>	+++	+++	o	++++
Carneiro	<i>B. neuwiedii</i>	+++	++++	o	+++

(*) Os tubos com soro normal e com soro anticrotálico mostram depois de cerca de 5-10 minutos uma hemólise que interfere com a leitura da aglutinação. Dentro deste intervalo os resultados são bem nítidos. O soro antibotrópico inibe tanto a aglutinação como a hemólise.

A hemaglutinina dos venenos botrópicos como fração separada

Absorção do veneno de *B. jararaca* com hemátias de coelho, de cobaia, de cão ou de homem remove não somente as aglutininas homólogas, mas também as dirigidas contra as três espécies heterólogas (**).

Dai pode-se concluir que as aglutininas ativas contra as hemátias de diferentes espécies constituem, de fato, uma única substância.

O aquecimento do veneno de *Bothrops jararaca* a 60 graus durante 30 minutos destrói completamente o poder aglutinante.

Em seguida procuramos verificar si a aglutinina do veneno de *Bothrops jararaca* representa uma fração distinta dos demais componentes do veneno, a saber: da coagulase, da lecitinase, da neurotoxina e da dermatotoxina. Para este fim comparamos os resultados obtidos com:

a) o veneno absorvido com hemátias de coelho (2cm³ da solução de veneno a 1‰ + 2 cm³ de hemátias de coelho a 20%);

b) veneno tratado com hemátias de cavalo (2 cm³ de veneno a 1‰ + 2 cm³ de hemátias de cavalo a 20%);

c) veneno nativo (2cm³ de veneno a 1‰ + 2 cm³ de água fisiológica):

Nos respectivos testes usaram-se quantias iguais dos sobrenadantes de a e b e do líquido c, que continha a mesma quantidade de veneno por cm³ como a) e b).

TABELA VI

Diluição	Veneno absorvido com hemátias de coelho 5,0 gamas por $\frac{1}{2}$ cm ³ + $\frac{1}{2}$ cm ³ plasma			Veneno nativo 5,0 gamas por $\frac{1}{2}$ cm ³ + $\frac{1}{2}$ cm ³ plasma		
	Coagulação depois de					
	10'	20'	30'	10'	20'	30'
1:1	+	+	+	+	+	+
1:2	+	+	+	+	+	+
1:4	+	+	+	+	+	+
1:8	+	+	+	+	+	+
1:16	+	+	+	+	+	+
1:32	—	+	+	±	+	+
1:64	—	—	+	—	—	+

± = Coagulação parcial

+ = Coagulação total

(**) Visto que as hemátias de coelho são mais fortemente aglutinadas pelo veneno de jararaca do que as outras hemátias (de homem, de cão, de cobaia) a absorção total das aglutininas é mais fácil com as hemátias de coelho do que com as três outras hemátias que precisam ser adicionadas repetidamente até o esgotamento completo das aglutininas.

1. *Coagulase*: O poder coagulante do veneno de *Bothrops jararaca* nada sofre pela absorção com hemátias de coelho. Tanto o veneno nativo como o absorvido com hemátias de coelho ou o tratado com hemátias de cavalo coagulam o plasma de coelho até o mesmo título.

2. *Lecitinase*: O protocolo seguinte (Tabela VII) mostra que a absorção de veneno com hemátias de coelho — suficiente para remover tôdas as aglutininas — não provoca alteração da lecitinase do veneno. É importante salientar este fato porque antigamente as aglutininas e hemolisinas foram consideradas como substâncias idênticas.

3. O poder neurotóxico do veneno, testado em pombos (de acôrdo com a técnica de Vital Brazil) fica inalterado pela absorção com as hemátias de coelho: a dose letal mínima, tanto para o veneno absorvido como para o veneno nativo era entre 25 e 50 gamas.

4. *Dermatotoxina*: A ação dermatotóxica do veneno — testada por injeção intradérmica na pele depilada do abdômem de coelhos — não é enfraquecida pelo tratamento com hemátias aglutináveis (coelho) ou inaglutináveis (cavalo).

Estas observações provam, que a aglutinina do veneno de *Bothrops jararaca* constitue uma fração separada do veneno, diferente das demais frações: coagulase, lecitinase, neurotoxina, dermatotoxina (*).

RESUMO

Foi estudado neste trabalho a ocorrência nos venenos de nove espécies ofídicas brasileiras, de hemaglutininas para hemátias de coelho, cavalo, cobaia, carneiro, cão, boi, homem e galinha.

Enquanto alguns venenos não possuem hemaglutininas outros mostram hemaglutininas muito ativas. Como acontece com certos extratos vegetais com poder hemaglutinante (abrina, ricina, extrato de lentilhas e de feijões; Landsteiner) estes venenos contêm hemaglutininas que agem especificamente sobre as hemátias de certas espécies, deixando inalteradas as hemátias de outras. As diferenças qualitativas e quantitativas que existem no poder aglutinante de vários venenos, poderiam servir não só como meio de identificação de venenos

(*) Preferimos a expressão dermatotoxina à "hemoragina" dos outros autores, tendo verificado que a ação dermatotóxica é devida, pelo menos, a dois fatores diferentes: 1) um fator hemoragisante — necrotizante e termolábil, neutralizável pelo soro específico; 2) um fator edemizante, termo-resistente, não neutralizável pelo soro.

TABELA VII

Atividade de lecitinase nos venenos nativos e absorvidos por hemátias aglutináveis (coelho) e não aglutináveis (cavalo).

Tubo No.	Veneno 0,5 mg/cm ³	Buffer pH 7,4	Lecitina 0,5 mg/cm ³	Hemátias cavalo 10%	NaCl fisiol.	Veneno a (trat. com hemát. coelho)				Veneno b (trat. com hemát. cavalo)				Veneno c (nativo)			
						Hemólise depois de											
						30'	60'	120'	20 h	30'	60'	120'	20 h	30'	60'	120'	20 h
1	0,025 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	para 2,0 cm ³	o	o	o	++++	o	o	o	++++	o	o	o	+++
2	0,05 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	2,0 cm ³	o	o	o	++++	o	o	o	++++	o	o	o	+++
3	0,1 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	2,0 cm ³	o	o	o	++++	o	o	o	++++	o	o	o	+++
4	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	2,0 cm ³	o	o	o	++++	o	o	o	++++	o	o	o	+++
5	0,4 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	2,0 cm ³	o	o	±	++++	o	o	++	++++	o	o	±	++++
6	0,8 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	2,0 cm ³	o	++++	++++	++++	o	++++	++++	++++	o	++++	++++	++++
7	1,0 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	2,0 cm ³	o	++++	++++	++++	o	++++	++++	++++	o	++++	++++	++++
8	—	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	2,0 cm ³	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o

o = Hemólise ausente

+ = Hemólise fraca

++ = Hemólise média (± 50%)

+++ = Hemólise forte (quase total)

++++ = Hemólise total (100%)

de proveniência desconhecida, como também poderiam auxiliar a classificação de serpentes morfologicamente afins.

O soro anti-*Bothrops jararaca* inibe o poder aglutinante do veneno homólogo e age igualmente sobre os outros venenos botrópicos hemaglutinantes. Apesar do veneno de *Bothrops jararaca* não aglutinar as hemátias de carneiro ou de cavalo, o anti-soro correspondente inibe a aglutinação destas hemátias pelo veneno de *Bothrops neuwiedii*. Não existe relação quantitativa entre o poder antineurotóxico e antiaglutinante dos vários soros anti-*B. jararaca*. A absorção dos venenos hemaglutinantes com uma das espécies de hemátias aglutináveis remove simultaneamente as aglutininas contra todas as espécies de hemátias aglutináveis. Daí se conclue que a aglutinina ativa sobre diferentes hemátias, é uma única substância.

A hemaglutinina representa uma fração distinta das outras frações de veneno: neurotoxina, dermatotoxina, lecitinase e coagulase, como foi provado pelo fato de que a absorção do veneno com hemátias aglutináveis (de coelho) deixa inalterada a atividade dos 4 outros componentes do veneno.

O aquecimento do veneno de *Bothrops jararaca* a 60 graus, durante 30 minutos, destrói o seu poder aglutinante.

ABSTRACT

This paper deals with the occurrence of hemagglutinins in the venoms of Brazilian poisonous snakes. There were tested, on the whole, the venoms of 9 snake species (*) against 8 different blood cells (**). Whereas some of the venoms lack any hemagglutinating power, others — principally the *Bothrops* venoms — exhibit a strong hemagglutinating activity. Similar to certain plant extracts, the hemagglutinins in snake venoms show a well defined specificity of action, which is directed towards a limited number of blood cells, whereas others are not affected at all. The quantitative and qualitative differences in the agglutinating power of different snake venoms, might serve not only as a means to identify certain venoms of unknown provenience but might also offer a useful help in classifying morphologically similar individuals.

The anti-*Bothrops jararaca* serum inhibits the agglutinating power of the homologous venom as well as of all the other hemagglutinating *Bothrops* venoms such as *B. jararacussu*, *B. neuwiedii* and *B. atrox*. In spite of the fact

(*) *Bothrops jararaca*, *B. atrox*, *B. jararacussu*, *B. alternata*, *B. Neuwiedii*, *B. Itapetingae*, *B. cotiara*, *Crotalus terrificus terrificus*, *Micrurus frontalis*.

(**) Rabbit, horse, guinea-pig, dog, sheep, ox, man, chicken.

that the *Bothrops jararaca* venom does not agglutinate by itself horse or sheep bloodcells, its antiserum prevents the agglutination of these cells by the *Bothrops neuwiedii* venom. There does not exist a quantitative relationship between the antineurotoxic and the antihemagglutinating power of different anti-*Bothrops jararaca* sera.

Absorption of the hemagglutinating venoms with agglutinable cells from one species removes simultaneously the reactivity towards all the other agglutinable blood cells. It is concluded therefrom that the agglutinin directed against various blood cells, is one single substance. The hemagglutinin represents a separate venom fraction, different from the neurotoxic, dermatotoxic, coagulase and lecithinase fraction: a *Bothrops jararaca* venom absorbed with rabbit blood cells loses its hemagglutinating power but retains its full activity as far as the 4 other mentioned fractions are concerned.

Heating of *B. jararaca* venom to 60° for 30 minutes destroys its hemagglutinating power.

BIBLIOGRAFIA

1. Flexner, S. & Noguchi, H. Cit. por Houssay & Negrette (2).
2. Houssay, B. A. & Negrette, J. Acción hemolítica de algunos venenos de serpientes sulamericanos, *Rev. Asoc. Med. Argentina*, 35(216):1-31, 1922.
3. Kitijima. Cit. por Kraus & Werner (4).
4. Kraus, R. & Werner, F. Giftschlangen und die Serumbehandlung der Schlangenbisse, Jena, Gustav Fischer, 1931.
5. Lacerda. Cit. por Phisalix (9).
6. Landsteiner, K. Specificity of serological reactions, Charles C. Thomas, Springfield, Baltimore, 1936.
7. Michel. Cit. por Kraus & Werner (4).
8. Noc, F. Cit. por Houssay & Negrette (2).
9. Phisalix, M. Animaux venimeux et venins, Paris, Masson & Cie., 1922.
10. Weir-Mitchell. Cit. por Phisalix (9).