

ANTIGENOS E ANTICORPOS BOTRÓPICOS

I) Contribuição ao estudo da dosagem dos soros antibotrópicos polivalentes

por J. B. ARANTES & C. HABERBECK BRANDÃO

(Do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil)

As bases experimentais em que se apoia o método de preparação dos soros antibotrópicos polivalentes, tal qual é ainda empregado no Instituto Butantan, e também a continuidade dos esplendidos resultados obtidos com esses soros na terapêutica dos envenenamentos ocasionados pelas serpentes do gênero *Bothrops*, justificam plenamente a manutenção do método, como foi fixado por Vital Brazil.

Em linhas gerais os soros antibotrópicos resultam da inoculação, em equinos, de doses adequadas de u'a mistura de venenos de *Bothrops jararaca* (Wied), *Bothrops atrox* (L.), *Bothrops alternata* (D. & B.), *Bothrops jararacussu* (Lacerda), *Bothrops cotiara* (Gomes) e *Bothrops neuwiedii* (Wagler), sendo o poder antitóxico dos soros assim obtidos titulado por meio do veneno da *Bothrops jararaca*, tomado como padrão. Admitia-se, pois que os valores neutralizantes dos anticorpos contidos nos soros e correspondentes especificamente aos venenos das seis espécies de *Bothrops* que constituem o antígeno, fossem equivalentes, em média, podendo representar-se por um deles o título dos demais. Estabeleceu Vital Brazil esta norma de dosagem, por considerar de pequena monta as diferenças encontradas na titulação dos anticorpos específicos, o que não afetava sensivelmente os resultados práticos proporcionados pelo método (1).

R. Kraus (2) tentou elucidar a questão da mencionada equivalência, concluindo, de suas investigações, que a titulação de um só anticorpo não indica o valor dos outros antivenenos que se contêm nos soros. Entretanto, (como teremos ocasião de assinalar, o material de que Kraus se utilizou em suas experiências, além de muito reduzido, foi estudado por métodos não comparáveis aos de Vital Brazil, o que torna de valor precário os resultados obtidos.

Porém, um de nós (J. B. A.), em 1932, retomando o assunto, encontrou valores que, de fato, contrariavam o suposto, pois frequentemente os títulos dos anticorpos específicos eram muito diversos, e, além disso, afastavam-se bas-

Recebido para publicação em 7 de Dezembro de 1948.

tante das dosagens médias determinadas pelo veneno padrão. Completamos, então, esse estudo preliminar, (que não chegou a ser publicado,) pesquisando a ocorrência em maior número de animais, sendo objeto da presente memória relatar os resultados das investigações procedidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Fizeram-se as observações com soros de 19 equinos, imunizados com antígeno botrópico polivalente segundo os preceitos usados rotineiramente no Instituto. O antígeno empregado nas imunizações foi sempre o mesmo, preparando-se de acordo com as seguintes normas: colhe-se em separado veneno recentemente extraído das serpentes acima mencionadas, juntando-se quantidade idêntica de glicerina aos volumes obtidos; deixa-se em seguida permanecer por longo tempo no laboratório, ao abrigo da luz, e em temperatura ambiente. O antígeno botrópico polivalente constitui-se pela mistura, em partes iguais, desses venenos glicerizados, com exceção do de *Bothrops cotiara*, que entra em proporção cinquenta por cento menor.

Utilizamo-nos de venenos preparados assim, datando de dez anos aproximadamente, representando centenas de coletas de milhares de serpentes, e contendo aproximadamente 150 mgr de veneno seco, por centímetro cúbico, calculado baseado nas determinações médias feitas por Vital Brazil (3).

Em média, na imunização de animais normais (equinos, ainda não injetados com venenos) gastam-se 1.800 mgr de antígeno polivalente, fracionados em 24 inoculações, sendo a primeira de 0,2 mgr e a última de 300 mgr, transcorridas 15 semanas. Sangrados, os animais são afastados do serviço por dois meses e findo esse período de descanso, voltam a ser imunizados. As imunizações seguintes (chamadas re-imunizações a partir da segunda imunização) processam-se, em média, mais rapidamente, durante 7 semanas, sendo iniciados com doses maiores, 30 mgr., injetadas em menor número de vezes, 8. Enquanto o estado de saúde dos animais for bom e os títulos dos soros permanecerem satisfatórios, repetem-se as imunizações sucessivamente.

O mesmo lote de animais serviu para as nossas verificações, figurando na primeira todos, e na segunda 14 (5 equinos foram retirados da experiência por diversas causas); utilizamo-nos, nas dosagens dos anticorpos específicos, de soros colhidos no final da imunização, por ocasião das sangrias, titulando-os de acordo com a técnica recomendada por Vital Brazil (1). As doses mínimas mortais para o pombo, dos venenos padrões empregados em miligramas, eram as seguintes:

<i>B. jararaca</i>	0,032	<i>B. alternata</i>	0,070
<i>B. atrox</i>	0,080	<i>B. jararacussu</i>	0,050
<i>B. neuwiedii</i>	0,035	<i>B. cotiara</i>	0,070

Os animais examinados sofreram variado número de imunizações, detalhando-se, no quadro I, as relações existentes entre essas imunizações e as duas verificações procedidas.

QUADRO No. I

<i>Primeira verificação</i>		<i>Segunda verificação</i>	
<i>Imunização anterior ao exame</i>	<i>Animais No.</i>	<i>Imunização anterior ao exame</i>	<i>Animais No.</i>
Nenhuma	260-308- 318-319- 320-343- 350-367-	Nenhuma	319-338- 341-350- 367-
Uma	338-341- 289-	Uma	6-9-24-27- 36-260-289- 320-
Duas	9-	Duas	18-
Três	6-	—	—
Quatro	31-	—	—
Cinco	29-	—	—
Dez	24-27-36-	—	—
Treze	18-	—	—

RESULTADOS

Analisando-se, pelos gráficos No. 1 a 19, os resultados da primeira verificação vê-se que o título de antiveneno-jararaca nunca corresponde exatamente aos dos outros anticorpos produzidos simultaneamente, no decorrer da imunização, sendo o animal de No. 18 exceção única. Além disso, nos dezenove animais, em regra, encontramos sempre um outro antiveneno com título, se não mais elevado, pelo menos igual ao padrão; então no primeiro caso onze animais,

6-27-29-31-36-320-338-341-343-350-367, e no segundo um, 289; sómente em 6 animais, 9-24-260-308-319, é que se encontram maiores titulos para o antiveneno jararaca, e, assim mesmo, por pequena diferença. Os titulos considerados médios, de 1,1 a 2,0 mg, abrangem a maior parte dos resultados alcançados (Quadro II-A), excetuando-se os correspondentes ás *Bothrops neuwiedii* e *cotiara*.

A fraca antigenicidade do primeiro desses dois venenos é patente: apenas um único animal. No, 29, apresentou dosagem superior á média: 2,1 mg. Quanto aos resultados obtidos com o segundo, já não poderemos dizer o mesmo, pois parecem obedecer á norma geral de imunologia, que estabelece relação quantitativa entre o antígeno injetado e anticorpo produzido. Comparando-se as dosagens dos dois anticorpos, notam-se índices maiores para o antiveneno-cotiara em 12 (animais Nos. 9-24-36-260-308-318-319-320-332-341-343-350), igual em um (animal No. 18) e inferiores em seis (animais Nos. 6-27-29-31-289-367), ou seja, 63,15%, 5,26% e 31,57%, respectivamente, e a existencia constante de titulos sempre superiores a 0,5 mgr, o que não acontece com o antiveneno-neuwiedii.

Na segunda verificação, observa-se, inicialmente, que houve melhora evidente na resposta imunitária, traduzida pela obtenção, em percentagem maior, de titulos mais elevados; apesar de diminuir o número de animais encontram-se índices maiores para as dosagens superiores ás médias (Quadro II-B). A seguir, nota-se que os valores de antiveneno-jararaca são inferiores aos de outros antivenenos na quase totalidade dos casos; é suplantado pelo antiveneno-atrox em dez (animais Nos. 6-9-18-27-36-260-289-319-341-350), pelo antiveneno-jararacussu em dois (animais Nos. 338-367), pelo antiveneno-alternata em um (animal No. 320); sómente no animal No. 24 é que encontramos igualdade entre o antiveneno padrão e um dos outros valores antipeçonhentos.

Relativamente á semelhança existente entre as curvas que nos gráficos representam os resultados das duas verificações, deduz-se, pelo confronto das mesmas, que apenas em quatro casos essa semelhança ocorreu — animais: Nos. 9-24-338-341, sendo flagrante a desigualdade apresentada pelo animal No. 18.

A fraca antigenicidade do veneno de *B. neuwiedii* parece confirmada, sendo, como foi, o único a produzir titulo inferior a 0,5 mg (Quadro II-B); por outro lado, a provavel melhor capacidade antigenica da *B. cotiara* em relação a esse veneno manifestou-se outra vez, registando-se titulos superiores em sete casos, (animais Nos. 9-24-36-320-338-341-350), dois identicos (animais Nos. 27-260) e cinco inferiores (animais Nos. 6-18-289-319-367), ou seja, 50%, 14,28% e 35,71%, respectivamente.

Por sua vez os vermes da *B. jararacussu* e da *B. alternata* aparecem-nos como antígenos comparáveis ao da *B. jararaca*, sendo que o da primeira dessas duas espécies revelou-se antigenicamente superior ao segundo. De fato, na primeira verificação encontramos valores superiores para o antiveneno-jararacussu, comparativamente ao antiveneno-alternata. Na segunda verificação, essa superioridade confirmou-se, pois registamos apenas um caso com dosagem compreendida entre 0,5 e 1,0 mg (animal No. 289) enquanto que houve quatro animais nos quais o antiveneno-alternata ficou entre esses limites; além disso, em dois casos, o antiveneno-jararacussu atingiu títulos que não puderam ser alcançados pelo antiveneno-alternata (Quadro II-B).

O animal No. 341 (Gráfico No. 16) apresenta-se como caso único, no decorrer desta experiência. Confirmando, inicialmente, a suposição de que não é possível representar, exatamente, pelo antiveneno-jararaca o título dos outros anticorpos específicos; em seguida pelo fato singular de nele se manterem quase no mesmo nível, os títulos de todos os anticorpos, tanto num como noutro exame; finalmente, sugerindo pela permanência de um só anticorpo específico praticamente no mesmo teor, que os resultados da imunização anti-botrópica polivalente parecem depender de factores estritamente individuais.

Talvez esteja aliada a esses factores a antigenicidade melhor do veneno da *B. atrox*; nos dezenove animais examinados, especialmente na segunda verificação, temos a impressão de que essa superioridade, de fato, existe, como demonstra o estudo comparativo das partes A e B do Quadro II.

Esse mesmo quadro indica também que a re-imunização melhora, de modo geral, a produção dos anticorpos; essa melhoria é evidenciada pelo confronto do quadro No. 4 onde se reproduzem os resultados das duas verificações feitas em três animais, adrede escolhidos, pois elas são coincidentes com a primeira imunização e primeira re-imunização, respectivamente. Nota-se que, nesses exames, os antivenenos-atrox e jararacussu revelam, mais acentuadamente do que o antiveneno-jararaca, os bons resultados da segunda imunização.

COMENTÁRIOS

Dos resultados de nossas pesquisas, deduz-se que a aferição dos soros anti-botrópicos polivalentes exige, para ser precisa, a titulação de cada um dos anticorpos específicos neles contidos, pois, normalmente, os títulos dos seis anticorpos são diferentes, alternando-se os seus valores com as imunizações sucessivas. Apesar das dificuldades que essa modificação traria para o método de doseamento em vigor, tornando obrigatória a avaliação de-per-si dos anticorpos específicos existentes nos soros de cada animal imunizado, evitar-se-ia o aparecimento das diferenças que surgem forçosamente no produto final, representado, sempre, pela mistura de vários soros contendo valores antipeçonhentos os mais

diversos. O gráfico No. 20, representativo da aferição de um soro pronto para uso terapeutico, evidencia essa falha, pois, na sua dosagem, só se levou em consideração o teor de antiveneno-jararaca, como de regra, aliás.

Ultrapassando, de muito, os inconvenientes assinalados, surgem, em primeiro lugar as vantagens de tornar-se o tratamento dos acidentes ofídicos mais seguro, livre dos riscos de ocasionar neutralização insuficiente dos venenos inoculados por certas *Bothrops*, o que ocorreria, por exemplo, se com o soro, cuja dosagem figura no gráfico No. 20, pretendessemos tratar envenenamento produzido por *B. neuwiedii* ou *B. cotiara* (*). Com efeito, devemos considerar que embora a preponderancia da *B. jararaca*, no gênero *Bothrops*, seja fato incontestado em quase todo territorio brasileiro, não ocorre o mesmo, sempre, em alguns pontos do país, como em Mato Grosso, no Rio Grande do Sul, no Paraná e em Santa Catarina onde as espécies mais frequentes são, respectivamente, *B. neuwiedii*, *B. cotiara* e *B. alternata* (4-5) tornando, pois, indispensavel a real efficácia polivalente dos soros anti-botrópicos. Além disso, há a considerar o lado econômico, dado que, levando-se em conta apenas o antiveneno-jararaca, desprezam-se titulos especificos muito elevados, como aconteceu no caso dos animais Nos. 320-341-367, (gráficos Nos. 14-16-19) cujos soros, adicionamos a outros, igualmente ricos nos restantes antivenenos, produziriam, mais rendosamente, mistura polivalente de alto teor.

Quanto á possibilidade de se prepararem soros monovalentes especificos objetivando-se remover os inconvenientes acima mencionados, e facilitando, consequentemente, a preparação dos soros polivalentes (suprindo-se as deficiências das misturas polivalentes pela adição de quantidades adequadas de anticorpo monovalente) parece-nos questão ainda a resolver pois, em trabalhos que serão dados á publicidade, verificamos ter-nos sido impossivel obter soros monovalentes não só estritamente especificos, como também possuidores de titulos altos, embora tivessemos usado os mesmos antigenos que vieram a servir para a preparação da mistura polivalente utilizada na imunização dos dezenove animais da presente investigação. Julgamos, pois, até ser o problema perfeitamente elucidado, que a produção dos antivenenos botrópicos, em equideos, é problema mais complexo do que aparenta á primeira vista, não nos permitindo, no momento, afirmar qual sejam os fatores decisivos do estabelecimento e da manutenção da imunidade anti-botrópica.

Não obstante termo-nos utilizado de venenos padrões de valores desiguais, no que se refere ás suas doses minimas mortais para o pombo, os titulos encontrados nos soros dos animais examinados significam diferenças existentes de fato. Isto porque, se convertessemos o valor dos soros, que é expresso em miligramas de venenos neutralizados, no número de d.m.m. que são contidas

(*) Atendendo ás exigencias da Farmacopéia Brasileira (6) esse soro contem 40% de excesso de anti-veneno, para lhe prolongar o prazo de validade até 3 anos. Deduzida essa margem de segurança, nota-se, com maior clareza, a insuficiência dos antivenenos outros que não o correspondente á Jararaca.

QUADRO No. II

A) Primeira verificação						B) Segunda verificação					
Venenos	Poder neutralizante dos soros, em mg					Venenos	Poder neutralizante dos soros, em mg				
	< 0,5	0,5-1,0	1,1-2,0	2,1-3,0	3,1-4,0		< 0,5	0,5-1,0	1,1-2,0	2,1-3,0	3,1-4,0
B. jararaca	1	4	11	2	1	B. jararaca	—	4	8	1	1
B. atrox	1	5	9	2	2	B. atrox	—	—	5	7	2
B. alternata ..	—	9	7	2	1	B. alternata ...	—	4	7	3	—
B. jararacussu .	—	5	10	3	1	B. jararacussu .	—	1	10	1	2
B. neuwiedii ...	7	4	7	1	—	B. neuwiedii ...	1	7	6	—	—
B. cotiara	—	13	5	—	1	B. cotiara	—	8	5	1	—

nesses venenos, reduziríamos essas diferenças a um nível tal, que teríamos a impressão de não existirem as desigualdades encontradas. Aliás, foi esse critério, o de julgar da atividade de um soro polivalente segundo sua capacidade neutralizante de determinado número de doses letais, que levou Vital Brazil a escolher o veneno da *B. jararaca* como indicador dessa atividade. Sordelli e Paceila (7), e Lucas de Assumpção (8), provaram que não existe relação entre a toxicidade de venenos de *B. alternata* e *B. jararaca* e o seu poder de neutralização pelos soros anti-peçonhentos respectivamente específicos. No decorrer destas experiencias tivemos ocasião de ver confirmados os trabalhos desses autores ao titularmos os soros dos animais Nos. 341 e 367 com venenos de atividade letal muito diversa. Assim, com o soro do primeiro desses animais, reimmunizado parcialmente com veneno de *B. atrox*, após a segunda verificação (recebeu somente 225 mg de veneno), observamos que com veneno-padrão ativo (d.m.m. = 0,020 mg), seu título neutralizante era igual a 1,8 mg., enquanto que, utilizando-se outro veneno, muito menos ativo, (d.m.m. = 0,085 mg) o valor do soro passava a ser, apenas, 2,3 mg e não 7.65 mg, como poderia parecer; portanto, embora a relação existente entre os venenos seja de 1:4,25 os títulos dos soros permanecem entre si como 1:1,27. Com o soro do animal No. 367, então, observamos fato paradoxal já descrito por Lucas de Assumpção (9). neutralização menor, 2,5 mgr, com veneno de jararaca menos ativo (d.m.m. = 0,090 mg), do que com outro veneno (d.m.m. — 0,032 mg) quando o valor anti-peçonhento elevava-se a 2,6 mg.

Cabe-nos agora analisar os resultados obtidos por R. Kraus na sua tentativa de elucidar a interessante questão que vimos debatendo. Esse pesquisador titulou os diversos antivenenos de cinco soros anti-botrópicos polivalentes, concentrados, (na preparação dos quais não figura o veneno da *B. cotiara*), servindo-se do método de doseamento denominado "imediato" (10), do qual, juntamente com Rocha Botelho é o introdutor; os venenos padrões empregados eram todos de valor toxico diverso dos que Vital Brazil lançara mão nos seus trabalhos. De início, deve-se notar que, além dos soros estudados serem em número reduzido, o método é diferente do original, dificultando extraordinariamente a comparação dos resultados. Apesar disso, esses resultados estão em oposição ao firmado por Lucas de Assumpção quando este diz que as diferenças encontradas na titulação dos soros com venenos de toxicidade desigual desaparecem no caso dos soros concentrados, resultantes sempre da mistura do plasma de varios animais (11). Depois, os títulos apresentados por Kraus não exprimem realmente os valores neutralizantes existentes, sendo apenas aproximativos, segundo ele próprio esclarece:" Como não se trata de conhecer bem exatamente o valor curativo (porque não tratou de soros para serem aplicados na prática) titulamos de 5 a 10 d.m." — (*sic*). A seguir, observamos que as diferenças assinaladas são sempre calculadas segundo o número de doses mortais neutralizadas. Ora, já salientamos que, segundo os trabalhos de Sordelli e Pacella, Lucas de Assump-

ção, e as nossas próprias investigações, deve-se titular o valor dos soros pelo número de miligramas de veneno que ele é capaz de neutralizar, abstração feita da toxicidade dos venenos (dentro dos limites apresentados, é claro) sem o que não é possível fazermos comparações verdadeiramente significativas. Finalmente, julgamos muito simplista o plano imaginado por Kraus, para corrigir diferenças encontradas na imunização dos equinos, feitas com antígeno polivalente, o qual consistiria na inoculação, separadamente, de cada veneno. Além de não ser possível atinar com as vantagens que decorreriam dessa modificação, devemos salientar que antigenicidade das misturas polivalentes parece ser evidentemente melhor do que a de cada veneno isolado, pois, como dissemos linhas atrás, a nossa experiencia mostrou o quanto é difícil conseguir soros monovalentes de altos títulos, apesar de serem as quantidades de venenos específicos injetadas em cada animal, seis vezes mais elevadas, como é obvio. Basta dizer que nenhum dos soros que preparamos atingiu o limite de 1,5 mg, o que é facilimo conseguir-se quando a mistura polivalente é empregada (vide Quadro No. III).

Não obstante os resultados colhidos em nossas pesquisas, deve-se admitir que o método de Vital Brazil corresponde, ainda hoje, às necessidades praticas da preparação dos soros anti-botrópicos, e da titulação dos mesmos. Comprova-se isso pelo exame do Quadro No. III, onde se expressam, em números globais, os resultados das nossas dosagens, agrupadas segundo os diferentes limites atingidos. A preponderancia dos valores médios, de 1,1 a 2,0 mg é evidente, pois representam 42,98% da primeira verificação e 48,80% na segunda, o que é bem expressivo. Acresce notar que o método de dosagem, adotado pela legislação brasileira a respeito, que exige tenham os soros capacidade de neutralizar 1,5 mg de veneno *B. jararaca* por centimetro cúbico (12), consagrando, pois, não só a escolha desses limites médios como a do veneno da *B. jararaca* como padrão, atende, ao mesmo tempo, às necessidades de preparação dos soros e, embora fortuitamente, às exigencias da terapeutica dos envenenamentos produzidos pelas *Bothrops*. Com efeito, não obstante a preponderancia de *B. jararaca* não se verificar sempre em todas as regiões do país, como se sabe, é forçoso reconhecer que as únicas estatísticas seguras de que dispomos sobre os envenenamentos ocasionados pelas serpentes do gênero *Bothrops* acusam nitidamente o maior vulto dos provocados pela *B. jararaca*: 62,67%, segundo os dados coligidos por Afranio do Amaral (13). A única restrição a fazer no momento, á parte o que já foi dito sobre a titulação dos soros, seria relativa á obtenção dos antivenenos *newwiedii* e *cotiara*, constantemente encontrados com títulos baixos. Acreditamos que a correção dessa deficiência (que não nos parece deva ser imputada ao método), requer inicialmente, para o primeiro deles, investigações cuidadosas acerca da provavel deficiência antige-

QUADRO No. III

<i>Primeira verificação</i>							<i>Segunda verificação</i>						
<i>No. de animais</i>	<i>Dosagens feitas</i>	<i>Títulos encontrados, em mg (No. global).</i>					<i>No. de animais</i>	<i>Dosagens feitas</i>	<i>Títulos encontrados, em mg (No. global).</i>				
		< 0,5	0,5-1,0	1,1-2,0	2,1-3,0	3,1-4,0			< 0,5	0,5-1,0	1,1-2,0	2,1-3,0	3,1-4,0
19	114	9	40	49	10	6	14	84	1	24	41	13	5

niva do veneno; quanto ao segundo, como já acentuamos, parece que se se elevasse a proporção do veneno de Cotiara, na mistura polivalente, á dos outros cinco componentes, corrigir-se-ia a falha.

CONCLUSÕES

I — A titulação dos soros anti-botrópicos polivalentes, pelo veneno *B. jararaca*, não expressa exatamente o valor dos outros componentes antipeçonhentos existentes nesses soros.

II — Para que a uniformidade e consequente eficácia terapeutica, dos soros anti-botrópicos polivalentes seja real, seria necessário que se dosasse cada um dos antivenenos especificos nêles contidos.

III — O teor de antivenenos contidos nos soros anti-botrópicos é variável no decorrer de imunizações sucessivas, só conservando a mesma curva excepcionalmente.

IV — Os venenos das *B. atrox*, *B. jararaca*, *B. jararacussu* e *B. alternata* são, em ordem decrescente os que produzem, com maior facilidade titulos mais altos, sendo o da *B. neuwiedii* o mais fracamente antigenico; o da *B. cotiara* parece ser tão antigenico quanto os quatro primeiros.

V — Os titulos médios, neutralizando de 1,1 a 2,0 mgr por centimetro cúbico, conseguem-se com grande facilidade na imunização polivalente, para a maioria dos antigenos.

VI — A re-imunização melhora, comumente, os titulos antipeçonhentos.

VII — As dosagens dos soros anti-botrópicos devem ser feitos pelo calculo ponderal e não pela neutralização do toxicidade dos venenos empregados.

SUMÁRIO

Os autores analisaram o método de preparação dos soros anti-botrópicos polivalentes preconizado por Vital Brazil, dosando o teor de antivenenos dos soros de vários cavalos imunizados com venenos das seis espécies de *Bothrops* mais frequentes no Brasil: *B. jararaca*, *B. atrox*, *B. alternata*, *B. jararacussu*, *B. neuwiedii* e *B. cotiara*.

A inoculação desses venenos, misturados em partes iguais, com excepção do de *B. cotiara* que figura em proporção 50% menor, produz antivenenos especificos de valor variável, em cada imunização e tambem no decorrer de imunizações sucessivas. Os mais antigenicos são os quatro primeiros citados, parecendo ser o melhor o de *B. atrox*, enquanto o penúltimo é de fraco poder antigenico; com referencia ao veneno de *B. cotiara* é necessario ter em mente a proporção em que ele entra na mistura. Os titulos de antiveneno-jararaca não indicam,

de maneira segura, o valor dos restantes anticorpos específicos existentes nos soros, muito embora o método de dosagem em vigor e adotado pela legislação brasileira determine o valor terapeutico dos soros sómente por esse veneno.

Conven, pois, que os soros polivalentes sejam aferidos pelos diferentes antígenos que lhes dão nascimento, para maior segurança e eficácia da terapeutica de envenenamentos produzidos por certas *Bothrops*, como os que são ocasionados pela *B. neuwiedii*, por exemplo.

Os titulos dos soros devem sempre referir-se a miligramas de venenos neutralizados, e não á neutralização do poder toxico dos venenos empregados como padrões.

ABSTRACT

The authors studied the method of preparation of polyvalent anti-bothropic sera, devised by Vital Brazil, determining the amount of anti-venom in the sera of several horses immunized against the venoms of the six most frequent species of Brazil: *B. alternata*, *B. atrox*, *B. jararaca*, *B. jaracacussu*, *B. neuwiedii*, *B. cotiara*.

These venoms which were mixed in equal parts — with the exception of the *B. cotiara* venom which was used in smaller proportion (50 % less) — produce, on injection, specific anti-venoms of variable value, during each immunization and also in subsequents immunizations. The most antigenic are the four first-mentioned, the best one being the *B. atrox* venom, whilst the last but one has only weak antigenic power; as to the *B. cotiara* venom one must bear in mind the proportion in which it enters into the mixture. The titers of jararaca anti-venom do not indicate, with reliability, the value of the remaining specific antibodies existing in the sera, although the actual method of dosage according to the Brazilian legislation determines the therapeutic value of the sera by this venom exclusively.

They recommend to standardize the polyvalent sera by the different antigens that were used for their production to greater safety and efficacy of the therapeutics of poisonings produced by certain *Bothrops* such as those caused by *B. neuwiedii*, for instance.

The titers of the sera should always be expressed in milligrams of venom that is neutralized, and not by the neutralization of the toxic power of the venoms used as standards.

ZUSAMMENFASSUNG

Die, seinerzeit von Vital Brazil, erdachte Herstellungsmethode der polyvalenten, anti-bothropischen Sera wurde von den Verfassern eingehend untersucht an Hand des Gegen Gift Gehaltes der Seren, die von Tieren stammten, die mit den Giften der folgenden sechs haeufigsten brasilianischen Bothrops-Giftschlangen immunisiert wurden: *Bothrops jararaca*, *B. atrox*, *B. alternata*, *B. jaracussu*, *B. neuwieddi* und *B. cotiara*.

Diese Gifte, obwohl sie alle in genau gleichen Mengen den zu immunisierenden Tieren eingespritzt wurden, mit Ausnahme des Cotiara-Giftes, das in der Mischung nur im Verhaeltnis von 50% enthalten war, erzeugen die entsprechenden spezifischen Anti-Gifte in verschiedenen Werten. Und zwar nicht nur bei der Erst-immunisierung, sondern auch bei den folgenden.

Die vier erstgenannten Gifte haben die beste antigene Wirkung, wobei es scheint, dass das Atrox-Gift an erster Stelle steht, waehrend das von Neuwiedii stammende Gift eine nur sehr schwache antigene Wirkung zeigt.

In Bezug auf das Cotiara-Gift ist es notwendig, zu bedenken, dass es in einem geringeren Prozentsatz in der Mischung enthalten ist.

Die erhaltenen Werte des Anti-Jararaca-Giftes stimmen nicht vollkommen mit denen der anderen Gegen-Gifte ueberein, obwohl die klassische Dosierungsmethode, die auch durch die brasilianische pharmazeutische Gesetzgebung vorgeschrieben ist, den therapeutischen Wert der Seren nur an dem Werte dieses Giftes bestimmt.

Es muss deshalb gefordert werden, dass die polyvalenten Seren und die verschiedenen Anti-gene, aus denen sie entstehen, neu titriert werden, damit eine groessere Sicherheit und Wirkung bei der Behandlung der verschiedenen Bothrop-Vergiftungen, besonders bei Neuwiedii, erzielt werden kann.

Bei der Titrierung der Seren muss immer angegeben werden, wieviel mg Gift ein bestimmtes Quantum dieser Seren neutralisiert und nicht, welche Faehigkeit sie besitzen zur Neutralisierung der padronisierten Gifte.

RESUMÉ

Les auteurs ont analysé la methode de préparation des sérums anti-bothropiques polyvalents, préconisée par Vital Brazil, en dosant les anticorps des sérums de plusieurs chevaux immunisés avec des six espèces de *Bothrops* les plus communes au Brésil, *B. jararaca*, *B. alternata*, *B. jararacussu*, *B. neuwiedii*, *B. cotiara*.

L'inoculation de ces venins mélangés en parties égales, exception faite de *B. cotiara* qui figure avec 50% à moins, produit des antivenins spécifiques de valeur variable, dans chaque immunisation et aussi au courant d'immunisations successives. Les plus antigéniques sont les 4 premiers cités, *B. atrox* réagissent le mieux tandis que l'avant dernier n'a qu'un faible pouvoir antigénique. Quand, au pouvoir antigénique de *B. cotiara* il ne faut pas perdre de vue la proportion pour laquelle elle intervient dans le mélange. Les titres d'antivenin jararaca n'indiquent pas avec certitude la valeur des anticorps restants dans les sérums, malgré que la méthode de dosage adoptée par la législation brésilienne détermine la valeur thérapeutique des sérums uniquement par ce venin.

Il en résulte donc; que les sérums polyvalents doivent être dosés en relation aux divers antigènes qui ont servis de base à leur préparation, afin d'avoir plus de garanties quant à l'efficacité thérapeutique dans les accidents produits par certaines *Bothrops* comme ceux produits par la *B. neuwiedii* p. e.

Les titres des sérums doivent toujours indiquer en miligrammes la quantité de venin neutralisé.

BIBLIOGRAFIA

1. *Brazil, Vital* — *Revista Medica de S. Paulo*, 12(15):293-307, 1909 in *Coletânea de Trabalhos Inst. Butantan* 1:197-229, 1901-1917.
2. *Kraus, R.* — *Brazil Medico*, 37.I:177, 1923.
3. *Brazil, Vital* — *loc. cit.*
4. *Prado, Alcides* — *Serpentes do Brasil, Sítios e Fazendas*, edit., São Paulo, pag. 45.
5. *Amaral, Afranio do* — *Memorias do Instituto Butantan*, 5:196, 1930.
6. *Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil* — 1.º e 2.º suplementos, Rio de Janeiro. 1947, p. 73.
7. *Sordelli, A. & Pacella, G.* — *C. R. Soc. Biologie*, 97:1245, 1927.
8. *Assumpção, Lucas de* — *São Paulo Médico*, 1.2(2).77-102, 1928.
9. *Assumpção, Lucas de* — *loc. cit.*
10. *Kraus, R. & Botelho, Rocha* — *Coletânea de Trabalhos do Instituto Butantan*, 2:239, 1918-24.
11. *Assumpção, Lucas de* — *loc. cit.*
12. *Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil* — 1.º e 2.º suplementos, Rio de Janeiro, 1947, p. 83.
13. *Amaral, Afranio do* — *loc. cit.*

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 6

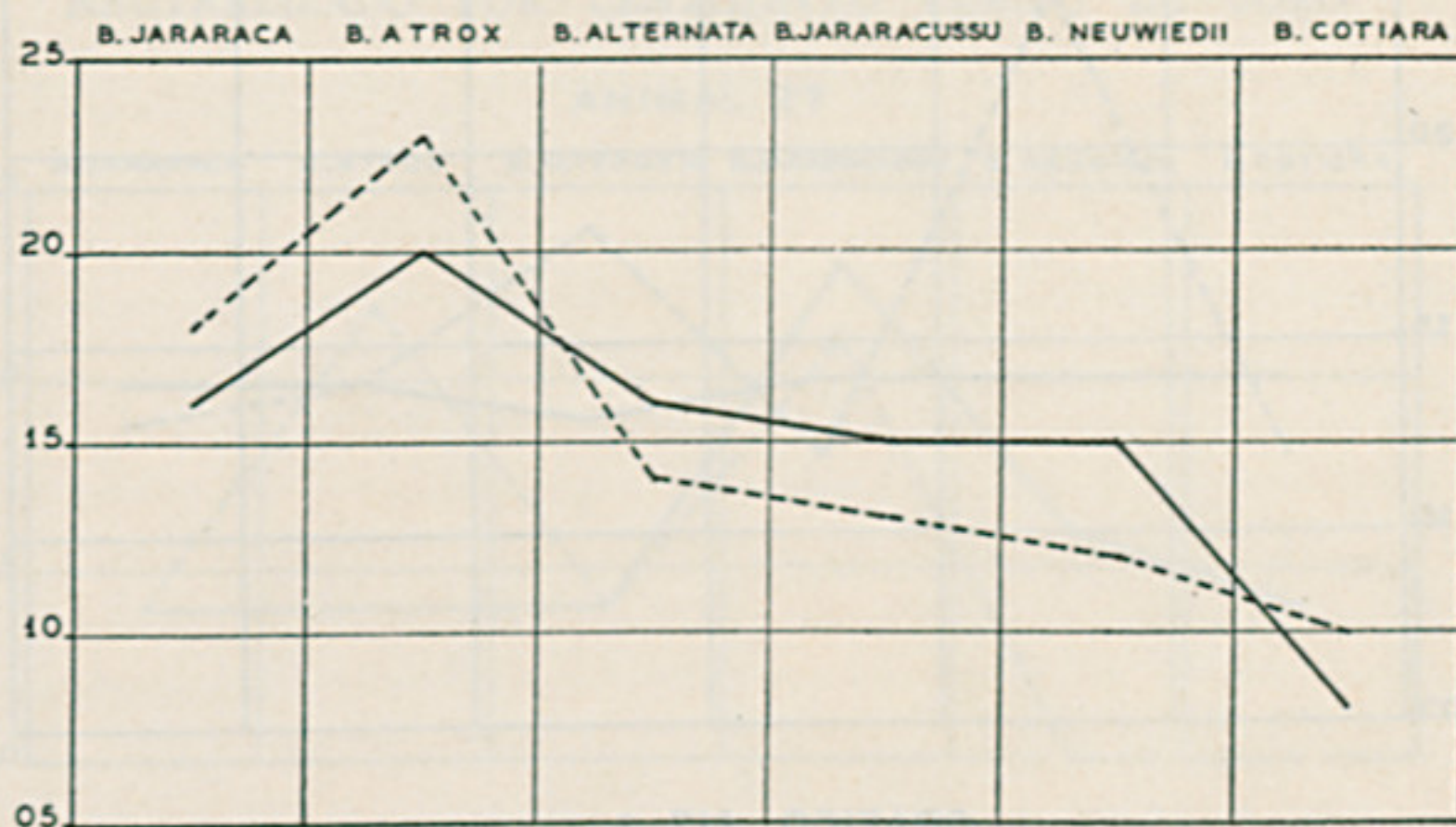


GRAFICO Nº 1

ANIMAL 9

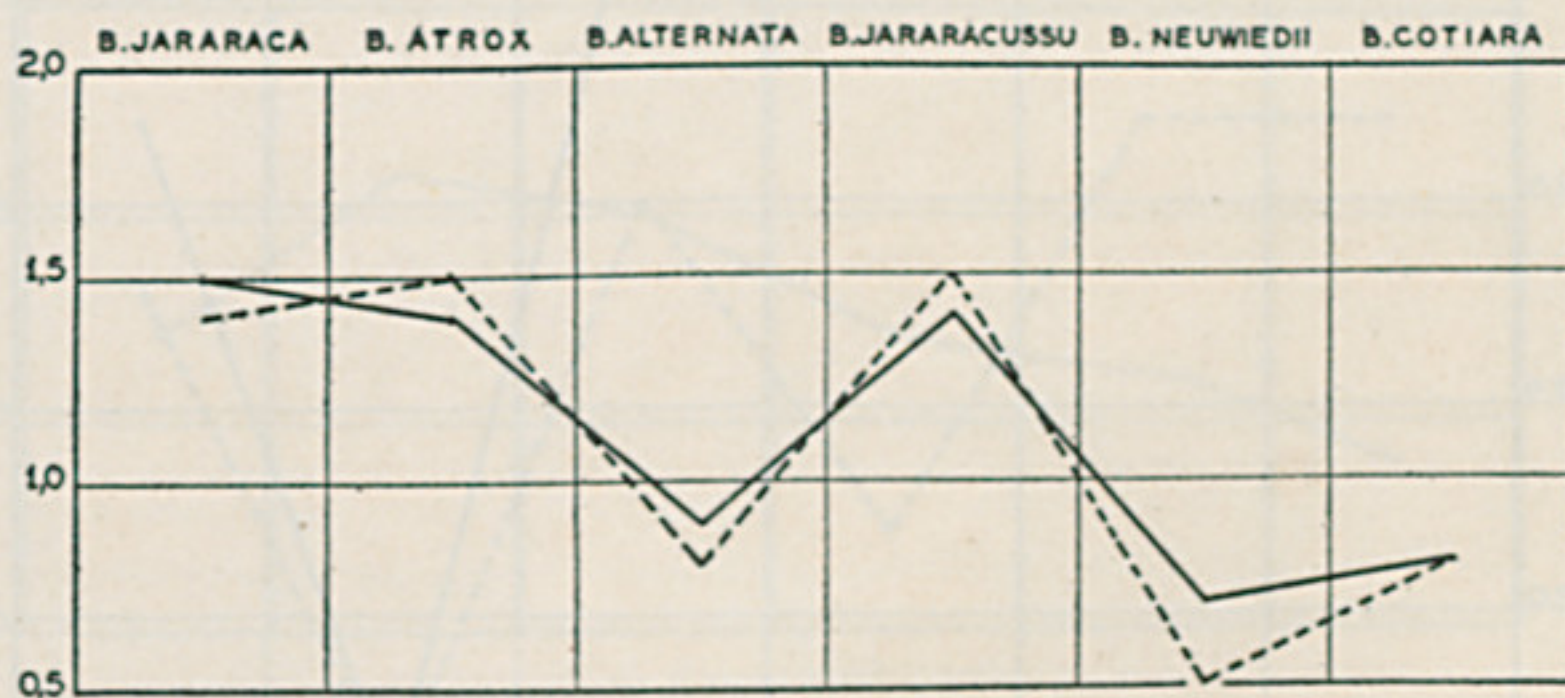


GRAFICO Nº 2

Legenda =
 — 1.ª verificação
 - - - 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 18

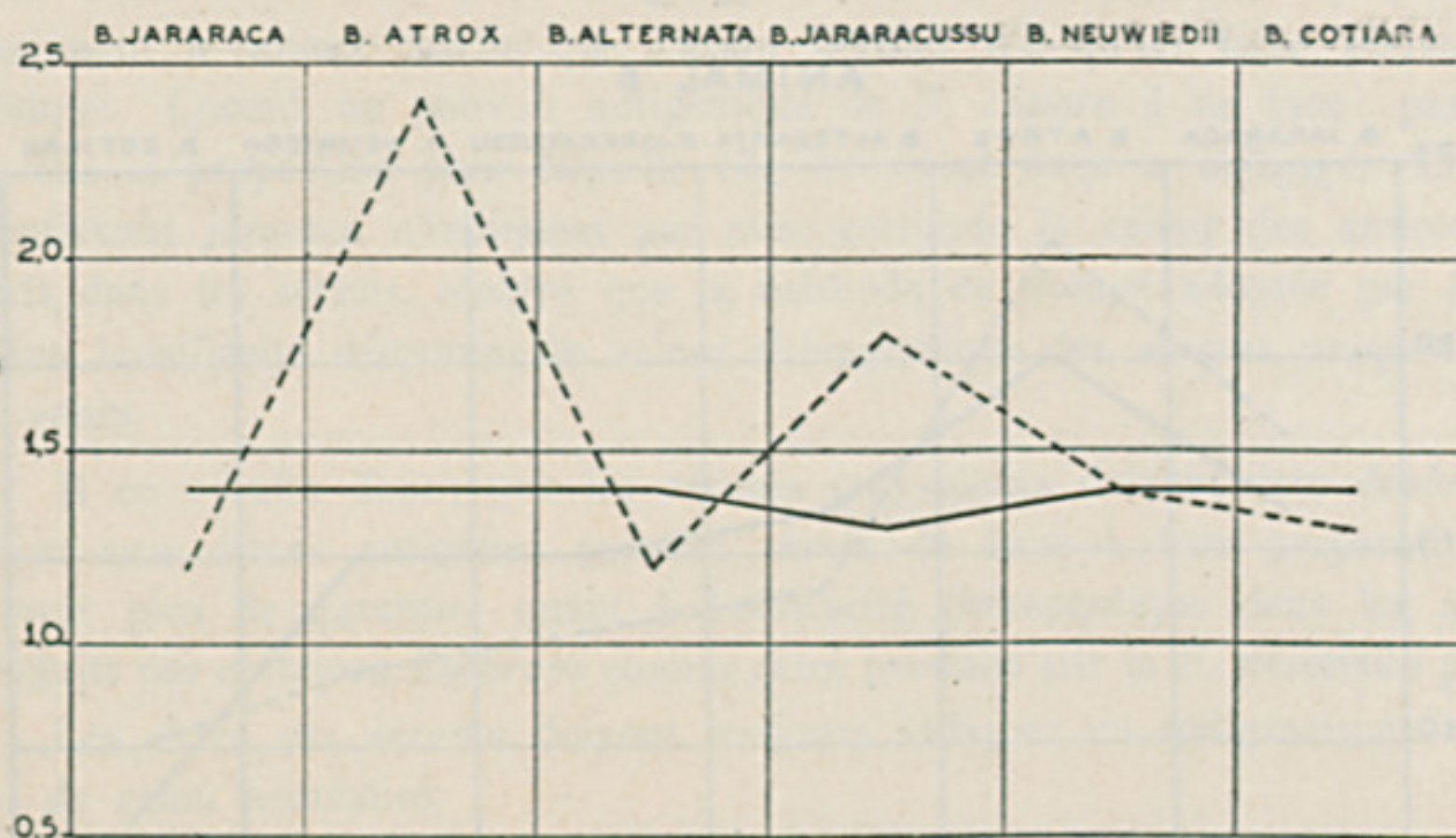


GRAFICO Nº 3

ANIMAL 24

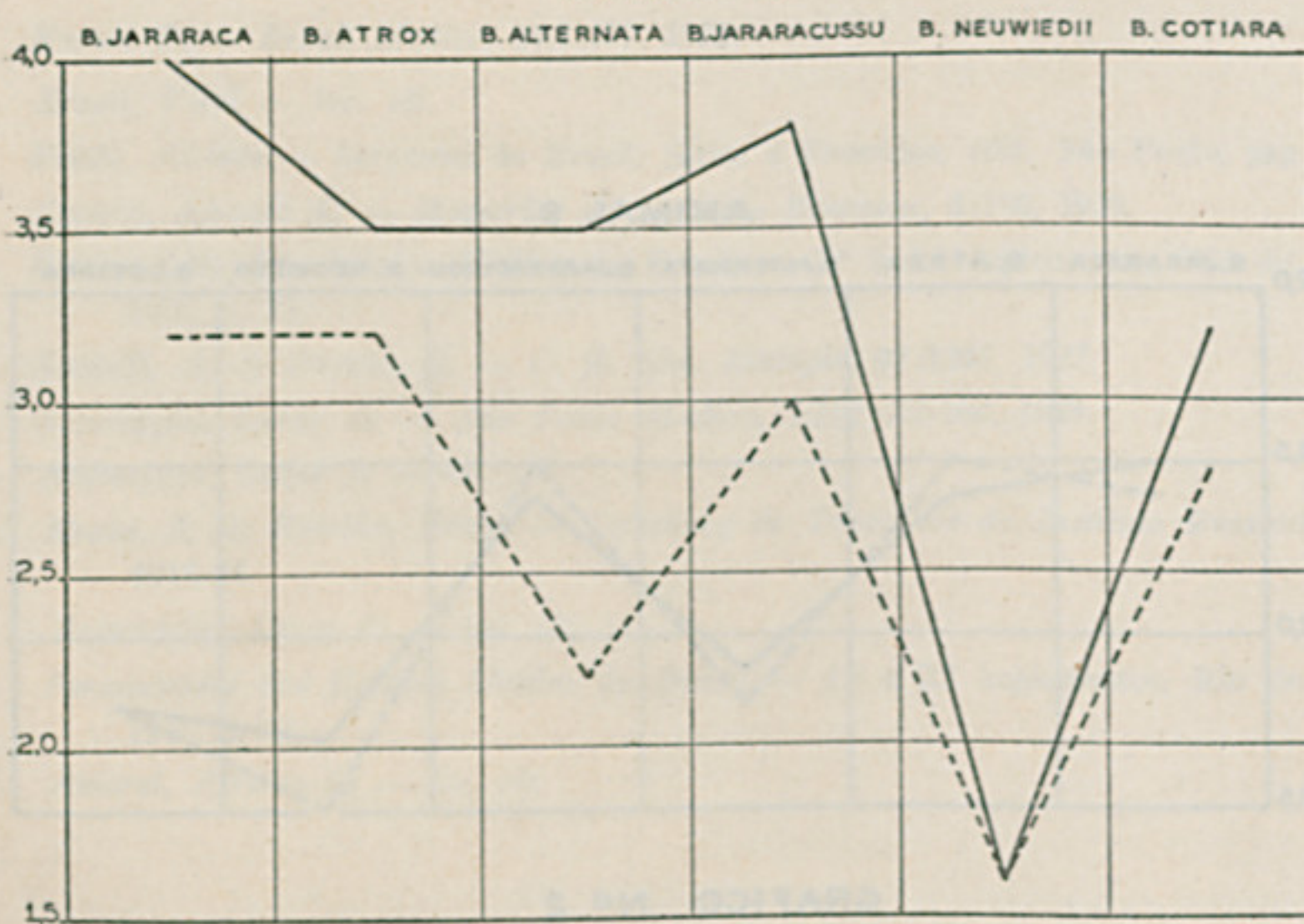


GRAFICO Nº 4

Legenda = ——— 1.ª verificação
----- 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 27

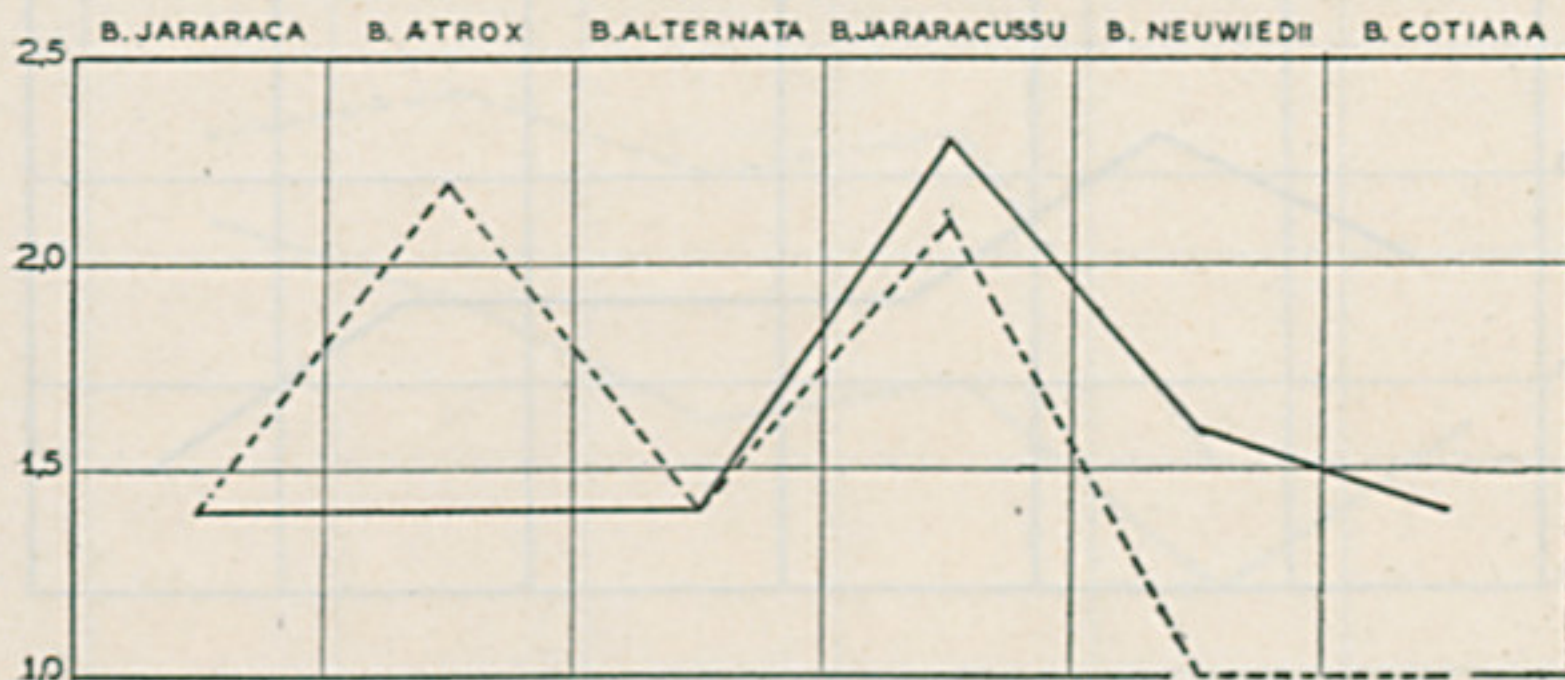


GRAFICO Nº 5

ANIMAL 29

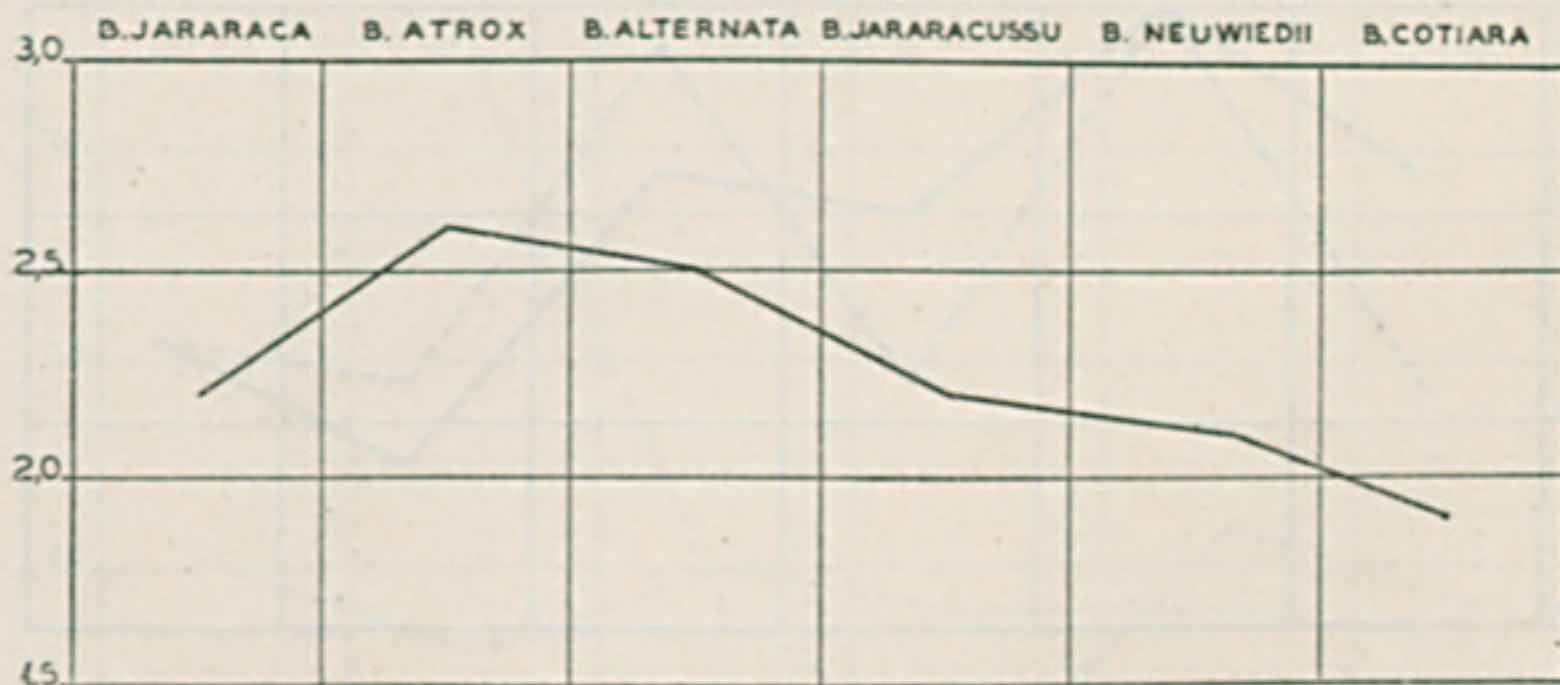


GRAFICO Nº 6

Legenda = ——— 1.ª verificação
----- 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 31

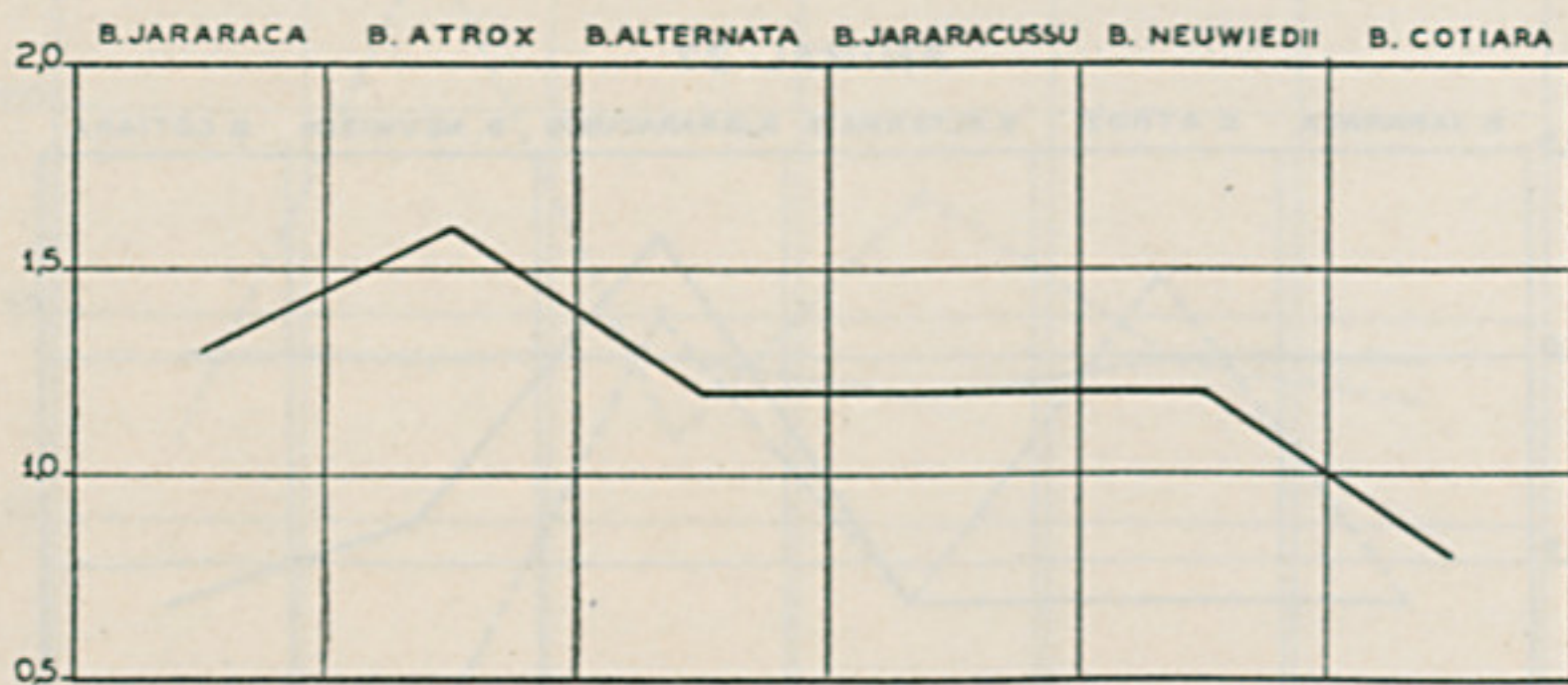


GRAFICO Nº 7

ANIMAL 36

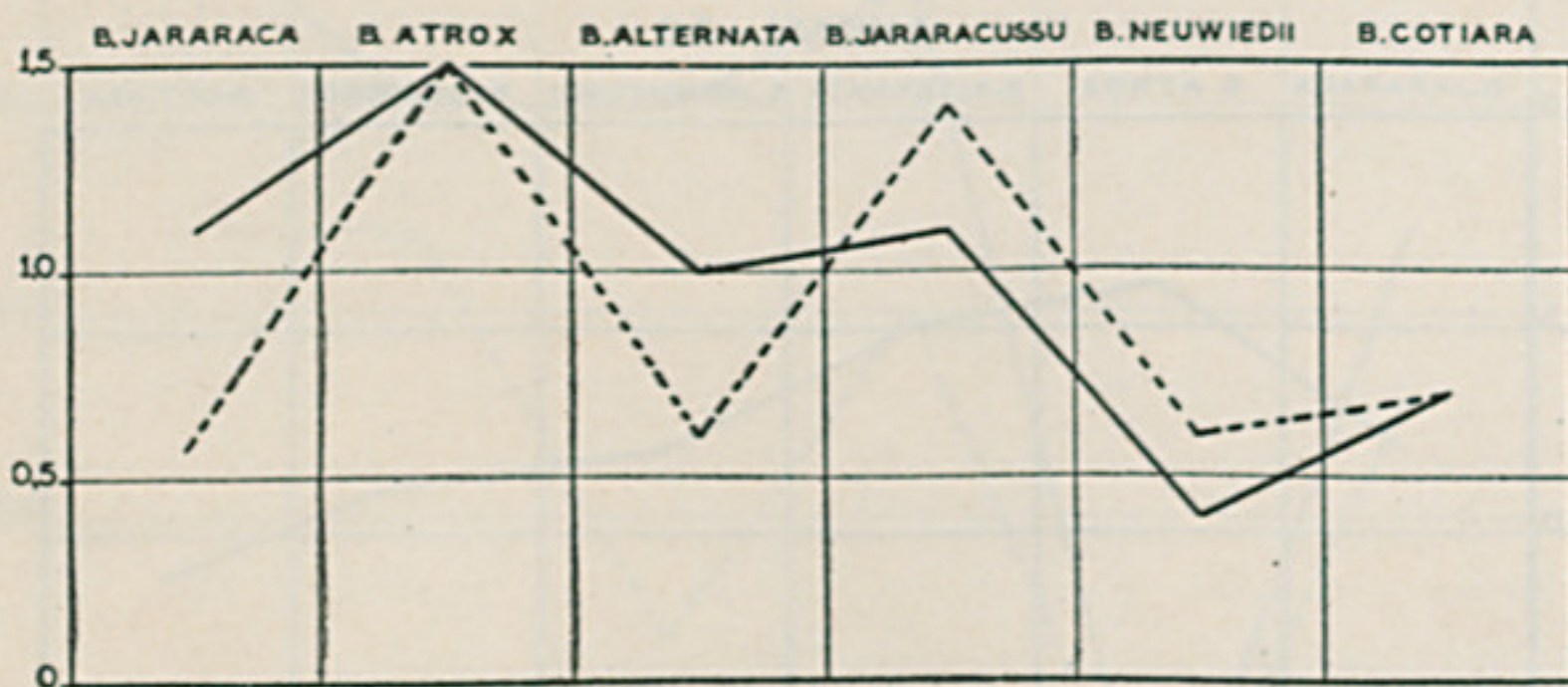


GRAFICO Nº 8

Legenda = ——— 1.ª verificação
 ----- 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 260

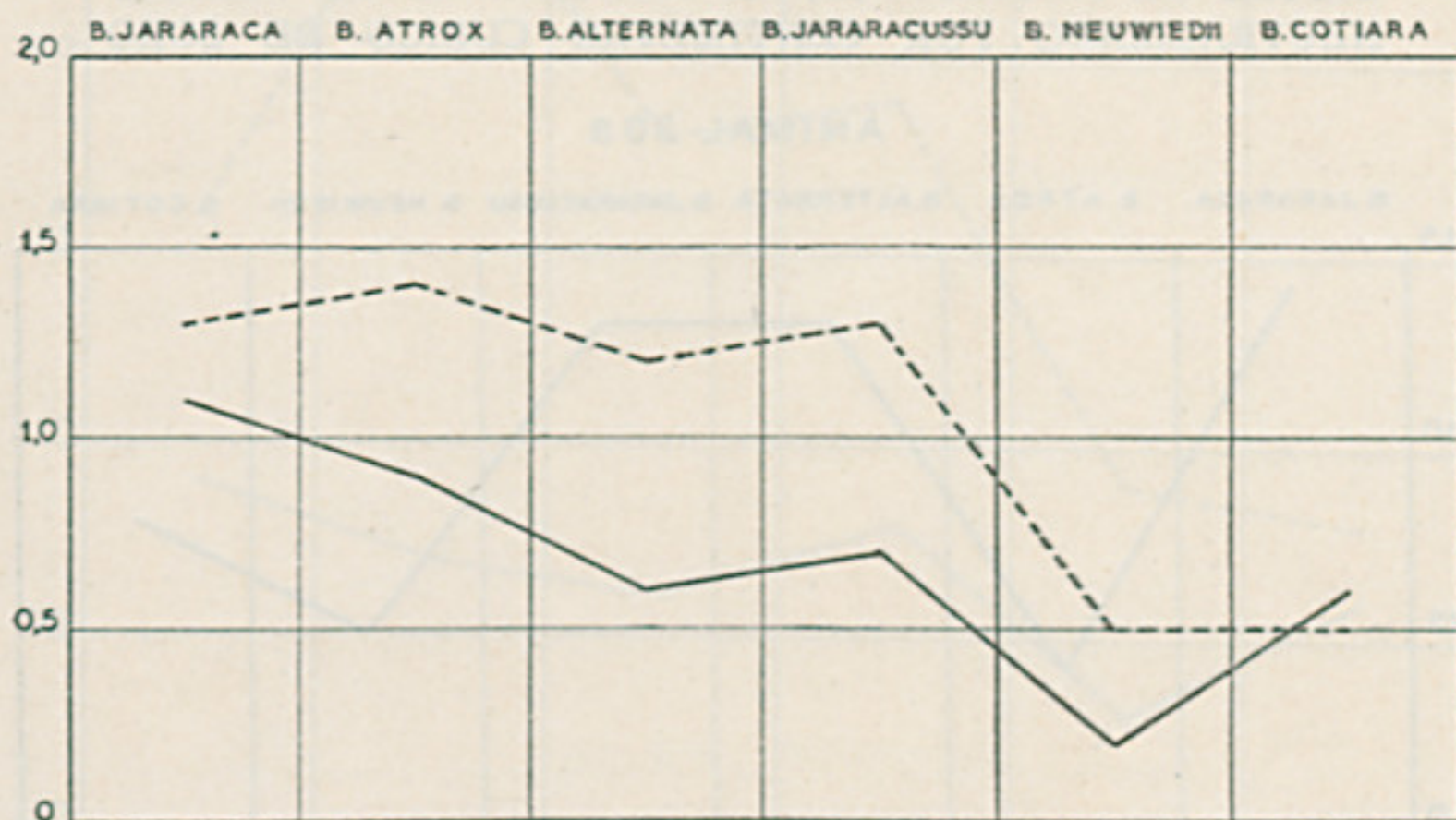


GRAFICO Nº 9

ANIMAL 289

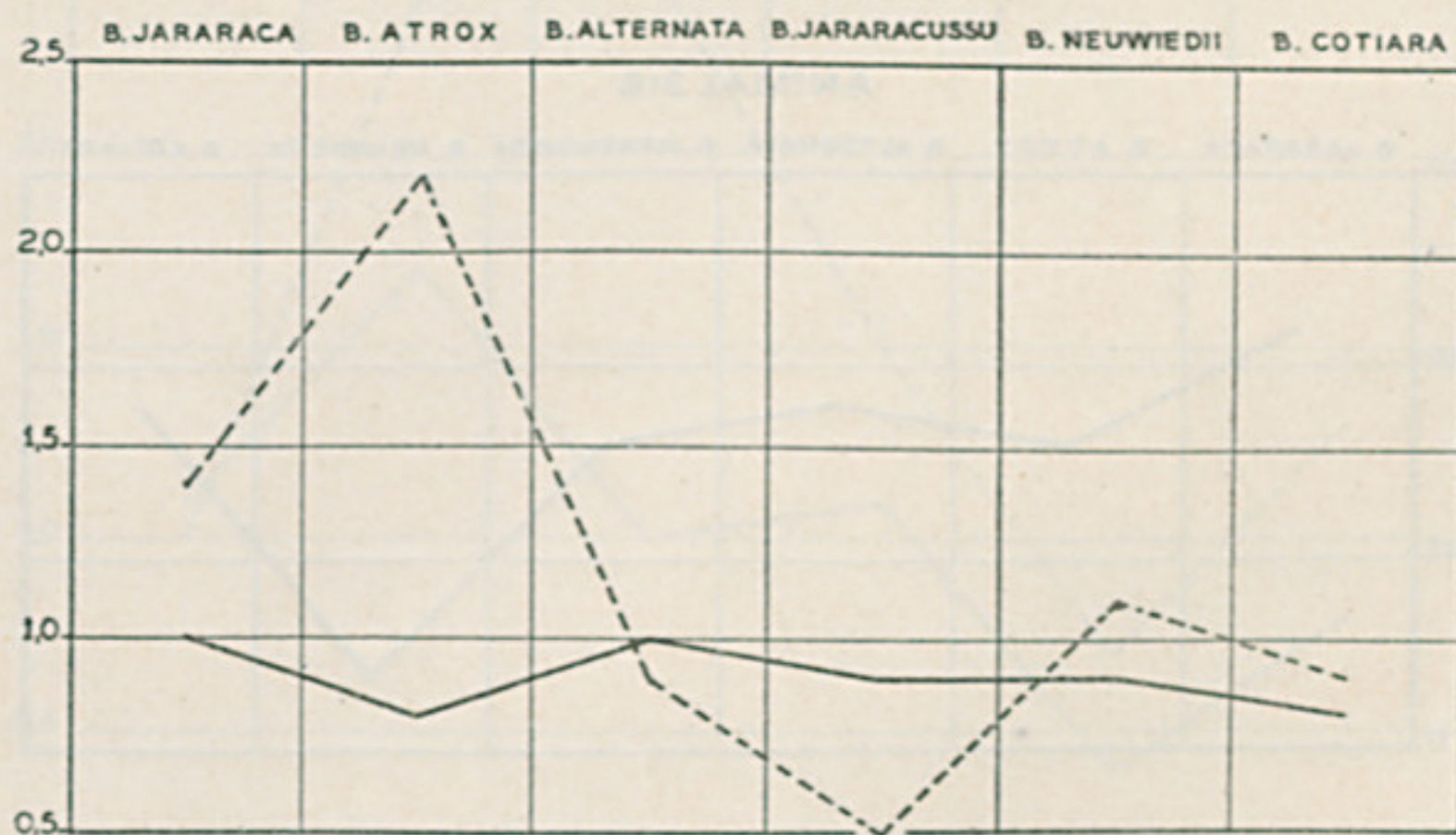


GRAFICO Nº 10

Legenda =
 — 1.ª verificação
 - - - 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 308

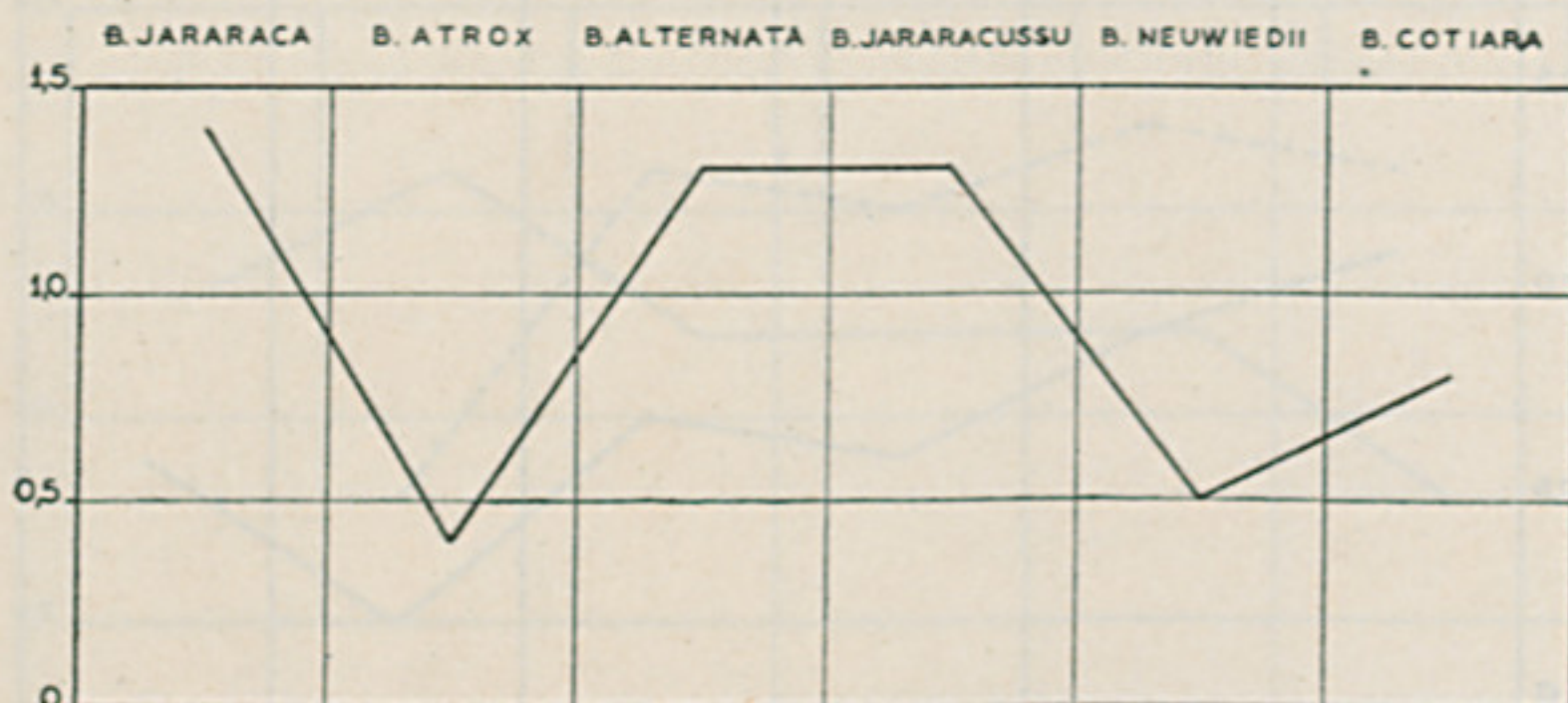


GRAFICO Nº 11

ANIMAL 318

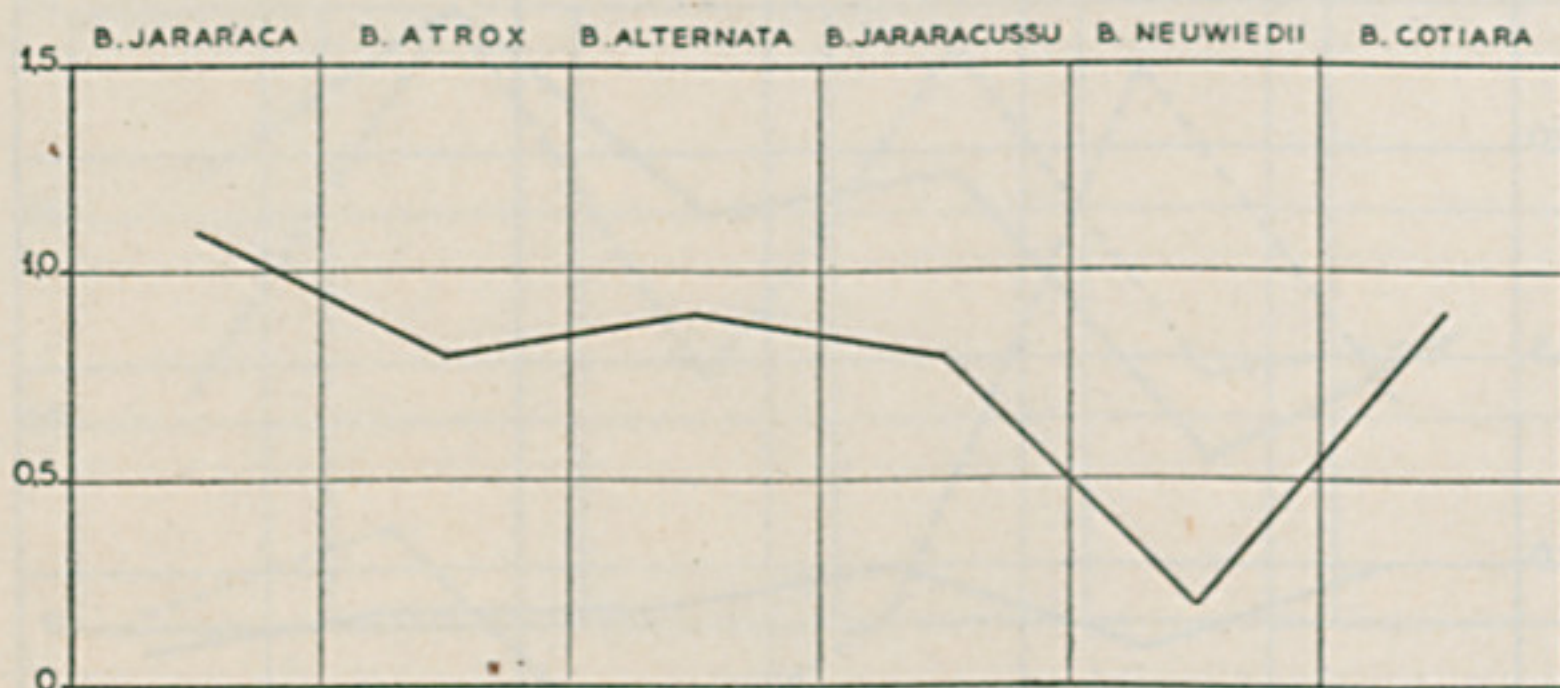


GRAFICO Nº 12

Legenda = ——— 1.ª verificação
 - - - - - 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 319

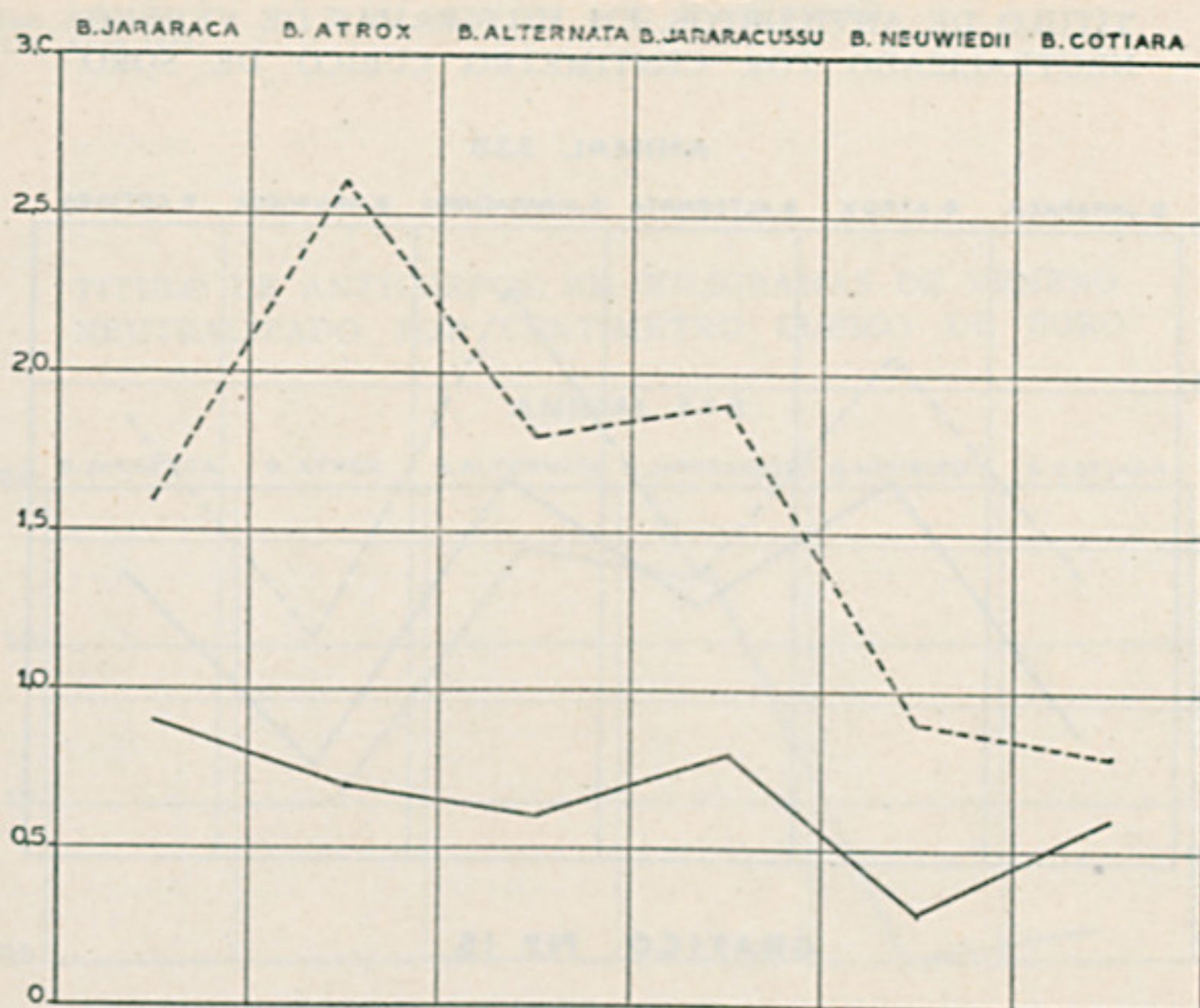


GRAFICO Nº 13

ANIMAL 320

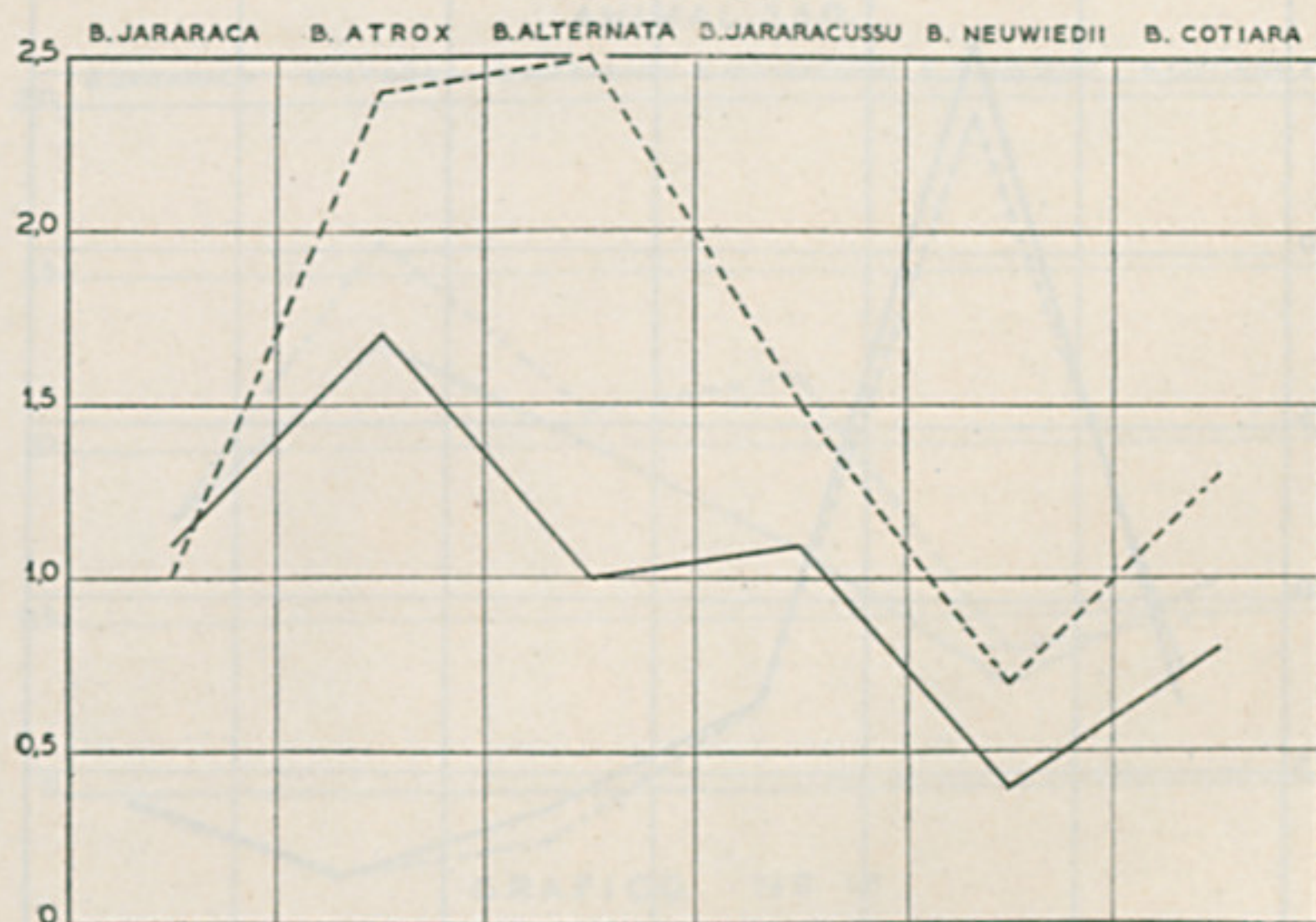


GRAFICO Nº 14

Legenda =
 — 1.ª verificação
 - - - 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 338

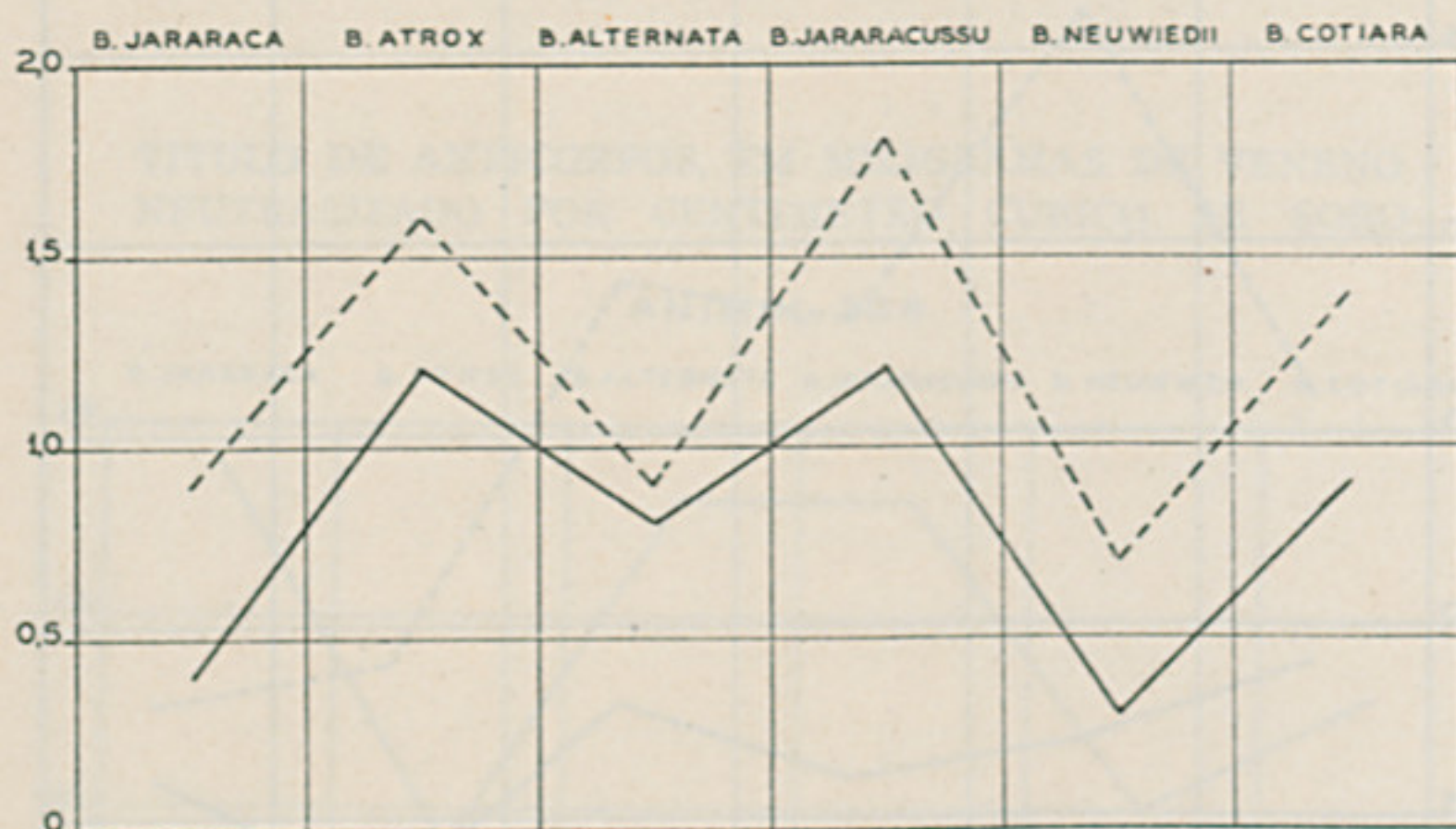


GRAFICO Nº 15

ANIMAL 341

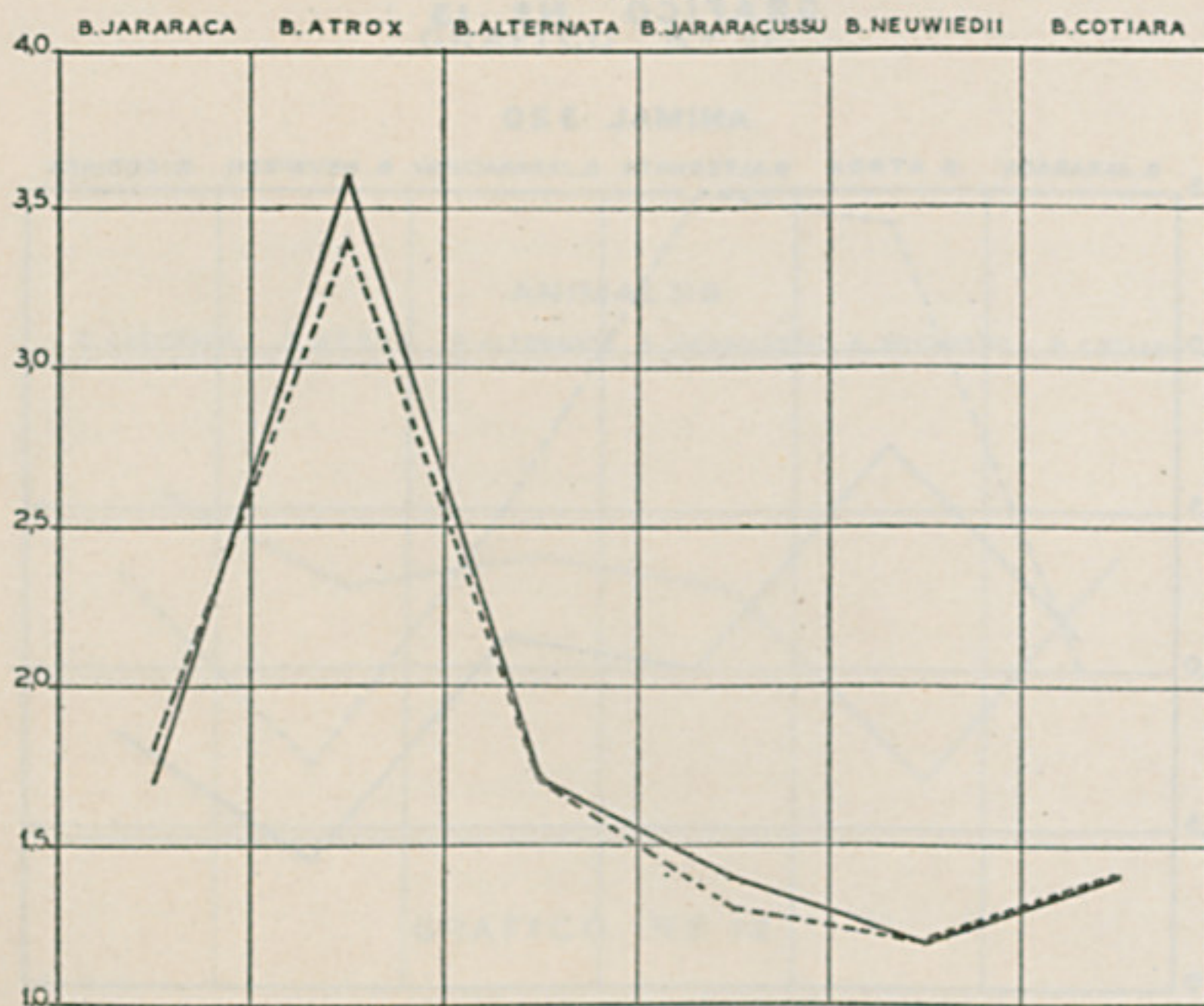


GRAFICO Nº 16

Legenda =
 — 1.ª verificação
 - - - 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 343

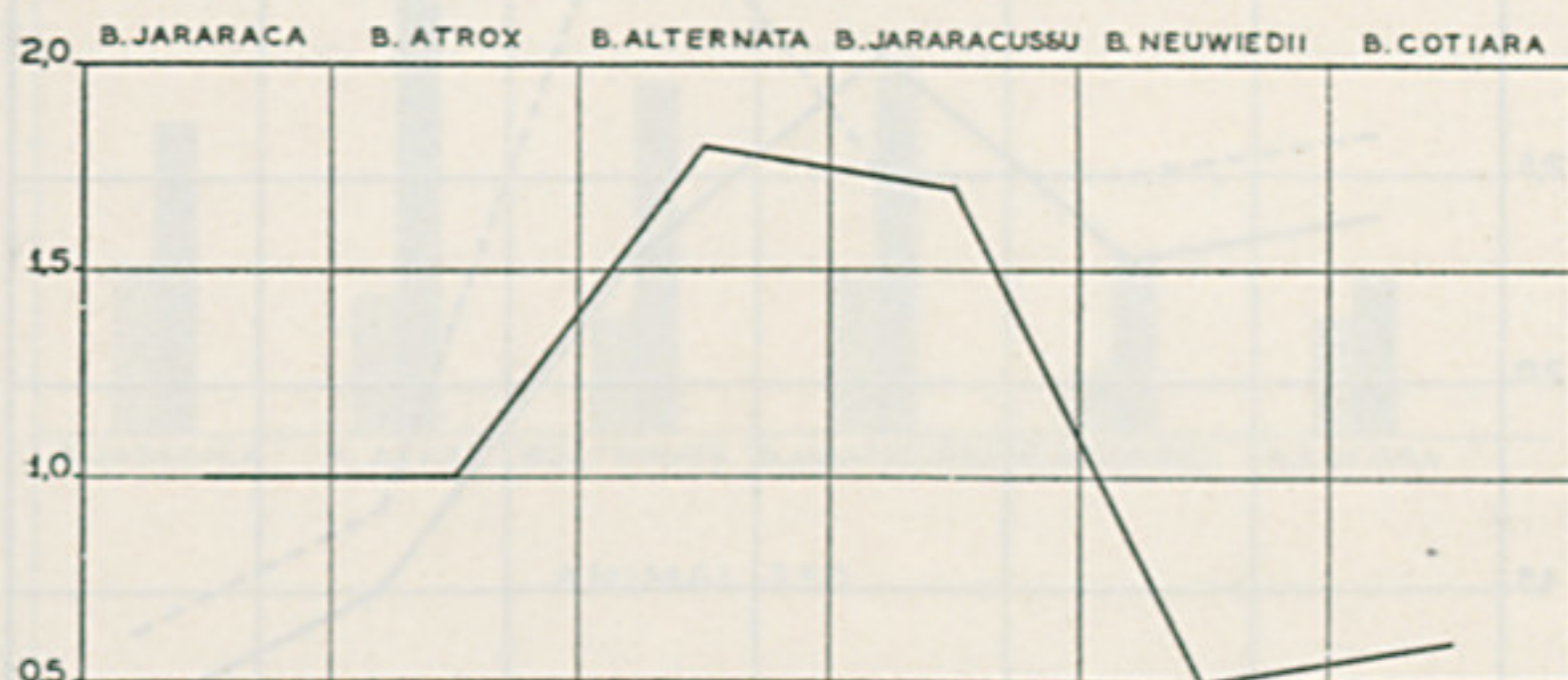


GRAFICO Nº 17

ANIMAL 350

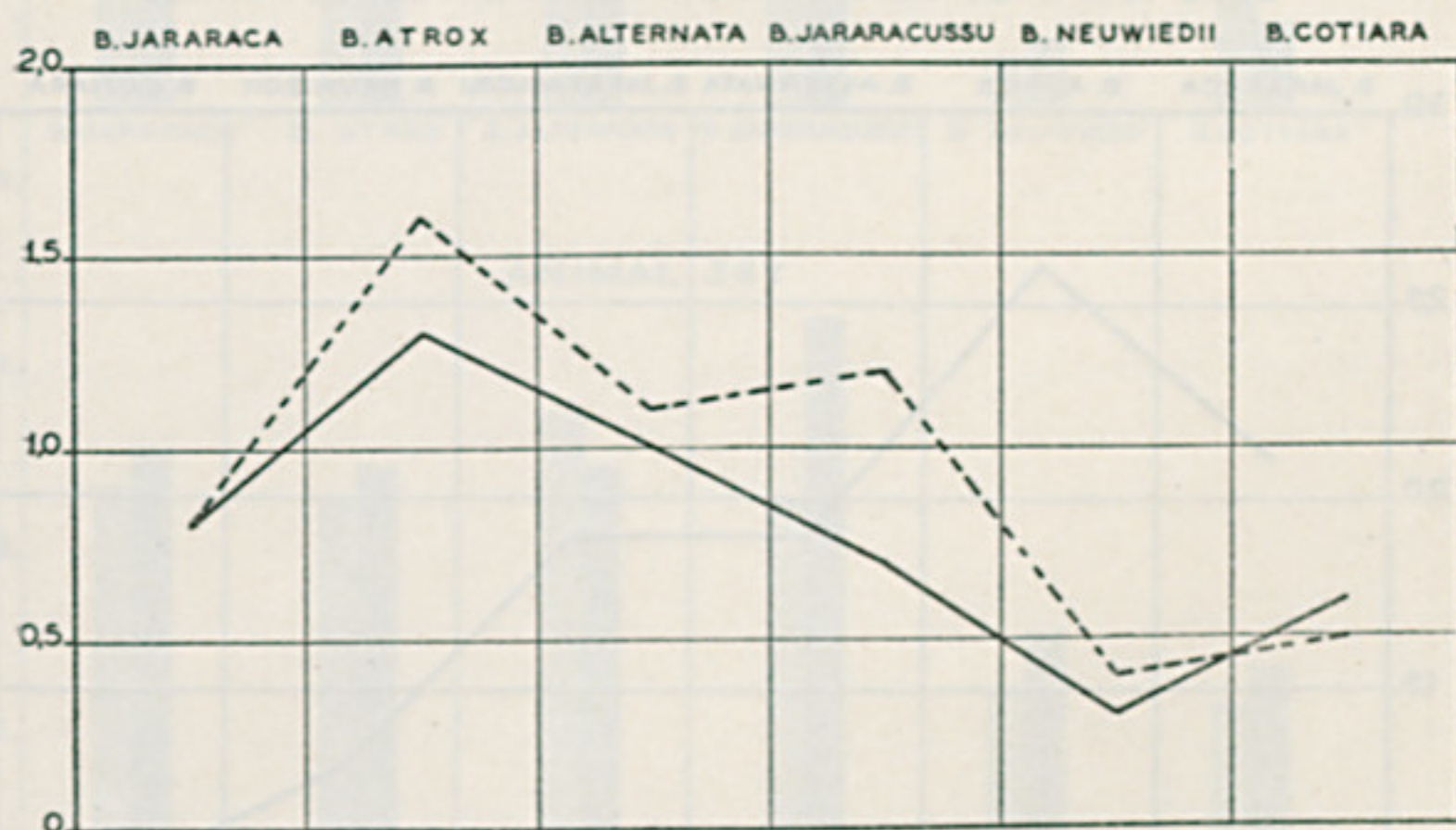


GRAFICO Nº 18

Legenda =
 — 1.ª verificação
 - - - 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

ANIMAL 367

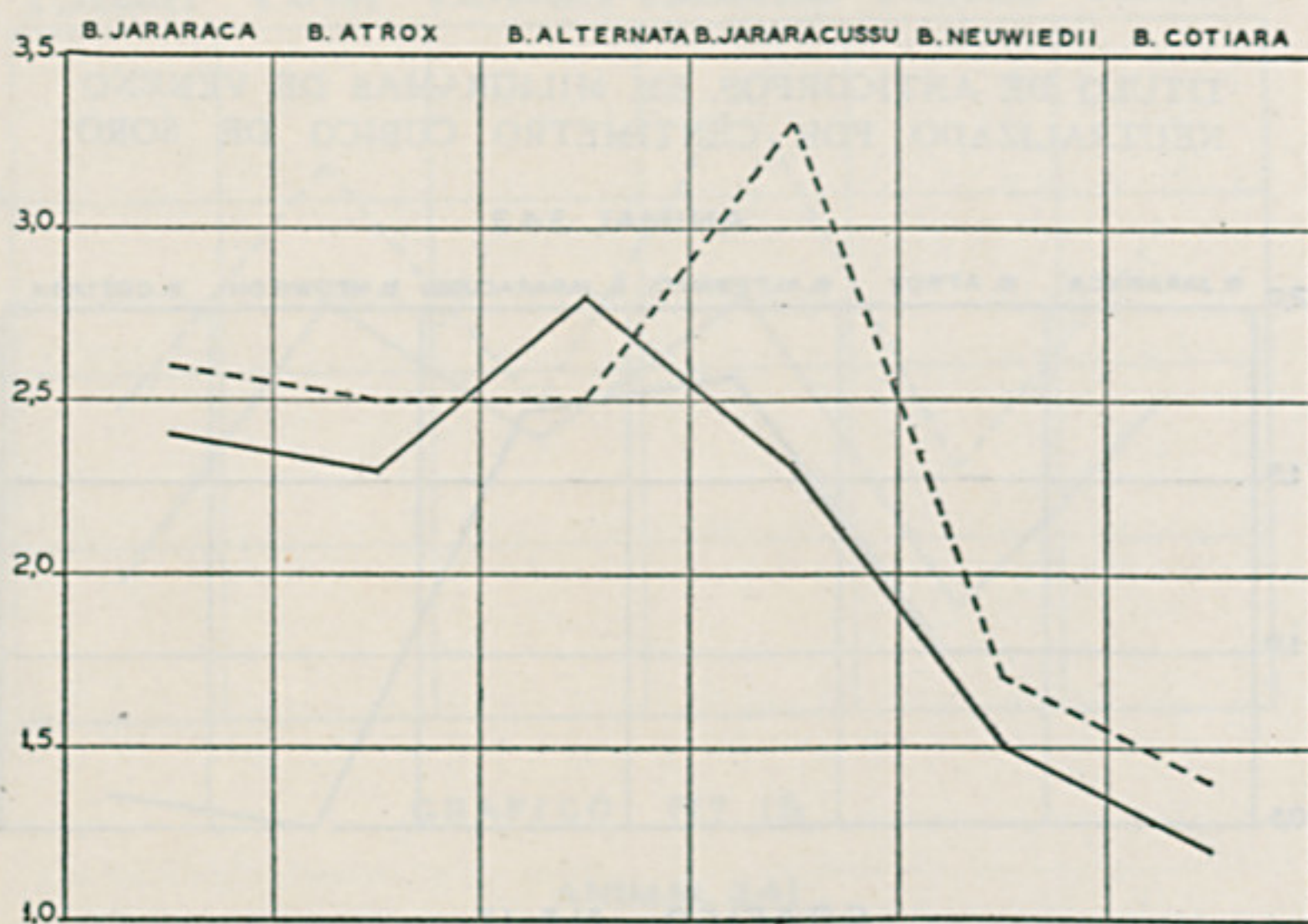


GRAFICO Nº 19

SORO ANTI-BOTROPICO POLIVALENTE CONCENTRADO

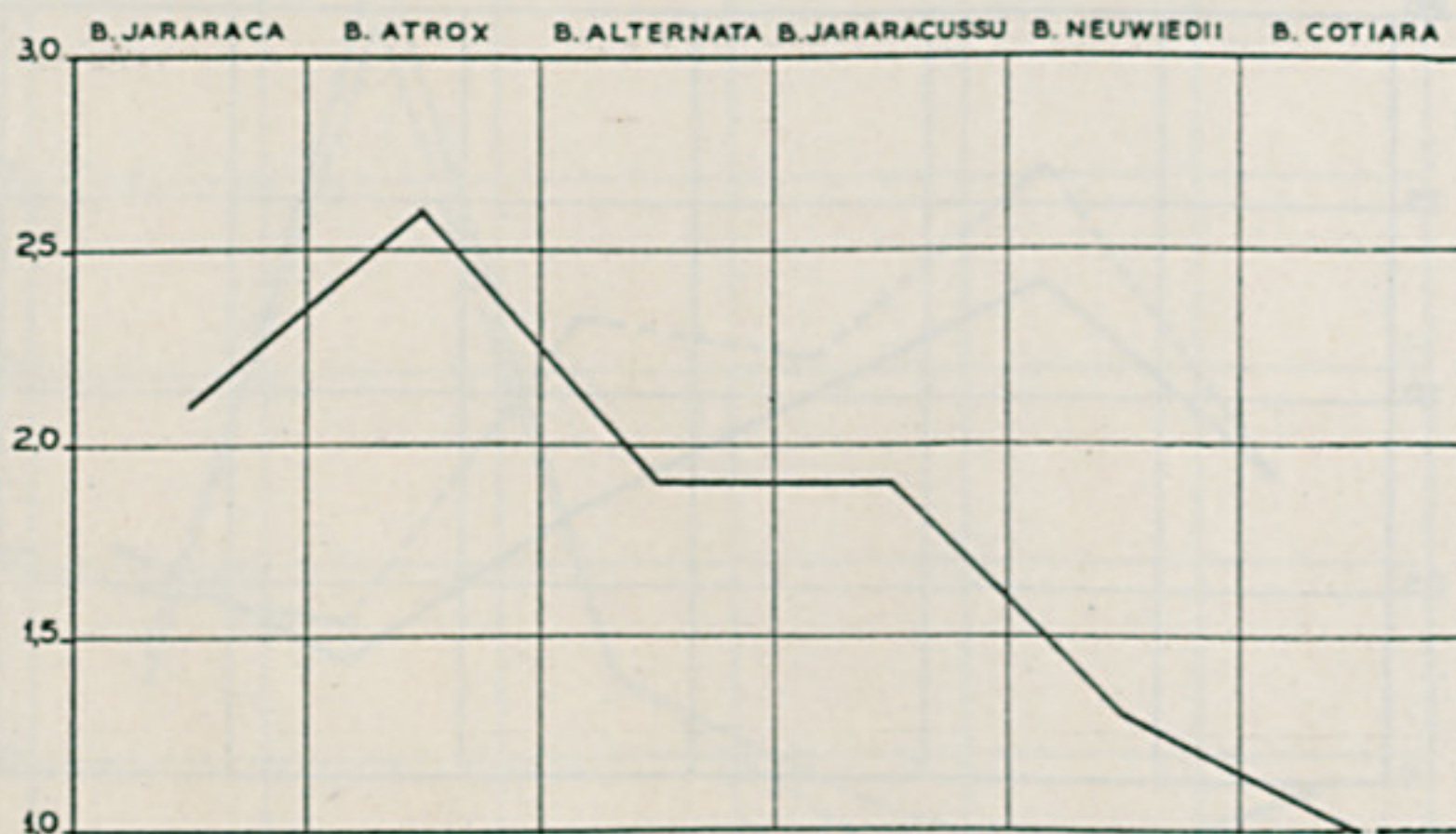


GRAFICO Nº 20

Legenda =
 — 1.ª verificação
 - - - - 2.ª verificação

TITULO DE ANTICORPOS, EM MILIGRAMAS DE VENENO
NEUTRALIZADO POR CENTIMETRO CUBICO DE SORO

