

Gazeta Medica da Bahia

PUBLICAÇÃO MENSAL

VOL. XLI

MARÇO DE 1910

NUMERO 9

SCHISTOSOMIASE DE MANSON

PELO

Dr. Cesar Martins Pireajá

(CONTINUAÇÃO DA PAG. 306)

MIRACIDIO.—De forma oval irregular e cor branca brilhante o impropriamente chamado embrião ciliado, quando dentro do ovo apresenta, ao nível da união dos dous terços anteriores com o terço posterior, um esboço de cintura representado por duas depressões pouco profundas, uma de cada lado e em pontos correspondentes.

Esta cintura não nos parece uma conformação definitiva, porém temporaria e determinada pela conformação da superficie interna da casca do ovo que, saliente neste ponto, deprime o corpo do miracidio extremamente maleavel.

Corrobora esta nossa afirmativa o facto de que no miracidio fóra do ovo não encontramos tal cintura.

A sua extremidade anterior ou cefalica, afilada, apresenta uma especie de carapuça possuindo uma pequena depressão, orientada transversalmente em relação ao grande eixo do corpo do animalculo, que parece corresponderá, si tanto

nos é dado prejulgar, á parte escavada da ventosa terminal do verme adulto.

A superficie exterior do miracidio, principalmente em seus dous terços anteriores, é recoberta de cilios que lhe são obliquamente implantados de modo ao menor angulo ficar voltado para a extremidade caudal.

Estes cilios parecem prepostos á locomoção do embrião. Entre o miracidio e a casca do ovo, entre o continente e o conteúdo, interpõe-se uma pellicula de substancia albuminoide; é chamada por Holcomb membrana vitellina.

E' esta membrana que dá ao ovo um duplo contorno, quando se observa em preparações de fêzes.

Com a nascença do miracidio ella fica no interior do ovo mais ou menos amarrotada como claramente se vê em microfotografia de Pirajá da Silva.

Esta membrana acompanha o miracidio nos movimentos tendentes a sahir do ovo e só desprende-se quando elle atravessa a rotura produzida na casca do ovo afim de ganhar o exterior; rasão por que perde o parallelismo que tem com ella a ponto de simular-lhe um duplo contorno e se nos apresenta dir-se-hia machucada.

Em tres ovos conseguimos distinguir uns corpos ellipticos, de côr branca escura, situados entre o miracidio e a membrana supramencionada que elles distendiam.

Em um dos ovos, estes corpos, em numero de dous situados do mesmo lado em relação ao miracidio, eram perfeitamente nitidos de modo a permittir uma mensuração exata; um d'elles, o maior e mais proximo do polo do ovo proximal em relação ao espiculo, tinha 0.0315 de comprimento sobre 0.014 de largura, o menor e mais afastado media 0.0245 sobre 0.014.

Estes corpos nós os interpretamos como substancia servindo á nutrição do miracidio com tanto mais probabilidades de acertar quanto se os não encontram senão em fézes frescas.

Holcomb os encontrou tambem e lhes deu a mesma significação funcional que lhes demos, facto cujo só tivemos conhecimento quando já escritas estas linhas. (1)

Quanto a estrutura do miracidio que descrevemos nos pareceu mais simples que a do miracidio do schisto somum Bilharzi, a julgar pelas estampas de Leuckart e descripções de autores em voga.

De facto, apesar da observação acurada e paciente de numerosos exemplares, não lhe pudemos descobrir nem o par de glandulas cervicaes unicellulares, (Raillet) (2) nem o systema

(1) Holcomb-(art. cit.)

(2) Raillet-«Observations sur l'embryon du *Gynecophorus hematobius*» Bulletin de la Soc. Zoologique, 1892 tome XVII pag. 161.

nervoso situado na parte média do corpo, nem os «infundibulum» ciliados vistos por Cahier e Raillet e concernentes ao aparelho excretor do verme adulto, mesmo usando da manobra aconselhada por Sonsino (in Davidson) (1); aproximar lentamente da lamina a objectiva do microscopio; tã́m pouco foi por nós visto o systema vascular lymphatico constituido por dois canaes sinuosos observados por Cobbold e Sonsino.

Apenas conseguimos ver em alguns exemplares o sacco mediano que representa os rudimentos do aparelho digestivo abrindo-se na depressão que termina a extremidade cetalica do miracidio cuja nós demos o valor de ventosa oral em esboço.

Observamos igualmente, e isto em todas as boas preparações, as cellulas embrionarias ou germinativas («Cobbold's sarcode globules») em numero variado e de fôrma e aspecto irregulares; occupam o centro do miracidio sendo que o resto de seu corpo é repleto de cellulas menores resultantes da divisão das primeiras. Estas cellulas germinativas parecem marcar uma nova fase na historia natural do parasito.

As dimensões por nós encontradas para o miracidio foram: médias 0.1189 sobre 0.0516, maximas 0.154 sobre 0.070 e minimas de 0.0875 sobre 0.0385.

(1) Davidson «Hygiene and Diseases of warm Climates pag. 1893.908

Quanto ás fases de cercaria e rédia que se supõe existir por analogia com demais trematódos são até o momento totalmente desconhecidas.

BIOLOGIA. — Reduzidos á hypotheses os conhecimentos que possuímos acerca do cyclo evolutivo do parasito, assim mesmo ellas nos interessam muito pelos dados que nos podem fornecer para o estabelecimento de uma profilaxia proveitosa e efficaz.

E em materia de hygiene se deve contar mesmo com hypotheses, principalmente quando como estas tem visos de probabilidade.

Em uma das nossas mais felizes preparações sobre um ovo cujas dimensões eram 0.147 sobre 0.0665 contendo um miracidio que media 0.1295 sobre 0.056 empregamos uma facil experiencia que depois repetimos com o mesmo resultado: sobre a preparação que o continha espalhamos espessa camada de agua, e, apezar da dessecação por evaporação que se deu, no dia seguinte as suas dimensões se achavam acrescidas e eram 0.154 sobre 0.070 e as de miracidio 0.1365 sobre 0.059 de largura.

Esta experiencia parece provar que não só o ovo augmenta de dimensões durante a evolução do miracidio desde que é posto pela fêmea do verme, augmento que continúa durante a travessia dos tecidos em brusca do exterior (Looss) mas

tambem uma vez que com as fezes attinja o elemento liquido.

Esta ampliação volumetrica do ovo, que parece ser devida a penetração de agua na substancia anhistá, e permeavel, que lhe constitue a casca, favorece, como facilmente se comprehende a rotura della por onde escapar-se-ha o miracidio.

Os ovos que se encontram nas fezes, em seu maior numero contém um miracidio vivo e n'ovel; no que nos serviu para a experiencia acima citada, antes de fazel-a, conseguimos observar os movimentos do miracidium.

Estes eram uma especie de tremor fibrillar, intermitente, agitando todo o corpo do pseudo embrião e terminando bruscamente por uma sacudidela mais forte que projectava a extremidade cefalica de encontro a casca do ovo, dir-se-hia para rompê-la.

Segue-se um intervallo de repouso pós o qual começam de novo os movimentos do miracidio.

Firkert (1) que observou bem estes movimentos, marcando-lhes a duração e a do intervallo de repouso, compara a sacudidela final de cada série ao movimento de um ariete.

Esta movimentação afinal consegue attingir o escopo que pretende: quebrar a casca do ovo afim de abrir-lhe uma sahida.

(1) Firkert « De la pseudo-dysenterie á Bilkarzie, observés au Congo.

Mas para que estes movimentos se effectuem torna-se imprescindivel a humectação das fêzes; desde que a dessecação se dá o miracidio se immobiliza e se retrae; mas não está morto, uma gota de agua leva-lhe a vida restitue-lhe a forma e os movimentos; é notavel que, quando a dessecação attinge um certo gráo a agua humedecendo a preparação amplia, bruscamente o volume do ovo e a casca se quebra, independente dos movimentos citados, dando sahida ao miracidio.

Poder-se-ha, pois, provocar experimentalmente a sahida do miracidio; fizemol-o muitas vezes.

Uma vez fora do ovo, de onde escapou-se atravez uma rotura transversa ou longitudinal, o miracidio náda no liquido ambiente por meio de seus cilios que parecem prepostos exclusivamente á locomoção aquatica.

A observação dos cortes de recto schistoso-masico revelando, ao lado de ovos contendo o miracidio, outros em fragmentos e d'elle desprovidos sugere a ideia de que a sahida do miracidio possa effectuar-se no seio das camadas constituintes do recto; de como elle attinge o exterior é o que vamos explicar.

Para fazel-o, torna-se necessario perfure as camadas que o separam da luz rectal.

Chatiu e Raillet o dizem provido de uma especie de *rostrum* com auxilio do qual executam esta travessia; mas dada a malleabilidade e movi-

mentação activa do miracídio se o pôde julgar capaz de attingir o exterior, adaptando a sua fôrma á dos espaços intercellulares, caminhando pouco a pouco sem auxilio de *rostrum* que nós não observamos nos que estudamos.

Segundo Letulle (1) é atravez as glandulas de Lieberkuhn dilatadas e hypertrofiadas que o miracídio attinge o exterior.

A cerca de sua evolução posterior na agua, nada sabemos de positivo; somente á presença de cellulas germinativas superior a existencia de uma faze intermédia entre o miracídio e o verme adulto.

Lortet e Vialleton por analogia com os demais trematodos julgam que elle penetra em seguida em algum animal desconhecido onde completa á sua evolução.

Para Sonsino (in Davidson op. cit.) é nos molluscos onde elle se transforma em uma cria, (rédia) que desenvolve em seu interior uma geração de larvas cujas penetram no hospede definitivo afim de se tornarem vermes adultos.

Dada porém a frequencia d'esta verminose é para admirar que se não tenha ainda descoberto o hospede intermediario apesar das diligentes pesquisas de Cobbold e do proprio Sonsino.

Este ultimo autor justifica o facto pelas difficuldades que decorrem da hypothese de que «this

(1) Letulle: «La bilharzióse intestinal» Archives de Parasitologie 1905.

intermediary host instead of being a mollusc may be a species of Nair or similar animal» que em razão de sua transparencia escape á observação.

Ainda Sousine, (1) após novos estudos, pretende que o hospede intermediario pertença a classe dos anthropodos, fazendo notar que sob este ponto de vista a historia da vida do parasito «resembles that of the holostomes, the intermediary host belonging to the class of arthropoda.» Mais tarde, porém, (2) elle estende á larva de um insecto «doubly a species of ephemerida» a propriedade de servir como hospede intermediario.

Loos admite que o hospede intermediario possa ser o proprio homem; o miracidio penetraria pela pelle e completaria o seu cyclo evolutivo de modo a tornar-se verme adulto e considera que nestas condições a penetração pela bocca é impossivel pois o animaculo não resiste a uma solução a 1/100 de acido chlorhydrico durante um minuto e durante tres a solução a 1/200 muito menos ao succo gastrico.

Essa ideia que se vulgaria da penetração pela pelle é perfeitamente admissivel se considerarmos os activos movimentos do miracidio e sua malleabilidade.

São juntamente estas propriedades que nos explicam de como elle ganha o exterior quando nasce no seio das camadas do recto.

(1) Sousine, Lancet, August, 19, 1893.

(2) Sousine, Lancet, September, 9, 1893.

Mas, e permita-nos o eminente helmintologista esta nossa modesta reflexão, se como está provado, a nascença do miracídio pode effectuar-se nas paredes do recto, si o homem serve de hospede intermediario não haveria necessidade de o miracídio sahir, pelo contrario, no homem cumpriria as demais fases evolutivas e tornar-se-hia verme adulto; nestas condições: e como se explicariam os casos de cura expontanea?

e Como, igualmente (é um dos preciosos recursos da therapeutica hygienica), poder-se-hia subtraindo o individuo a reinfeccção curar a molestia?

A ser a admissivel a theoria da penetração pela pelle sei-o-ha em relação a larva antes que ao miracídio.

Quanto a ideia da bocca servir como via de penetração de larvas livres ou enkystadas n'um hospede intermediario cujo uma vez chegado ao tubo digestivo seja destruido, digerido pondo-as em liberdade as quaes então ganhariam as ramificações visceras da porta e d'ahi iriam ter ás intra-hepaticas da mesma veia, domicilio natural do verme adulto parece-nos perfeitamente admissivel. (1)

Alguns observadores do sul da Africa, onde a schistosomase intestinal é commum, considerando a maior frequencia da molestia nos homens que nas mulheres, explicam o facto pelos habitos, diffe-

(1) As considerações endemiologicas.

rentes nos dois sexos, em relação aos banhos, tendo em muito a hypothese da penetração lavaria pela pelle, áno ou urethra de onde procuraríam attingir o fígado, moradia habitual do verme adulto. Sonsino (in Davidson) combate essa idéa, explicando a infecção pela agua deglutida durante o banho a qual serve de vehiculo á larva.

Por nossa parte observamos um numero reduzido de molestia entre os schistosomaticos da Baía; o que corrobora a observação dos helmintologistas sul-africanos.

Além d'isso, entre nós, o facto de a maioria dos portadores do verme pertencer á classe pobre (operarios, roceiros) que não pôde, por considerações economicas e falta de instrucção hygienica, fazer uso de aguas de beber puras, advoga em favor penetração de larvas pela boca com aguas polluidas; é, de resto, o unico meio de infecção que Sonsino admite.

Argumenta Sonsino contra a penetração lavaria pela pelle com dous factos: o de não existir entozoarío algum que siga esta via para infectar o homem e a observação de individuos helmintoferos que nunca se banharam em rios.

Quanto ao primeiro facto, com força de argumento, era *relativamente* admissivel no tempo em que elle escreveu isto na obra de Davidson (1893); hoje é noção adquirida em helmintologia a penetração de larvas de ankylostomo pela pelle; quanto ao segundo, prova simplesmente que a

infecção se pode dar pelas vias digestivas mas não exclue a hypothese que pretende combater.

Seja como tór o parasito attinge o figado onde se o encontra em estado adulto nas autopsias; é o estudo de sua vida d'ora em diante que nos vai occupar.

Na autopsia do individuo que serve á observação XII de Pirajá da Silva foram encontrados 24 schistosomos de Manson dos quaes: 19 vermes machos isolados, dous casaes em copula e um verme fêmea; as fêmeas continham no utero, cada uma, um ovo lateralmente espiculado.

Ora si nos referirmos á asserção de Loos (1) de que: «n'ella giovinezza i due vermi sessuati vivono isolati tra loro» que «all'inizio degli amori la feminina penetra nel canale ginecoforo del maschio» nos podemos, si nos é dado tirar conclusões do resultado da autopsia citada deixar pairar sobre a asserção do mesmo Looss de que «le forme che si trovano nel fegato sono esclusivamente forme giovani» duvidas mais ou menos bem fundadas. Com effeito dos tres vermes fêmeas todos continham ovo no utero e dois se achavam em copula o que nos parece em contradicção com o que pontifica o illustre professor de que «nella porta le coppie copulate giungono solo eccezionalmente ed anché queste sono giovane

(1) Loos m. C. Mense «Mallatie dei Paesi Tropicali» vol. I--1906 pg. 110.

poiche le femine non contengono ancora nova nell'utero.»

Ora em um total de tres fêmeas todas com ovo no utero e duas em copula não nos parece constituir excepção.

Comtudo novos factos de observação são precisos para esclarecer o assumpto.

E é por isso que fugimos de tirar uma conclusão definitiva que uma unica autopsia não nos autorisa; parece pois que pelo menos em relação ao schistosomum Mansoni não é excepcional encontrar-o adulto no figado.

Os vermes apresentam-se ás vezes com o intestino cheio de sangue donde se deduz, sob o ponto de vista da alimentação, que o schistosomum Mansoni é hemofago.

Como já dissemos, enquanto jovens os dous vermes, macho e femea, vivem separados, mas, uma vez que attingem a madurez sexual a femea penetra no canal gynecoforo do macho; como porém ella é mais longa que este canal suas extremidades cetalica e caudal d'elle emergem.

A sua parte média mais ou menos dobrada se acha no canal gynecoforo do macho que a abraça á maneira de um sobretudo.

Como não ha orgãos copuladores o liquido fecundante ejaculado no sulco ventral da femea sobe por capillaridade até a vulva e d'ahi ganha os orgãos genitales internos onde fecunda o ovulo.

Quando a copula não foi perturbada o poro ge-

nital do macho se acha em contacto com o da fêmea então a ejaculação se effectua directamente na vulva. Uma vez fecundada a fêmea procura uma sahida para seus ovos depositando-os em lugar de onde elles possam ganhar o exterior. Então, apezar da corrente sanguinea que lhe é contraria e favorecida pela inexistencia de valvulas na veia-porta e ramificações ella caminha com auxilio de suas duas ventosas encolhendo e distendendo a porção de seu corpo que está entre ellas.

Das ramificações intra-hepaticas ganha as ramificações intestinaes da veia-porta attinge vasos cada vez mais finos, menos calibrosos e como explicam as differentes grossuras do seu corpo lá onde a parte média d'ella, a mais grossa, obtura a luz do vaso o segmento anterior mais delgado está livre e movel.

Pelo orificio externo da vagina situado n'este segmento sahem os ovos.

A postura se effectua pois na veia cuja circulação de retorno está parada.

Outras vezes o verme fixa-se por suas duas ventosas sobre a parede do vaso e adapta a vulva á abertura de um vaso afferente onde depõe seus ovos.

Succede, porem, frequentemente, que a fêmea é conduzida passivamente pelo macho que a alberga no canal gynecoforo e então lá nos

capillares da sub-mucosa intestinal effectua-se a postura. (1)

Então se verifica em cortes do recto, especialmente, grande numero de ovos na submucosa.

Loos que admite uma só especie de schistosomos conclue ser verosimil que os ovos lateralmente espiculados, «ouva abortive» para elle, sejam postos no figado e dahi attingam a veia super-hepatica e a circulação geral ou então os canaliculos biliares de onde vão ter ao intestino com o bilis.

Os casos raros de encontrarem-se ovos na circulação geral periferica (Pirajá de Silva) (2), no pulmão, no sangue do ventriculo esquerdo (autopsia de Griessinger) attestam a veracidade da hypothese de Looss.

Por sua vez, Gautrelet tendo encontrado ovos de schistosomo em um calculo biliar advoga em favor da possibilidade da sahida de ovos pelos canaliculos biliares para o intestino.

Nenhuma duvida de que esta ultima via possa ser *tambem* um meio de eliminação de ovos de schistosomo; mas, o que é mais frequente, o que ordinariamente acontece, é os ovos serem depos-

(1) Recentemente Pirajá da Silva estudando com Letulle encontrou em cortes de recto schistosomario um casal de schistosomo.

(2) Pirajá da Silva «Brazil Medico» 1. de Agosto de 1908.

tos na sub-mucosa do intestino, particularmente do recto e d'ahi ganharem o exterior.

Assim o attestam os numerosos cortes histológicos praticados em 1905 por Letulle, o anno passado por Piraja da Silva e este anno por nós os quaes revelaram numerosos ovos lateralmente espiculados na sub-mucosa do recto. (1)

Quanto ao facto de serem achados ovos lateralmente espiculados (abortados para Looss) no figado pôde muito bem succeder que a fêmea desobstruindo o vaso após a postura, nem todos os ovos lhe tenham atravessado as paredes e os que nelle ainda permanecem levados passivamente pela corrente sanguinea cheguem ao orgão jecoral.

Isso comtudo se é uma explicação para o facto raro de se encontrarem ovos no figado não importa em uma negação da affirmativa de Looss.

Agora vejamos de como os ovos chegam ao exterior:

A *vis a tergo* auxiliada talvez por movimentos activos dos ovos que manobram com o espiculo lateralmente implantado «in senso ostacolante» á maneira de um remo obliquamente fixo a uma barca determinam a passagem d'elles atravez a parede das veias, por entre as cellulas de sua

(1) E' nesta camada que se os encontra mais numerosos; podem ser achados tambem na mucosa e mesmo na muscular (somno).

tunica endothelial; esta travessia é facilitada, com os progressos da molestia, pelas lesões de endoflebite vegetante e obliterante.

Uma vez fora dos vasos, no tecido conjunctivo peri-vascular, os ovos procuram, á todo tranze, ganhar o vasio-intestinal.

De que modo o fazem, ignora-se.

Talvez os auxilie a contração das fibras musculares intestinaes no momento da defecação; então os ovos são de algum modo espremidos até a superficie do intestino, de onde são levados pelo esfregamento do bolo fecal.

Loos crê que é agora a occasião do espiculo desempenhar sua funcção agindo «in senso ostacolante»; o ovo attinge, deste modo, o exterior, não seguindo uma linha recta mas segundo uma serie de circulos.

Seja como fôr, o que é verdade é que o grande numero de ovos encontrados no tecido conjunctivo peri-glandular supõe ser as glandulas da Lieberkun dilatadas e hypertrofiadas vias de eliminação para os ovos de schistosomo como o são para o miracidio.

Em caso algum, conforme Letulle, o systema vascular lynfatico, especialmente o tecido reticulado do recto, serve de via de evacuação para os ovos quer para o miracidio.

Mas nem todos attingem o exterior, quer os cujo miracidio sahio, quer os intactos, alguns

permanecem no recto onde são posteriormente victimas de processos degenerativos e são o ali-
cerce morbigenico, o protagonista de todo o drama
anatomopathologico que se vai desenrolar nas
tunicas intestinaes.

**Indice endemico da filariase latente
na Bahia**

PELO

DR. ALMIR CARDOZO DE OLIVEIRA.

Os drs. Paterson e Hall em 1878, procuraram determinar, « com alguns visos de exactidão », a proporção a que attinge a infecção parasitaria na população da Bahia pela *filaria sanguinis hominis*; para isto examinaram, como já disse, o sangue de trezentas e nove pessoas, « tomadas ao acaso e sem attenção ás molestias de que estavam ou se podia presumir que estivessem affectadas », dentre as primeiras que compareciam a sua consulta diaria. Por este modo chegarão á conclusão de que 8,41% dos habitantes deste Estado eram parasitados pela filaria; por isso que, em vinte e seis dos seus observados, foram encontrados embryões deste nematoide.

Se bem que estes estudos não houvessem unicamente versado sobre filariase latente, todavia, excluidos os quatro unicos casos da lista dos drs. Paterson e Hall, que apresentavam manifestações,

hoje catalogadas sob a rubrica de molestias filariasicas, é facil verificar-se que elles encontraram, na Bahia, 7,12% de individuos filariferos.

Ha dois annos passados, o Dr. Ferreira Chaves tentou emprehender aqui novas pesquisas limitadas á filariase latente. O mallogro dessa tentativa é por elle assim confessado em sua these inaugural: «Pretendiamos fazer um estudo sobre a filariase latente, examinando indistinctamente varios individuos não affectados propriamente de filariase.

Infelizmente as nossas tentativas foram de todo frustadas, porquanto um certo numero de circumstancias fez-nos cahir de vencida abandonando a idéa preconcebida, mergulhando-nos na mais cruel desillusão.

Fomos no entanto obscuro auxiliar do muito illustre e talentoso Dr. Prado Valladares, quando procuravamos, examinando os alumnos do Lyceu Salesiano da Bahia, constatar a veracidade da filariase latente. Foram examinados cerca de cinquenta alumnos, apparentando tal ou qual robustez, e em nenhum delles se verificou embryões de filarias».

Actualmente o dr. João Frões — de todos os mestres que tenho tido aquelle que, depois de meu Pae, teve parte mais saliente na orientação scientifica de meu espirito—já tem iniciadas observações tambem relativas ao estabelecimento deste indice endemico, as quaes, quando terminadas—

reputo susceptiveis de firmal-o, graças aos processos e methodos empregados.

Deste rapido historico se infere a opportunidade de meu tentamen, procurando concorrer tambem, com meus fracos recursos, para a elucidação de um assumpto, que está felizmente incitando a tenacidade pesquisadora do Dr. João Fróes; pois que ficaram invalidadas as conclusões dos Drs. Paterson e Hall, desde que as imperfeições technicas de suas pesquisas não podem garantir resultados seguros.

Confirmando esta minha asserção, lembro, como um simples exemplo, que os Drs. Paterson e Hall effectuavam seus exames pela manhã, o que é de todo criticavel numa região em que, até hoje, só se tem encontrado a filaria de Bancroft, que, como se sabe, tem uma periodicidade nocturna.

Elles só podiam, pois, ter encontrado embryões retardatarios, sendo, por isto mesmo muito provavel, que varios casos de filariase, lhes houvessem passado despercebidos. Alem disto, o modo rapido pelo qual faziam taes exames permite concluir que micro-filarias, existentes em uma lamina, podessem deixar facilmente de ter sido observadas. E' o proprio Paterson quem diz em referencia a este facto:

« Demais sendo necessariamente abreviado o nosso exame, uma filaria, que ahi existisse, podia ter escapado ás nossas vistas ».

Dest'arte salientada a opportunidade do assumpto passo, agora, a fazer considerações, embora resumidas, sobre a maneira como procedi effectuando as minhas observações.

A filariase latente de um individuo qualquer só podendo ser denunciada nas condições normaes, pela existencia de micro-filarias circulantes em seu sangue, é bem de ver que as minhas observações tiveram por fim o exame do sangue peripherico—e, sendo um conhecimento ha muito adquirido em Medicina Tropical, o da periodicidade das filarias, era tambem natural que eu desse preferencia, para minhas pesquisas, a certas horas adequadas.

Foi assim que, de todos os meus observados, retirei o sangue durante a noite, entre onze horas e uma hora; affastei-me, portanto, neste particular da praxe antiga, tornada classica da procura das micro-filarias ás doze horas exactas, firmando-me para isto na seguinte conclusão dos trabalhos de Duncan Whyte sobre a periodicidade destes vermes:

«Que a hora em que o maior numero de micro-filarias apparece no sangue, não é, como frequentemente se diz, sempre meia noite e que, por outro lado, o numero é muitas vezes menor naquella hora, do que o é antes e depois.»

De dia, ás mesmas horas, tambem repeti o meu exame na maioria dos meus observados, tendo entretanto, até hoje resultado negativo.

Obtive sempre o sangue por picada na polpa digital, despresando a pratica inutil e talvez mesmo prejudicial ao resultado do exame da rigorosa asepsia previa feita com alcool e ether, tendo porém, sempre o cuidado de trazer convenientemente desinfectada a lancêta de que me servia, como tambem de fazer a lavagem do dêdo, todas as vezes que este estava suado ou não convenientemente limpo.

Do sangue que surdia tomava quatro gottas, que collocava contigualmente no centro de uma lamina e com o angulo de uma outra espalhava-as, misturando-as de tal forma que, após esta operação, formassem uma camada espessa, mais ou menos das dimensões de uma laminula commum.

De cada individuo preparei sempre duas laminas, assim obtidas, para o exame do sangue secco e corado, ao tempo em que dispunha tambem de uma para o exame fresco, collocando sobre ella as quatro gottas e, sem mais precauções cobrindo-a com uma outra.

Como se vê, procurei examinar uma quantidade de sangue approximadamente a mesma em todas as pessoas, desde que tive o cuidado de pôr um numero egual de gottas em cada lamina.

Concordo que isto seja muito falho pela quasi impossibilidade de obter gottas, em todos os casos, sempre do mesmo tamanho. Seria isto

tanto mais censuravel, quanto é sabido actualmente que quantidades rigorosamente as mesmas teem sido examinadas por outros investigadores. Assim é que Ducan Whyte, nos seus estudos praticados em Cantão, na China, conseguiu fazel-o por meio da pipeta hamatimetrica de Thoma Zeiss, e que Calvert tambem o obteve, tomando sempre a octogesima quarta parte de um centimetro cubico. Justifica-me, entretanto, o facto destes observadores procurarem estudar a periodicidade das filarias, para o que esta medida exacta é forçosamente necessaria; emquanto eu pretendia apenas estabelecer, approximadamente, pelo numero de micro-filarias existentes numa certa quantidade de sangue, sempre supposta a mesma para todos os individuos—uma comparação entre os differentes grãos de infecção filariasica nos meus observados; por isso que acredito, com Manson e Penel, ser o numero dos vermes adultos proporcional ao dos embryões.

Desde que falo a este respeito, salientarei — nunca haver encontrado em todas as minhas pesquisas, mais de quarenta e tres embryões em uma só lamina, o que muito se affasta do numero encontrado por Manson, conforme se vê da sua observação, noutra parte já relatada. Como só obtive um numero relativamente pequeno de micro-filarias, e como só examinei individuos filaríferos, ao passo que o observado por Manson

era um filariasico, se poderá concluir desta discordancia, entre os nossos resultados, que a probabilidade do apparecimento da manifestação filariasica está na ordem directa do numero existente de filarias.

Julgando explicada a parte da technica por mim empregada, relativa á porção de sangue examinada, referir-me-hei, agora ao modo de proceder nas observações do sangue secco e corado.

Sempre segui, neste ponto, a parte do processo de Manson, que diz respeito á dissolução da hemoglobina; para obtel-a collocava a lamina de pé, ligeiramente inclinada, em um vaso com agua distillada, durante cinco a dez minutos. Nos meus primeiros exames, uma vez dissolvida a hemoglobina, corava logo o sangue, sem fixação prévia, por meio da solução de Leishmann e fazia-o por esta forma:

1.º Deixava tres a quatro gottas do corante sobre a preparação, durante meio minuto;

2.º Após este tempo, misturava o corante com um numero duplo de gottas de agua distillada por espaço de dez minutos.

3.º Lavava em agua corrente, tendo o cuidado de retirar o excesso de corante.

Nunca obtive por este processo — aliás de grande vantagem pela sua rapidez — boas preparações; necessariamente este resultado a que che-

guei com o Leishmann, foi consequencia de minha pouca pratica no seu manêjo, bem como da provavel qualidade inferior da solução por mim empregada.

Diante disto, resolvi usar então da seguinte technica, recommendada por Daniels e praticada na Escola de Medicina Tropical de Londres:

1.º Dissolver a hemoglobina na agua distillada durante cinco minutos para as preparaçõs recentes e dez para as antigas;

2.º Seccar;

3.º Fixar cinco minutos em alcool e ether em partes iguaes;

4.º Lavar com agua e seccar;

5.º Corar com hematoxilina, á quente, cinco minutos, o aquecimento feito, pondo-se a lamina sobre uma moeda de cobre aquecida, e evitando a ebulição;

6.º Collocar a preparação em agua, durante cinco minutos afim de azular sufficientemente.

Suprimo a parte desta technica relativa á montagem da preparação, desde que, por julgal-a dispensavel, nunca a empreguei.

E' tambem conveniente salientar que, nem sempre, que fiz uso deste processo me servi da hematoxilina preparada de accordo com a formula recommendada por Daniels:

Hematoxilina	25 decigrammas
Alcool absoluto	50 centímetros cub.
Alumen	50 grammas
Agua	1000 centímetros cub.

Não sendo de todo satisfactorias as preparações que com ellas obtive, resolvi substituil-a, empregando então a formula commum da solução de eosina hematoxilina de Ehrlich:

Eosina crystallizada	5 centigrammas	
Hematoxilina	2 grammas	
Alcool absoluto	} ã ã	
Agua distillada		100 grammas
Glycerina		
Acido acetico glacial	10 centims. cubicos	
Alumen	Em excesso	

Foi só assim que cheguei a preparar lamínas bem coradas e sufficientemente nitidas.

Corada a lamina, a observava ao microscopio a principio empregando para a procura das microfíliarias um augmento relativamente pequeno—mais ou menos cem diâmetros—substituindo-o, uma vez estas achadas, por um maior—usando mesmo objectiva de immersão—e isto com o fim de estudar sua estructura e fazer o diagnostico de sua variedade.

De accordo com os processos expostos, examinei o sangue de quatrocentos individuos pela maior parte naturaes deste Estado; e os que não o eram sendo aqui, ha muito, residentes. Escolhi-os, sem preocupação outra de especie

alguma, que não fosse a da ausencia completa e mesmo absoluta de toda e qualquer das molestias hoje admittidas como filariasicas; tui buscal-os não só nas classes abastadas, mais ainda— e principalmente—na população dos hospitaes e das prisões, onde de continuo pernoitei para levar a effeito as minhas pesquisas. Reconheço que ellas não são por completo isentas de falhas.

Poder-se-ha accusal-as de serem em numero relativamente pequeno, para que dellas se tire uma conclusão, que diz respeito a toda população da Bahia; poderiam disto justificar-me as observações de Low, feitas em muitas das Antilhas em numero inferior ao das minhas, como se vê do quadro já publicado.

Poder-se-ha tambem critical-as pelo numero de laminas obtidas de cada pessoa, baseando-se esta censura na opinião dos auctores que dizem, poder não se encontrar micro-filarias em uma lamina e, no entanto, achar-se em outra do mesmo individuo e tirada na mesma hora; responderia a isto com o facto deduzido de minha experiencia de nunca encontrar embryões de filarias em uma lamina que não os observasse tambem em todas as mais laminas da mesma pessoa, se bem que minhas observações não sejam positivas em tão grande numero, para que eu possa affirmar que isto sempre se dê de um modo absoluto. Poderão ser ainda censuradas, porque apenas examinei o sangue de cada um dos meus observados uma só

vez, quando hoje é conhecida a ausencia temporaria dos embriões da periphèria por espaço de dias; talvez diminuisse o valor desta objecção a auctoridade de Manson, que, nos seus trabalhos em Amoy, não procedeu de modo differente ao meu, ainda que houvesse tentado fazer nos seus resultados uma correcção, visando este facto da ausencia temporaria dos embryões.

A minha defeza real a todas estas criticas reside, entretanto, na circumstancia de não pretender eu estabelecer o indice endemico da filariase latente na Bahia; mas, simplesmente, contribuir para que, de futuro, elle possa com exactidão ser conhecido; até porque eu de mim tenho que isto não será feito facilmente, desde que concebo a possibilidade do parasitismo filariasico não ser denunciado em muitos casos, nem mesmo pela existencia de micro-filarias no sangue peripherico. Não será impossivel que o individuo hospède apenas filarias masculinas, ou então, que as albergue, masculinas e femininas, mas, em condições taes que não se possa dar a fecundação.

Serumtherapia anti-ophidica

PELO

Dr. Vital Brazil

Trabalho do Instituto de Butantan

(CONTINUAÇÃO DA PAG. 320)

Em relação á actividade dos venenos, devemos ainda consignar que cada especie de peçonha conserva a mesma energia de acção para os diferentes animaes de laboratório.

O professor Calmette constatou o contrario, isto é, que a toxidez ou actividade da peçonha do mesmo individuo augmentava com o periodo de jejum do animal.

Nós temos verificado que a concentração do veneno no liquido, isto é, a relação entre o peso do solido e do liquido, é variavel de 21 a 23% para o veneno proveniente da mesma especie. Temos, porem, verificado a fixidez de acção toxica sempre que se experimenta debaixo das mesmas condições e com venenos colhidos e tratados com o mesmo cuidado.

Um outro caracter differencial de certa importancia e que se relaciona com a actividade de diversas peçonhas é a que resulta da comparação entre a minima mortal por injeccão endovenosa e a minima mortal por injeccão intra-muscular. Para algumas especies de veneno essa differença é pequena; para outras, ao contrario, é enorme, como poderá ser facilmente verificado pelo exame do seguinte quadro:

Relação por quociente entre as mínimas mortaes
por injeção intra-muscular e por injeção endovenosa

Especies de veneno	No Pombo	No Coelho
<i>Crotalas terrificus</i>	2	4
<i>Elaps frontalis</i>	2	1,4
<i>L. mutus</i>	5	1,6
<i>L. lanceolatus</i>	25	22
<i>L. jararacucú</i>	35	10
<i>L. Itapetiningæ</i>	10	40
<i>L. neuwiedii</i>	33	50
<i>L. alternatus</i>	58	26
<i>L. atrox</i>	70	118

Resulta d'este estudo comparativo que os venenos que possuem acção mais accentuada sobre o systema nervoso, e determinam menor reacção local, são justamente os que menor differença apresentam entre as mínimas mortaes por via venosa e intra-muscular. Nessa categoria se acham os venenos de *C. terrificus*, *L. mutus* e *Elaps frontalis*. O veneno de *L. atrox*, o que apresenta reacção local mais intensa, é aquelle em que a differença entre as mínimas mortaes é maior.

Resistencia dos venenos ao calor.

Quando se tomam soluções a 1‰ das differentes peçonhas em serum artificial a 8‰ verifica-se que o gráo calorifico para determinar-lhes a coagulação e a perda de toxidez é variavel para cada veneno, não coincidindo o ponto de coa-

gulação e a perda de toxidez. Eis os nossos resultados: Aquecimento durante $\frac{1}{4}$ de hora.

Especies de veneno	Temp. em que coagulam	Temp. em que perdem a toxidez
Lachesis mutus	65°	120°
Lachesis atrox	75°	70°
Crotalus terrificus	80°	110°
Lachesis neuwiedii	95°	80°
Lachesis lanceolatus	100°	70°
Lachesis jararacuçu	110°	110°
Elaps frontalis	100°	100°
Lachesis alternatus		65°
Lachesis itapetiningæ		110°

Os venenos de *Lachesis alternatus* e *Lachesis itapetiningæ* não coagulam, mesmo quando aquecidos a 134°.

Os venenos de *Lachesis mutus*, *Lachesis atrox*, *Lachesis alternatus* e *Lachesis itapetiningæ* perdem a acção local, quando aquecidos a 100°; os de *Lachesis lanceolatus* e de *Lachesis neuwiedii* ao contrario, ainda conservam acção local depois de aquecidos a 100°.

O professor Calmette, estudando a influencia do calor, sobre diferentes peçanhas, concluiu que o veneno das Colubridæ resistem melhor ao aquecimento do que o das Viperidæ; emquanto que o das primeiras supporta, sem perder a toxidez temperaturas ao nivel de 100°, o das segundas perde completamente o seu poder toxico com um aquecimento entre 80 e 85°. Estabelece ainda

mais que o veneno das *Lachesis* são os mais sensíveis.

Como vemos pelos dados acima, os nossos resultados discordam dos estabelecidos pelo illustre professor de Lille e só podemos encontrar a explicação para tal discórdancia no facto de generalisar aquelle experimentador a todos os venenos da *Viperidæ* as observações feitas com algumas amostras de peçonha. Constatamos, com effeito, que mesmo entre os venenos das *Lachesis* que Calmette reputa as mais sensiveis ao calor, ha differenças enormes sob esse ponto de vista: o veneno de *Lachesis alternatus*, por exemplo, perde a toxidez já a 65°, enquanto que o da *Lachesis jararacuçu* e o da *Lachesis itapetiningæ* só a 110°, e o da *Lachesis mutus* a 120° perdem o poder toxico.

A dialyse é outro meio apontado pelo professor Calmette, para distinguir os venenos das *Colubridæ* dos das *Viperidæ*. Diz elle que os primeiros passam lentamente atravez das membranas, enquanto que as segundas não dyalizam.

Não podemos acceitar esse character como meio de distinguir os venenos de uma dos de outra familia; porquanto verificamos que a dialyse em membrana vegetal serve para separar a albumina, das outras substancias contidas nos venenos a albumina fica no dialysador, enquanto que as albumoses e outras substancias atravessam com facilidade a membrana dialysadora. A proporção

de albumina e albumoses é variavel nos venenos que temos estudado. De um modo geral, porém, podemos affirmar que em todos elles encontramos maior proporção de albumoses do que albumina. Em todos elles, por consequencia, existe maior quantidade de substancias dialysaveis, do que substancias não dialysaveis.

Temos examinado apenas dois venenos de Colubridæ — o de (1) *Naja tripudians?* e o de *Elaps frontalis* que contem realmente quantidades insignificantes de albumina, dialysando, por consequencia, quasi por completo; emquanto que os venenos da maior parte das *Lachesis*, sendo um pouco mais ricos em albumina, têm, como é natural, maior quantidade de substancias retidas pelo dialysador. Constatamos, entretanto, que o veneno do *Crotalus terrificus*, e o da *Lachesis itapetiningæ* são como o das Colubridæ acima mencionadas muito mais pobres em albumina e por consequencia muito dialysaveis.

Diz Calmette que a filtração na vela F de Chamberland não modifica sensivelmente a toxidez dos venenos de Colubridæ e que diminue, ao contrario, de cerca de metade a dos venenos de *Viperidæ*. Nós verificamos que tanto a vela de F, como a vela B de Chamberland modificam sensivelmente a toxidez dos venenos mesmo os de

(1) Este veneno nos foi cedido pelo professor Calmette.

Colubridæ que temos examinado. O filtro B Chamberland impede a passagem da albumina e albuminoses primarias, deixando passar as albuminoses secundarias e as peptonas; o F deixa passar com estas ultimas substancias uma parte de proto-albumose. De modo que um veneno é tanto mais modificado em sua toxidez, quanto maior fôr a sua riqueza em albumina e albumoses primarias. O veneno de Naja é muito pobre em albumina; mas, em compensação, é riquissimo em proto-albumose secundaria.

Ação hemolytica dos venenos. — O estudo da acção hemolytica das diversas peçonhas constitue ainda um bom meio de caracterisal-as.

Eis o resultado a que chegamos com os venenos que examinamos:

Lachesis mutus — hemolysa em 15 minutos.

Lachesis jararacuçu — hemolysa em 20 minutos.

Lachesis atrox — hemolysa em 2 horas.

Crotalus terrificus — hemolysa em 4 1/2 horas.

Lachesis neuwiedii — hemolysa em 5 horas.

Lachesis alternatus — hemolysa em 6 horas.

Lachesis lanceolatus — hemolysa em 6 horas.

Lachesis itapetiningæ — hemolysa em 6 horas.

Elaps frontalis — hemolysa em 6 horas.

Ação coagulante sobre o sangue citratado:

O veneno de Lachesis atrox — coagula o sangue em 5 segundos.

O veneno de *Lachesis jararacuçú* — coagula o sangue em 15 segundos.

O veneno de *Lachesis alternatus* — coagula o sangue em 50 segundos.

O veneno de *Crotalus terrificus* — coagula o sangue em 60 segundos.

O veneno *Lachesis neuwiedii* — coagula o sangue em 60 segundos.

O veneno de *Lachesis itapetiningæ* — Coagula o sangue em 120 segundos.

O veneno de *Lachesis lanceolatus* — coagula o sangue em 120 segundos.

Os venenos de *Lachesis mutus* e de *Elaps frontalis* não são coagulantes; ao contrario, tornam o sangue incoagulavel.

Ação proteolytica dos venenos. — Estudo feito in vitro sobre a gelatina thymolada.

As nossas observações e experiencias nos autorizam a classificar os venenos em relação a sua actividade proteolytica, na seguinte ordem:

- 1.º *Lachesis atrox.*
- 2.º *Lachesis alternatus.*
- 3.º *Lachesis mutus.*
- 4.º *Lachesis neuwiedii.*
- 5.º *Lachesis lanceolatus.*
- 6.º *Lachesis jararacuçú.*

Os venenos de *Crotalus terrificus*, *Lachesis itapetiningæ* e *Elaps frontalis* não são proteolyticos.

Ação dos seruns especificos. — Examinamos os dois seruns especiaes que prepara o Instituto;

o serum anti-crotalico e serum anti-bothropico. O serum anti-crotalico é fornecido por animaes que recebem exclusivamente o veneno de *Crotalus terrificus* e o serum anti-bothropico o é por animaes que recebem venenos, que subordinamos ao typo bothropico, os quaes são fornecidos pela *Lachesis lanceolatus*, pela *Lachesis atrox* e pela *Lachesis alternatus*.

Eis o resultado a que chegamos pela dosagem do poder anti-toxico d'estes seruns em relação ás peçonhas que estudamos:

O serum anti-crotalico neutralisa por centimetro cubico:

	Minimas mortaes
De veneno de <i>Crotalus terrificus</i>	800
» » » <i>Lachesis jararacuü</i>	10
» » » <i>Lachesis alternatus</i>	6
» » » <i>Lachesis neuwiedii</i>	4
» » » <i>Lachesis atrox</i>	4
» » » <i>Lachesis lanceolatus</i>	3
» » » <i>Lachesis mutus</i>	3
» » » <i>Lachesis itapetiningæ</i>	0
» » » <i>Elaps frontalis</i>	0

O serum anti-bothropico neutralisa por centimetro cubico:

	Minimas mortaes
De veneno de <i>Lachesis lanceolatus</i>	70
» » » <i>Lachesis atrox</i>	80

De veneno de	<i>Lachesis alternatus</i>	82
»	»	»
»	<i>Lachesis neuwiedii</i>	33
»	»	»
»	<i>Lachesis jararacuçu</i>	20
»	»	»
»	<i>Lachesis itapetiningæ</i>	6
»	»	»
»	<i>Lachesis mutus</i>	1
»	»	»
»	<i>Crotalus terrificus</i>	4
»	»	»
»	<i>Elaps frontalis</i>	0

Examinando estas tabellas verificamos facilmente que o organismo do animal, que recebe doses immunisantes de peçonha, reage, produzindo uma anti-toxina especifica em relação ao veneno injectado, neutralizando quantidades pequenas dos venenos que se approximam do que fora empregado, não neutralizando cousa alguma d'aquelles que mais se afastam. Assim é que o serum dos animaes immunisados contra o veneno do *Crotalus terrificus* (o anti-crotalico) neutraliza quantidades insignificantes e variaveis dos diferentes venenos de *Lachesis*, não netralizando absolutamente cousa alguma dos venenos de *Lachesis itapetiningæ* e de *Elaps frontalis*. O serum dos animaes que recebem venenos de *Lachesis lanceolatus*, *Lachesis atrox* e *Lachesis alternatus* (o anti-bothropico) é bastante anti-toxico em relação ás peçonhas que foram empregadas; pouco activo em relação ás peçonhas das especies mais proximas e completamente destituído de acção em relação ao veneno de *Elaps frontalis*. Pela anti-toxina pode-se, pois, caracterisar os diferentes venenos, constituindo mesmo um meio muito delicado de

conhecer-se as relações entre elles e de demonstrar-se que mesmo as especies muito proximas não produzem peçonhas perfeitamente identicas.

III

Seruns anti-peçonhentos

Estudaremos n'este capitulo: *a)* o preparo dos animaes; *b)* a dosagem dos seruns anti-peçonhentos; *c)* os resultados experimentaes e clinicos de tratamento especifico.

a) Preparo dos animaes productores de serum.— O primeiro cuidado a ter quando se quer preparar qualquer serum especifico a empregar-se em therapeutica, reside na escolha do animal. O muar ou o cavallo presta-se bem. Devem ser empregados individuos novos, sadios e fortes, sendo conveniente fazer-se a prova da maleina. Nem todos os animaes se prestam bem para producção de anti-toxina. Com relação á peçonha, dá-se o mesmo que para a diphteria: ha animaes que chegam a receber doses muito grandes de peçonha, sem produzirem anti-corpo na mesma relação. Observa-se este facto geralmente nos animaes que no começo da immunisação dão fraca reacção local, quando recebem injeccão do veneno.

O cavallo e o burro são animaes extremamente sensiveis ao veneno ophidico, de sorte que deve-se iniciar a immunisação por uma dose insignificante, $\frac{5}{100}$ de milligramma. Com $\frac{1}{10}$ de milligramma tivemos occasião de observar pheno-

menos de certa gravidade, em um animal no inicio da immunisação. As primeiras doses devem ser augmentadas com muita prudencia, deixando-se sempre entre uma e outra injeccão um intervallo de cinco a seis dias pelo menos. Os animaes serão diariamente pesados, devendo-se suspender as injeccões, si começarem a perder progressivamente de peso.

Quando a immunisação é mal dirigida, as doses muito proximas e exageradas, ainda assim pode-se conseguir um serum bastante activo, mas os animaes, que serviram para produzi-lo ficam cacheticos e inutilizados ao fim da immunisação. Quando, ao contrario, as doses são bem reguladas e o estado physiologico dos animaes cautelosamente acompanhado, observa-se que o veneno tem uma acção tonica augmentando habitualmente os animaes de peso depois de cada injeccão. São os animaes immunisados contra o veneno ophidico os mais gordos e os mais dispostos da cocheira, não obstante os accidentes locais a que estão sujeitos depois de cada injeccão. Taes accidentes, que constituem um dos maiores embaraços na immunisação dos animaes, são abcessos que se apresentam no ponto da inoculação, logo que se começa a injectar doses mais fortes. Podem ser asepticos ou septicos, conforme o tratamento que se tem dado ao veneno. Quando empregamos o veneno puro ou quando procuramos esterilisa-lo por meio de um aquecimento

discontínuo, em uma temperatura incapaz de destruir a toxidez do veneno, tínhamos com muita frequência abcessos complicados de infecção mais ou menos graves, em consequência dos germens da bocca da cobra, que acompanham habitualmente a peçonha. De certo tempo a esta parte, adoptamos uma pratica que nos tem posto a coberto dos abcessos complicados. Eis como procedemos: — Preparamos com antecedencia as doses de veneno a injectar nos animaes. Si partirmos do veneno liquido, frescamente colhido, juntamos $1/3$ do seu volume em glycerina e deixamos em contacto a mistura pelo menos quinze dias antes de empregal-o. Si tivermos veneno já solidificado a empregar, deveremos começar por preparar uma solução em serum artificial a 15 ‰ si se trata do veneno de *Crotalus terrificus*, ou a 8 ‰ si se trata do veneno das *Lachesis*, de modo que 1 c. c. da solução tenha 100 milligrammos de veneno. Filtra-se a solução em papel Berzelius e junta-se-lhe a metade de glycerina, deixando-se a mistura igualmente por quinze dias ou mais tempo antes de empregal-a. Com esse methodo ainda temos observado abcessos, quando as doses de veneno injectadas são muito fortes; mas são abcessos consecutivos à acção local do proprio veneno, sem a concurrencia de qualquer processo microbiano.

Antes do emprego da glycerina como meio de purificar as peçonhas, não conseguimos elevar

as doses de veneno a mais de 100 ou 200 milligrammas.

Com o emprego desse meio temos chegado a injectar até 3 grammas de veneno secco, o que corresponde aproximadamente a 9 centímetros cubicos de veneno in natura.

Iniciando-se a immunisação por doses muito pequenas e subindo-se cautelosa e progressivamente até que o animal possa fornecer um serum bastante activo, para ser utilmente empregado nos accidentes ophidicos, gasta-se habitualmente cerca de um anno.

Temos ultimamente introduzido uma modificação em nossa technica, a qual permite obter muito mais rapidamente um serum activo. Consiste essa modificação em iniciar-se a immunisação por injeccões de serum especifico e veneno. Injecta-se o serum na veia e o veneno debaixo da pelle. Protegendo-se o centro por meio do serum, pode-se começar por uma dose muito mais forte de veneno; na 2.^a dose pode se diminuir o serum e augmentar o veneno e assim progressivamente até supprimir o serum, injectando simplesmente o veneno. Na metade do tempo chega-se a obter um serum muito activo. O quadro junto mostra justamente a marcha da immunisação por esse methodo em um animal, e a observação da anti-toxina formada á medida que progredia a immunisação. O methodo de que nos servimos para medir a anti-toxina é o mesmo

que nos serve para dosagem dos seruns anti-peçonhentos. Delle occupar-nos-emos opportunamente.

Os abscessos consecutivos ás injeções de veneno constituem accidentes de certa gravidade, porque complicam-se com frequencia de tetano, cuja infecção ocorre habitualmente depois da dilatação dos abscessos. Perdemos deste accidente não poucos animaes, alguns dos quaes em estado já bastante adiantado de immuniidade. Parece que a reacção local consecutiva á injeção de veneno predispõe a infecção tetanica. O melhor meio de evitar taes accidentes consiste em injectar-se 20 c. c. de serum anti-tetanico na veia dos animaes, sempre que se tiver um abcesso a dilatar.

As injeções de veneno devem ser feitas debaixo da pelle; porquanto as injeções endovenosas, além de ser perigosas, não determinam a formação de anti-toxina, senão dentro de estreitos limites.

As soluções glicerinadas de veneno devem ser diluidas, por occasião da injeção, em cerca de dez vezes o seu volume de serum artificial a 8 %, esterilizado.

Esta pratica é muito util, principalmente quando se tem a injectar doses elevadas de peçonha.

Durante o processo de immunisação pode-se acompanhar a formação de anti-toxina, retirando-se pequenas quantidades de sangue no inter-

vallo de uma a outra injecção. Em via de regra o maximo de anti-toxina encontra-se do 9º a 15º dia após a injecção. Nem sempre o mesmo animal reage do mesmo modo ás injecções de veneno, produzindo, na mesma proporção, o anti-corpo especifico. Acontece muitas vezes que as cellulas como que se cançam, e a formação de anti-toxina se dá em pequena escala. N'estas circumstancias o repouso tem uma grande influencia. E' o que temos verificado mais de uma vez, é o que se vê claramente no quadro junto, que resume as observações relativas ao 5 V. C., cavallo immunisado contra o veneno crotalico. Verifica-se, com effeito, que em uma serie de doses progressivamente crescentes de veneno, a dosagem do serum pouco augmentava, havendo mesmo um momento em que, a despeito do augmento da dose de veneno, (injecção de 6 de Outubro) não houve augmento na dosagem do serum. Intervindo porém o repouso do animal, durante quasi um mez, houve com um augmento relativamente pequeno da dose de veneno, a formação de antitoxina em quantidade quasi dupla da que havia sido constatada anteriormente. Tendo-se verificado que o animal que se immunisa já fornece um serum bastante activo para ser utilizado com vantagem nos accidentes ophidicos, procede-se á sangria. No Instituto costumamos retirar de cada vez 5 litros e 400 grammas de sangue, que dão habitualmente um pouco mais da metade de serum.

Depois de cada sangria, o poder anti-toxico do serum baixa consideravelmente, podendo, independente de nova injeccão, sob a influencia de factores ainda não bem determinados, ascender de novo a uma dosagem muito superior aquella verificada 24 horas depois da sangria e muito proxima da que fôra constatada por occasião mesmo da sangria. O prazo maximo para o decrescimento do poder anti-toxico após a sangria é 24 horas e o maximo ascencional é o 10º dia. O decrescimento de anti-toxina 24 horas depois da sangria observa-se constantemente, enquanto que esta ascensão do poder anti-toxico, independente de nova injeccão de veneno, não é constante. Observa-se não raro que o decrescimento do poder anti-toxico continua. Por essa razão, nem sempre sangramos duas vezes os animaes depois da ultima injeccão, como é pratica corrente em alguns Institutos.

Alguns animaes, depois de haverem recebido durante annos uma especie de veneno, tendo, durante este tempo, reagido convenientemente ao veneno para producção do anti-corpo especifico, acabam por se tornar maus productores da antitoxina, visto já reagirem muito pouco ao veneno a que se habituaram, depois de tão largo uso. Esses animaes ainda se prestam muito bem, mudando-se apenas o typo de veneno, passando-se por exemplo do typo crotalico ao typo bothropico.

(Continúa)