

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo XXV

Fevereiro — 1931

Fasciculo 1

**Pesquisas experimentaes sobre o
veneno do sapo commum do Brasil (*Bufo
marinus* Linn.) (1^a. memoria) (*)**

pelos

DRS. J. VELLARD e M. MIGUELOTE VIANNA

(Com as estampas I—XII)

O veneno de *Bufo marinus* injectado por via parenteral ou simplesmente depositado sobre as mucosas, determina o apparecimento de symptomas muito complexos: convulsões, paralyrias, modificações do rythmo cardiaco e da respiração, nauseas, hypersecreções diversas, etc., já descriptas em parte por um de nós em publicações anteriores.

Afim de esmiuçar esses factos, resolvemos nós iniciar uma serie de novas pesquisas. Neste primeiro trabalho, estudaremos a acção geral desse veneno e algumas particularidades da sua acção sobre os centros nervosos. As acções sobre o rythmo cardiaco, pressão arterial e respiração serão publicadas proxivamente em detalhes em varias outras memorias.

HISTORICO

A acção exercida sobre o systema nervoso pelo veneno das especies europeas de sapos foi interpretada dos modos os mais diversos e mesmo negada por alguns autores. Os symptomas na descripção classica de Vulpian: periodo de excitação, seguido de depressão, de nauseas, de convulsões e de opisthotonos em alguns animaes, foram attribuidos pela maio-

(*) Recebido para publicação a 26 de Novembro de 1930.

ria de observadores por uma acção directa sobre os centros nervosos, emquanto que outros como Faust não querem ahi ver se não uma consequencia dos disturbios circulatorios provocados por esse veneno.

Nestes ultimos annos, numerosos trabalhos, foram publicados sobre os venenos de sapos europeus. Quasi todos concluem pela existencia de duas acções principaes, frequentemente attribuidas a substancias differentes: a bufotalina isolada por Faust, Wieland e outros autores e sua acção parecida com a da digitalina é hoje bem conhecida; o segundo principio sobre o qual os autores estão menos de accordo, agiria mais especialmente sobre os centros nervosos, determinando, segundo os animaes ou condições experimentaes, phenomenos de paralytia (por exemplo a bufotenina de Phisalix e Bertrand) ou ao contrario, convulsões. Essas differentes substancias que quizeram isolar do veneno dos sapos europeus, são muito mal caracterizadas chimica e physiologicamente e deram motivo a numerosas controversias. Frequentemente as mesmas propriedades se encontram em grãos variaveis nas differentes fracções isoladas do veneno total; assim Gessner attribue á acção directa da bufotalina crystallizada de Wieland sobre o centro convulsivo da medulla alongada, as convulsões clonicas observadas no gyrino e na rã, e á uma acção reflexa as nauseas e os vomitos; porém verificou igualmente que uma outra fracção a bufotoxina de Wieland possui tambem propriedades convulsivantes.

A'fora as condições experimentaes muito diversas nas quaes se collocaram os differentes autores que abordaram essa questão, é preciso assignalar uma outra causa importante podendo modificar os seus resultados. Muitos, empregaram indifferentemente em seus trabalhos o veneno de diversas especies de sapos europeus (*vulgaris*, *calamita*, *viridis*). As pesquisas recentes de Gessner, os trabalhos antigos de Pugliese por exemplo, assignalaram entretanto, propriedades differentes para cada um desses venenos; assim o de *Bufo viridis* é hemolytico, ao contrario do de *Bufo vulgaris*, e possui a mais, uma acção narcotica e paralyzante que falta neste ultimo.

As propriedades do veneno da especie de sapo mais commum no Brazil, o *Bufo marinus*, foram menos estudadas e não deram logar a tantas discussões. A primeira referencia que encontramos na litteratura é de Marcgrave, assignalando que o sapo «cururú» torrado, reduzido a pó e misturado aos alimentos determina a morte por meio de violentas dôres, acompanhadas de inflammação da garganta, disturbios communs, dyspnéa, vomitos, diarrhéa, convulsões e delirio. Lacerda em 1878, encontrou esse veneno menos activo e muito differente do de *Bufo vulgaris* eu-

ropeu, concluindo que elle mata os animaes paralyzando o coração e poupando os musculos voluntarios, ao contrario do que disse Cl. Bernard do sapo europeu que paralyza os musculos voluntarios e poupa o coração: a gallinha apresenta symptomas de paralyasia, uma ligeira rigidez muscular, acceleração do rythmo cardiaco, seguida de bradycardia; na lagartixa o coração continua a bater 20 minutos após a parada da respiração.

Em 1912, Abel e Macht attribuiram a acção desse veneno á duas substancias, uma a adrenalina, e outra physiologicamente analoga á digitalina. Novaro, em 1922 e 1923 publicou dois casos de intoxicação, nos quaes um mortal no homem: nos dois casos observou paresia dos membros inferiores acompanhada de ligeira rigidez da nuca, seguidas no caso mortal, de paralyasia dos membros inferiores, de opisthotonos, de nauseas, convulsões, pulso a 130, mydriase, pupillas não reagindo mais á luz. Os animaes; cães, coelhos, cobayos, apresentam symptomas analogos, notando-se no inicio tachycardia e augmento da pressão arterial, seguida de bradycardia. Tem tambem uma acção vaso-constrictora que pode acarretar a morte por syncope; sobre o globo ocular provoca sensação de frio com ischemia, seguida de um periodo congestivo; dilata o olho enucleado da rã. Este autor conclue que o veneno de *Bufo marinus* deve a sua acção quasi toda á adrenalina e no entretanto provoca uma contractura generalizada do intestino isolado do coelho, o que está em desaccôrdo com essa substancia.

Vital Brasil, J. Vellard estudaram as propriedades geraes desse veneno. Em seguida Jayme Pereira verificou que esse veneno era paralyzante e convulsivante, sem acção curarizante, actuando directamente sobre os centros nervosos superiores. Augmenta ainda a contractilidade do musculo cardiaco, tendo uma acção bastante variavel sobre o rythmo desse orgão e a respiração. Conclue depois de diversas experiencias que o veneno de *Bufo marinus* não contem adrenalina. Gessner pensa que o teor em adrenalina é irregular e por isso não conseguiu verificar a sua presença nesse veneno. Emfim, diversos trabalhos foram realizados sobre os venenos das especies japonezas e sobre a acção pharmacologica de um producto muito antigo e conhecido sob o nome de «senso» que contém uma proporção bastante grande de veneno de sapo. Segundo Kansho-Ryo por exemplo, o veneno dos sapos japonezes deve a sua acção a duas substancias: uma, soluvel no ether, paralyzando o coração e tendo uma acção inhibidora sobre o systema nervoso; a outra, insoluvél no ether, excitando o systema nervoso central e tendo uma acção sobre o musculo cardiaco semelhante á da adrenalina.

PRIMEIRA PARTE

Em todos os animaes, mammiferos, aves, reptis ou batrachios que nós estudamos, a injeccão endo-vascular de veneno de *Bufo marinus* determina o apparecimento de symptomas muito uniformes.

Em seguida a uma injeccão de uma dóse mortal, os animaes apresentam um periodo de agitação mais ou menos longo, depois de andar de um para outro lado apresentam tremores cada vez mais violentos; babam; os movimentos respiratorios se acceleram; frequentemente depois de uma phase muito curta de bradycardia, observa-se uma tachycardia consideravel. Muitas especies manifestam uma irritação anal muito accentuada, com defecações frequentes; depois esses effeitos são cada vez mais intensos, acompanhados muitas vezes de prolapso do recto.

A este primeiro periodo de agitações, succede uma phase de parecias e de paralyrias progressivas com abolição da sensibilidade cutanea e dos reflexos. Todos esses phenomenos começam pelo trem posterior; a marcha torna-se a principio cada vez mais incerta; o trem posterior oscilla da direita para a esquerda; as extremidades das patas esfregam o solo. A seguir o animal cae. Convulsões tonicas de precocidade e intensidade variaveis, segundo a dose de veneno empregada, apparecem; a paralyria é então completa; a parte posterior é flacida, emquanto que se nota desde o principio uma ligeira hypertonia da parte anterior; as patas anteriores apresentam uma certa rigidez; o pescoço fica teso e rigido. A paralyria laryngéa é completa, o animal não póde mais gritar nem engulir; esse estado é acompanhado de abolição completa da sensibilidade tactil e thermica; é possivel cortar a cauda de um cão sem obter deste a menor manifestação dolorosa; essa anestesia caminha para a parte anterior e no ultimo periodo, os animaes não reagem mais á picada do nariz ou á queimadura com acidos ou ferro quente. Nesse ultimo periodo, a atonia muscular é completa; os movimentos respiratorios são cada vez mais espaçados e desapparecem definitivamente antes da parada do coração. A tachycardia inicialmente simples se complica de arythmia total; extrasystoles cada vez mais frequentes apparecem; enfim, o coração entra em fibrilação, entrecortado de raras extra-systoles até a parada final.

Por *via venosa*, a morte, mesmo com doses visinhas da dose minima mortal sobrevem quasi sempre muito rapidamente; naturalmente observamos algumas differenças entre as diversas especies de animaes sendo que as differenças individuaes em uma mesma especie são pouco sensiveis. Doses muito elevadas podem trazer a morte em poucos instantes e as diferentes phases são muito abreviadas, tornando-se pouco nitidas.

As doses um pouco inferiores á dose minima mortal determinam symptomas extremamente graves, mas, os animaes se restabelecem depressa.

As injeccões de doses fracas são seguidas sómente de symptomas muito ligeiros, principalmente de modificações do rythmo cardiaco.

A *via arterial* é tão severa quanto a via venosa, porém, os symptomas apparecem com um certo retardamento, facto aliás muito natural; no cão, a mesma dóse matando o animal em 3 minutos por via venosa, não mata por via arterial senão em 6 minutos.

A *via cardiaca* é um pouco mais rapida que as vias venosa e arterial, mas em todos os casos a dose minima mortal não é modificada.

PROTOCOLLOS

Cão

VIA VENOSA

a) Doses mortaes

1—Cão 8 kilos (Exp. 51)

Recebe ás 14 horas e 55' na veia, 15 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de agua physiologica.

Durante 2', ficou immovel, babando; depois ensaia alguns passos cambaleantes; paresia posterior accentuada.

4'—Tremores generalizados; cae no solo; as quatro patas rigidas; violenta crise de contracturas. Tachycardia. Respiração accelerada.

5'—Serie de convulsões tonicas generalisadas; paralysisia laryngéa.

6'—Paralysisia posterior flacida, acompanhada de anestesia completa; rigidez anterior com diminuição ligeira da sensibilidade; grande tachycardia e arythmia.

7'—Anesthesia geral thermica e tactil.

8'—Paralysisia completa; fibrilação muscular; abolição dos reflexos.

9'—Fibrilação ventricular. Relaxamento dos esphincteres. MORTE.

2—Cão 6 kilos (Exp. 78)

Recebe por via venosa ás 15 horas e 31', 20 millg. de veneno fresco em 4 c.c. de agua physiologica.

Temperatura anal antes da injeccão:—39°,2.

30''—Respiração extremamente rápida, ofegante; babando abundantemente.

1'—Tremores generalizados. Forte agitação. Irritação anal; o animal esfrega a região anal sobre o solo, faz esforços violentos para defecar.

1'—30'' Paresia posterior tornando a marcha difficil; o trem posterior balança para a direita e para a esquerda.

3'—Deitado; tremor fibrilar na parte posterior do corpo acompanhado de ligeira hypertonia. O animal entra em uma phase de torpor.

5'—Fraca convulsão tónica. O animal se curva para um lado. Paralysis total, flacida, acompanhada de anestesia. Paralysis respiratoria; abolição de todos os reflexos. Expasmo do anus.

6'—Raros movimentos respiratorios muito espaçados; raras extra-systoles; fibrilação ventricular. MORTE.

Temperatura anal no momento da morte: —39°,3.

3—Cão 4 kilos (Exp. 77)

Recebe na veia 15 millg. de veneno fresco em 3 c.c. de agua physiologica.

30''—Agitação; tachycardia, tachypnéa.

1'—Paresia das quatro patas. O animal se deita.

2'—Bradypnéa accentuada, seguida de paralysis respiratoria; enorme tachycardia, Mydriase.

2'30''—Convulsões tónicas seguidas de paralysis total, flacidez posterior com uma ligeira hypertonia anterior. Anestesia total (tactil, thermica, acidis).

Numerosas extra-systoles e de quando em quando um esboço de movimento respiratorio.

4'—Fraca convulsão; relaxamento dos esphincteres; fibrilação ventricular.

4'-30''—MORTE.

4—Cão 6 kilos (Exp. 52)

Recebe 40 millg. de veneno fresco na saphena.

Convulsões tónicas muito violentas; immediatas, seguidas de relaxamento muscular generalizado (2 minutos) e morte em 2' e 20''.

b) Doses não mortaes

5—Cão 6-1/2 kilos (Exp. 82)

Recebe ás 15 horas e 10', na veia, 10 millg. de veneno. Temperatura anal 39°,5.

1'—Forte agitação seguida de paresia posterior progressiva; salivacão.

2'—O animal cãe bruscamente com fortes contracções tonicas. Bradycardia, respiração rapida, ofegante; anestesia posterior progressiva.

3'—Paralysia flacida dos membros posteriores com ligeira hypertonia dos membros anteriores; abolição quasi total da sensibilidade (thermica e tactil).

Reflexos oculares normaes. Paralysia laryngéa impedindo o animal de gritar.

4'—Violentas contracções generalizadas; vomitos, esforço para defecar; emissão espasmodica de urina; prolapso do recto. Grande tachycardia. Temperatura anal: $-40^{\circ},5$.

8'—O animal ensaia se levantar sem contudo poder; as patas anteriores são rigidas; o trem posterior é inerte. A anestesia persiste. A respiração é mais lenta e mais profunda.

13'—Consegue se manter em pé; paresia posterior porém ainda accentuada.

60'—Quasi normal, apenas com uma paresia posterior ainda notavel e uma grande diminuição da sensibilidade tactil e thermica, sobretudo accusada no trem posterior.

No dia seguinte:—Completamente normal.

VIA ARTERIAL

6—Cão 6-1/2 kilos (Exp. 54)

Recebe 40 millg. de veneno fresco na arteria femural.

2'—Tremores. Agitação.

3'—Paresia posterior. Quêda no solo.

4'—Primeiras convulsões.

7'—MORTE.

7—Cão 6 kilos (Exp. 55)

Recebe 40 millg. de veneno fresco na arteria femural.

2'—Tremores. Agitação.

3'-30''—Primeiras convulsões.

6'—MORTE.

Testemunhos

Cão 6 kilos (Exp. 52)

Recebe 40 millg. de veneno por via venosa. Morte em 2' e 30''.

Cão 7 kilos (Exp. 53)

Recebe 40 millg. de veneno por via venosa. Morte em 3'.

VIA CARDIACA

8—Cão 5 kilos (Exp. 6)

Recebe 20 millg. de veneno em 3 c.c. de agua physiologica no ventriculo esquerdo. Tremores immediatos, convulsões e morte em 2'.

9—Cão 7 kilos (Exp. 84)

Recebe 15 millg. de veneno no ventriculo esquerdo.

Paresia posterior e tremores immediatos. Convulsão em 1' seguida de paralytia total, flacida no trem posterior, com ligeira hypertonia no trem anterior.

2'—Anestesia total; sómente persistem os reflexos oculares. Respiração ligeiramente accelerada. Tachycardia e arythmia.

10'—Esboço ligeiro de alguns movimentos das patas anteriores e do pescoço.

Tachycardia menos accentuada; desapparecimento da arythmia.

60'—Consegue se manter de pé e começa a caminhar.

Completamente normal 4 horas mais tarde.

Gato

Os symptomas são analogos aos já descriptos para o cão.

10—Gato 450 grs. (nº 1)

Recebe por injeccão intra cardiaca 6 millg. de veneno fresco.

Convulsões tonicas immediatas, fibrilação ventricular, morte em 90''.

11—Gato 415 grs. (nº 2)

Recebe por injeccão intra cardiaca 2 millg. de veneno fresco.

Convulsões tonicas immediatas, seguidas de paralytia com ligeira rigidez muscular; ao fim de 3 minutos relaxamento muscular completo com abolição total da sensibilidade e dos reflexos; paralytia respiratoria, tachycardia com arythmia total, seguida de curtos periodos de fibrilação; parada definitiva do coração precedida de raras extra-systoles. Morte em 9'.

Coelho

Os symptomas apresentados pelo coelho, em seguida á injeccão endovenosa de veneno de *Bufo marinus*, não differem no seu conjunto dos apresentados pelos outros animaes.

12—Coelho nº 11

Recebe por via venosa 7,5 millg. de veneno fresco em 2 c. c. de agua physiologica. O animal cae immediatamente com violentas convulsões tonicas, apresentando todo o corpo recurvado em arco; pupillas ligeiramente contrahidas. Morte em 1 minuto e 30 segundos.

13—Coelho nº 21

Recebe por via venosa 5 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de agua physiologica. Convulsões tonicas immediatas; crise de tetania generalizada, opisthotonos. Morte em 3 minutos.

14—Coelho nº 16

Recebe por via venosa 1 millg. de veneno secco (igual a 3 millg. de veneno fresco) em 2 c.c. de agua physiologica. Paralysis immediata do trem posterior, se completando rapidamente; ligeira rigidez muscular. Respiração muito accelerada tornando-se em seguida lenta e muito profunda. Abolição dos reflexos tendinosos e da sensibilidade, sómente apresentando os reflexos oculares e a sensibilidade thermica e tactil do focinho, si bem que diminuidas. 70 minutos depois da injeccão procura levantar-se. Normal em 12 horas.

Cavallo

O cavallo que servio para essa experiencia pertencia ao serviço de sôro anti-ophidico. No decurso da immunisação, apresentou, em seguida a um abcesso, symptomas de inicio de tetano. Aproveitamos então para sacrificar-o por meio de veneno de *Bufo marinus*.

15—Cavallo 83 (de 7 a 8 annos—peso 400 kilos)

Apresentou pela manhã ligeiros trismos e rigidez das patas.

A's 16 horas e 5', recebeu por via venosa (jugular) 100 millg. de veneno fresco em 250 c.c. de agua physiologica.

1'—Baba abundante; grande tachycardia com extra-systoles frequentes.

2'—Cae. Contracções tónicas generalizadas; violentas convulsões; opisthotonos; rigidez absoluta; grande arhythmia.

3'-30''—Fica inerte, flacidez muscular geral; relaxamento dos esphincteres.

4'—Abolição de todos os reflexos. De quando em quando, uma ligeira inspiração cada vez mais fracas e espaçadas; fibrilação ventricular com raras extrasystoles.

5'—Fibrilação das palpebras, dos labios e dos musculos faciaes.

5'-30''—MORTE.

Pombo

Em seguida á injeccção endo-venosa de veneno de *Bufo marinus*, o pombo apresenta violentas convulsões tónicas; a cauda fica estendida em leque, as azas abertas, o pescoço voltado para traz, as patas esticadas, rigidas; logo após se produz a resolução muscular e o animal morre. As doses inferiores á mortal determinam sómente convulsões tónicas mais ou menos fortes, porém de curta duração e crises de contracturas que desapparecem rapidamente.

16—Pombo 19

Recebe por via venosa 0,5 millg. de veneno secco (1,5 millg. de veneno fresco). Paralysis immediata com opisthotonos; convulsões tónicas violentas; morte em 2'.

17—Pombo 88

Recebe 2,5 millg. de veneno fresco por via venosa; immediatamente a cabeça volta-se para trás tendo as azas abertas e a cauda em leque; rola diversas vezes sobre si mesmo e morte em 50''.

18—Pombo 141

Recebe por via venosa 1 millg. de veneno fresco ás 13 horas e 9''. Em seguida á injeccção fica cambaleante; contractura das patas impedindo que se mantenha de pé; tosse, acompanhada de expulsão violenta dos alimentos; esforço cada vez mais forte para vomitar. Hypersecreção nasal muito accentuada; respiração muito accelerada. A's 13 horas e 15 minutos começa a se manter sobre suas patas mas não consegue voar. A's 14 horas não apresenta senão uma ligeira paresia. Completamente restabelecido ás 17 horas.

19—Pombo 142

Recebe por via venosa 0,3 millg. de veneno fresco. Apresenta uma ligeira paresia durante meia hora.

Ophidios

A maioria dos ophidios é muito sensível ao veneno do *Bufo marinus*; mas a dificuldade de praticar injeções endo-venosas nesses animais não nos permittio estudar, em detalhe, a acção do veneno por essa via.

20—*Rhadinea Merremii* (Colubridae) (Exp. 11)

Depois da incisão da parede ventral, 6 millg. de veneno fresco são injectados directamente na veia cava. Forte agitação immediata do animal.

3'—Depois da injeção, violentas convulsões seguidas de paresia progressiva inicialmente posterior; tachycardia.

5'—Paralysia quasi completa.

7'—MORTE.

A via de escolha para estudo do veneno de *Bufo* nos ophidios é a gastrica ou a via tracheal, sobre as quaes nos reportaremos.

Batrachios

Algumas especies de batrachios são muito sensíveis ao veneno de sapo; o proprio *Bufo marinus* si bem que um pouco mais resistente do que os outros está longe de apresentar uma verdadeira immunidadade. Nenhum anticorpo existe no seu sôro, e contrariamente ao que se observa com os outros animais venenosos, a dose mortal para o *Bufo marinus* é muito inferior á quantidade total de veneno que podemos extrahir das suas glandulas. Os symptomas observados nos batrachios em seguida á injeção endo-venosa de veneno de *Bufo marinus*, se distinguem principalmente dos descriptos precedentemente, pela pouca intensidade dos phenomenos convulsivos. A morte é rapida no *Leptodactylus* e ao contrario muito lenta nas diversas especies de *Bufo*.

21—*Leptodactylus ocellatus* (Exp. 85)

Recebe na veia femural 5 millg. de veneno de *Bufo marinus*.

2'—Depois da injeção, contracções musculares frequentes das patas posteriores.

5'—Notavel paresia posterior augmentando progressivamente a ponto de tornar a marcha impossivel. A paralysis se completa em seguida, rapidamente.

12'—Morte.

22—*Bufo crucifer*—adulto—macho (Exp. 86)

Recebe ás 16 horas e 12', numa veia superficial do abdomen, 25 millg. de veneno fresco.

3'—Paresia posterior, com algumas contracções musculares das patas.

6'—Paralysis posterior total com anestesia.

18'—Completamente paralytico; raros movimentos de deglutição. Sómente o coração continua a bater muito lentamente.

48'—MORTE.

23—*Bufo marinus*—adulto—macho (Exp. 87)

Recebe ás 15 horas e 55', numa veia superficial do abdomen, 40 millg. de veneno fresco de *Bufo marinus*.

16 horas e 45'—Ligeira paresia posterior.

17 horas e 15'—Paralysis posterior.

20 horas e 00'—Completamente paralytico; sómente o coração continua a bater. Morte no terceiro dia, nesse estado. Quando nós estudarmos a acção das doses fraccionadas de veneno, veremos que por via venosa, 200 millg. são necessarios para matar o proprio *Bufo marinus* em alguns minutos.

ACÇÃO DO VENENO POR VIA SUB-CUTANEA OU INTRAMUSCULAR

As injeccões sub-cutaneas ou intramusculares de doses fracas de veneno de *Bufo marinus*, determinam em todos os animaes uma reacção local muito intensa; pouco tempo depois da injeccão apparece o edema, tornando-se rapidamente volumoso; no dia seguinte, toda a região é transformada em um fóco de necrose intensa, fétida. Quasi sempre os animaes succumbem em alguns dias em virtude de complicações secundarias; infecção ou lesão de um grande vaso.

Essa acção local não póde ser attribuida á contaminação das soluções de veneno por germes provindos da pelle do *Bufo marinus* no momento da extracção do veneno, contaminação que se produz frequentemente com as soluções conservadas durante varios dias. As soluções esterelizadas no autoclave, logo em seguida ao seu preparo (30' a 120°C.).

possuem as mesmas propriedades necrosantes que as soluções frescas. Com doses massiças de veneno os symptomas geraes e habituaes apparecem: paralytia progressiva, a principio posterior, acceleração notavel do rythmo respiratorio no inicio e seguida depois de bradypnéa e em uma phase mais adiantada paralytia respiratoria. A morte póde sobrevir em 10 a 15' no cobayo, com 15 millg. de veneno. Os animaes de sangue frio apresentam os mesmos symptomas que por via venosa. A morte é muito rapida. Algumas especies apresentam igualmente necroses locaes, porém são em geral mais difficeis de obter que nos mammiferos ou aves em vista da grande sensibilidade da maioria desses animaes que succumbem com doses inferiores a 1 millg. O sapo, sendo um pouco menos sensivel á acção geral de seu proprio veneno, se presta muito bem para essa prova:

24—*Bufo marinus*—adulto—femea—180 grs. (Exp. 101)

O veneno de uma das paratoides é em parte retirado de uma glandula, em seguida applicado sobre a pelle escarificada da região lombar do mesmo animal, ás 14 horas e 10 minutos.

14 horas e 30'—Paralytia posterior com anestesia tactil e thermica na metade das patas posteriores.

14 horas e 50'—Paralytia e anesthesia posteriores totaes; ligeira contractura das patas anteriores.

A's 17 horas—A motilidade começa a reapparecer; fortemente excitado o animal consegue se deslocar; o ponto de escarificação é ligeiramente tumefacto e sangrante.

No dia seguinte, paresia posterior com ligeira diminuição da sensibilidade; o animal começa a dar alguns saltos. A pelle da região lombar, em uma superficie de 10 a 12 centimetros quadrados é mortificada, esbranquiçada e toda a região é infiltrada de um edema sangrante e fétido. Morte em 35 horas. A mesma experiencia, feita em um *Bufo crucifer* não provocou senão uma ligeira tumefacção local e o animal morreu em 3 horas.

Os invertebrados são igualmente sensiveis ao veneno de *Bufo marinus*, administrado por via sub-cutanea:

25—*Lagosta de agua doce*—44 grammas (Exp. 103)

Recebe 5 millg. de veneno fresco, injectado entre o segundo e o terceiro annel da cauda. Logo depois da injeccção ligeira agitação seguida de paresia.

3'—Patas, pinças e antenas são agitadas com tremores e contracções convulsivas.

5'—Contracções tónicas violentas e generalizadas.

7'—MORTE.

26—*Carangueijo*—39 grs. (*Exp. 104*)

Recebe 2,5 millg. de veneno fresco injectado ao nível da primeira articulação coxal.

5'—Ligeira agitação seguida de tremores generalizados.

6'—Paresia; incertitude e lentidão dos movimentos de defeza (pinça) reflexos oculares conservados.

7'—Contracções tónicas violentas das patas posteriores.

8'—Paralysis total.

13'—Todos os reflexos de defeza são abolidos; os reflexos oculares sómente persistem de um modo fraco.

16'—MORTE.

ACÇÃO DO VENENO DEPOSITADO SOBRE AS MUCOSAS

O veneno em solução ou em estado fresco, depositado sobre as mucosas ocular, nasal ou buccal determina a principio uma forte ischemia local acompanhada de uma sensação dolorosa de queimadura mais ou menos intensa segundo a mucosa. Esta primeira phase é seguida um pouco mais tarde de uma congestão local intensa com lacrimejamento, salivação ou hypersecreção muito fortes segundo a mucosa em experien-
cia. Além dessa acção local, apparecem muito rapidamente phenomenos nervosos intensos, comparaveis no seu conjuncto áquelles que já descrevemos nas outras vias: periodo de excitação violento com convulsões tónicas e tetanismo seguido de paralysis progressiva. A rapidez com a qual apparecem esses phenomenos nervosos, sua intensidade e as fracas doses necessarias para os provocar caracterizam a acção do veneno por essa via.

A absorpção do veneno é igualmente rapida quando introduzido directamente no estomago com uma sonda, para evitar o contacto com a mucosa buccal.

In vitro, elle não é destruido nem pelo succo gastrico, nem pelo acido chloridrico. Por via rectal a absorpção é um pouco mais lenta e os symptomas de um e outro caso são identicos aos observados pelas outras vias. Vejamos um certo numero de protocollos afim de illustrar esses factos:

VIA OCULAR

27—Coelho 1.500 grs. (Exp. 105)

Recebe ás 16 horas sobre o globo ocular esquerdo uma pequena quantidade de veneno fresco, pastoso.

16 horas e 10'—Ligeira paresia, tornando a marcha incerta.

16 horas e 15'—Paresia lateral accentuada de todo o lado esquerdo.

16 horas e 30'—Paralysis quasi que completa do lado esquerdo; o animal querendo marchar cae sempre desse lado, as duas patas se afastam do corpo, incapazes de o sustentar.

16 horas e 45'—Paresia accentuada da pata posterior direita.

17 horas e 00'—A paresia attinge a pata anterior direita, a unica com a qual o animal podia ainda se sustentar.

17 horas e 15'—Paralysis completa; patas anteriores distendidas e afastadas, molle; cahido sobre o solo; patas posteriores rigidas e esticadas para a frente.

17 horas e 30'—Paralysis flacida total; o animal é completamente inerte; relaxamento dos esphincteres anaes e urethraes; tachycardia muito accentuada (160-170) com arhythmia e raras extra-systoles. Respiração muito lenta e irregular com pausas cada vez maiores.

17 horas e 45'—Morte em uma forte convulsão.

28—Coelho 1235 grs. (Exp. 40)

Recebe ás 10 horas um pouco de veneno fresco, pastoso, sobre o globo ocular esquerdo.

10 horas e 45'—Myoses á esquerda; ligeira paresia; respiração accelerada.

11 horas e 00'—Hemiplegia esquerda completa, o animal cae sempre desse lado.

12 horas e 00'—Paralysis generalizada, diurése abundante.

14 horas e 00'—Procura ás vezes se levantar.

16 horas e 00'—Ligeira paresia.

No dia seguinte, edema de toda a região ocular esquerda; cornea opaca e sem brilho; no outro dia, estado geral bom; conjunctivite e keratite intensas; no 4º dia depois da applicação do veneno, perfuração da cornea. Panophtalmia. Morte no 5º dia.

VIA NASAL

29—*Coelho 1.000 grs. (Exp. 59)*

Recebe um pouco de veneno fresco, pastoso, na narina direita.

35'—Depois da applicação, hemiplegia do lado opposto.

45'—Paralysis completa, ligeiro edema local.

75'—MORTE.

VIA BUCCAL

As experiencias por via buccal são menos rigorosas que as precedentes, em virtude de uma parte do veneno ser deglutido e absorvido por via estomacal.

30—*Cameleão—20 cent. de comprimento (Exp. 111)*

Recebe um pouco de veneno pastoso, na bocca. Ligeira excitação immediata; o animal procura se desembaraçar do veneno.

3'—Paresia progressiva das patas posteriores.

6'—Paralysis total, o animal é completamente inerte, apneico; este estado perdura durante 3' sem modificação, o cameleão, parece morto; bruscamente surge uma crise violenta de tetanismo, o corpo se dobra em arco, a cabeça e a cauda se elevam, as quatro patas levantadas, rigidas com os dedos afastados; tres crises mais ou menos se succedem com alguns segundos de intervallo e em seguida o animal cae inerte com as quatro patas extendidas para traz e ao longo do corpo e morre nessa situação em 10'.

31—*Lagartixa (Gecko) 15 cent. de comprimento (Exp. 112)*

Recebe um pouco de veneno fresco e pastoso na bocca.

Ligeira excitação immediata.

30''—Respiração lenta e muito profunda.

2'—Respiração muito profunda, irregular com duas ou tres inspira-
ções successivas, seguidas de longas pausas.

3'—A marcha torna-se difficil.

3'-30''—Paralysis e anesthesia da metade posterior do corpo.

4'—Immobilidade completa, paralysis e anesthesia geraes.

4'-30''—Convulsões tonicas violentas, corpo dobrado em arco, patas distendidas, cauda levantada.

5'—Relaxamento muscular e morte.

As serpentes são também muito sensíveis ao veneno depositado sobre a mucosa buccal.

32—*Lachesis jararaca*—adulta—80 cent. comprimento (Exp. 113)

Obrigada a morder um *Bufo marinus*, apresenta os mesmos symptomas que as largatixas e morre em geral no espaço de 40 a 50'; o sapo pouco sensível á acção do veneno de *Lachesis* não apresenta geralmente nenhum accidente. Doses de 1 a 2 millg. depositadas na bocca de *Lachesis* e *Crotalus* (30 a 40 cent. de comprimento) as matam em 4 a 5 minutos.

33—Cão de 3 mezes—730 grs. (Exp. 114)

Recebe 100 millg. de veneno fresco e pastoso na bocca. Em seguida, apresenta salivação abundante com vomitos.

4'—Paralysia completa, tetanismo, opisthotonos, gritos se enfraquecendo pouco a pouco.

8'—Completamente inerte; parada da respiração; intensa tachycardia.

11'—Convulsões fracas e o coração entra em fibrilação.

12'—MORTE.

VIA GASTRICA

As experiencias por esta via sendo feitas com soluções bem dosadas, os resultados são mais significativos.

34—*Crotalus terrificus*—40 cent. comprimento (Exp. 115)

Recebe 1 millg. de veneno, introduzido por meio de uma pipeta. Agitação convulsiva muito violenta; o animal regeita uma parte do veneno.

2'—Paresia inicialmente posterior.

3'—Paralysia total.

4'—Convulsões tonicas intensas; o animal torce-se sobre si mesmo e em seguida fica immovel, entortilhado; o relaxamento muscular apparece.

5'—MORTE.

35—*Crotalus terrificus*—40 cent. comprimento (Exp. 116)

Recebe 0,5 millg. de veneno por via gastrica. Mesmos symptomas e morte em 5'.

36—*Crotalus terrificus*—40 cent. comprimento (Exp. 117)

Agitação violenta em 5', seguida de paralyisia progressiva.
60'—Começa a melhorar.
Normal em 2 horas.

37—*Lachesis jararaca*—adulta—75 cent. compr. (Exp. 118)

Recebe por via gastrica 25 millg. de veneno em 1 c.c. de agua distillada.

2'—Agitação violenta.
3'—Começo de paresia.
10'—Convulsões tonicis violentas.
15'—MORTE.

38—*Lachesis jararaca*—adulta—95 cent. compr. (Exp. 119)

Recebe 12 millg. de veneno por via gastrica.

2'—Forte agitação seguida de paralyisia progressiva; convulsões tonicis violentas em 12', seguidas de um estado de morte aparente; porém, o coração só para ao fim de 25'.

39—*Pombo* (Exp. 12)

Recebe 10 millg. de veneno em 0,5 c.c. de agua distillada por via gastrica.

5'—Agitação violenta, vomitos.
8'—Começo de paralyisia.
10'—Convulsões tonicis muito violentas; opisthotonos.
17'—MORTE.

40—*Pombo* (Exp. 16)

Recebe 5 millg. de veneno por via gastrica.

12'—Convulsões tonicis e opisthotonos.
47'—Paralytico.
66'—MORTE.

41—*Coelho* (Exp. 33)

Recebe depois de um jejum de um dia para outro, 100 millg. de veneno por via gastrica.

1'—Paresia.
2'—Paralyisia posterior.

- 3'—Tetraplegia com grande hypersecreção nasal.
- 5'—Convulsões tónicas, opisthotonos.
- 7'—MORTE.

42—Gato (*Exp. 120*)

Recebe 20 millg. de veneno fresco por via gastrica. Vomitos quasi que immediatos.

18'—Serie de crises convulsivas; o animal fica distendido sobre um lado com o corpo em arco, agitado por tremores; entre as crises se levanta e marcha um pouco titubeante; as crises se repetem cada vez mais e em seguida a paralyisia se estabelece, a principio do trem posterior, depois ganha as patas anteriores no momento da morte, novas crises tetaniformes intensas, gritos e morte em 135 minutos.

OUTRAS VIAS

Por via rectal a acção do veneno é um pouco mais lenta (gato); a via tracheal (serpente, cães) é quasi tão severa quanto a via venosa.

Peixes collocados em agua addicionada de algumas gottas de veneno, morrem rapidamente:

43—Barrigudinho (*Gyrardinus*) *Exp. 121*

Tres barrigudinhos são collocados em um vaso contendo uma solução a 1^o/^o de veneno fresco em agua da bica.

3'—Agitação intensa dos peixes que nadam para todos os lados.

4'—O maior apresenta convulsões e fluctua com o ventre para cima; um segundo é quasi que inteiramente paralytico.

6'—Os tres peixes apresentam-se completamente inertes, boiando na superficie e voltados para cima.

8'—O maior apresenta convulsões violentas.

10'—Os dois outros apresentam igualmente convulsões tónicas intensas e em seguida fluctuam. MORTE.

44—Peixe vermelho (*Exp. 122*)

Collocado em um frasco contendo solução de veneno a 1^o/^o em agua, apresenta ao fim de 5' forte agitação sendo o seu corpo percorrido por movimentos convulsivos.

10'—Convulsões tónicas. A cauda se dobra e se movimenta com violencia; as nadadeiras são agitadas por movimentos discordantes.

12'—O peixe vem fluctuar inerte na superficie e com a bocca aberta.

25'—Convulsões bruscas, salta fóra d'agua.

27'—MORTE.

Rãs e pererecas, collocadas em soluções diluidas de veneno, ou sobre as quaes depositamos algumas gottas de solução concentrada, apresentam rapidamente uma paralytia inicialmente posterior, não podendo mais saltar e morrem em seguida completamente paralyticas.

SEGUNDA PARTE

ACÇÃO DIRECTA SOBRE OS CENTROS NERVOSOS

As experiencias que vimos de referir mostrando a grande affinidade do veneno de *Bufo marinus* para os centros nervosos, nos levaram a estudar algumas particularidades dessa acção.

PENETRAÇÃO PELOS FILETES NERVOSOS

A marcha dos symptomas quando o veneno é depositado sobre a mucosa ocular (geralmente: hemiplegia do lado correspondente ao que foi depositado o veneno) e a mucosa nasal (frequentemente: hemiplegia cruzada), bem como a sua progressão nos conduziram, a principio, á hypothese da absorpção do veneno pelos filetes nervosos. Para verificar esse facto, ligamos as patas de varias rãs (*Leptodactylus ocellatus* e *pentadactylus*) com exclusão do sciatico, e injectamos na extremidade do membro uma dose massiça de veneno; os animaes não apresentaram nenhum symptoma, emquanto que, os testemunhos normaes succumbiram rapidamente com a mesma quantidade de veneno. Os mesmos resultados negativos tivemos, dissecando o sciatico da *pentadactylus* e collocando na extremidade uma solução concentrada de veneno:

45—*Leptodactylus ocellatus*, adulto—80 grs.

Recebe ás 14 horas e 14', na extremidade da pata esquerda, 10 millg. de veneno; uma forte ligadura, excluindo o sciatico foi feita sobre a coxa.

A's 17 horas—Nenhum symptoma.

A's 17-8'—Recebe na outra perna, não isolada, a mesma dose de veneno.

8'—Paralytico.

15'—Abolição completa da motilidade, da sensibilidade e dos reflexos, sómente batendo o coração.

Morte ás 18 horas e 30'.

Testemunho

Leptodactylus ocellatus—75 grs.

Recebe 10 millg. de veneno em uma perna não isolada; ás 14 e 30'. Ao fim de 6' estava paralytica e morreu ao fim de 58'.

Este resultado tendo sido confirmado em todas as nossas experiencias, a hypothese de uma penetração pelos filetes nervosos deve ser abandonada. A rapidez com que apparecem os symptomas geraes, em seguida á injeccão de veneno ou á deposição sobre uma mucosa, reforça bem essa opinião.

ACÇÃO DIRECTA SOBRE OS CENTROS NERVOSOS

A acção do veneno se exercendo directamente sobre os centros nervosos, ensaiamos diversas vias de introduccão: racheana baixa, via racheana alta, ventriculo cerebral. Os symptomas observados foram muito interessantes: a principio, symptomas locaes devidos a acção do veneno sobre os elementos nervosos no ponto da inoculação; em seguida, com doses elevadas, symptomas geraes (cardiacos, respiratorios, etc.) de intensidade variaveis. Segundo o ponto da injeccão a acção local do veneno se traduz por symptomas differentes, nos quaes se encontram sempre as duas phases habituaes de excitação inicial seguida de paralytia; esses symptomas apparecem mesmo com pequenas doses de veneno e nesses casos o seu desaparecimento completo é bastante rapido. Com doses elevadas, visinhas da dose mortal, os symptomas locaes persistem durante varios dias, porém os animaes podem se restabelecer, salvo, em alguns casos onde a morte sobrevem em seguida a disturbios visceraes secundarios (paralytia, edema pulmonar, etc.).

Com essas doses elevadas de veneno, apparecem, além dos symptomas já descriptos acima, symptomas geraes perfeitamente identicos aos observados por via vascular.

VIA RACHEANA

Qualquer que seja a altura da injeccão, o animal manifesta muito rapidamente uma irritação e uma dôr local muito intensa, procurando arrastar e morder a região posterior, abaixo do ponto da injeccão; depois,

essa dôr se estende e o animal furioso rola, mordendo-se com raiva. Quando a injeccão é feita ao nivel das vertebrae lombares, a irritação ganha a principio a região anal e genital (o animal afasta as patas, faz esforços constantes para urinar e defecar, esfrega o anus sobre o solo) depois a extremidade da cauda e das patas; alguns animaes se mordem tanto que chegam a produzir sangue. A hypertonia muscular accentua-se em toda a região posterior ao ponto da injeccão acompanhada de hyperesthesia muito forte (o menor toque no animal, determina crises violentas de dôr e furia) e de augmento de todos os reflexos; a rigidez do trem posterior é completa, a marcha torna-se impossivel; o animal fica immovel, as patas posteriores se afastam para poder se sustentar e em seguida cáe.

O animal entra no segundo periodo: paralysisa flacida, diminuição e depois abolição da motilidade, dos reflexos, da sensibilidade superficial e profunda (thermica, tactil, etc.), vaso dilatação intensa (muitas vezes o penis fica completamente relaxado); é o quadro completo da secção medullar. A parte anterior do corpo, acima da injeccão, apresenta ao contrario, phenomenos de excitação: rigidez muscular, tremores continuos, as duas patas anteriores ficam esticadas rigidas, sem poder ser dobradas; pescoço recurvado; hyperesthesia notavel no inicio, e em seguida os symptomas se completam, o animal faz esforços para gritar, a paralysisa laryngéa e pharyngéa tornam-se totaes, a phonação e a deglutição tornam-se impossiveis; os reflexos desapparecem, com excepção dos corneanos e pupillares. Essa parte anterior do corpo completamente tetanizada, em contraste com a parte posterior que é flacida. Quando a dóse injectada não é sufficiente para acarretar a morte, os animaes, após um tempo variavel, de 1 a 2 horas em geral, começam a melhorar, a rigidez anterior diminue, as patas se curvam por momentos, o pescoço dobra, depois sobrevem novas crises de rigidez; enfim o animal póde se levantar apesar da hypertonia anterior sempre notavel. O aspecto então é caracteristico: o corpo fica apoiado sobre as duas patas anteriores, o pescoço é ainda esticado; toda a parte posterior do corpo é ao contrario inerte, as patas completamente abertas, o abdomen apoiado sobre o solo, sem motilidade, insensivel e sem reflexos. Essas duas regiões: anterior e posterior, são nitidamente delimitadas na altura da injeccão; a parte anterior é contrahida, e arqueada em consequencia da hypertonia que ainda persiste e do esforço necessario para sustentar a parte posterior; o animal á primeira vista, parece seccionado em duas porções.

Este estado pode persistir durante varios dias; 24 horas depois os phenomenos de excitação anterior geralmente desapparecem, mas a paralysisa posterior persiste sem modificação durante 4 a 5 dias. A paralysisa

dos esphincteres provoca a principio uma retenção absoluta da urina e das fezes, depois tardiamente a urina começa a correr gotta a gotta, emquanto que o esphincter anal é completamente relaxado. Alguns animaes succumbem nesse periodo, em seguida á intoxicação pela retenção da urina na bexiga. Logo após esse estado se attenua pouco a pouco e o animal se restabelece inteiramente.

Quando a dose de veneno é forte, os symptomas se succedem rapidamente, depois apparecem disturbios respiratorios e cardiacos habituaes e os animaes succumbem em poucos minutos entre violentas convulsões tonicás.

PROTOCOLLOS

RACHE LOMBAR

46—Cão macho, 6.700 grs. (Exp. 79)

Recebe ás 15 horas e 55', 10 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de agua physiologica, ao nivel da 4^a. vertebra lombar. Excitação immediata; o animal corre para todos os lados, gritando, depois para, as patas anteriores rigidás e afastadas, morde as patas posteriores, a extremidade da cauda e a região anal; rola sobre o solo procurando esfregar a região anal e perineal.

2'—Depois da injeccção, a paralyasia augmenta e o trem posterior torna-se flacido, emquanto apparece uma ligeira hypertonia da parte anterior do corpo.

Tachycardia e respiração muito accelerada.

3'—Cáe; paralyasia posterior flacida, completa, com abolição total dos reflexos e da sensibilidade (tactil e thermica) superficial e profunda; erecção permanente do penis. Paralyasia anterior completa, com hypertonia, opisthotonos, as patas estiradas, rigidás, resistindo á flexão, ligeira hyperesthesia da cabeça, paralyasia laryngéa; apesar de grandes esforços o animal não pode mais ladrar.

4'—Abolição geral da sensibilidade, dos reflexos (menos o corneano) e da motilidade; rigidez anterior e flacidez posterior, enorme bradycardia; phase de apnéa durante 5'; myoses; a bocca é aberta, a lingua pendente; ischemia das mucosas nasal e buccal.

8'—Alguns movimentos de inspiração, seguidos de uma nova phase de apnéa, mais curta que a precedente. 90' depois da injeccção, começa a mexer com a cabeça, mas a rigidez do trem anterior continua. No dia seguinte: a parte posterior do corpo, abaixo da injeccção, está completamente inerte, insensivel; relaxamento total dos esphincteres; a urina

corre gotta a gotta, e incontinencia das materias fecaes. A parte anterior do corpo apresenta ainda uma certa paresia com ligeira rigidez; diminuição da sensibilidade; os reflexos são presentes, a deglutição impossivel. Mesmo estado no 2º dia da injeccção; sem albumina e glycose na urina. No 3º dia a deglutição era ainda impossivel; retenção de urina completa. Morte 80 horas depois da injeccção. Na autopsia: pulmões, principalmente o direito com grandes fócios hemorrhagicos; coração normal; o tubo digestivo apresentava-se vasio e sem lesão; bexiga contendo 250 c.c. de urina com albumina e traços de glycose.

47—Cão macho 5.400 grs. (Exp. 60)

Recebe 10 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de solução physiologica entre a 3ª. e a 4ª. vertebra lombares. Dôres immediatas muito violentas; excitação da região perineal; morde as suas patas, a cauda, lambe a região anal e o penis.

2'—Contracções generalizadas.

3'—Paralysis posterior flacida se estabelece; trem anterior tetanizado.

4'—Violenta phase de excitação; o animal se mantém sobre suas patas dianteiras, rigidas, pescoço esticado, se esforça para gritar mas pouco a pouco a voz se extingue; morde a corrente, o solo, sangrando a sua bocca; dá alguns passos arrastando o trem posterior que é inerte, sobre o solo, com as patas completamente abertas.

6'—Extendido no chão completamente inerte; as patas anteriores e pescoço tetanizados, motilidade e sensibilidade completamente abolidas, sómente persistindo os reflexos corneanos e pupillares; a cauda do animal é seccionada sem que o mesmo manifeste qualquer dôr.

8'—Abolição de todos os reflexos. Apnéa. Tachycardia e arythmia total.

10'—O coração entra em fibrilação. Morte sem convulsões.

48—Cão macho, 4.300 grs. (Exp. 57)

Recebe 20 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de agua physiologica entre a 3ª. e a 4ª. vertebrae lombares. Dôr violenta immediata, seguida de contracturas generalizadas (1'); paralysis posterior flacida (1'-30''); paralysis anterior com rigidez e abolição de todos os reflexos, da sensibilidade e da motilidade (2'); morte em 2'-30'' depois de uma crise de soluços.

49—Cão macho, 6.000 grs. (*Exp. 58*)

Recebe ás 15 horas e 11', 5 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de solução physiologica, entre a 3^a. e a 4^a. vetebbras lombares. Dôres immediatas violentas; morde suas patas posteriores e a cauda; irritação da região perineal.

1'—Paresia posterior, obrigando a afastar as patas para assegurar o equilibrio.

1'-30''—Contracções generalizadas.

4'—Paralysis posterior flacida com abolição da sensibilidade e dos reflexos, parte anterior do corpo tetanizada, com hyperesthesia accentuada; paralysis laryngéa; bradypnéa; bradycardia e arythmia.

Esse estado persiste até as 16-30'; a contracção anterior cessa por momentos e o animal procura se levantar. Rythmo cardiaco e respiratorio normaes. A's 17-30' consegue se levantar e se sustentar com suas patas anteriores, que são ainda esticadas, ficando o seu trem posterior sempre inerte. No dia seguinte pela manhã não restava senão uma ligeira paresia posterior que desapareceu no correr do dia.

RACHE DORSAL

Os symptomas são exactamente os mesmos que aquelles descriptos e observados quando injectado o veneno por via lombar; porém a paralysis começa na altura da injeccção, faz cahir o animal mais rapidamente, e este não pode se sustentar sómente sobre as duas patas anteriores, mesmo afastando-as no seu maximo. A irritação posterior, da parte anal, das patas e cauda é pouco accentuada.

50—Cão macho, 7.100 grs. (*Exp. 72*)

Recebe 20 millg. de veneno fresco entre a 6^a. e a 7^a. vertebbras dorsaes. Excitação geral pouco accentuada.

1'—Cae como um bloco sobre o solo apresentando contracções generalizadas.

1'-30''—Começo de paralysis posterior flacida abaixo do ponto da injeccção, com abolição da sensibilidade e dos reflexos. Ligeira hyperesthesia anterior.

2'-30''—Paralysis posterior flacida e completa; parte anterior do corpo tetanizada. Paralysis laryngéa.

3' —Morte depois de uma crise de soluços.

51—Cão macho, 5.200 grs. (Exp. 68)

Recebe 5 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de solução physiologica entre a 10^a. e a 11^a. vertebrae dorsaes. Não ha manifestação inicial de dôr nem de irritação; a respiração é accelerada.

5'—Paresia geral.

6'—Violenta crise de convulsões tonicas generalizadas, seguida de paralyasia flacida posterior, para baixo do ponto da injeccão com rigidez anterior.

12'—Abolição total da motilidade, da sensibilidade e dos reflexos do trem posterior, ligeira hyperesthesia anterior; começo de movimentação das patas anteriores e da cabeça 1 hora e 1/2 depois da injeccão, porém a paralyasia posterior sóbe até a 10^a. dorsal, não permittindo que elle se levante; no dia seguinte, ligeira paresia posterior; restabelecimento completo em 48 horas.

RACHE CERVICAL

A injeccão entre a 3^a. e a 4^a. vertebrae cervicaes determina paresia das quatro patas, seguida de tetraplegia flacida. As quatro patas se afastam; a parte anterior do corpo é rigida; a paralyasia laryngéa é precoce.

52—Cão macho, 6.200 grs. (Exp. 71)

Recebe 20 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de solução physiologica entre a 3^a. e a 4^a. cervical. Em 1' cae paralytico das quatro patas.

2'—Tetraplegico; arythmia total, patas flacidas, pescoço rigido, paralyasia laryngéa.

4'—MORTE.

53—Cão macho, 5.100 grs. (Exp. 69)

Recebe 5 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de sôro physiologico entre a 3^a. e a 4^a. cervical. Em 1' paresia anterior, bradypnéa.

6'—Paresia geral muito accentuada, respiração soprante, rapida.

8'—Agitação violenta, gritos; a voz se extingue pouco a pouco apesar dos esforços do animal.

15'—Tetraplegico; as patas são molles e afastadas do corpo; o pescoço é duro; a cabeça estirada sobre o solo; os reflexos palpebraes e corneanos presentes.

24 hs. Paresia muito accentuada das patas anteriores e posteriores, acompanhada de tremores. Restabelecido em 48 horas.

VENTRICULO CEREBRAL

A injeccção de veneno de *Bufo marinus* no ventriculo cerebral, determina, além da paralyasia e da anesthesia rapida de todo o corpo, symptomas respiratorios e cardiacos intensos devidos á acção directa do veneno sobre os centros bulbares. Em muitos animaes observa-se um periodo de polypnéa intensa seguida de diminuição dos movimentos respiratorios, com periodos de apnéa mais ou menos longos ou de paralyasia respiratoria definitiva. Um cão, tendo recebido 5 millg. de veneno depois de um periodo de excitação violenta, apresentou um silencio respiratorio absoluto; depois de alguns esboços de movimentos respiratorios, a paralyasia respiratoria tornou-se completa até a morte que se deu 27' depois da injeccção. A tachycardia, com numerosas extrasystoles, é curta, seguida de bradycardia consideravel. Frequentemente uma baba sanguinolenta e abundante escorre da bocca do animal. Pela autopsia encontram-se quasi sempre lesões de edema agudo do pulmão com forte hemorragia. A hyperthemia é mais nitida que pelas outras vias, podendo chegar a 42°,5. A dose minima mortal é muito baixa, 5 vezes mais fraca mais ou menos que pela via racheana ou venosa.

54—Cão macho, 8.900 grs. (Exp. 65)

Recebe 5 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de sôro physiologico, em 1' cae com contracções violentas de todo o corpo; polypnéa violenta.

5'—Paralyasia flacida total com abolição geral da sensibilidade e dos reflexos, mesmo os oculares; bradycardia com pausas respiratorias.

8'—Parada definitiva da respiração, uma abundante baba sanguinolenta escapa pelo canto da bocca, bradycardia consideravel com arhythmia e extrasystoles.

10'—Morte em uma convulsão.

55—Cão macho, 6.600 grs. (Exp. 64)

Recebe 5 millg. de veneno de *Bufo marinus* em 1 c.c. de sôro physiologico.

1'—Respiração offegante e barulhenta, contracções generalizadas.

2'—Abolição de todos os reflexos inclusive os oculares, e da sensibilidade; relaxamento muscular generalizado.

4'—Morte em uma convulsão.

Em alguns casos a injeccção de doses fracas de veneno muito diluido

em grande volume de vehiculo determina o apparecimento tardio de hypertonia.

56—Cão macho, 8.100 grs. (Exp. 30)

Recebe 3 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de sôro physiologico. Em 2' paralysis total flacida com abolição total dos reflexos; respiração lenta e penosa.

5'—Começo de rigidez das patas anteriores; a respiração muito lenta é bastante barulhenta com extertores e espuma na bocca; anesthesia total.

6'—Rigidez das quatro patas; periodos frequentes de apnéa, variando de 6 a 30".

14'—Mesmo estado geral com rigidez invariavel; phases de apnéa muito longas, bradycardia consideravel; morte em 16'.

Muito mais raramente observam-se phenomenos cerebelares, ás vezes muito accentuados; os animaes rolam sobre o solo, não têm equilibrio para se sustentar e a paralysis sobrevem mais tarde.

57—Cão macho, 6.100 grs. (Exp. 61)

Recebe 5 millg. de veneno fresco.

1'—Tremores e contracções generalizadas; rola continuamente sobre o solo sem poder parar; grita; procura morder os que lhe cercam.

5'—Contracções menos accentuadas; começo de paresia geral; abolição da sensibilidade e dos reflexos; mydriase.

6'—Paralysis total flacida; respiração lenta, barulhenta com longas pausas; bradycardia; arythmia com extrasystoles, baba sanguinolenta. Morte em 10'.

58—Cão macho, 5.800 grs. (Exp. 62)

Recebe 1 millg. de veneno; logo em seguida apresenta uma respiração estertorosa; difficuldade em se manter sobre as patas; o animal esfrega sem parar com suas patas a região occipital, sacode a cabeça, recomeça a se coçar. 15' começa a melhorar, permanencia de pé impossivel. Normal em 3 horas.

59—Cão macho, 600 grs. (Exp. 90)

Recebe 2 millg. de veneno fresco; desde logo, começa a coçar a região occipital; em seguida perde o equilibrio (1') e rola sem parar. Morte em 3'.

VIA SUB-DURAL

E' a mais severa de todas. A dose minima mortal para o coelho é inferior a 0,50 millg. de veneno fresco (igual a 0,15 millg. de veneno secco) a acção local do veneno se manifesta por disturbios do equilibrio e do andar, mais accusados do lado da injeccção; os animaes giram sobre si mesmo e ficam hemiplegicos; a paralysisa se completa em seguida.

60—Coelho 1.500 grs. (Exp. 112)

Recebe 2 gottas de veneno (igual a 1 millg. de veneno fresco ou 0,3 millg. de veneno secco) depois da trepanação do parietal esquerdo ás 11 horas e 13'.

2'—Dyspnéa intensa.

3'—Paresia, sobretudo notavel do lado esquerdo; o animal começa a girar sobre si mesmo acabando por se deitar desse lado.

10'—Hemiplegia esquerda completa; sensibilidade abolida da cauda e das quatro patas; diminuida nas orelhas; hyperesthesia ligeira do nariz; reflexos oculares normaes; tremores violentos e generalizados.

27'—Arythmia completa: extrasystoles numerosas; tachycardia.

34'—Tetraplegia quasi completa, sensibilidades dolorosa e thermica abolidas nas patas e no tronco; diminuidas no nariz; reflexos oculares enfraquecidos.

52'—Violentas convulsões tonicas se repetindo ás 12-35' e ás 13-10'. Morte ás 15 horas.

61—Coelho, 1.600 grs. (Exp. 113)

Recebe ás 11 hs. 20', 1 gotta de veneno (igual a 0,5 millg. de veneno fresco ou 0,15 millg. de veneno secco) depois da trepanação do lado direito.

3'—Forte dyspnéa com fraqueza muscular.

4'—Forte salivação.

20'—Tachycardia muito pronunciada, o animal está deitado, o focinho sobre o solo; fortemente excitado, elle se levanta e curvado em arco começa a voltar-se sobre si mesmo do lado direito e acaba por ficar deitado desse lado.

100'—A paresia se accentua á direita.

4 hs. Hemiplegia direita quasi completa, com grande diminuição da sensibilidade, e dos reflexos nas quatro patas e no tronco. Morte durante a noite. Esses symptomas são absolutamente comparaveis aos observados pela applicação de veneno sobre a mucosa ocular e nasal; essa

analogia contribuiu para que admittissemos desde logo, a possibilidade de uma propagação do veneno por via nervosa, facto que a experiencia não confirmou.

CONCLUSÕES

Qualquer que seja a via de introdução empregada:—gastrica, venosa, racheana, intracraniana, o veneno de *Bufo marinus* manifesta em todos os casos uma grande affinidade para os centros nervosos; observando-se a principio, uma excitação muito accentuada, seguida de uma depressão e de paralytia. Collocado directamente sobre os centros nervosos, determina desde logo lesões locais, traduzindo-se por phenomenos variaveis segundo as regiões; depois apparecem os symptomas geraes e habituaes; respiratorios, cardiacos, que nunca deixam de existir.

Por que mechanismo se faz esta ultima acção ?

Parece-nos que elle se produz em seguida á congestão intensa e ás alterações vasculares determinadas pelo veneno, que pode ser assim lançado na circulação geral, e não por uma marcha ascendente do veneno ao longo dos elementos da medulla allongada, por exemplo, facto que não nos foi possivel demonstrar.

TERCEIRA PARTE

ACCUMULAÇÃO DO VENENO

Um dos caracteres do veneno de *Bufo marinus* é a lentidão extrema de sua eliminação e consequente accumulo no organismo.

As injeções repetidas de pequenas doses determinam symptomas, cada vez mais accentuados, porém desapparecendo mais ou menos completamente, até ao momento em que a somma do veneno injectado attinge a dose minima mortal habitual por injeção unica e o animal succumbe. Qualquer que seja a dynaminisação das doses, esse accumulo é sempre produzido nas condições que trabalhamos, isto é, com intervallos variaveis de algumas horas a 3 mezes.

Vejamus por exemplo uma experiencia em cão, por injeção endovenosa, já publicada em um outro trabalho: a dose minima mortal de veneno fresco por via venosa, para o cão, é de 10 a 20 millg.; com o veneno secco oscilla entre 1,5 e 3 millg. para injeções massicas. Dois cães A e B recebem doses repetidas de 0,3 millg. de veneno secco por via venosa; um, morre em 36 dias, depois de haver recebido 5 injeções ou sejam 1,5 millg. de veneno, 4 dias após a ultima dose. O segundo recebeu 1,8 millg. de veneno secco; apresentou depois da ultima injeção uma

paralysis posterior completa que desapareceu lentamente e succumbiu 5 semanas depois com lesões accentuadas do figado, dos rins e da medulla. Eis os protocollos dessas experiencias:

62—Cão A—Peso inicial 6.000 grs.

16/11/28—1^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

27/11/28—2^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

1/12/28—3^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; tachycardia, tremores generalizados, paresia posterior durante uma hora.

7/12/28—4^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; mesmos symptomas, um pouco mais accentuados e paralysis.

18/12/28—5^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; tachycardia muito forte, tremores generalizados, dyspnéa, paralysis posterior, retrocedendo em parte nos dias seguintes. Morte em 22/12/28.

63—Cão B—Peso inicial 7.500 grs.

16/11/28—1^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

27/11/28—2^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

1/12/28—3^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

7/12/28—4^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; tachycardia, ligeira paresia posterior.

18/12/28—5^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; paresia posterior não retrocedendo completamente; região lombar arqueada, emmagrecimento accentuado.

27/12/28—6^a. injeção de 0,3 millg. de veneno secco; paralysis posterior completa 2 horas após a injeção, diminuindo um pouco nos dias seguintes; paralysis vesical, emmagrecimento progressivo. Morte no dia 2/2/29.

Por via lombar (racheana) a dose mortal é de 15 a 20 millg. de veneno fresco.

64—Cão C—Peso inicial 7.100 grs.

26/6/28—1^a. injeção de 2,5 millg. de veneno fresco na rache lombar; 2' depois paresia posterior, tachycardia passageira.

28/6/28—2^a. injeção de 2,5 millg. de veneno fresco na rache lombar; mesmos symptomas passageiros.

30/6/28—3^a. injeção de 5 millg. na rache lombar, paralysisia com hypertonia do trem posterior; paralytico no dia seguinte. Normal em 3/7/28.

4/7/28—4^a. injeção de 5 millg. na rache lombar, paralysisia posterior completa, flacida no trem posterior com hypertonia do trem anterior, no dia seguinte edema da região penial e do penis, paralysisia vesical completa, com retenção de urina; paralysisia posterior total. Morte 9 dias depois da ultima injeção no dia 15/7/28 com graves lesões organicas assignaladas mais adiante (IV parte).

Total do veneno recebido: 15 millg. em 5 injeções (veneno fresco). Esses phenomenos de accumulo apparecem mesmo usando differentes vias para cada injeção, mostrando que a morte nos casos agudos é devida principalmente aos disturbios cardiacos; nas intoxicações lentas ella é devida ás lesões organicas (figado, baço, rins, medulla, etc.), que falaremos na ultima parte deste trabalho, occasionando disturbios visceraes graves. Vejamos um desses protocollos:

65—Cão D—peso 8.200 grs.

26/12/27—1^a. injeção de 3 millg. de veneno fresco por via venosa; tachycardia intensa, seguida de fadiga muscular e somnolencia.

27/12/27—2^a. injeção de 3 millg. de veneno fresco abaixo da 12^a. vertebra dorsal; dyspnéa, tachycardia, ao fim de 5' paralysisia posterior flacida total, rigidez anterior, anesthesia posterior, completamente restabelecido em 24 horas.

29/12/27—3^a. injeção de 3 millg. de veneno fresco na rache lombar; 5' depois paralysisia posterior flacida, rigidez anterior, curtos periodos de fibrillação ventricular, arhythmia total.

6/ 1/28—Completamente restabelecido recebe a 4^a. injeção de 3 millg. de veneno fresco, abaixo da 5^a. cervical. Ao fim de 8', anesthesia e paralysisia flacida total de todo o corpo até ao nivel dos membros anteriores que apresentam-se tetanizados bem como o pescoço; paralysisia laryngéa; tachycardia grande; restabelecido sómente ao fim de 4 dias.

11/ 1/28—5^a. injeção de 3 millg. de veneno fresco abaixo da 12^a.

dorsal; paralyasia posterior completa aos 15', retrocedendo lentamente, notando-se porém uma retenção de urina completa durante 36 horas.

19/ 1/28—Incoordenação dos movimentos das patas, sobretudo na parte posterior que é bem accusada; relaxamento dos esphincteres; incontinencia de urina e de fezes. Nessa situação, recebe ainda a 6^a. injeção de 3 millg. de veneno fresco na rache lombar; em 20', anesthesia posterior total, sómente apparecendo a paralyasia em 25'; torpor profundo; abolição da sensibilidade em todo o corpo. 3 horas depois ensaia levantar-se sobre as patas anteriores; a sensibilidade reaparece no focinho. Mesmo estado no dia seguinte. Morte durante a noite de 21 para 22/1/28.

Dose total de veneno fresco recebida entre 26/12/27 e 19/1/28: 18 millg. divididos em 6 injeções de 3 millg.

E' preciso accentuar nesta observação o apparecimento cada vez mais tardio da paralyasia depois de cada nova injeção; esse retardamento é devido a uma grande reacção inflammatoria da meninge, retardando a fixação local do veneno sobre os elementos nervosos, facilitando porém ao contrario, sua penetração no organismo como bem se pode apreciar pelo apparecimento sempre mais rapido e mais intenso dos phenomenos geraes e principalmente respiratorios e cardiacos. Esse retardamento dos phenomenos paralyticos é ainda mais nitido na observação seguinte onde foram empregadas doses um pouco mais fortes de veneno, injectadas sempre no mesmo ponto.

66—Cão E 10.000 grs.

9/4/28—1^a. injeção de 5 millg. de veneno fresco na rache lombar.

2'—Dôr local e excitação violenta.

2'-30"—*Paralyasia posterior flacida.*

4'—Rigidez anterior, tachycardia com extrasystoles. Procura se levantar 30' depois da injeção.

17/4/28—Estando completamente restabelecido recebeu a 2^a. injeção de 5 millg. na rache lombar.

2'—Tachycardia intensa com extrasystoles.

5'—Paresia posterior, excitação violenta.

17'—*Paralyasia posterior completa.* Procura se levantar 2 hs-30' depois da injeção.

20/4/28—Completamente restabelecido, recebe a 3^a. injeção de 5 millg. ainda na rache lombar.

2'—depois da injeção, arythmia total.

10'—Inquietude, dôres, gritos.

43'—*Paralysis posterior completa*. Procura se levantar 3 horas depois da injeção; apresenta no entanto, uma ligeira paresia posterior nos dias seguintes.

8/5/28—Recebe a 4^a. injeção de 5 millg. na rache lombar.

2'—Depois, arhythmia total.

10'—Grande agitação.

100'—*Paralysis posterior completa*, com rigidez da parte anterior e abolição geral da sensibilidade. Morte ao fim de 6 hs. *Dose total de veneno injectada: 20 millg. em 4 injeções no intervallo de 30 dias*. Na autopsia, encontramos as meninges espessadas, congestas, hemorrhagicas em alguns pontos e fortemente adherentes á medulla, sendo impossivel separal-as sem as dilacerar.

CONCLUSÕES

Qualquer que seja a via empregada, em nossas condições experimentaes (variando de 2 dias a 3 mezes) o veneno de *Bufo marinus* injectado em doses infra-mortaes, accumula-se no organismo, produzindo depois de cada nova injeção: symptomas mais accentuados e mais demorados, retrocedendo completamente depois das primeiras doses; deixando disturbios mais ou menos graves quando se approxima da dose mortal. A morte sobrevem quando o total das injeções corresponde mais ou menos á dose minima mortal de uma só injeção para a especie do animal e a via empregada.

QUARTA PARTE

ANATOMIA PATHOLOGICA

As lesões encontradas na autopsia das intoxicações pelo veneno de sapo, são, ora, de origem puramente mechanica, como nas intoxicações massiças onde a morte sobrevem em alguns minutos, ora, lesões inflammatorias ou de degenerescencia nas intoxicações lentas.

INTOXICAÇÕES AGUDAS

A injeção *endo-venosa* de doses massiças de veneno determina uma congestão generalizada de todos os órgãos, com numerosas hemorrhagias intersticiaes em virtude das violentas contracções de toda a musculatura lisa e estriada; o coração é o órgão mais attingido; nos casos de morte muito rapida, 1' a 3' no cão, o coração pára em systole ventricular, é diminuido de volume e duro; pequeno coagulo cruorico nas auriculas e muitas vezes nos ventriculos. Quando a morte sobrevem um pouco mais

lentamente, de 6 a 30', o coração apresenta-se com dilatação moderada, augmentado de volume, todas as cavidades cheias de coagulos cruoricos, sua consistencia é augmentada. Em um e outro caso, existem numerosas hemorragias sub-endotheliaes e mesmo na espessura das paredes. Localizam-se essas hemorragias sobretudo no coração direito e na vizinhança do infundibulum da pulmonar nas intoxicações muito rapidas, podendo em outros casos, ser extremamente abundante em todos os pontos: auriculas, ventriculos, valvulas, pilares. Essa infiltração toma toda a espessura da parede. Em certos casos, hydropericardite mais ou menos accusada. Os pulmões fortemente congestos podem apresentar egualmente focos hemorragicos mais ou menos numerosos; ha geralmente um pequeno derrame pleural nos casos de morte lenta; os bronchios e a trachéa podem ser invadidos de secreções espumosas e estriadas de sangue como se observa no edema pulmonar; todas as visceras abdominaes são egualmente congestas; observa-se muitas vezes pequenas hemorragias intestinaes e estomacaes; o figado e baço podem apresentar um pontilhado hemorragico; existe frequentemente um pequeno derrame peritoneal; as meninges fortemente congestas, algumas vezes com pontos hemorragicos.

A *injecção sub-cutanea* ou *intra-muscular* provoca sobretudo uma necrose humida e extremamente fétida.

A *injecção racheana*, quando a morte é rapida determina além de lesões organicas congestivas e hemorragicas mais ou menos accentuadas comparaveis áquellas observadas por via venosa, uma forte reacção meningéa local. As meninges apresentam-se inflammadas, espessas, com pontos hemorragicos, sendo que apresenta-se normal um pouco acima do ponto da *injecção*.

A *injecção no 4º ventriculo* é seguida de lesões cardiacas hemorragicas extremamente pronunciadas; hydropericardite, inconstante pelas outras vias, e que, nesta é regra commum. Lesões constantes de edema agudo hemorragico dos pulmões; ás vezes um lobo inteiro fica infiltrado de sangue.

INTOXICAÇÕES LENTAS

Nas intoxicações lentas encontra-se em grãos mais ou menos accusados as lesões precedentes, ás quaes vem se ajuntar lesões de degenerescencia. Nosso collega Dr. Dorival Camargo Penteado, a quem mais uma vez aqui agradecemos, teve a gentileza de se encarregar das pesquisas histologicas.

Por via venosa, em seguida a injeccões repetidas de doses fracas não se observa macroscopicamente nenhuma lesão particular; em certos casos sómente, o figado apresenta uma coloração acastanhada particular, tanto no cão como na rã. Histologicamente, o figado se apresenta congesto, com lesões de esclerose peri-vascular, e as cellulas de Kupfer cheias de uma pigmentação cõr de ferrugem; esse pigmento se encontra igualmente no baço, em parte phagocitado pelos macrophagos. Congestões renaes e peri-esplenites. As lesões medullares localisam-se sobretudo na substancia cinzenta. Vejamos uma autopsia illustrando esses resultados:

67—Cão F—Peso 5.200 grs.

12/4/28—Recebe a 1^a. injeccão de 6 millg. de veneno fresco por via venosa: tachycardia, arhythmia, e dyspnéa immediatas restabelecendo-se ao fim de 1 hora.

17/4/28—2^a. injeccão de 6 millg. de veneno fresco pela mesma via; mesmos symptomas restabelecendo-se ao fim de 1 hora.

24/4/28—3^a. injeccão de 6 millg. de veneno fresco pela mesma via: morte em 3'.

AUTOPSIA

Macroscopicamente: Todos os órgãos apresentavam-se normaes.

Lauda do exame histo-pathologico:

Medulla (*Gravura n^o 1*)—*Substancia branca*, apresentando-se mais ou menos normal, com ligeira alteração dos tubos que em alguns pontos são dilatados e o cylindro-eixo entortilhado. *Substancia cinzenta:*—As cellulas nervosas bastante alteradas em seu protoplasma, nucleo e corpos de Nissl. *Ependyma:*—Muito dilatado com escamação epithelial.

Figado (*Gravura n^o 2*)—Congestionado com alterações nas traves, cujas cellulas se acham comprimidas e em começo de vacuolisação. *Espaço-porta*, em começo de esclerose e vasos com as paredes alteradas. As cellulas de Kupfer apresentam-se cheias de um pigmento cõr de ferrugem parecendo derivado do sangue.

Rim:—Congestionado e com alguns fòcos hemorrhagicos. Glomérulos muito dilatados enchendo toda a cavidade. Na camada medullar os tubos apresentam o epithelio descamado.

Baço (*Gravura n^o 3*)—Apresenta as lesões de periesplenite com os corpusculos de Malpighi alterados e grande quantidade de macrophagos, phagocitando um pigmento amarello cõr de ferrugem, parecendo detricos de sangue.

Via racheana:—a injeccão racheana determina paralisias mais ou menos prolongada; em certos casos a paralytia vesical completa durante 2 a 3 dias podendo ir até a necrose, e consequente perfuração da bexiga; a vaso dilatação seguindo o primeiro periodo de contracções generalizadas, é intensa em todo o territorio paralytico. Afóra esses factos, as lesões histologicas consecutivas á injeccão racheana de veneno são comparaveis áquellas observadas pela via venosa, variando sómente de intensidade conforme a duração da intoxicação. Sómente as meninges e a medulla apresentam lesões bastantes mais accentuadas devido a acção directa do veneno; no ponto da inoculação, existe uma reacção inflammatoria enorme das meninges, degenerescencia completa dos elementos nervosos e esclerose vascular. Essas lesões attingem a uma altura variavel acima do ponto da inoculação. Os outros órgãos, figado, rim, baço e pulmões, apresentam lesões analogas ás já descriptas na via venosa. As duas autopsias seguintes são sufficientes para documentar esses factos:

68—Cão G—Peso 8.000 grs.

24/12/27—Recebe 5 millg. de veneno fresco na rache lombar: paralytia completa em 10'; restabelecido no dia seguinte.

26/12/27—Recebe 5 millg. de veneno fresco na rache lombar: paralytia posterior completa em 12'. Morte em 24 horas.

AUTOPSIA

Macroscopicamente: Todos os órgãos normaes, excepto a medulla lombar que se achava congestionada com as meningeas espessadas e egualmente congestas.

Lauda do exame histo-pathologico:

a) Medulla:—*Ponto distante da inoculação* (Gravuras nºs. 4 e 5)—*Meningea* muito espessada apresentando em alguns pontos invasão leucocytaria, indice de inflammação aguda com vasos de paredes espessadas. *Neuroglia* e *tubos nervosos* normaes. *Substancia cinzenta* com algumas cellulas nervosas, apresentando ligeira alteração nos corpos de Nissl e nucleo, tomando com mais homogeinidade o corante, indicando um começo de picknose.

b) Medulla:—*Ponto de inoculação* (Gravura nº. 6)—*Tecido celluloso adiposo peri-meningeo* apresentando intensa inflammação, com grande numero de leucocytos (lymphocytos e plasmatzellen) e as meningeas fortemente inflammadas. *No tecido nervoso* propriamente, degeneração profunda dos cordões e tubos de myelina fragmentados, turgidos e

muito dilatados. *Ganglio racheano*:—O ganglio racheano apresenta o parenchyma alterado por um tecido néo-formado e as cellulas igualmente alteradas e comprimidas por esse tecido.

Figado (*Gravuras n.ºs. 7 e 8*)—Congestão produzindo a dissociação das traves, cujas cellulas em certos pontos apresentam-se alteradas e com pequenos vacuolos. *A veia central* congestionada, apresentando em alguns pontos grande invasão leucocytaria. *Espaço-porta*:—Vasos muito dilatados, comprimindo os canaliculos biliares e grande *pigmentação côr de tijolo*.

Baço (*Gravuras n.ºs. 9 e 10*):—Capsula muito espessada enviando traves tambem espessadas para o interior, vasos bem esclerosados e os folliculos bem conservados. Grande numero de cellulas macrophagas com pigmento sanguineo.

69—Cão E—10 kilos (*veja exp.: detalhada n.º 66—III^a. parte*)

Resumo:—Recebeu de 9/4/28 a 8/5/28, 4 injeccões de veneno fresco na rache lombar, de 5 millg. cada uma. Morte 6 horas depois a ultima injeccão.

AUTOPSIA

Macroscopicamente:—Meningeas espessadas e congestas, hemorrhagicas até ao nivel das ultimas cervicaes, adherentes á medulla de tal fórma que era impossivel separal-as; medulla lombar edemaciada. Coração com numerosos fócios hemorrhagicos principalmente no ventriculo direito. Pulmões com grandes fócios congestivos e hemorrhagicos. Figado apresentando uma côr acastanhada; os outros orgãos normaes.

Lauda do exame histo-pathologico:—

a) Medulla:—*Ponto distante da inoculação* (*Gravuras n.ºs. 11 e 12*):—*Meningeas*: *Dura-mater* ligeiramente espessada com pequeno numero de leucocytos (inflammação). *Pia-mater* apresentando os vasos congestionados e affluxo leucocytario abundante.

Neuroglias, nas adjacencias da pia-mater apresenta os tubos nervosos degenerados; as cellulas nervosas dos cornos anteriores e posteriores completamente degeneradas; invasão de lymphocytos principalmente em redor dos vasos. Ependyma, conservando o endothelio normal.

b) Medulla:—*Ponto proximo da inoculação* (*Gravuras n.ºs. 13, 14, 15 e 16*):—*Tecido cellulo adiposo* envolvendo as meningeas com forte reacção inflammatoria aguda. *Dura-mater* muito espessada (esclerose) e com alguns leucocytos polymorpho-nucleares.

Porção branca:—vasos congestionados e cercados de grande numero de cellulas (lymphocytos e leucocytos polymorphos). *Cellulas nervosas*:—retrahidas e em completa degeneração (nucleos retrahidos e com desaparecimento do nucleolo). *Tubos nervosos*, muito alterados, com modificações profundas do cylindro-eixo, apresentando mesmo em alguns pontos, completa fusão desse cylindro. *As fibras dos cordões anteriores e posteriores* degeneradas e fraccionadas. No *ependyma*, o endothelio hyperplasiado e vasos congestionados cercados de cellulas lymphocytarias e leucocytarias polymorpho-nucleares.

Rim (*Gravura n.º 17*):—Congestão generalizada e alguns pontos hemorrhagicos. Pequena descamação epithelial nos tubos contornados. Na região medullar os tubos rectos e alças de Henle dilatadas, com as cellulas granulosas e os nucleos em picknose. Congestão e hemorrhagia renal com um começo de nephrite epithelial.

Pulmão (*Gravura n.º 18*):—Hemorrhagia intensa e vasos congestionados: os alveolos dilatados e em alguns pontos rompidos communicando-se uns com os outros (emphysema). Bronchios dilatados, cercados de massas de cellulas embryonarias, leucocytos polymorphos, lymphocytos e com o epithelio descamado e hyperplasiado. Emphysema, hemorrhagia pulmonar e bronchite aguda.

Nota:—No pulmão encontram-se *embryões de filaria*.

PESQUISA DO VENENO NO ORGANISMO

A pesquisa do veneno de *Bufo marinus* no organismo dos animaes intoxicados é difficil, salvo nos casos de intoxicações massiças por via gastrica, onde grandes quantidades de veneno, liquido ou pastoso se encontram no estomago e podem ser caracterizadas, seja *in vitro*, seja *in vivo*. A maioria das reacções chemicas do veneno de *Bufo marinus* se compara com as de numerosos lipoides, principalmente a cholesterina, o que tira todo o valor pratico dessas pesquisas. Ensaíamos diversos processos para encontrar o veneno no organismo. A principio procuramos injectar o veneno juntamente com uma solução de Trypanblau. Os exames macroscopico e histologico dos animaes não nos deram nenhum resultado. Sómente por injeção racheana de veneno de mistura com o corante, as meningeas e a medulla apresentavam-se completamente descoradas, na visinhança do ponto da injeção, emquanto que acima e abaixo ficavam bem coradas. Procuramos por em evidencia o veneno, injectando em animaes novos ou já preparados por doses fracas anteriores de veneno, macerados e extractos de orgãos de animaes que succumbiram depois da injeção de doses massiças ou fraccionadas de veneno.

Utilizamos para esse fim, macerados em agua physiologica ou extractos alcoolicos (o veneno é soluvel na agua e no alcool) ou ainda macerados de órgãos submettidos á digestão em acido chloridrico diluido (1 %) afim de destruir a parte albuminoide. Essas pesquisas não deram nenhum resultado com pequenas quantidades de órgão, emquanto que quantidades maiores de órgãos normaes submettidas á digestão chlorhydica e depois de neutralizadas pela solução de soda, são toxicas, independente da existencia do veneno de sapo, impedindo assim de tirar qualquer conclusão.

Lembramos que o sôro dos animaes submettidos a uma intoxicação lenta pelo veneno de sapo é dotado de um poder fixador elevado em relação ao veneno fresco de *Bufo marinus*.

CONSIDERATIONS FINALES

I

Quelque soit la voie d'introduction (hypodermique, veineuse, artérielle, rachidienne, venin déposé sur les muqueuses, ou sur la peau nue des batraciens, ou dans l'eau des poissons) le venin de *Bufo marinus* détermine chez toutes les espèces animales des symptomes généraux identiques: phase initiale d'excitation plus ou moins longue, accompagnée d'accélération considérable de la respiration et du rythme cardiaque, de vomissements, d'hypersécrétion lacrymale, salivaire, etc., puis de convulsions toniques avec spasmes de toute la musculature lisse, d'hypertonie musculaire et enfin d'un état de tétanisme généralisé. Cette première période est suivie d'une phase de dépression et de paralysie flasque, à début postérieur, se complétant rapidement; les mouvements respiratoires s'espacent et disparaissent avant l'arrêt définitif du coeur; la tachycardie initiale simple, fait place à une arythmie totale avec souvent dissociation auriculo-ventriculaire complète, puis le ventricule entre en fibrillation.

II

En plus de ces symptomes communs, on observe des symptomes particuliers avec les différentes voies d'introduction employées. L'injection veineuse, artérielle ou intra-cardiaque, peut amener la mort en quelques instants au milieu de violentes convulsions toniques, en tétanisant le muscle cardiaque.

De vastes oedèmes hémorrhagiques locaux, suivis de gangrène fétide, s'observant même avec des venins stérélisés à l'autoclave (30 mi-

minutes à 120°), caractérisent les injections hypodermiques ou intramusculaires.

L'action du venin déposé sur les muqueuses oculaires, nasale ou buccale, occasionne une forte ischémie locale accompagnée d'anesthésie, et suivie d'une période congestive plus ou moins douloureuse suivant la muqueuse, avec hypersécrétion abondante; on peut même observer une panophtalmie avec perforation de la cornée chez le lapin. En même temps apparaissent les symptômes généraux habituels et la mort peut être très rapide (40 minutes pour le lapin par voie oculaire; 3 minutes chez le lézard par voie buccale).

L'injection rachidienne, quelque soit la hauteur, agit d'abord sur les éléments nerveux au point de l'injection, déterminant après une très courte période d'excitation, une paralysie flasque avec anesthésie et abolition totale des réflexes dans toute la partie du corps située au dessous du point de l'injection; la partie du corps située au dessus de ce point ne présente au contraire que des phénomènes d'excitation persistants avec grande rigidité musculaire et opisthotonus. Plus tard, apparaissent les troubles généraux habituels, respiratoires, cardiaques, sécrétoires; la mort survient rapidement; avec des doses infra-mortelles, les phénomènes paralytiques persistent quelques jours puis disparaissent.

L'injection dans le 4ème. ventricule est suivie de paralysie flasque rapide de tout le corps avec abolition générale de la sensibilité et des réflexes; l'hyperthermie est toujours accusée, et les troubles cardiaques et surtout respiratoires plus marqués que dans les autres voies.

III

Presque toutes les espèces animales sont très sensibles à ce venin, soit par voie parentérale, soit à travers les muqueuses principalement la muqueuse digestive: mammifères (chien, chat, lapin, cobaie, cheval), oiseaux (pigeon), poissons, la plupart des serpents, lézards, batraciens (crapauds, entre autres le propre *Bufo marinus*; grenouilles et rainettes de diverses espèces), crustacés et insectes (odonates).

IV

Quelque soit la voie employée, le venin de *Bufo marinus* administré à doses infra-mortelles, s'accumule dans l'organisme, produisant dans nos conditions expérimentales (variant de 2 jours à 3 mois) des symptômes toujours plus accentués après chaque nouvelle injection; ces symptômes disparaissent complètement après les premières doses, mais laissent

à leur suite des troubles plus ou moins graves quand on s'approche de la dose mortelle. La morte survient quand le total des injections correspond à peu près à la dose qui serait mortelle d'emblée, en une seule injection dans les mêmes conditions expérimentales.

V

Les lésions trouvées à l'autopsie dans les cas de mort rapide sont d'origine purement mécanique: hémorragies sous endothéliales et nombreux infarctus cardiaques, hémorragies discrètes dans divers organes; oedème pulmonaire aigu après les injections dans la 4ème ventricule.

Dans les intoxications lentes, on observe constamment des lésions inflammatoires périvasculaires surtout nombreuses dans le foie, la rate, les reins, la moelle; les cellules hépatiques et spléniques sont remplies d'un pigment couleur de feuille morte existant chez le chien comme chez la grenouille; les cellules nerveuses de la moelle sont profondément altérées aussi bien que les tubes nerveux.

L'injection rachidienne détermine en outre une très forte réaction inflammatoire au point de l'injection.

Travail de l'Institut Bios, Niteroi—Brésil

REFERENCIAS

- 1—ABEL et MACHT:—2 crystalline pharmacological agents from the *Bufo-agua*. *Jour. of pharm. and exp. Ther.* III-1912.
- 2—CLAUDE BERNARD:—*Leçons sur les substances toxiques et médicamenteuses*. Paris 1857 — *Leçons de pathologie expérimentale*. Paris 1857.
- 3—FAUST (Edwin S.):—Ueber Bufonin und Bufotalin, die wirksamen Bestandtheile des Kroetenhautdrüsensecretes. *Archiv. f. exp. Path. und Pharm.* Bd. 47-1912.—Die tierischen Gifte in *Heffter—Hand. d. exp. Pharmakologie*. Bd. II.
- 4—GESSNER (Otto):—Ueber die Wirkung des Kroetengiftes.....*Archiv. f. exp. Path. u. Pharm.*—1926-118—Ueber amphibiengifte. *Sitzungsberichte d. Gesel. z. Beforderung d. Gesam. Naturwiessench. z. Marburg* 1926—61.

- 5—JAYME PEREIRA:—Sobre a acção physiologica do veneno de sapo—*Jornal dos Clinicos*. Rio de Janeiro—1926.—*Idem*, veneno de sapo e secreção urinaria. *Memorias do Inst. de Butantan*—III, 1926.—*Idem* veneno de sapo e musculo liso. *Ibidem*—III, 1926.
- 6—KANSHO RYO:—Beiträge zur Pharmakologie des Kroetengiftes. res. in *Ber. ueb. d. ges. physiol. u. exp. Pharmakologie*. Bd. 43—1928.
- 7—KOTAKE (Munio):—Ueber das Kroetengift. I Mitt. Die Zusammensetzung des chinesischen Arzneimittels «Senso». *Liebigs Ann.* 465—1928 — *Id.* II Mitt. Die Giftigen Bestandtheilen des Sekretes des Japanischen Kroettes (B. Japonicus) *Ibid.* 465—1928.
- 8—LACERDA (J. Baptista):—Algumas experiencias com o veneno de *Bufo-ictericus*. *Archivo do Museo Nacional*—III—Rio de Janeiro 1878.
- 9—NOVARO:—Action toxique du venin de crapaud pour l'homme et les animaux. *C. R. Soc. de Biol. 2ème. sem. 1922* — Action pharmacodynamique du venin de crapaud. *Ibidem* — LXXXVIII, 1923.
- 10—PHISALIX et BERTRAND:—Sur le venin des batraciens. *C. R. Ac. des Sc. Paris*, XCVIII, 1884.—Sur les principes actifs du venin de crapaud commun. *Ibidem* CXXXV. 1902. — Recherches sur la toxicité du sang du crapaud commun—*Archives de Physiologie normale et pathologique*. 5ème série. V. 1893.
- 11—PISO et MARCGRAVIUS:—*Historia naturalis Brasiliae*. 1648.
- 12—PUGLIESE:—Sull'azione methemoglobinogena del veleno di rospo. *Arch. d. Farmac. e Terapeut.* II. 1894 — *Arch. Ital. d. Biologia* XXII—1895.
- 13—VELLARD (J):—Propriétés des sécrétions cutanées de quelques rainettes des environs de Rio de Janeiro—*C. R. Acad. des Sciences—Paris*—188, 1929—Sobre as propriedades das secreções cutaneas de algumas Hylidae dos arredores do Rio de Janeiro.—*Boll. do Inst. Vital Brasil*—8, 1929.
- 14—VELLARD (J) et ASSIS (A):—Estudos immunologicos sobre os venenos dos batrachios — *Boll. do Inst. Vital Brasil*—7, 1929 — Immunologische Untersuchungen ueber das Gift brasilianischer anurenarten — *Zeitchr. f. Immunitforsch*—Bd. 63, 1929.

- 15—VELLARD (J) et MIGUELOTE VIANNA (M):—Pesquisas experimentaes sobre o veneno de *Bufo marinus* do Brasil. *Comm. Congr. Sul-Americano de Biologia-Montevideo*—1930.
- 16—VITAL BRASIL et VELLARD (J):—Contribuição ao estudo do veneno dos batrachios — *Memorias do Instituto Butantan*—III, 1926.
- 17—VULPIAN:—Sur le venin du crapaud commun—*C. R. Soc. de Biologie*. VI—1854 — Absorption du curare et du venin de crapaud commun—*Ibidem* 1855 et *Gazette médicale de Paris*—1855 — E'tude physiologique du crapaud, du triton et de la salamandre terrestre. *C. R. Soc. de Biol. 2ème. serie*. III, 1856 — Note relative à l'action du venin des Batraciens sur les animaux qui le produisent—*Ibidem*. XVI, 1865.
- 18—WIELAND (Hermann):—Ueber die Bedeutung des Calciums fuer die geringe Empfindlichkeit der Kroeten gegen Herzgifte—*Bioch. Zeitschr.* CXXVII, 1921.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS I—XII

ESTAMPA I

- Fig. 1.—Medulla: Cão F — Exp. 67.
Fig. 2.—Figado: Cão F — Exp. 67.

ESTAMPA II

- Fig. 3.—Baço: Cão F — Exp. 67.
Fig. 4.—Medulla: (Ponto distante da inoculação), Cão G — Exp. 68

ESTAMPA III

- Fig. 5.—Medulla: (Ponto distante da inoculação), Cão G — Exp. 68.
Fig. 6.—Medulla: (Ponto da inoculação), Cão G — Exp. 68.

ESTAMPA IV

- Fig. 7.—Figado: Cão G — Exp. 68.
Fig. 8.—Figado: Cão G — Exp. 68.

ESTAMPA V

- Fig. 9.—Baço: Cão G — Exp. 68.
Fig. 10.—Baço: Cão G — Exp. 68.

ESTAMPA VI

- Fig. 11.—Medulla: (Ponto distante da inoculação), Cão E — Exp. 69.
Fig. 12.—Medulla: (Ponto distante da inoculação), Cão E — Exp. 69.

ESTAMPA VII

- Fig. 13.—Medulla: (Ponto proximo da inoculação), Cão E — Exp. 69.
Fig. 14.—Medulla: (Ponto proximo da inoculação), Cão E — Exp. 69.

ESTAMPA VIII

- Fig. 15.—Medulla: (Ponto proximo da inoculação), Cão E — Exp. 69.
Fig. 16.—Medulla: (Ponto proximo da inoculação), Cão E — Exp. 69.

ESTAMPA IX

- Fig. 17.—Rim: Cão E — Exp. 69.
Fig. 18.—Pulmão: Cão E — Exp. 69.

ESTAMPA X

- Fig. 19.—Cão inoculado por via racheana entre a 5^a. e 6^a. vertebrae dorsaes: Notamos já um começo de paresia do trem posterior com rigidez do pescoço e do trem anterior (Phase inicial dos symptomas).
Fig. 20.—Mesmo cão da figura 19, porém em uma phase mais adiantada: Notamos já paralyssia de todo o trem posterior com rigidez accentuada da parte anterior.
Fig. 21.—Cão inoculado por via racheana ao nivel da 4^a. e 5^a. cervical: Desde inicio os symptomas são mais nitidos, podendo-se destacar que a paralyssia é mais alta, impedindo que o animal se mantenha de pé por si mesmo.
Fig. 22.—Cão inoculado na rache lombar: Phase inicial do relaxamento posterior, podendo porém o animal ainda se manter um pouco sobre as patas posteriores.

ESTAMPA XI

- Fig. 23.—Cão inoculado na rache lombar: Percebe-se muito bem o relaxamento de toda a parte do corpo em contraste com a parte anterior que se encontra tetanizada (Phase mais adiantada).
Fig. 24.—Cão inoculado no ventriculo cerebral: Notamos um relaxamento geral de todo o corpo sem a tetania anterior.
Fig. 25.—Cães inoculados: n^o. 1 por via ventricular cerebral; n^o. 2, attitude por inoculação racheana entre a 5^a. e a 6^a. dorsaes (inicio dos symptomas); n^o. 3, inoculação por via racheana em baixo da 3^a. vertebra lombar.

ESTAMPA XII

- Fig. 26.—Cão injectado com uma dose infra-mortal na rache lombar: A rigidez anterior começa a desapparecer, enquanto que a paralytia posterior ainda permanece durante alguns dias. Esta attitude observa-se nos animaes que recebem doses infra-mortaes e quando começam a regredir os symptomas.
- Fig. 27.—Lagartixa que recebeu por via oral veneno fresco ligeiramente diluido: Phase typica de tetania generalizada, momentos antes da morte.
-



1



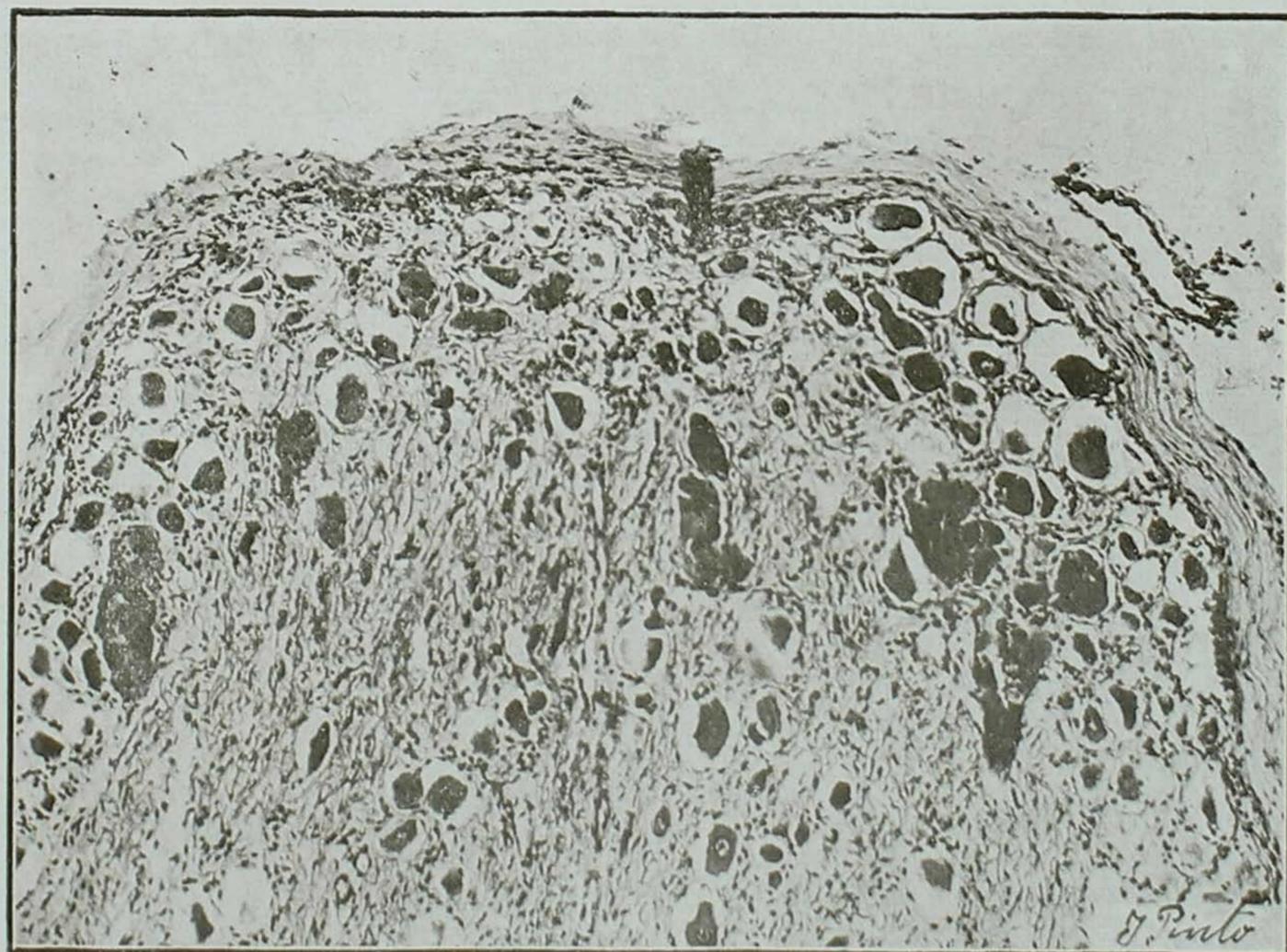
2

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



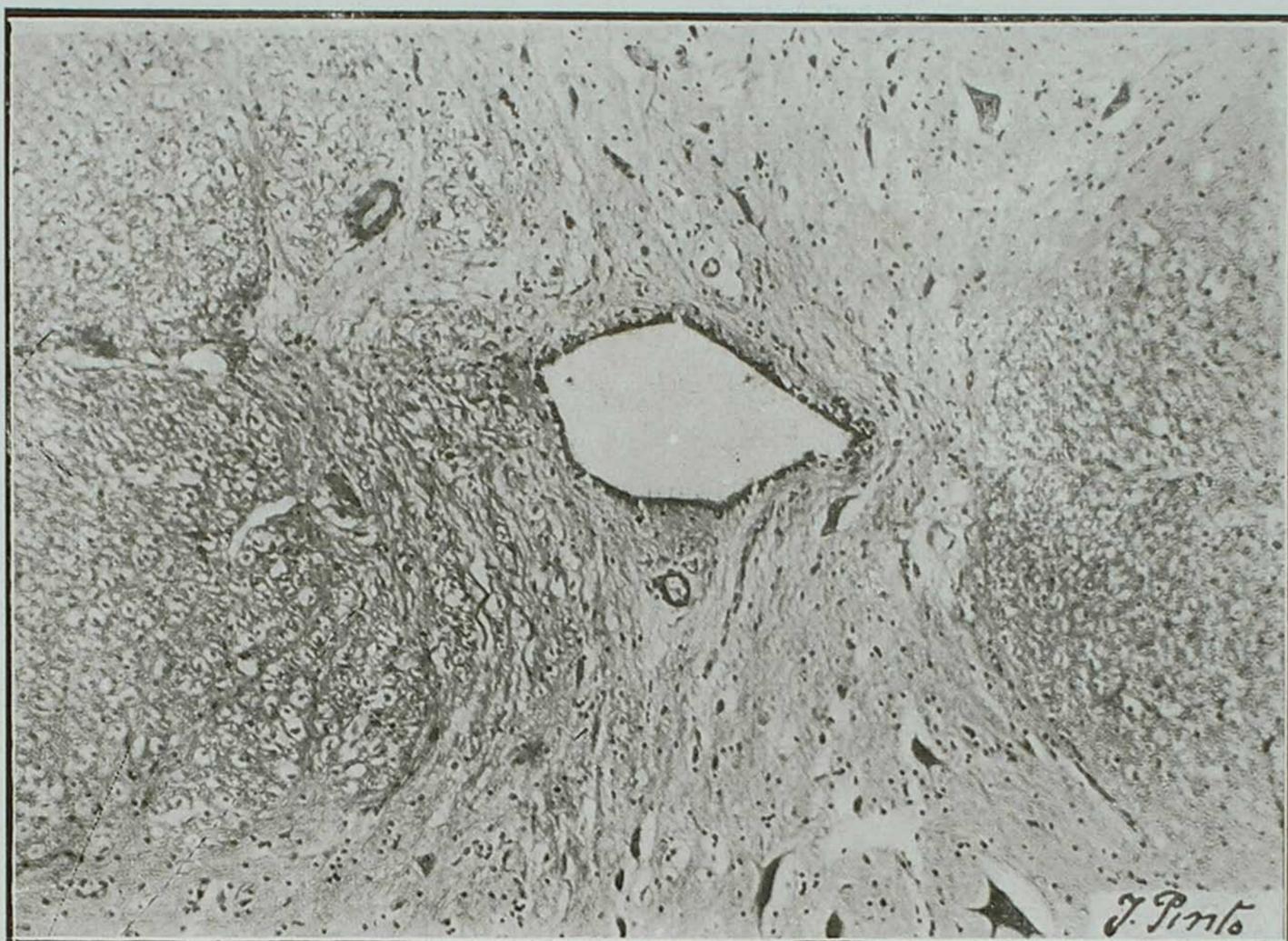
3



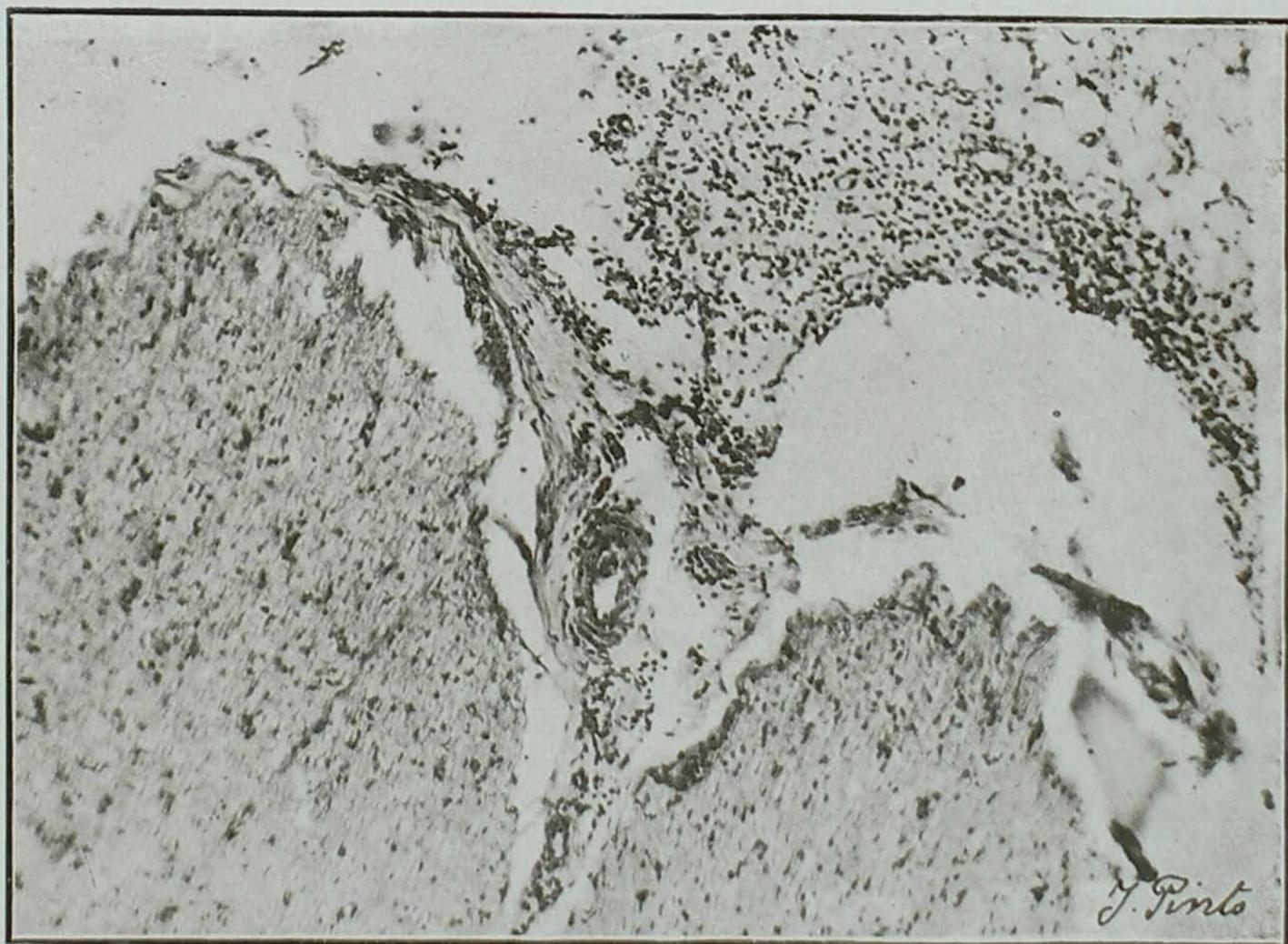
4

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



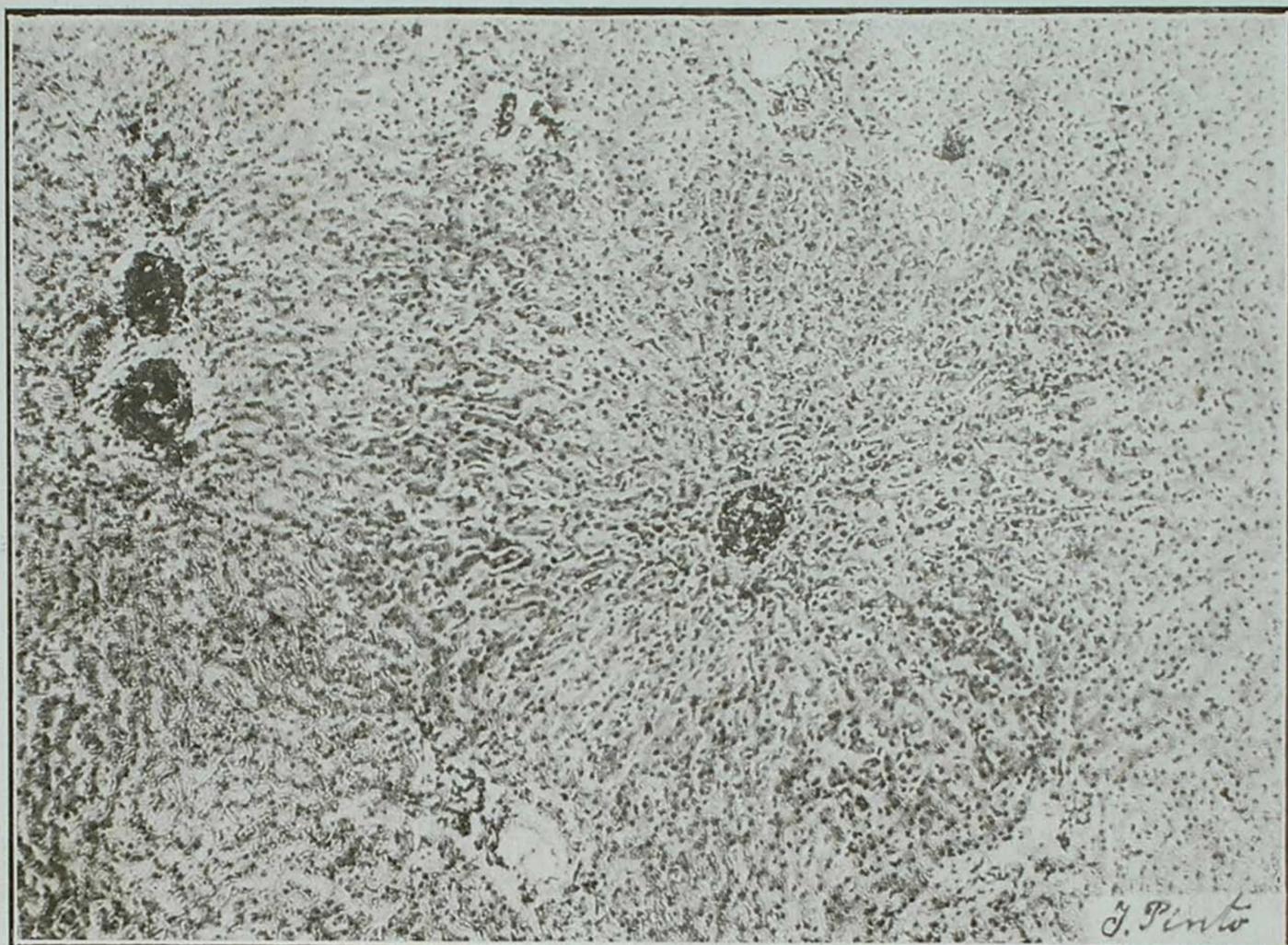
5



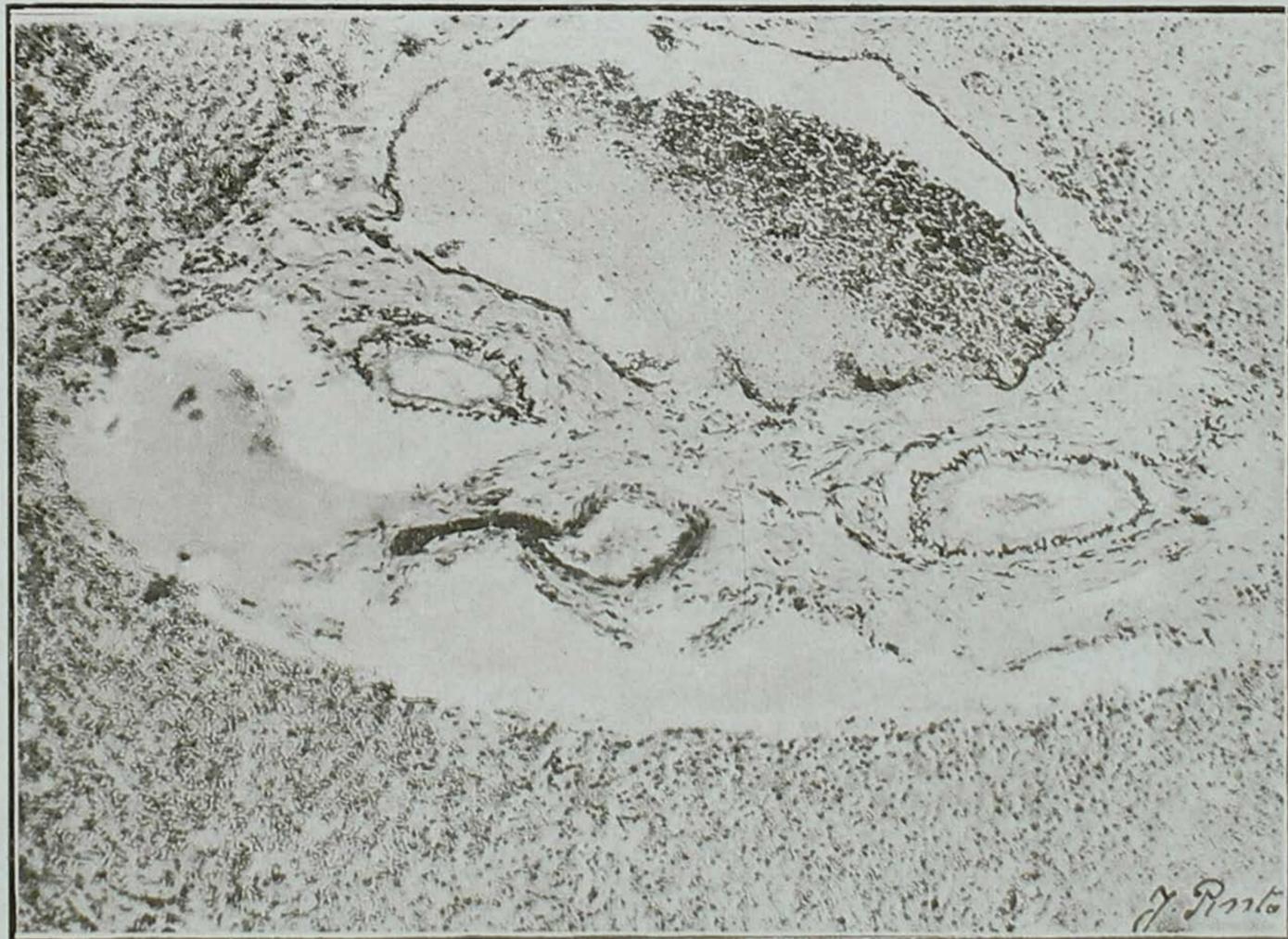
6

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



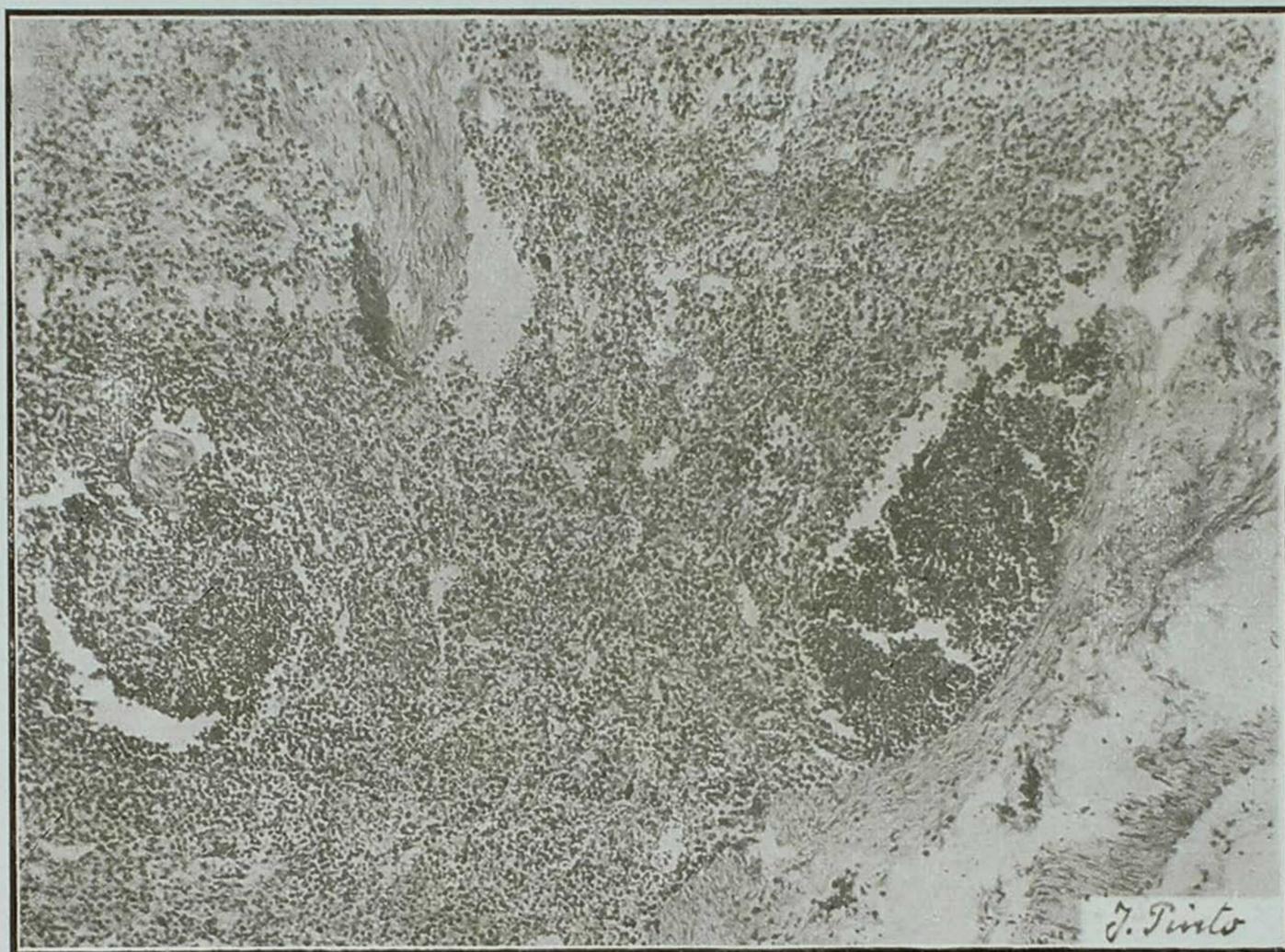
7



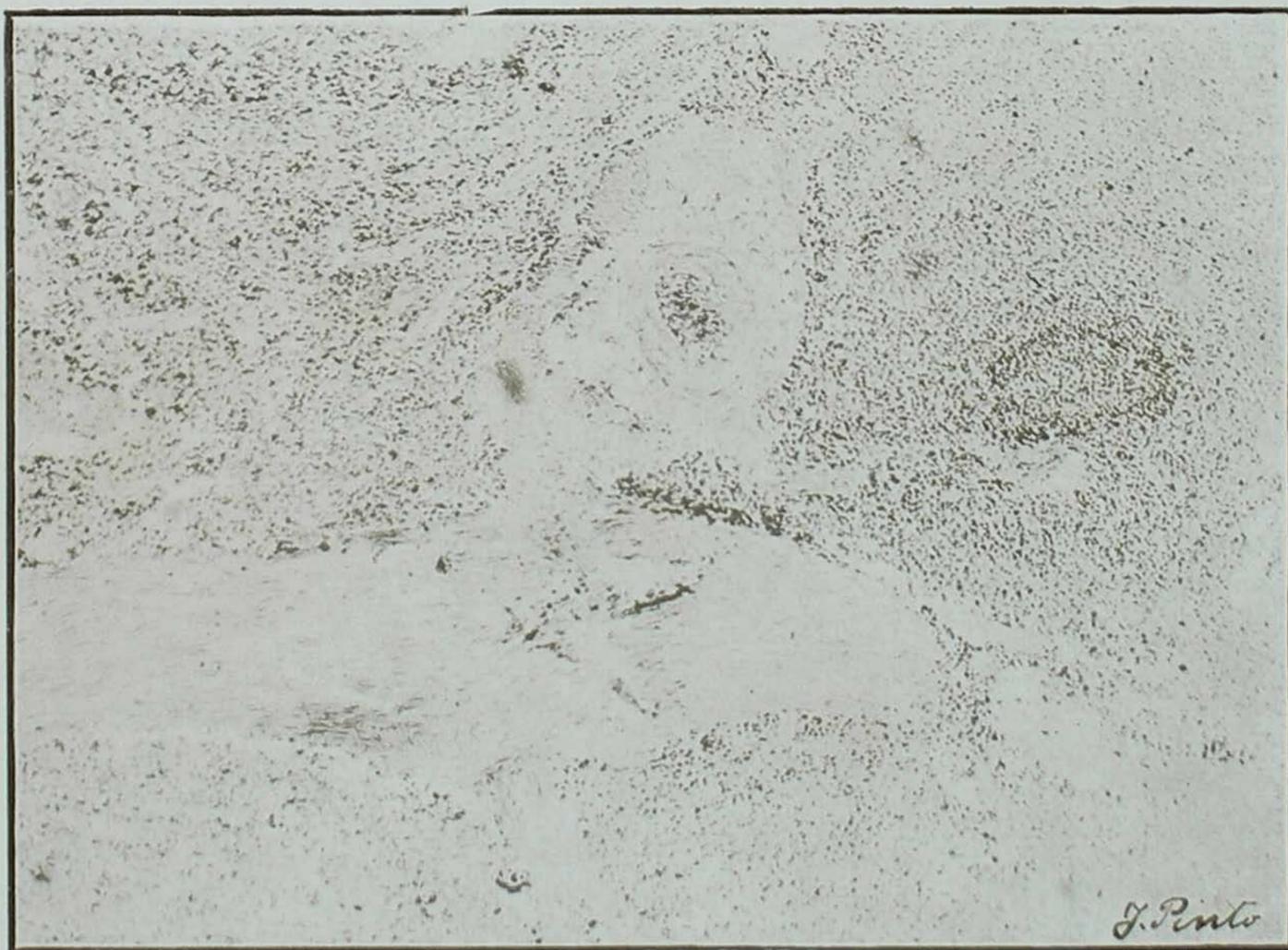
8

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



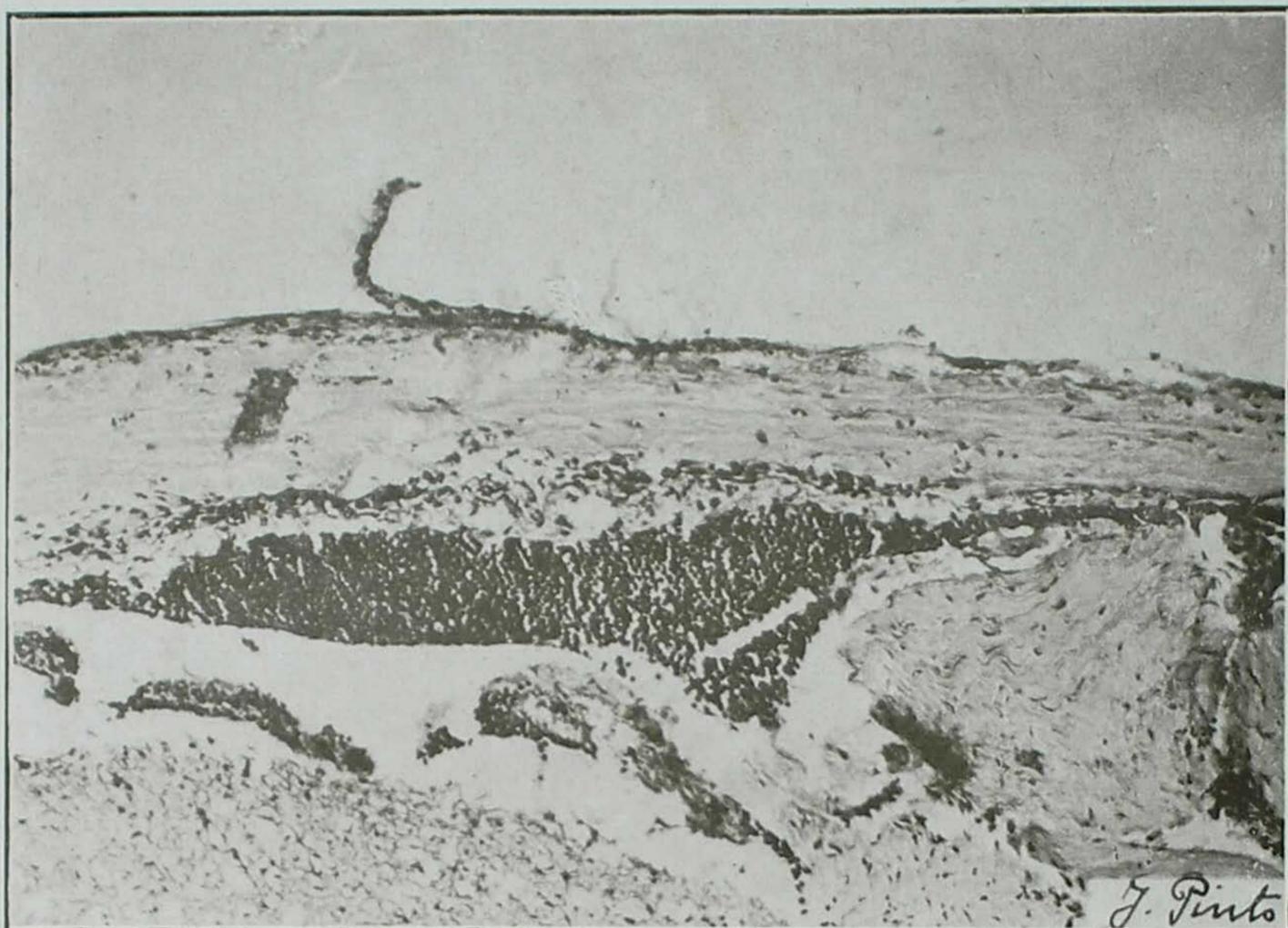
9



10

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



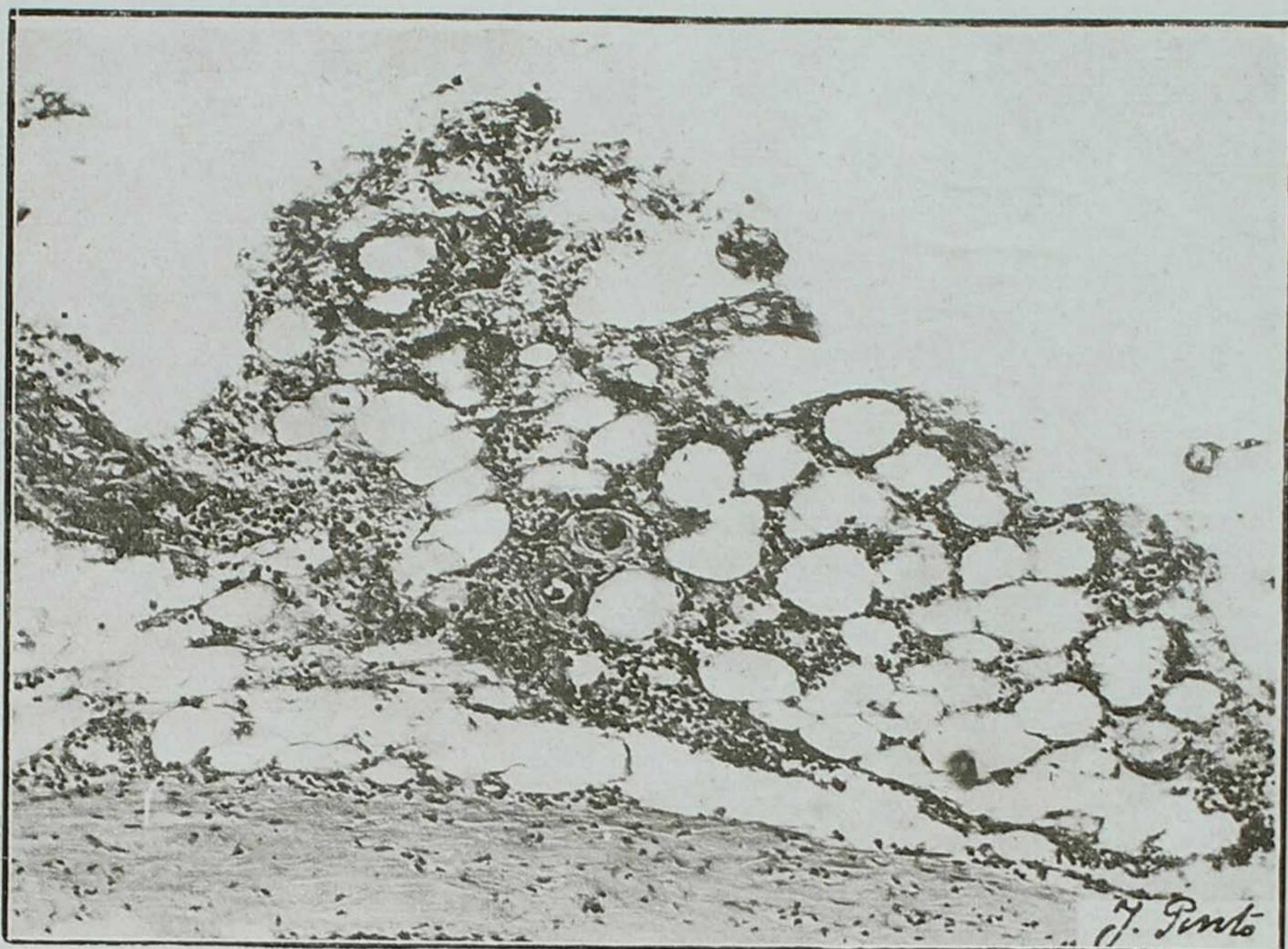
11



12

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



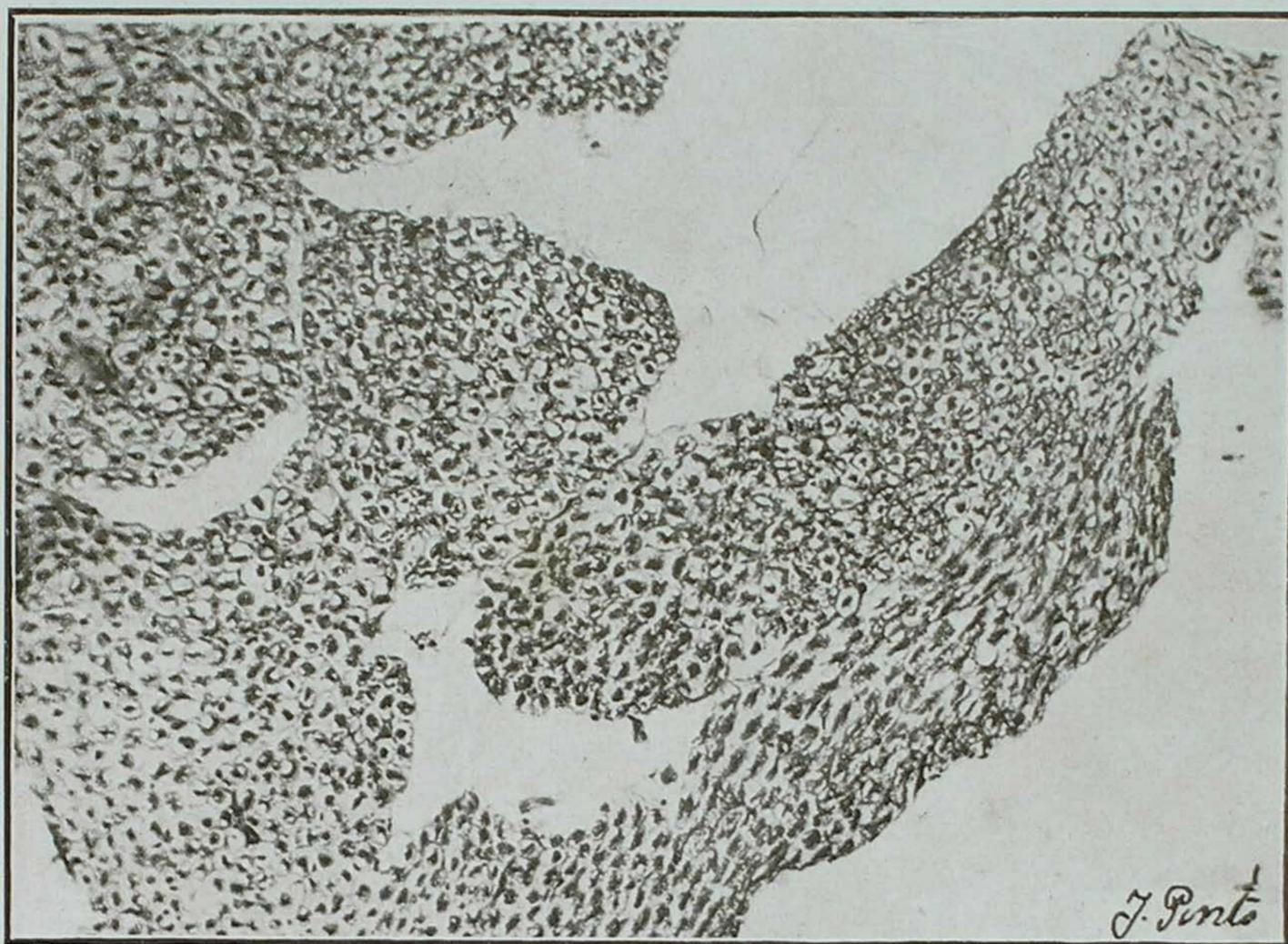
13



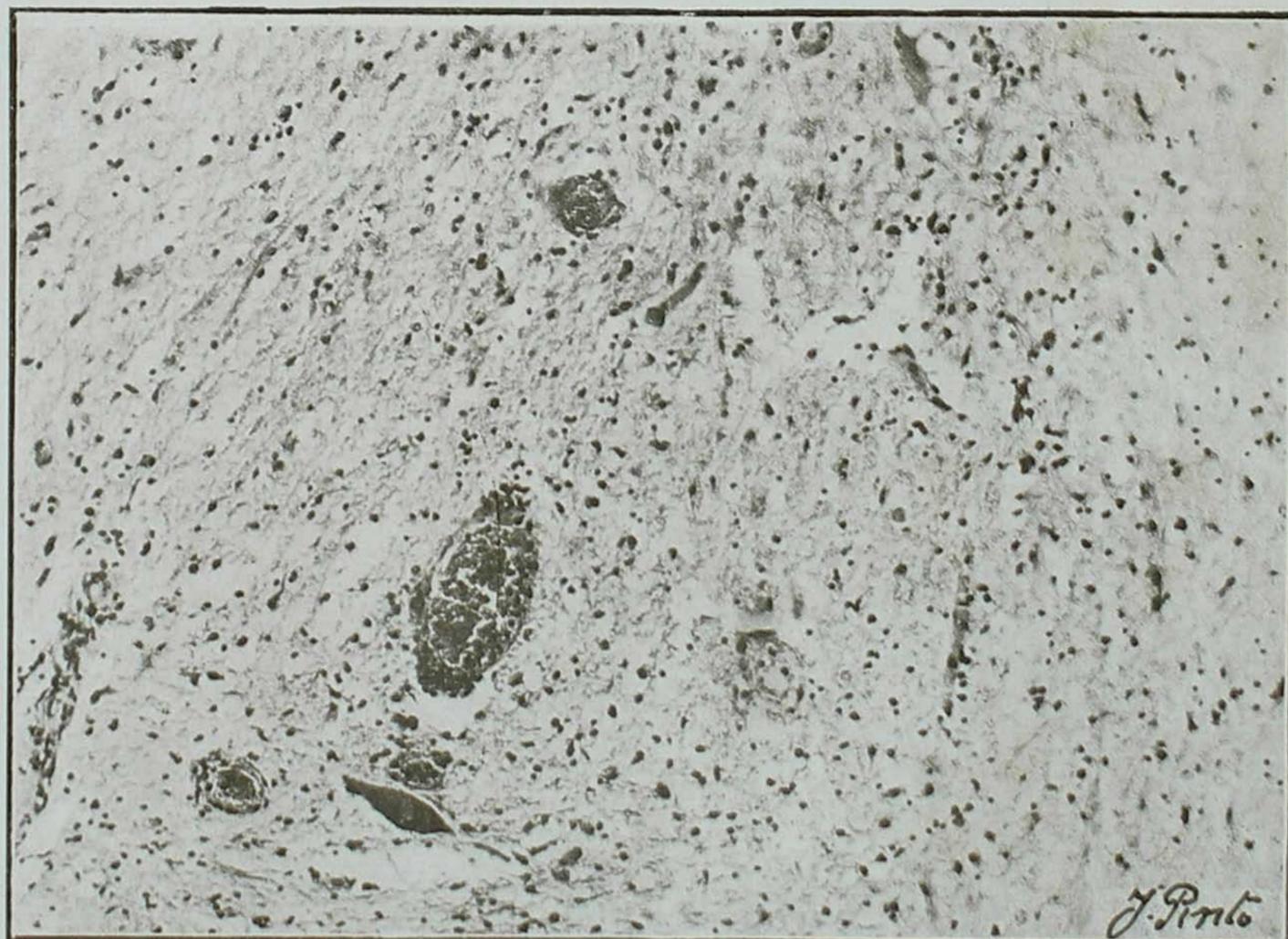
14

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



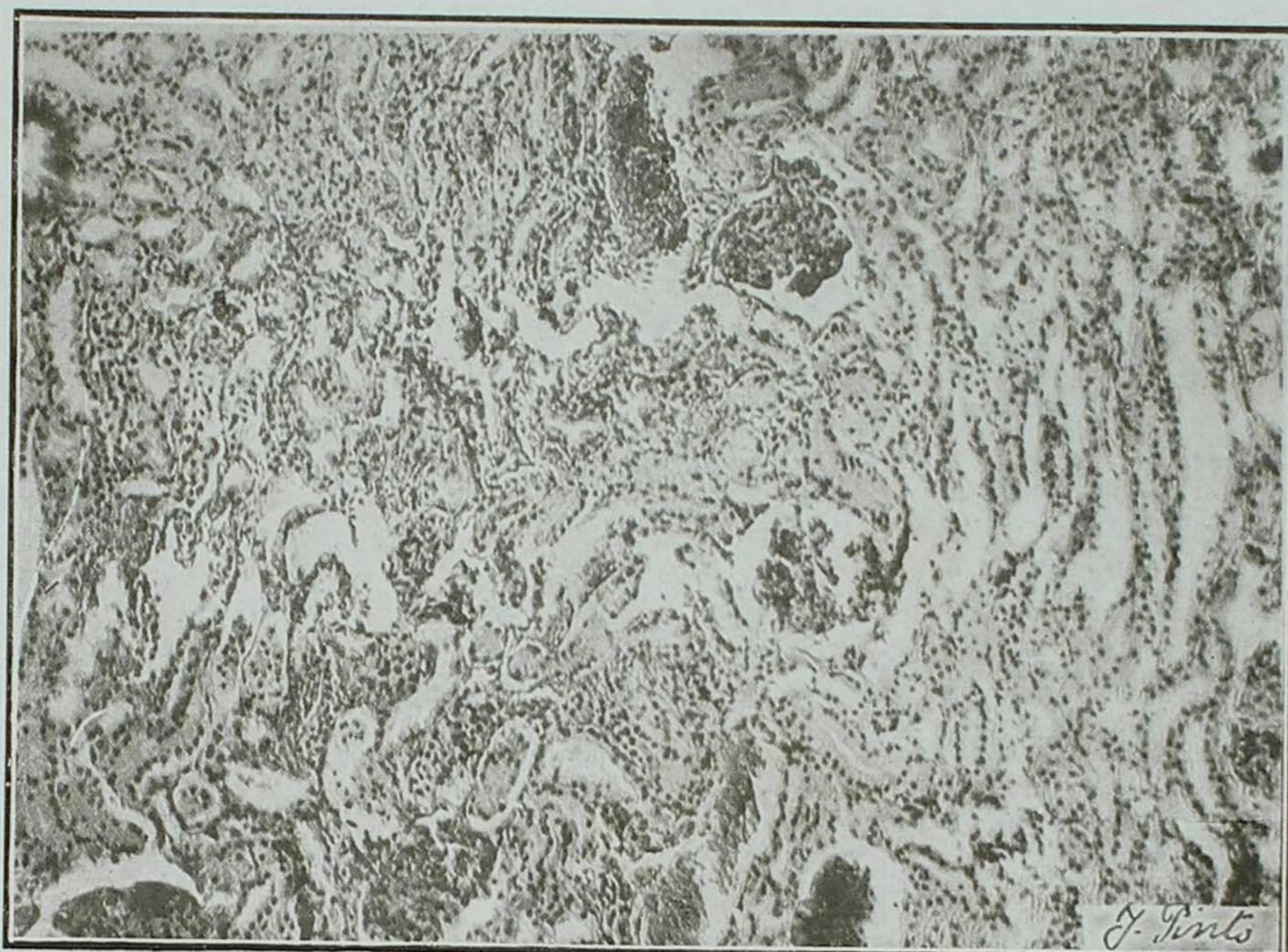
15



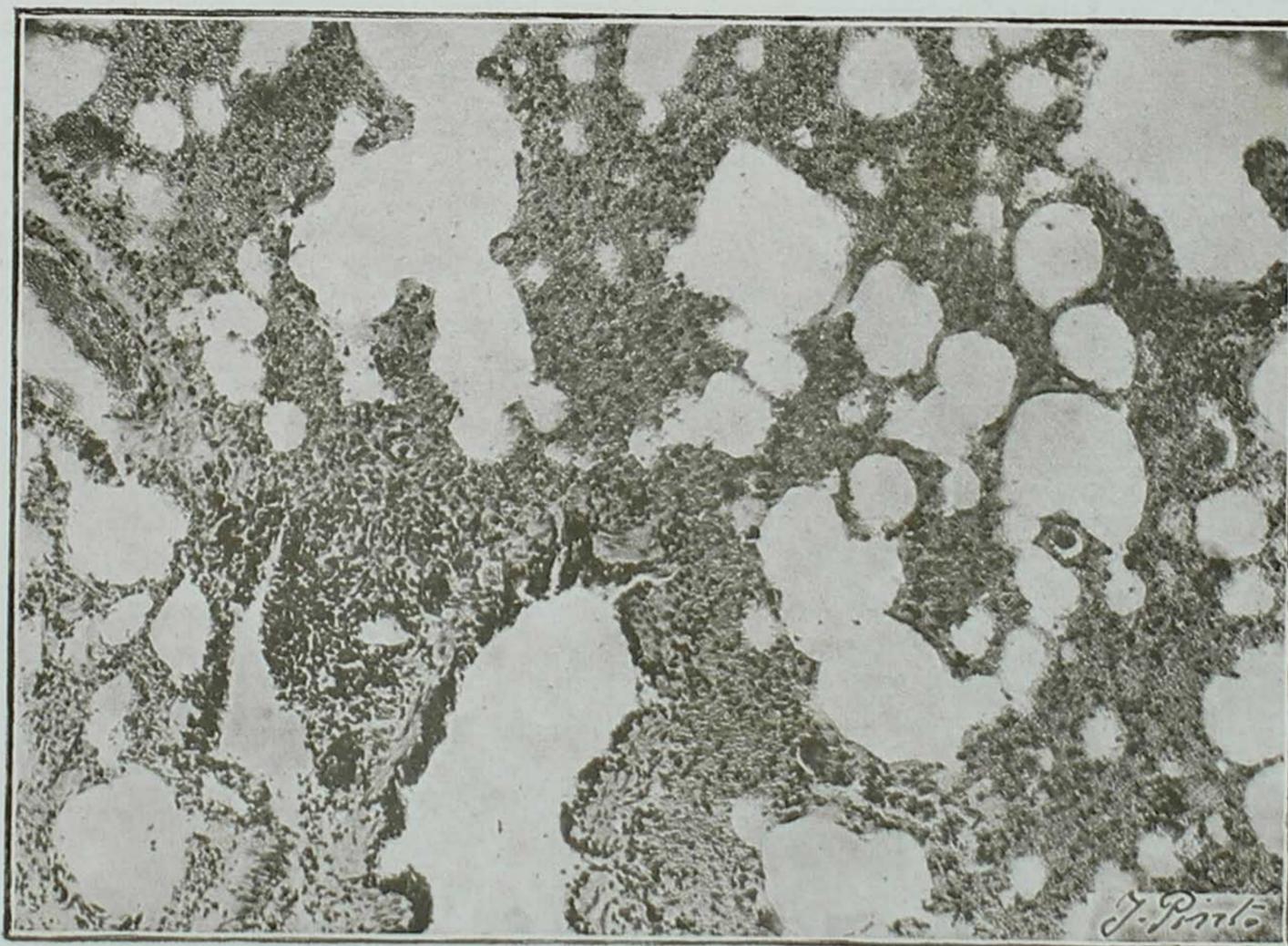
16

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



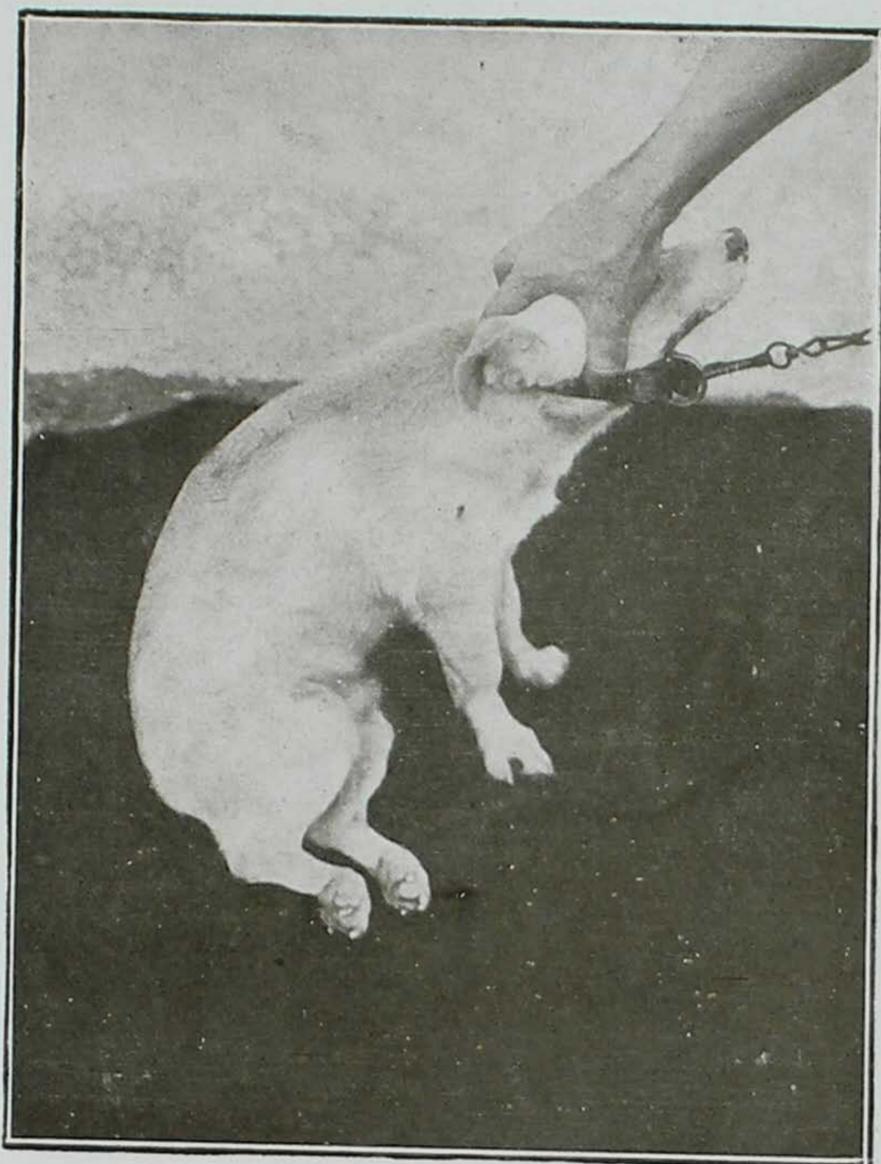
17



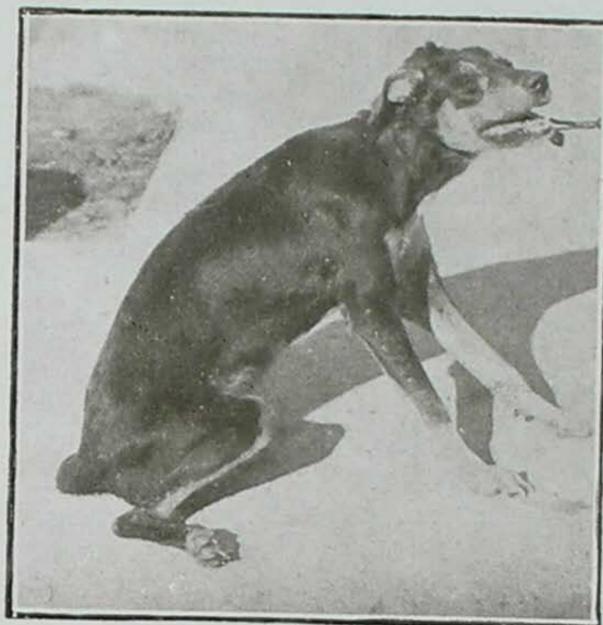
18

Photo J. Pinto.

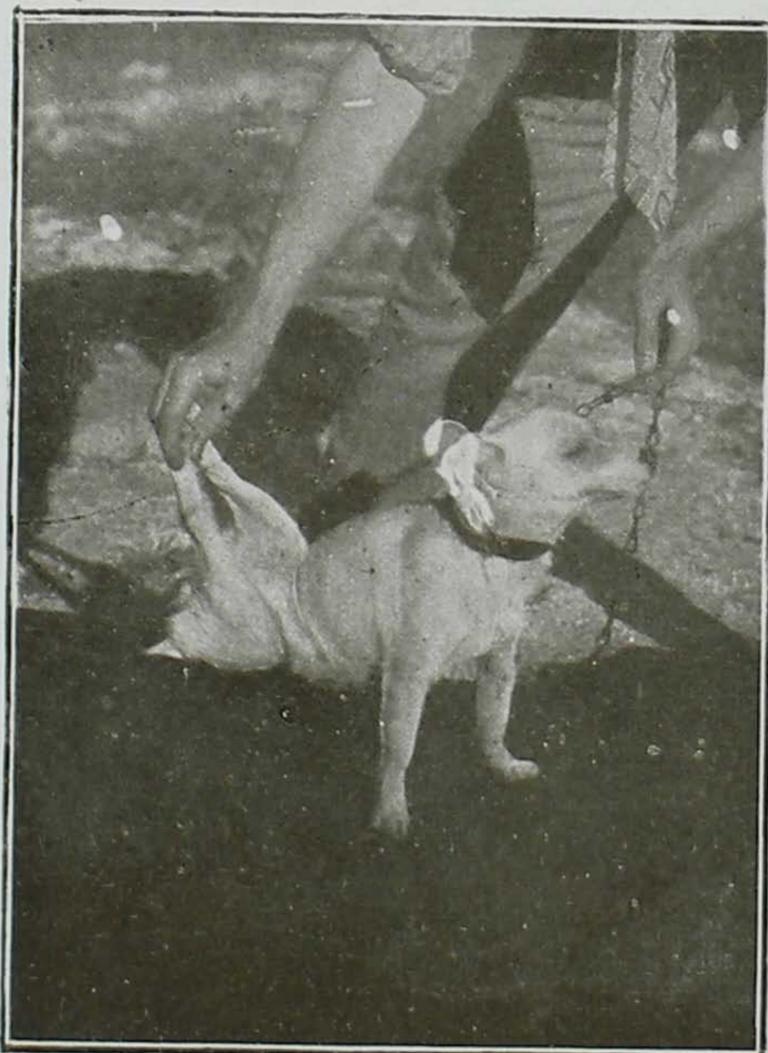
Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



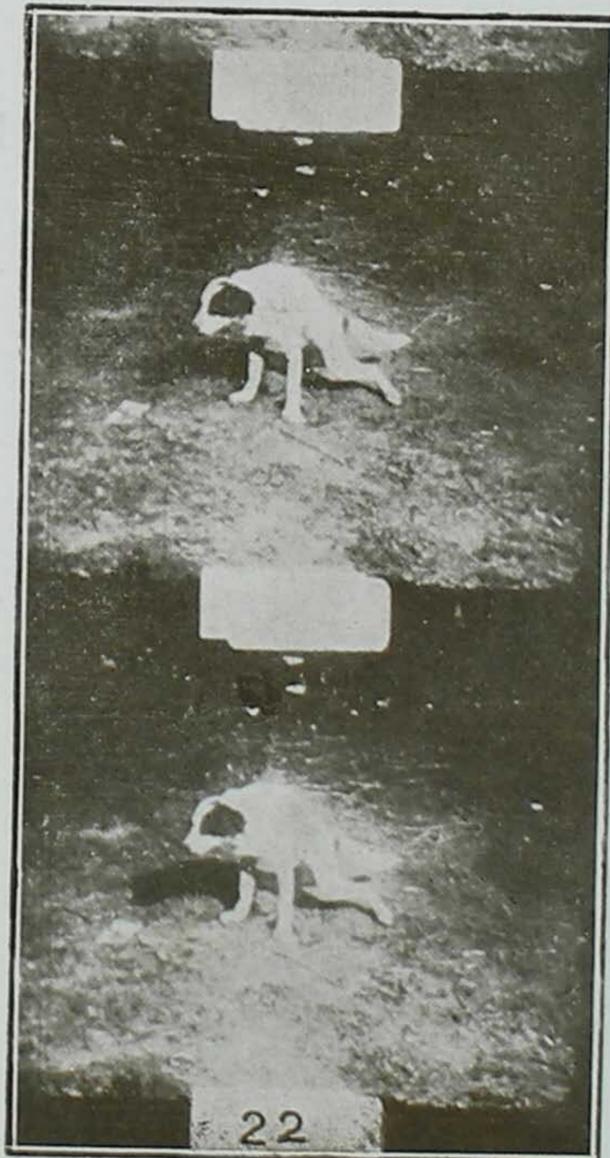
19



21



20



22

Photo J. Pinto.

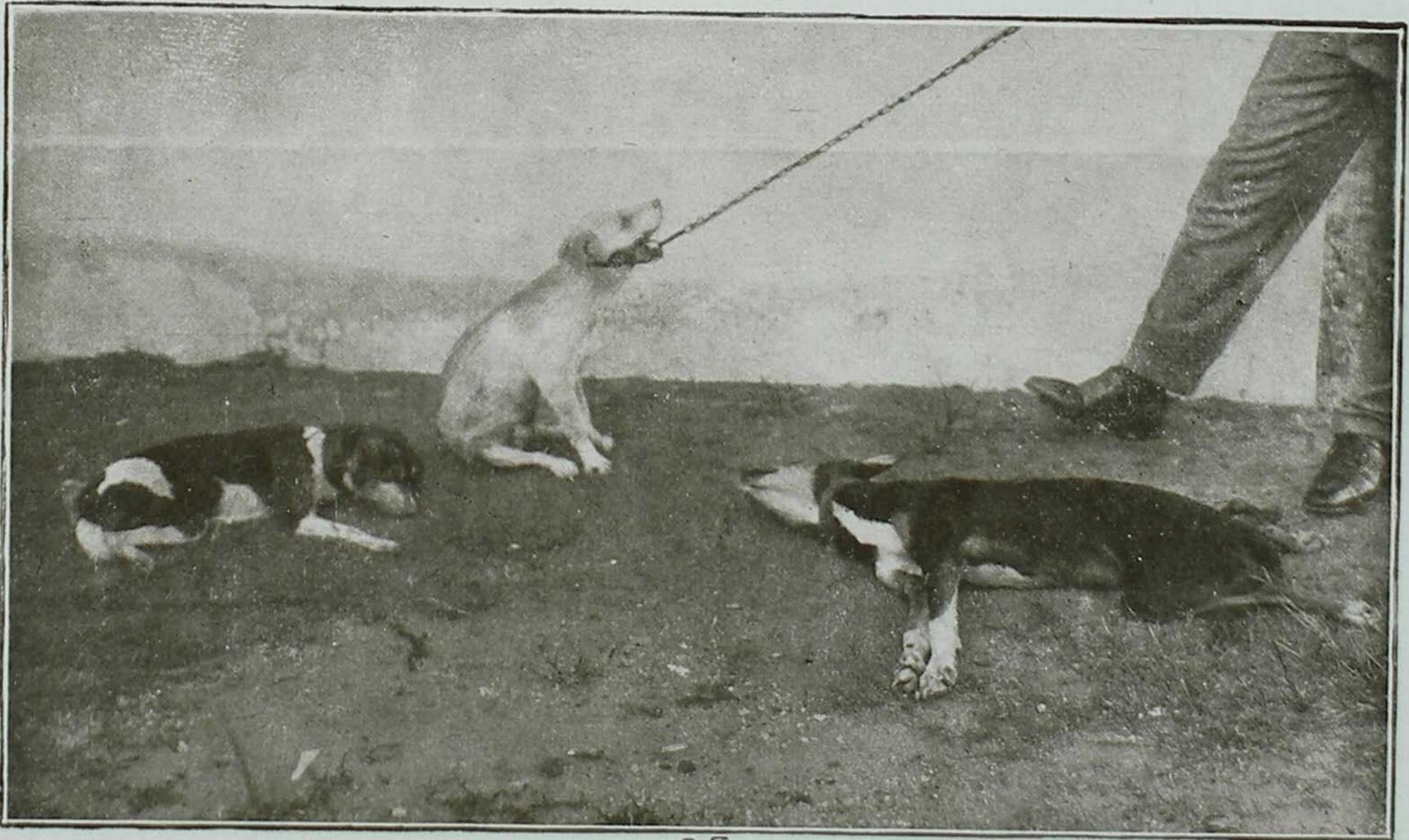
Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



23



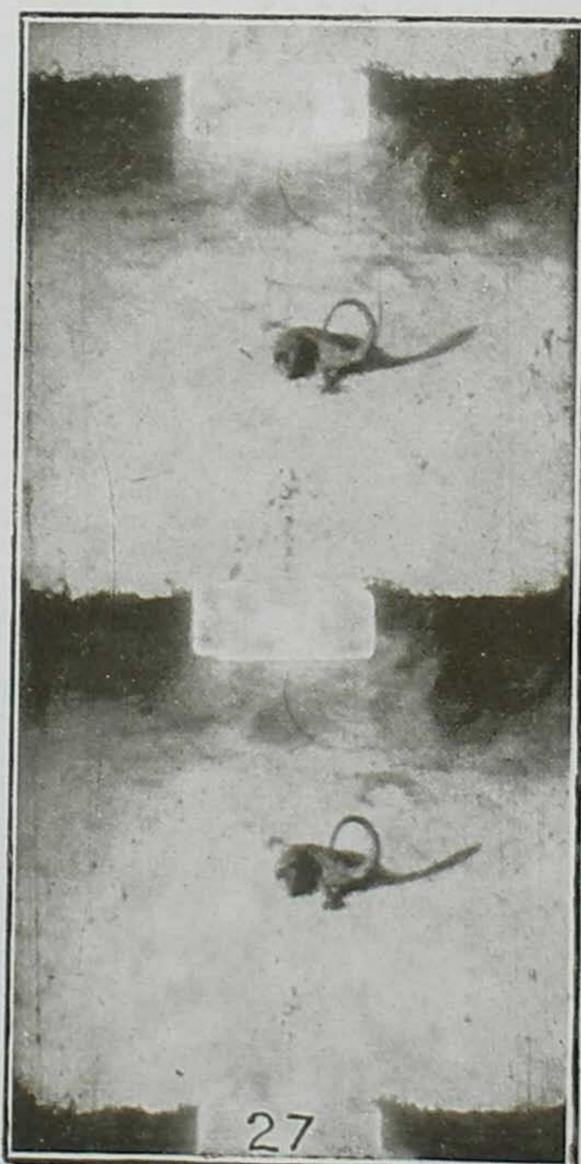
24



25

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).



Drs J. Vellard e M. Vianna : Pesquisas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil
(*Bufo marinus* L.).