

# MEMÓRIAS INSTITUTO BUTANTAN

1969

VOLUME XXXIV

SAO PAULO - BRASIL  
CAIXA POSTAL 65





SciELO

MEMÓRIAS  
DO  
INSTITUTO BUTANTAN

1969

VOLUME XXXIV



São Paulo - Capital  
Caixa Postal 65

As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" são destinadas à publicação de trabalhos realizados no Instituto ou com a sua contribuição. Os trabalhos são reunidos anualmente num volume.

Serão fornecidos, a pedido, separatas dos trabalhos publicados nas "MEMÓRIAS", solicitando-se nesse caso o obséquio de enviar outras separatas, em permuta, para a Biblioteca do Instituto.

Tôda a correspondência editorial deve ser dirigida ao:

INSTITUTO BUTANTAN  
Biblioteca  
Caixa Postal, 65  
São Paulo, BRASIL

•

EXCHANGE DESIRED  
PEDE-SE PERMUTA

•

COMISSÃO DE PUBLICAÇÕES DO  
INSTITUTO BUTANTAN

Dr. Gastão Rosenfeld — Presidente  
Dr. Wolfgang Bücherl  
Pharm. Eva M. A Kelen



## MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN

## ÍNDICE

VOLUME XXXIV

1969

	Pág.
<i>Errata</i> for Mem. Inst. Butantan 33(1): 1966 .....	V
ROSENFELD, G. — Biografia do Dr. Vital Brazil (1865-1950) .....	IX
KELEN, E. M. A. — Bibliografia dos trabalhos do Dr. Vital Brazil .....	1
BÜCHERL, W. — Escorpionismo no Brasil .....	9
BÜCHERL, W. — Aranhas da família CTENIDAE. II. PHONEUTRIINAE, sub-família nova .....	25
DESSIMONI VON EICKSTEDT, V. — Aranhas da família CTENIDAE, subfamília PHONEUTRIINAE. III. Redescrição do macho de <i>Phoneutria fera</i> Perty, 1833 .....	33
LUCAS, S. — Aranhas da família CTENIDAE subfamília PHONEUTRIINAE. IV. Contribuição ao estudo da ooteca, dos ovos, e a eclosão da aranha armadeira <i>Phoneutria sp.</i> .....	37
BÜCHERL, W. & DESSIMONI VON EICKSTEDT, V. — Aranhas da família CTENIDAE, subfamília PHONEUTRIINAE. V. A segunda fila ocular em <i>Phoneutria</i> Perty, 1833 .....	43
BÜCHERL, W., LUCAS, S. & DESSIMONI VON EICKSTEDT, V. — Spiders of the family CTENIDAE, subfamily PHONEUTRIINAE. VI. <i>Bibliographia Phoneutriarum</i> .....	47
DESSIMONI VON EICKSTEDT, V., LUCAS, S. & BÜCHERL, W. — Aranhas da família CTENIDAE, subfamília PHONEUTRIINAE. VII. Contribuição ao estudo de <i>Phoneutria fera</i> Perty, 1833 .....	67
DESSIMONI VON EICKSTEDT, V. & LUCAS, S. — Revisão dos tipos de <i>Phoneutria paca</i> (Mello-Leitão) 1922 e <i>Phoneutria lucderwaldti</i> (Mello-Leitão) 1927 (ARANEAE; LABIDOGNATHA; CTENIDAE) .....	75
STEWIEN, K. E. — Estudos sistemáticos sobre aranhas caranguejeiras. Descrição da fêmea de <i>Acanthoscurria musculosa</i> Simon 1892 (AVICULARIIDAE THERAPHOSINAE) .....	79
HOGE, A. R. — <i>Chironius scurulus</i> (Wagler) recorded from Venezuela .....	85
HOGE, A. R. — Notes on the holotype of <i>Dipsas indica cisticeps</i> (Boettger) (SERPENTES — DIPSADINAE) .....	87
HOGE, A. R. & ROMANO, S. A. — Notes on <i>Pseustes dieperinckii</i> (Schlegel) SERPENTES .....	89
HOGE, A. R. & ROMANO, S. A. — A new species of <i>Chironius</i> (SERPENTES — COLUBRIDAE) .....	93

IV

ARTIGAS, P. de T. & PEREZ, M. D. — Sistemática dos OPISTHOGONIMIDAE (TREMATODA, PLAGIORCHOIDEA). Criação da família BIERIIDAE n. fam.	97
VALLEJO-FREIRE, A., OLIVEIRA FILHO, B. & BRUNNER JR., A. — Myxomatose experimental em <i>Oryctolagus</i> sp. e <i>Sylvilagus</i> sp. ....	111
RIZZO, E. DE, BRUNNER JR., A. & VALLEJO-FREIRE, A. — Multiplication of Myxoma virus in epithelial cell culture of rabbit kidney .....	121
TOLEDO, C. DE — Considerações sobre a ultraestrutura de um melanoma maligno do corpo ciliar .....	129
AMORIM, M. F. DE, MELLO, R. F. DE & SALIBA, F. — Lesões renais induzidas experimentalmente no cão pelo veneno crotálico .....	137
MACHADO, J. C. — Incidência e comprometimento cardíaco pela gôta úrica em <i>Crotalus d. terrificus</i> .....	159
SALIBA, F. & MACHADO, J. C. — Comprometimento dos vasos nutritores da aorta em dois casos de ruptura espontânea dessa artéria em equinos sôro-produtores .....	165
FERRI, S., MARTINS, L. F., LEITE RIBEIRO, M. C. & WORSMAN, T. U. — Blood proteinic picture of thoroughbred horses .....	171
MARTINS, L. F., ARATANGY, L. R. & MEDEIROS, L. O. — Relationships among performance, sex and erythrogram in thoroughbred horses .....	179
AMORIM, L. M. — O desenho microscópico na documentação científica. Normas para o seu aprendizado .....	191
<i>Remissive list of papers published in "Memórias do Instituto Butantan, Volumes 1 to 33 (1918-1966)" .....</i>	209

## ERRATA FOR MEM. INSTITUTO BUTANTAN 33(1): 1966

HOUSSAY, B. A. — TRANSCENDENCE OF VITAL BRAZIL'S WORK

Page XIV — line 30 — *For Elaps read Micrurus*Page XV — line 10, 13 — *For Rosenberg read Rosenfeld*MERTENS R. — UNTERLAGEN ZUR ÖKOLOGIE, ETHOLOGIE, UND EVOLUTION DER  
BAUMSCHLANGEN (ARBORICOLOUS SNAKES: THEIR ECOLOGY,  
GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION AND EVOLUTION)Page 85 — line 3 — *For eeology read evolution*  
line 27 — *For longicauda read longicauda*  
line 31 — *For Milos read Milos und in Marokko*  
line 40 — *For nähmlich read nämlich*Page 86 — line 1 — *For zu weilen read zuweilen*  
line 2 — *For Verwandtschaft read Verwandtschaft*  
line 3 — *For Konvergens read Konvergenz*  
line 6 — *For nähmlich read nämlich*  
line 8 — *For seitlichen read seitlich*  
line 21 — *For also read ,also*  
line 22 — *For auffällig read auffällig*  
line 33 — *For Längereihen read Längsreihen*  
line 36/37 — *For verg-leicht read vergleicht*  
line 50 — *For Arten schwächer read Arten, schwächer*Page 87 — line 1 — *For der Gonyiphis read dem Gonyophis*  
line 4 — *For wenigen read wenige*  
line 5 — *For Fortbewegung die read Fortbewegung, die*  
line 19 — *For Baumberwohnern read Baumbewohnern*  
line 47 — *For nähmlich read nämlich*Page 88 — lines 1-3 — *read daisehen Ahaetulla und Dryophiops sowie die  
äthiopische Thelotornis. Je naech dem Ruhezustande  
schwankt die eigenartige Pupillenform bei Ahaetulla und  
Thelotornis, indem sie sich bei schlafenden Tieren erlie-  
blich zusammennicht. Die Bedeutung einer derartigen*line 18 — *For Biss- read Biss*  
line 19 — *For Columbian read Columbien*  
line 24 — *For der read oder*  
line 34 — *For Erpeton längere read Erpeton- längere*  
line 49 — *For Dendrelapis read Dendrelaphis*

## VI

Page 89 — line 16 — *For seneus read aencus*  
 line 17 — *For Lebenswesen, auch die read Lebewesen, auch der*  
 line 19 — *For grösstmögliche read grösstmögliches*  
 line 21 — *For garnieht, read garnieht*  
 line 23 — *For oxyrhyncus read oxyrhynchus*  
 line 23/24 — *For Chlorophi read Chlorophis*  
 line 32 — *For auffalende read auffallende*  
 line 33 — *For kontrastierenyde read kontrastierende*  
*For Biespiel read Beispiel*  
 line 38 — *For (Dendroaspis) read (Dendroaspis).*

Page 90 — line 14 — *For Philothamus read Philothamnus*  
 line 22 — *For Baumschlangen read Baumsehlangen*  
 line 26 — *For (Ahaetulla Arten, read (Ahaetulla-Arten,*  
 line 30 — *For Philothamus read Philothamnus*  
 line 35 — *For Eingans read eingangs*  
 line 38 — *For Blutverwandschaft read Blutsverwandtschaft*  
 line 40 — *For zusammenhängende read zusammenhängenden*  
 line 43 — *For verwandschaftliehen read verwandtschaftlichen*  
 line 50 — *For Langaha read Langaha; For verwandschaftliche*  
*read verwandtschaftliche*

Page 91 — line 2 — *For Strauch oder Baumbewohner read*  
*Strauch- oder Baumbewohner*  
 line 4 — *For Chrysopeles read Chrysopelea*  
 line 5 — *For Philothamus read Philothamnus*  
 line 21 — *For Verwandtschaftsverhältniss read Verwandtschafts*  
*verhältnis*  
 line 25/26 — *For Thelotornis engere verwandschaftliche read*  
*Thelotornis eine engere verwandtschaftliche*  
 line 30 — *For typus einer read typus, einer*  
 line 31/32 — *For FitzSimon read FitzSimons*  
 line 33 — *For Philothamus read Philothamnus*

KLEMMER, K. — OBSERVATIONS ON THE BIOLOGY OF SEA SNAKES — *Hydrophiidae*.  
 WITH REMARKS ON THEIR SYSTEMATICS

Page 101 — line 6 — *For Aegean region read Asian region*  
 line 10 — *For Tahal-sea read Lake Taal*  
 line 11 — *For Renon Island on the Salomons read Rennell*  
*island of the Salomons*  
 line 16 — *For the genus Laticauda laticauda laticaudata read*  
*the species Laticauda laticaudata*  
 line 21 — *For Blenis, Dobis, viviparous Blenis read Blennius,*  
*Gobius, Zoarces viviparus*  
 line 36 — *For Bergmann read Bergman*  
 line 37 — *For of more than 400 read of these*

Page 102 — line 6 — *For Worries read Voris*  
 line 11 — *For chemiotetedly read by chemotactie approach*

line 20 — *For aquariae read aquaria*  
 line 33 — *For Laticauda laticauda laticau- read Laticauda laticau-*  
 line 37/39 — *For Pelamys read Pelamis*  
 line 40 — *For Shore read Shaw*

Page 103 — line 2 — *For oviviparous read ovoviviparous*

CHRISTENSEN P. A. — VENOM AND ANTIVENOM POTENCY ESTIMATION

Page 307 —  $f(T) = \log D - \log d = \log [(Kt/(T-t)^{1/\alpha} + 1)]$

Page 313 — After the fourth paragraph ending “and subcutaneously in mice”, read from paragraph beginning “Figure 2” on page 316 to the end of the discussion of figure 10 on page 317. Continue thereafter with paragraph beginning “Table 2” on page 313, read to the end of the sixth paragraph on page 314 and continue at “Figure 11” on page 317. At the end of the discussion of figure 11, revert to “Table 3” on page 314, read to the bottom of this page and continue at “Figures 12A & B” on page 317.

Page 316 — Table 3 — *For fast, 20-40 mins 20° 57.4*  
 64.6 — 56.7  
*read slow, 20-40 mins 20° 57.4*  
 64.6 — 56.7

Page 323 — Figure 10 — In legend:

Instead of:  $\blacklozenge$  substitute for  $\triangle$

Add:  $\blacktriangle$  subcutaneous test





VITAL BRAZIL  
1865 - 1950

Fundador do Instituto Butantan  
Encarregado da organização:  
24/12/1899 - 22/2/1901

Diretor:  
23/2/1901 - 9/7/1919  
16/9/1924 - 1/7/1927

Vital Brazil começa a ter seu interesse cada vez mais centralizado no problema do ofidismo e vai criando no Instituto Butantan uma equipe e um ambiente propício para esses trabalhos, mas ao mesmo tempo vai ampliando o campo de estudos, transformando em Instituto de Pesquisas em Medicina Experimental, o que havia sido, no início, um laboratório destinado ao preparo de soro contra a peste.

Enquanto cumpre a sua obrigação, fornecendo ao Serviço Sanitário do Estado, o soro e a vacina antipestosa que são empregados no Estado de São Paulo e em outras regiões do Brasil, vai preparando o soro antierotático, o antibotrópico e o antiofídico pela mistura dos dois empregado para neutralizar os venenos de serpentes do gênero *Crotalus* e *Bothrops* (5). Na preparação desses soros imuniza cavalos e muars com veneno não tratado, ao contrário de Calmette que fazia antes agir o hipoclorito de cálcio sobre o veneno e, de Phisalix e Bertrand que aqueciam o veneno a 80°C; provavelmente por isso consegue soros bem ativos. Já em 1902 começa a distribuir os soros antiofídicos entre os médicos do Estado de S. Paulo, parecendo que a primeira observação de sua aplicação no homem é a do Dr. Olympio Portugal que clinicava em Araras e tratou com sucesso uma paciente picada por jararacuçu em março de 1902 (5). Em 1903 já inicia a distribuição de soros por vários Estados, desde o Ceará até o Rio Grande do Sul, em 1905 já remete para Cuba e também para Ehrlich na Alemanha para estudos experimentais. Em 1909 os soros já são solicitados no Uruguai e na Argentina. Até 1912 o número de aplicações da soroterapia nos acidentes ofídicos vai aumentando em toda a parte e a produção de soros antiofídicos cresce rapidamente, tendo também Vital Brazil iniciado a preparação do soro antielapídico com B. Rangel Pestana em 1910 (5).

Enquanto isso, vai fazendo trabalhos de laboratório a fim de conhecer melhor as diversas propriedades dos venenos, as melhores maneiras de produzir soros e aumentar-lhe a atividade antitóxica, estudando também a sua conservação e a fase do envenenamento em que o soro é capaz de evitar a morte. Assim é que, em 1907 analisou os diferentes métodos existentes para a dosagem dos soros, verificando que a neutralização da atividade hemolítica ou da proteolítica não respondia às necessidades. O método clássico de Ehrlich para a dosagem de soro anti-diftérico, usando quantidade fixa de toxina e diluições do soro, no caso de soros antiofídicos dá resultados que não satisfaziam integralmente seu espírito metódico; depois de numerosas experiências em que demonstra uma grande compreensão dos fenômenos imunológicos e técnica segura, chega a outra maneira de dosar os soros com doses fixas deste e variáveis de veneno que lhe dá melhores resultados (6). Atualmente esse problema ainda existe, pois, quem o utiliza e observa os detalhes verifica que realmente não é o ideal, há pontos duvidosos não solucionados. Observou e referiu (7) que, ao se fazer a mistura de soro e veneno depois da incubação para neutralização, havia uma *precipitação* que era mais evidente *na proximidade* das proporções ótimas para essa *neutralização*, não coincidindo porém, exatamente, com o teste "in vivo", servindo porém de dado orientador. Essa precipitação é a reação de floculação que tem muitas aplicações na imunologia moderna e talvez Vital Brazil tenha sido o primeiro a descrevê-la e utilizá-la na dosagem de soros antivenenos. Desde essa época já adota o uso da *indicação da potência* de cada soro em miligramas de veneno que cada centímetro cúbico neutraliza (6). Essa indicação, que é indispensável para o uso do soro, infelizmente ainda não está generalizada em outras partes do mundo.

Estuda a conservação dos soros antitóxicos (8), tanto anti-diftéricos como antipeçonhentos, constata que os primeiros nada perdem de sua atividade dentro de

5 anos, diminuindo somente de 13% após 6 ou 7 anos, enquanto os segundos perdem, com variações, até o máximo de 33% de séria de 4 anos. É de se assinalar que fêz essas verificações com soros devolvidos e, portanto, que sofreram as condições mais diversas de armazenamento. Conclui por uma afirmativa que foi esquecida e hoje vem sendo propagada após novas verificações: os soros *anti-peçonhentos* mesmo com *data vencida* não devem ser inutilizados, *podem ser usados* empregando-se apenas uma dose maior.

Vital Brazil, experimentando em cães (7), verifica que o soro deve ser aplicado precocemente pois, com doses de veneno ofídico injetado por via intramuscular que proveam a morte em 48 horas, o soro evitou o desfêcho fatal quando aplicado até 4 horas depois do veneno.

Estudando os diferentes venenos (10) descreve as propriedades coagulantes, hemolíticas e proteolíticas de muitos dêles; assinalou então fato desconhecido dos outros pesquisadores que foi causa de muitas afirmações discordantes; é a sensibilidade diferente de eritrócitos de diversos animais diante de um mesmo veneno. Essa sensibilidade específica foi recentemente redescoberta, tendo servido para uma análise mais ampla do problema.

Quanto à atividade proteolítica dos venenos, afirmou com muita justeza, como resultado de experiências bem simples e elaras feitas com Bruno Rangel Pestana (10), que a atividade coagulante dos venenos era independente da proteolítica, noção que já existia porém contraditada; mais tarde foi novamente negada para afinal ser comprovada atualmente. Passou despercebida uma pequena observação que talvez possa servir de ponto de partida para trabalhos interessantes: é a de que o soro normal é capaz de ativar "in vitro" a ação proteolítica do veneno de cascavel (10), que não é aparente por outros métodos.

Experimenta diversos esquemas de imunização dos animais, a fim de diminuir o risco de perda dos cavalos, e também no intuito de apressar a obtenção de títulos mais elevados do soro (10). Tenta, também com bom resultado, a injeção de diferentes venenos simultaneamente, para preparar soros polivalentes (4), completando depois com soros monovalentes as frações menos ativas. A fim de aumentar ainda a potência dos soros, aplica conhecimentos recentemente adquiridos em outros centros: separa as globulinas dos soros, constata que a antitoxina está contida nessa porção de proteína, preparando, assim, soros fracionados e concentrados, livres das soro-albuminas (9) (11), que chegam a neutralizar por mililitro 3,8 mg de veneno botrópico e 1,3 mg de veneno crotálico nos soros monovalentes, e no soro polivalente 2,4 mg do primeiro veneno e 0,6 mg do segundo (5).

Num trabalho que deve ter sido muito extenso, estuda com Rangel Pestana (10) a sensibilidade de diversos animais à uma série de venenos. Determina as doses mínimas mortais, demonstra haver uma variação bem acentuada, chegando a conclusões definidas que em parte confirmam trabalhos de outros autores, mas em grande parte são novas aquisições para os conhecimentos da ciência.

Verificou que as aves são mais sensíveis do que os mamíferos, dentro dêstes os herbívoros são mais sensíveis do que os carnívoros e os animais de sangue frio são os mais resistentes de todos. Esclarece que a resistência maior do suíno é devida a uma certa capacidade de neutralização do veneno pelo soro dêstes animais e não, como supunha Calmette, devida é dificuldade de absorção do veneno em consequência da abundância do tecido adiposo. Trabalho publicado há pouco tempo veio demonstrar que, realmente, o tecido adiposo não representa nenhuma proteção à disseminação do veneno no organismo do porco. Ainda dentro

dêste tema de resistência específica faz uma observação sintética interessante, a de que os animais que maior sensibilidade natural apresentam aos venenos são os que produzem mais anticorpos nas imunizações. Ainda com Rangel Pestana (10) injeta venenos ofídicos em serpentes notando uma grande resistência, maior nas espécies peçonhentas e muito maior quando se trata de veneno da mesma espécie. Exceções existem como a da mussurana, ofiófaga não peçonhenta que resiste muito às toxinas botrópica e crotálica e ainda, a falta de resistência de quasi tôdas as serpentes aos venenos elapídicos. Verificou ainda que os soros das serpentes são capazes de neutralizar peçonhas apesar de, por sí só, demonstrarem propriedades tóxicas quando injetados em animais de laboratório. Essa toxicidade dos soros de serpentes havia sido atribuída à presença de veneno por Phisalix e a componentes do mesmo por Calmette, opiniões que as experiências de Vital Brazil e Rangel Pestana mostraram não serem válidas (10).

No seu interêsse por tôdas as faces do problema do ofidismo faz experiências no sentido de verificar se as crendices populares de que aves como a cina, a síriema, o jaburú e os gaviões destroem as serpentes (7). Observou que essas aves não atacaram serpentes venenosas e não venenosas, mesmo quando submetidas a um jejum prévio.

Em 11 de Julho de 1919, depois de quase 21 anos, sai do Instituto Butantan para onde retorna em 1.º de Setembro de 1924, ficando até 1.º de Setembro de 1927. Nesse segundo período vai aumentando o campo de estudo dos animais peçonhentos. Experimenta também os venenos escorpiônicos e aracnídeos, e, em colaboração com Vellard, publica uma grande série de trabalhos sobre o assunto, preparando também os soros antivenenos correspondentes.

Vital Brazil que havia exercido a profissão médica num período curto mostra, ao lado do espírito de cientista, o de médico, na sua preocupação de divulgar a soroterapia antiofídica.

Já no relatório das atividades do Instituto Butantan em 1901 exprime-se com essas palavras: "Seria muito para desejar que o sôro encontrasse aceitação pronta e geral, concorrendo para diminuir ou suprimir o número de óbitos por mordedura de cobras, que ainda se encontram em nossas estatísticas". Esse interêsse sempre o norteou e encontrou ainda as fórmulas para aplicá-lo praticamente. No meio médico e científico do Brasil faz continuamente palestras e conferências que estendia também aos meios leigos que estivessem ou pudessem estar próximo aos meios rurais.

Em virtude da repercussão de seus trabalhos no 5.º Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia, realizado no Rio de Janeiro em Junho de 1903, o Congresso Nacional custeou uma viagem "para o Dr. Vital Brazil divulgar na Europa os seus estudos sobre o envenenamento ofídico, submetendo à apreciação dos competentes os serums preparados no Instituto de Butantan" (12). Nessa viagem feita durante o ano de 1904, trava relações pessoais com os cientistas interessados em venenos e imunologia e, a partir dessa época, mantém contatos permanentes no estrangeiro que muito auxiliaram o progresso dos trabalhos e sua divulgação.

Mantém uma promoção ativa e continuada em todos os ambientes, o que resulta numa extensão rápida da soroterapia antiofídica no Brasil e em países vizinhos. Vital Brazil mostra dotes excepcionais como divulgador, criando e mantendo uma campanha antiofídica permanente. Cria também para isso um sistema de remessas de serpentes que, em 1903, consegue fornecer ao Butantan 159 ofídios de vários lugares de S. Paulo e em 1911 já atinge o volume de 3.322 cobras. Cria o serviço de permuta, fornecendo em troca soros antiofídicos e tam-

bém seringas que naquela época não eram de uso generalizado nos meios rurais. Desde 1904 solicita do Governo do Estado providências para que seja concedido transporte gratuito para as serpentes enviadas ao Instituto Butantan. Insiste sempre nesse serviço de permuta pois necessita das serpentes a fim de obter venenos para os trabalhos experimentais, a imunização dos cavalos que produzem os soros antiofídicos e ainda vão constituir material para os trabalhos de classificação e achados de novas espécies de serpentes, em que estão empenhados novos assistentes, como João Florêncio Gomes. Em 1911 providencia para que o Governo do Estado faça o Instituto Butantan ser representado na Exposição Internacional de Higiene de Dresde na Alemanha por Bruno Rangel Pestana e o Dr. Ataliba Florence, este último então presente naquela cidade.

Esse trabalho de divulgação em todos os setores, e as maneiras práticas que nele emprega fazem com que Vital Brazil consiga criar um movimento que não tinha e ainda não tem paralelo em todo o mundo na campanha da luta contra os animais peçonhentos. O Instituto Butantan, ao lado de suas numerosas atividades de pesquisa científica, nos mais diversos campos da Medicina Experimental e na produção de produtos biológicos para a Saúde Pública, sempre manteve o que foi criado por Vital Brazil, e atualmente vem ativando muito, tanto os estudos de venenos como também a assistência direta aos picados por animais peçonhentos que agora é dada no seu setor denominado Hospital Vital Brazil inaugurado em 12-11-1945 com a presença do seu patrono. O Hospital Vital Brazil foi instalado em novo pavilhão a 8-1-1954.

Pela leitura de seus trabalhos verifica-se que opiniões, conceitos e afirmações que neles se encontram são sempre fruto de numerosas experiências de laboratório, muitas vezes apenas referidas, daí pensarem muitos que Vital Brazil só deve o seu prestígio às suas atividades como fundador do Instituto Butantan e descobridor da especificidade dos soros anti-venenos.

Pelo pequeno sumário de uma parte dos trabalhos de Vital Brazil pode-se fazer uma apreciação de seu valor científico e de sua atividade inextinguível pois em todos os assuntos sobre veneno e envenenamento por animais peçonhentos estudou e experimentou, criando um grande cabedal de conhecimentos que compreendeu, organizou e difundiu.

#### REFERÊNCIAS

1. *Calmette, A.* — Propriété du serum des animaux immunisé contre le venin des serpents; thérapeutique de l'envenimation. *C. rend. Acad. Sc.*, 118:720-722, 1894.
2. *Phisalix, M.* — Animaux venimeux et venins. Masson, Vol. II, p. 768, 1922.
3. *Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do veneno ophídico. III. Tratamento das mordeduras de cobra. *Rev. Med. S. Paulo*, 4:375, 1901.
4. *Brazil, V.* — Do envenenamento ophídico e seu tratamento. Conferência realizada em 1-12-1901. Coletânea Trab. Inst. Butantan, 1:31-55, (1901-1917), 1918.
5. *Instituto Butantan* — Relatório das atividades. Volumes de 1901 a 1912.
6. *Brazil, V.* — Dosagem do valor antitóxico dos serums anti-peçonhentos. *Rev. Med. S. Paulo*, 10:457-462, 1907.
7. *Brazil, V.* — La Défense contre l'ophidisme. Poci-Weiss & Cia., S. Paulo, 1914.

8. *Brazil, V.* — Duração da atividade anti-tóxica dos soros (1916). Colet. Trab. Inst. Butantan, 1:297-309, (1901-1917), 1918.
9. *Brazil, V.* — Das pseudo-globulinas específicas dos soros (antitoxinas), 1916. Colet. Trab. Inst. Butantan, 1:351-366, (1901-1917), 1018.
10. *Brazil, V.* e *Rangel Pestana, B.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophídico, (1909). Colet. Trab. Inst. Butantan, 1:149-193, (1901-1917), 1918.
11. *Brazil, V.* — Das globulinas e serinas dos serums anti-tóxicos (1907). Colet. Trab. Inst. Butantan, 1:135-149, (1901-1917), 1918.
12. X: Crônicas e Notícias. *Brasil-Médico*, 18:42, 1904.



## BIBLIOGRAFIA DOS TRABALHOS DO DR. VITAL BRAZIL

(28-4-1865/8-5-1950)

EVA M. A. KELEN

*Seção de Fisiopatologia Experimental, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

Não tendo sido encontrada nenhuma relação bibliográfica completa dos trabalhos publicados pelo Dr. Vital Brazil, foi feita uma pesquisa bibliográfica cuidadosa e laboriosa, consultando cada artigo ou monografia. Esta tarefa não foi sempre fácil pois, muitas vezes, deparamos com erros de referência ou com referências incompletas, o que dificultou a localização do artigo. A própria relação de trabalhos citada pelo Dr. Vital Brazil na "Memória Histórica do Instituto Butantan" (1941) não reúne todos seus trabalhos nem os coloca por uma ordem cronológica.

Dada a importância que representa a contribuição científica do Dr. Vital Brazil, principalmente no que se refere ao estudo do ofidismo e dos venenos, onde estabeleceu conceitos, muitos dos quais até hoje utilizados, e apresentou informações valiosas para as atuais pesquisas no assunto, é oportuno e útil que se tenha uma fonte de referências correta, feita de maneira sistemática dentro da ordem cronológica de publicação. Trata-se de mais uma homenagem em comemoração ao Centenário do Nascimento do ilustre Cientista.

### VENENO E TRATAMENTO

*Brazil, V.* — Estudos experimentaes sobre o preparado denominado Salva-vidas, preconizado contra as mordeduras de cobras e outros animaes venenosos, *Rev. med. S. Paulo*, 1:139-141, 1898.

*Brazil, V.* — Resposta ao Dr. Mamede Rocha, *Rev. Med. S. Paulo*, 4:449, 1901.

*Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; I. Espéecies venenosas brasileiras. Mortalidade por mordeduras de cobras, *Rev. med. S. Paulo*, 4: 255-260, 1901. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:1-12 (1901-1917), 1918.

*Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; II. O veneno de algumas espécies brasileiras, *Rev. med. S. Paulo*, 4:296-300, 1901. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:12-20 (1901-1917), 1918.

*Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; III. Tratamento das mordeduras de cobra, *Rev. med. S. Paulo*, 4:375-380, 1901. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:20-30 (1901-1917), 1918.

- Brazil, V.* — Do envenenamento ophidico e seu tratamento. Conferência em 1-12-1901 na Escola de Farmácia, S. Paulo, Typ. Diario Official, 1902, pp. 3-29. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:31-35 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Envenenamento ophidico e seu tratamento. Resumo da conferência em 20-9-1902 na Escola Polytechnica de S. Paulo, em: "Trabalhos sobre Ofiologia pelo Dr. Vital Brazil", 1900-1925, Diario Official, S. Paulo.
- Brazil, V.* — Resumo das experiências sôbre os venenos crotálico e bothropico realizadas em 18 e 20-9-1902 na Escola Polytechnica de S. Paulo, em: "Trabalhos sôbre Ofiologia pelo Dr. Vital Brazil", 1900-1925, Diario Official, S. Paulo.
- Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; III. Tratamento das mordeduras de cobra, *Rev. med. S. Paulo*, 5:22-25, 1902.
- Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; III. Tratamento das mordeduras de cobra, *Rev. med. S. Paulo*, 6:265-278, 1903.
- Brazil, V.* — Appareil compressif du caillot pour augmenter la production du sérum, *Rev. med. S. Paulo*, 6:476-477, 1903.
- Brazil, V.* — Serum anti-ophidico, *Brazil-Médico*, 17:384-385, 1903. *Ibid*: J.A.M.A., 41:504, 1903.
- Brazil, V.* — Serum anti-ophidico, Quinto Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia (Rio de Janeiro, 16-6 a 2-7 1903), Typ. Besnard frères, Rio de Janeiro, Vol. I, 1904, pp. 198-201.
- Brazil, V.* — Da Serumtherapia no envenenamento ophidico, Quinto Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia (Rio de Janeiro, 16-6 a 2-7 1903), Typ. Besnard frères, Rio de Janeiro, Vol. II, 1904, pp. 145-169.
- Brazil, V.* — Contribution à l'étude de l'intoxication d'origine ophidienne, Paris, Maloine ed., 1904.
- Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do ophidismo, Typ. Porto Medico, Porto, 1904, pp. 3-25.
- Brazil, V.* — Da Serumtherapia no envenenamento ophidico, *Brazil-Médico*, 18:21-31, 1904.
- Brazil, V.* — Da Serumtherapia no envenenamento ophidico, *Brazil-Médico*, 18:31-38, 1904.
- Brazil, V.* — Sôbre um novo tratamento organo-therápico do ophidismo do Dr. Ernst von Bassewitz, *Rev. med. S. Paulo*, 7:25-26, 1904.
- Brazil, V.* — A propósito de uma observação do Dr. Z. de Alvarenga sôbre o emprego do sôro anti-ophidico, *Rev. med. S. Paulo*, 8:150-152, 1905.
- Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do ophidismo; I e II, *Impr. Med. S. Paulo*, 13:241-247, 1905.
- Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do ophidismo; III, *Impr. med. S. Paulo*, 13:261-268, 1905.
- Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do ophidismo (conclusão), *Impr. med. S. Paulo*, 13:281-287, 1905.
- Brazil, V.* — O ophidismo no Brazil, *Brazil-Médico*, 20:7-8, 1906.
- Brazil, V.* — Tratamento de mordeduras de cobra pelos seruns especificos preparados no Instituto Serumtherápico do Estado, *Rev. med. S. Paulo*, 9:408-412, 1906.

- Brazil, V.* — A serumtherapia do ophidismo em relação à distribuição geographica das serpentes. Espécies venenosas americanas. *Rev. med. S. Paulo*, 10:196-201, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:109-117 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Das globulinas e serinas dos seruns anti-toxicos, *Rev. med. S. Paulo*, 10:368-373, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:137-148 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do envenenamento pela picada do escorpião e seu tratamento. *Rev. med. S. Paulo*, 10:385-390, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:69-81 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Dosagem do valor anti-tóxico dos seruns anti-peçonhentos, *Rev. med. S. Paulo*, 10:457-462, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:121-133, (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Do anhydrido carbônico como meio conservador dos séruns e das toxinas, *Rev. med. S. Paulo*, 471-473, 1907.
- Brazil, V.* — Dosagem do valor anti-toxico dos seruns anti-peçonhentos, *Tribuna Medica* (Rio), 14:39-44, 1908.
- Brazil, V.* — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo*, 17:17-21, 1909.
- Brazil, V.* — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo*, 17:35-44, 1909.
- Brazil, V.* — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo*, 17:52-58, 1909.
- Brazil, V.* — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo*, 17:65-71, 1909.
- Brazil, V.* — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo*, 17:87-93, 1909.
- Brazil, V.* — Dosagem do valor anti-tóxico dos seruns anti-peçonhentos, (Memória apresentada ao VI Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia). *Typ. Diario Official, S. Paulo*, 1909, 21 pp.
- Brazil, V.* — Das globulinas e serinas dos seruns anti-toxicos, (Memória apresentada ao VI Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia), *Typ. Diario Official, S. Paulo*, 1909, 20 pp.
- Brazil, V.* — Serumtherapia anti-ophidica, *Rev. med. S. Paulo*, 12:293-307, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:197-229 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Serumtherapia anti-ophidica; I. Considerações geraes, *Tribuna Medica* (Rio), 15:287-293, 1909.
- Brazil, V.* — Serumtherapia anti-ophidica; II. Algumas peçonhas de especies brasileiras, *Tribuna Medica* (Rio), 15:310-313, 1909.
- Brazil, V.* e *Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; I, II, III, IV, *Rev. med. S. Paulo*, 12:375-379, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:151-160 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* e *Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; V. Acção physiologica, *Rev. med. S. Paulo*, 12:415-425, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:160-183 (1901-1917), 1918.

- Brazil, V. e Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; VI. Acção coagulante, *Rev. med. S. Paulo*, 12:439-442, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:183-189 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V. e Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; VII. Acção proteolitica, *Rev. med. S. Paulo*, 12:442-444, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:189-193, (1901-1917), 1918.
- Brazil, V. e Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; VIII. Hemolise, *Rev. med. S. Paulo*, 13:61-64, 1910.
- Brazil, V. e Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; IX. Acção neutralizante e precipitante especificas dos seruns anti-peçonhentos sôbre os venenos, *Rev. med. S. Paulo*, 13:161-164, 1910.
- Brazil, V.* — Serumtherapia anti-ophidica, *Tribuna Medica (Rio)* 16:9-12, 1910.
- Brazil, V.* — Serumtherapia anti-ophidica, *Brazil-Medico*, 24:353-357 1910.
- Brazil, V.* — Serumtherapia anti-ophidica, *Brazil Médico*, 24:363-365, 1910.
- Brazil, V.* — Serumtherapia anti-ophidica, *Brazil-Medico*, 24:373-376, 1910.
- Brazil, V.* — Serumtherapia anti-ophidica, *Brazil-Medico*, 24:383-386, 1910.
- Brazil, V.* — *Rachidelus brazili*: espécie ophióphaga. Seu papel na destruição das cobras venenosas, *Rev. Soc. Científica S. Paulo*, 5:1-5, 1910.
- Brazil, V.* — Therapêutica do ophidismo, *Rev. med. S. Paulo*, 14:164-174, 1911.
- Brazil, V.* — A defesa contra o ophidismo, Pocai & Weiss, S. Paulo, 1911, 152 pp.
- Brazil, V.* — La défense contre l'ophidisme, Pocai & Weiss, S. Paulo, 1.º ed., 1911, 181 pp.
- Brazil, V.* — La défense contre l'ophidisme (trad. franc. do Dr. J. Maibon), Pocai Weiss & Co., S. Paulo, 2.º ed., 1914, 319 pp.
- Brazil, V. e Rocha, F. da* — Tratamento da epilepsia, *Anais paul. med. cir.*, 5: 321-330, 1915.
- Brazil, V.* — Das pseudo-globulinas especificas dos soros (anti-toxinas). Seu preparo e seu emprego em therapeutica, 1.º Congresso Paulista de Medicina, S. Paulo (1916), 2:255-267, 1917. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:351-366 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Duração da atividade anti-toxica dos soros, 1.º Congresso Paulista de Medicina, S. Paulo (1916). 2:215-225, 1917. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:297-309 (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Soro anti-escorpionico, *Mem. Inst. Butantan*, 1:47-52, 1918.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. Aranhas inimigas das serpentes. Gênero *Grammostola*, *Brazil-Medico*, 39 (1.º s.): 47-51, 1925.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das glândulas das serpentes aglyphas, *Brazil-Medico*, 39 (1.º s.):95-98, 1925. *Ibid*: *An. paul. med. cir.*, 60:463-470, 1950.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno de Batrachios do gênero *Bufo*. *Brazil-Medico*, 39 (1.º s.):175-180, 1925. *Ibid*: *An. paul. med. cir.*, 60:525-553, 1950.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. *Brazil-Medico*, 39:(2.º s): 131-133, 1925.

- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. Imunização por via intradérmica e por via subcutânea. Sôro anti-ctenus. Método de dosagem e primeira aplicação no homem, *Brazil-Medico*, 39 (2.º s.):224-227, 1925. *Ibid: An. paul. med. cir.*, 60:555-563, 1950.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. Sôro contra o veneno da *Lycosa raptoria*. Método de dosagem, *Brazil-Medico*, 39 2.º s.):249-251, 1925. *Ibid: An. paul. med. cir.*, 60:473-479, 1950.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, *Mem. Inst. Butantan*, 2:5-77, 1925.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo dos batrachios, *Mem. Inst. Butantan*, 3:7-70, 1926.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas (2.º memória), *Mem. Inst. Butantan*, 3:243-299, 1926.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo das glândulas das serpentes aglyphas, *Mem. Inst. Butantan*, 3:301-325, 1926.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo da coagulação e da proteolyse; I. Ação coagulante e proteolytica dos venenos. *Brazil-Medico*, 40 (1.º s.): 239-243, 1926.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo da coagulação; II. Ação coagulante dos soros normaes e coaguabilidade dos plasmas correspondentes na série animal, *Bol. Inst. Bras. Sciencias*, 2:195-213, 1926.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo da coagulação; III. Modificação do plasma e do sôro sob a influência do processo de imunização, *Rev. biol. hyg. S. Paulo*, 1:5-16, 1927.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — A coagulação sanguínea, *Brazil-Medico*, 41:1247-1252, 1927.
- Brazil, V. e Vellard, J.* — Imunidade anti-toxica experimental por via oral e por via nasal, *Brazil-Medico*, 41:1311-1318, 1927. *Ibid: An. paul. med. cir.*, 60: 565-579, 1950.
- Brazil, V. et Vellard, J.* — Action coagulante et anticoagulante des venins, *Ann. Inst. Pasteur*, 42:403-451, 1928. *Ibid: An. paul. med. cir.*, 60:481-523, 1950.
- Brazil, V. et Vellard, J.* — Action coagulante et anticoagulante des sérums. Coagulabilité des plasmas normaux, *Ann. Inst. Pasteur*, 42:907-944, 1928.
- Brazil, V. und Vellard, J.* — Das Gift der brasilianischen Spinnen, *Seuchenbekämpfung*, 7:12-22, 1930.
- Brazil, V. und Vellard, J.* — Das Gift der brasilianischen Spinnen, *Seuchenbekämpfung*, 7:96-111, 1930.
- Brazil, V. und Vellard, J.* — Das Gift der brasilianischen Spinnen, *Seuchenbekämpfung*, 7:158-176, 1930.
- Brazil, V. e Brazil Filho, V.* — Do envenenamento elapineo em confronto com o choque anaphylactico, *Ann. paul. med. cir.*, 25:185-210, 1933.
- Brazil, V. e Brazil Filho, V.* — Do envenenamento elapineo em confronto com o choque anaphylactico, *Ann. paul. med. cir.*, 25:295-322, 1933.
- Brazil, V. e Brazil Filho, V.* — Do envenenamento elapineo em confronto com o choque anaphylactico, *Boletim do Inst. Vital Brazil*, 15:3-49, 1933. *Ibid: An. paul. med. cir.*, 60:411-461, 1950.
- Brazil, V.* — Do emprêgo da peçonha em terapeutica, *Biologia Medica* (1):7-21, 1934. *Ibid.: An. paul. med. cir.*, 60:389-400, 1950.

- Brazil, V.* — Do emprêgo da peçonha em terapêutica, *Biologia Medica* (2):50-62, 1934. *Ibid: An. paul. med. cir.*, 60:400-408, 1950.
- Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do ofidismo. *Biologia Medica* (13):3-27, 1938.
- Brazil, V.* — Considerações gerais sôbre a biologia dos animais peçonhentos, *Proc. VIIIth American Scientific Congress* (Washington, 1940), Vol. III, Department of State, Washington, 1941, pp. 311-322.
- Brazil, V.* — Considerações gerais sôbre a biologia dos animais peçonhentos, *Biologia Medica* 7(15): 3, 1944.

## ASSUNTOS DIVERSOS

- Brazil, V.* — Fisiologia do baço, Tese de doutoramento, Fac. de Medicina, Rio de Janeiro, 1891.
- Brazil, V.* — Relatório apresentado a Diretoria do Serviço Sanitário sôbre a febre amarela em Belém do Descalvado, 1894.
- Brazil, V.* — Um caso de abcesso dysenterico do figado, *Rev. med. S. Paulo* 1:6-8, 1898.
- Brazil, V.* — Alguns casos de diphteria tratados pelo serum anti-diphterico, *Rev. med. S. Paulo*, 1:51-56, 1898.
- Brazil, V.* — A serumtherapia na febre amarella, *Rev. med. S. Paulo*, 1:127-131, 1898.
- Brazil, V.* — A peste bubônica em Santos, *Rev. med. S. Paulo*, 2:343-354, 1898.
- Brazil, V.* — A peste bubônica em Santos, Relatório do Inst. Bacteriológico de S. Paulo, Escola Typ. Salesiana, S. Paulo 1900, 49 pp.
- Brazil, V.* — Mal de cadeiras em S. Paulo, *Rev. med. S. Paulo*, 10:2-4, 1907. *Ibid: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan*, 1:57-62, (1901-1917), 1918.
- Brazil, V.* — Mal de cadeiras, Typ. Diario Official, S. Paulo, 1909, 8 pp.
- Brazil, V.* — Notas sôbre a biologia do *Conepatus chilensis*. Contribuição ao estudo do seu aparelho defensivo, *Arch. Inst. Vital Brazil*, 2:57-67, 1924. *Ibid: Biologia Médica* (10):3-16, 1937.
- Brazil, V.* — A defeza contra a mosca, *Mem. Inst. Butantan*, 3:189-203, 1926.
- Brazil, V.* — A defeza contra a mosca, *Ann. III Congresso Bras. hyg.* (1926), São Paulo Editora Ltda., S. Paulo, 1929, pp. 3-14.
- Brazil, V.* e *Vellard, J.* — Do papel dos lipoides em immunologia, Função fixadora e capacidade modificadora dos lipoides. Vaccinas lipoidicas, *Ciência Médica*, 5:419-434, 1927.
- Brazil, V.* e *Vellard, J.* — Do papel dos lipoides em immunologia, Função fixadora e capacidade modificadora dos lipoides. Vaccinas lipoidicas, *Brazil-Médico*, 41:743-751, 1927.
- Brazil, V.* e *Braga, A.* — Da importância dos lipoides no preparo da vaccina contra o carbúnculo hemático, *Boletim do Inst. Vital Brazil*, (17): 21 pp. 1935.

## OUTROS ARTIGOS

- Brazil, V.* — João Florêncio de Salles Gomes (†), *Ann. paul. med. cir.*, 10:122-124, 1919.

*Brazil, V.* — Emilio Ribas, *Arch. hyg. S. Pub. S. Paulo*, 1:7-12, 1936.

*Brazil, V.* — Recordando..., *Mem. Inst. Butantan*, 14:IX-XII, 1940.

*Brazil, V.* — Memoria Historica do Instituto Butantan, E. Poci, S. Paulo, 1941, 170 pp.

*Brazil, V.* — Autobiografia, Discurso no Rotary Club de Niteroi em 19-11-1942, *Ann. paul. med. cir.*, 60:339-345, 1950.

*Brazil, V.* — Jubileu de Formatura, Discurso em 16-1-1942, *An. paul. mcd. cir.*, 60:581-582, 1950.

*Brazil, V.* — Discurso na Cerimônia da inauguração do novo edificio do Instituto Vital Brazil em 11-9-1943, *Biologia Medica* (4):14-24, 1943.

*Brazil, V.* — História de uma instituição, Discurso em 11-9-1943, inauguração do nôvo edificio do Inst. Vital Brazil, *An. paul. med. cir.*, 60:585-594, 1950.

*Brazil, V.* — Algumas notas autobiográficas, (postumo), *Pinheiros Terapêutico*, 17:12-19, 1965.





SciELO

## ESCORPIONISMO NO BRASIL \*

WOLFGANG BUCHERL \*\*

### *Freqüência do Escorpião*

Durante o decênio de 1956 a 1966 recebia o Instituto Butantan 256.721 *Tityus serrulatus* e 30.920 *T. bahiensis*. Estas quantidades atestam, sem sombra de dúvida, de que ainda hoje existem escorpiões perigosos em grande quantidade. Ainda em 1968, no mês de outubro, houve um recrudescimento na freqüência de *T. serrulatus* em certos bairros de Belo Horizonte, cidade nova, mas construída sôbre solo "escorpionífero". Os principais locais de procedência dos escorpiões recebidos são: Nova Era, bairros de Belo Horizonte, Monlevade, arredores de Ribeirão Prêto, Teofilo Otoni, Santana de Ferros, São Miguel e Porto de Guanhões, Conceição do Serro, Serro, São José da Lagoa, Ponte Nova, Sabará, Aparecida do Norte, Serra Negra, algumas fazendas a cêrca de 20 km de Campinas, um foco circumscrito em Osasco, Roseira, Bom Jesus do Galho, Goiás, Goiânia — *T. serrulatus*, Ouro Prêto, Capital de São Paulo (Morumbí, ao longo do canal de Pinheiros, cemitérios de São Paulo, Lapa, da Av. Dr. Arnaldo, Pacaembú, Pacaembuzinho, alguns trechos das Alamedas Lorena, Santos, Tietê, Casa Verde, Sant'Ana, Santo Amaro, principalmente), Judiaí, Campinas, Sorocaba, Mogi das Cruzes, Taubaté, Aparecida (associado com focos de *T. serrulatus*), Pindamonhangaba, Botucatu, Baurú, Lençóis, etc., — *T. bahiensis*.

O Instituto Ezequiel Dias, até 1.º de agosto de 1923 tinha recebido da população de Belo Horizonte cêrca de 120.000 *serrulatus* (Magalhães, 1928); um número ainda mais avultado foi capturado no período de 1929 a 1950; Lopes da Silva, dirigindo o expurgo da cidade de Ribeirão Prêto, indica 5.358 *serrulatus*, capturados naquela cidade nos anos de 1948, até maio de 1950. 2.156 foram capturados na mesma cidade, sômente nos meses de junho e julho de 1950. Segundo o relatório de Baerg, em 1961, foram capturados vivos em *Duraugo*, México, nos meses de abril, maio e junho de 1865 cêrca de 80.000 a 100.000 *C. suffusus*, e em 1925 nada menos de 116.000 — o que demonstra insofismavelmente que é extremamente difícil erradicar-se êste mal.

### *Freqüência dos Acidentes humanos*

*Número de acidentes* — Embora os escorpiões só picassem em defesa própria, quando tocados fortuitamente, pode estabelecer-se, contudo, uma relação entre a freqüência numérica e o número de acidentes humanos. O "escorpionismo" ainda constitui assunto médico-sanitário de enorme importância para populações urba-

\* Apresentado, em 6 de março de 1969, no Forum Científico da Academia de Medicina de São Paulo.

\*\* Ex-chefe da Secção de Artropodos Peçonhentos; bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

nas de certas cidades. Cremos que ainda hoje devam ocorrer cêrca de 6.000 acidentes, anualmente, como calculou Magalhães em 1946.

A estatística do Hospital "Vital Brazil" do Instituto Butantan, a nós gentilmente cedida por G. Rosenfeld, médico chefe daquela Instituição, dá para os anos de 1954 até 1965 nada menos 1.279 acidentes por picada de escorpião, sendo 701 por *bahiensis* (São Paulo e arredores são zona de *T. bahiensis*), 36 por *serrulatus*, 534 por escorpiões não identificados e mais 6 por *Bothriurus*.

O. Magalhães registrou em 1946, 2.529 acidentes em Belo Horizonte, M.G.. O mesmo autor dá em 1938, um relatório de Sebastião Santos, de São João del Rei (citado também por V. Brazil, em 1907) segundo o qual verificaram-se até 1905, naquela cidade, 981 acidentes. O mesmo Magalhães registrou acidentes, em 1938, em Minas Gerais nas cidades de Teofilo Otoni, Antonio Dias, Mariana, Tauna, Itabira, Bom Despacho, São Gonçalo Rio Abaixo, Sant'Ana de Ferros, São José da Lagôa, Ponte Nova, Faboca, Nova Lima, Sabará, Conceição do Serro, São Miguel de Guanhões, Pôrto de Guanhões, Rio Casca, Serro, Santa Barbara e Santa Luzia.

No relatório de Tito Lopes da Silva lemos 985 acidentes para Ribeirão Prêto, SP, nos anos de 1945 a 1950 e no relatório do Pronto Socorro Municipal, a nós gentilmente cedido pelo Dr. Chiarello, então médico chefe, foram atendidos 393 acidentados, em 1951/52.

Em outras regiões tropicais e sub tropicais as estatísticas de acidentes se perfilam com as do Brasil: Stahnke, H. L., em 1956, relata 1.573 acidentes, ocorridos num período de 10 meses no Arizona (USA); centenas de acidentes são referidos nas publicações de E. Sargent, verificados anualmente em Algier, Marrocos, Tunis; Waterman, J. A., em 1957, dá 698 acidentes, ocorridos em Trinidad, nos anos de 1929 a 1933 e W. J. Baerg, em 1961, registrou no México 1.143 acidentes, ocorridos em 1953, principalmente em Durango, Nayarit, Guerrero, Colima e na própria cidade do México.

Acidentes perigosos verificam-se também em Israel (Shulow), no Egipto (Todd) e na África do Sul (Grasset, Schaafsma e Hodgson, 1946). Na Índia, acidentes de extrema gravidade não costumam ocorrer (Basu, 1939), também não na região Filipino-Malasia (Keegau).

#### *Região do corpo mais atingida*

Temos estatísticas do Instituto Butantan, de Magalhães (Ambulatório do Instituto Ezequiel Dias e do Pronto Socorro Policial de Belo Horizonte) e do dr. Chiarello do Pronto Socorro Municipal de Ribeirão Prêto, SP. Segundo a última, que concorda surpreendentemente com as de Minas Gerais, verificam-se cêrca de 57% das picadas nas *mãos* (que, nos afazeres da casa, tocam involuntariamente no escorpião), cêrca de 7% nos braços, quasi 18% nos pés, principalmente ao vestir o calçado, 3,5% nas pernas até a coxa e apenas cêrca de 14,4% em outras partes do corpo (ao vestir camisa, calça, paletó, etc.). Portanto, cêrca de 65% das picadas se dão nas mãos e nos braços e 21% nos pés e nas pernas! (Total de acidentes — 393, tratados no Pronto Socorro Municipal de Ribeirão Prêto, 1951/52).

#### *Local do acidente*

122 nos *quintais e jardins das casas residenciais*: sob tijolos empilhados e remexidos (59), sob madeiramente (17), sob a lenha a sear (14), sob telhas, ladrilhos (15), em garagens (2), ao eortar a grama (2), em barriecas (2), em

- vasilhames e embrulhos abandonados (2), nas vigas do telhado (1), sob folhas de zinco (1), em casos de plantas (1), em cisternas (3), no tanque de lavar roupa (2), em cerca de bambú (1).
- 57 na *limpeza de salas, quartos, dispensas*: ao remover móveis, quadros, tapetes, cortinas (11), limpeza de quartos (18), sob assoalho solto (4), em malas e baús mal fechados (3), portas, portões e fendas de muros (4), em garrafas abandonadas (2), em feixes de roupa (4), em utensílios guardados em porão (3), pondo a mão sob mesas (2), na copa (2), no quarto de despejo (1), sentando numa cadeira (1), fechando a veneziana (2).
- 43 nos *dormitórios*: na cama (31), na roupa de cama (4), em guarda-roupa (8).
- 43 nas *lides na cozinha*: na lenha (21), no interior de fogões à lenha (6), em panos de prato e de chão (4), nos vasilhames de lixo (3), em sacos de limpeza (2), no guarda-comida (4), em um cacho de bananas (1), nas dobras de um pacote de açúcar (1), sob palha (1).
- 30 Dentro de *peças do vestuário*: em calçado (12), tamancos (2), no paletó (2), ao vestir as calças (6), no pijama (3), no casacão (2), no vestido (1), no capote (1), na camisa (1).
- 23 em *banheiros e lavatórios*: privadas (12), utensílios de limpeza, vasilhames, ralos (6), em cestas de roupa (3), sob toalha (1), na torneira (1).
- 5 Em *outros objetos* de uso na casa: Dentro de guarda-chuva (2), em ferro de passar (1), numa barca (1), em atelier fotográfico (1).
- 7 Sobre *veículos*: em autos de passeio (2), carroça (1), caminhonete (1), caminhão de lenha (2), vagão de lenha (1).

*Fora do recinto das casas* residenciais, são mais sujeitos a serem picados os que trabalham em: serrarias e marcenarias ou depósitos de madeira (9 acidentes), os que lidam com tijolos em construções (17), os que trabalham em remoção de terra (8), em olarias, em pedreiras ou marmorarias (11), em livrarias (3), em lenha empilhada no mato (4). Em cemitério houve 1 acidente, em matagal 1, nas vias públicas 6, na estrada 1, em buracos de barrancos 2. Apenas 63 acidentes fora de casa e 330 dentro de casa.

### *Veneno escorpiônico*

O escorpião emprega sua peçonha para *subjugar e imobilizar rapidamente* a sua presa que lhe serve de alimento: baratas, grilos, aranhas de médio porte que não emitem fios. É importante anotar os termos: "imobilizar rapidamente". A peçonha é inoculada pelo dardo agudo; a presa é apreendida pelas duas mãos por meio dos dedos preenseis, munidos de grânulos tão minúsculos que conseguem arrancar cabelos humanos, a presa apreendida é então suspensa, diante da cabeça do escorpião — e o dardo venenífero é dobrado rapidamente para a frente por sobre o dorso e a cabeça, encravando-se sua ponta na vítima "*de traz para diante*". A peçonha escorpiônica, ao que fazem supor as observações biológicas, não tem, pois, função digestiva, mas é, antes de tudo "*ofensiva*", *paralizante*.

*Máximas e médias de peçonha seca por escorpião (eletrochoque)*. Bücherl I  
*T. serrulatus* — 4 mg e 0,23 a 1,1 mg valores máximos e médios

*T. bahiensis* — 4 mg e 0,20 a 0,9 mg

*LD 50 por g de camundongo: vias venosa e subcut.* Bücherl 2

*T. serrulatus* — 0,6 gamas e 0,65 gamas

*T. bahiensis* — 0,75 gamas e 1,35 gamas

Na intoxicação experimental de animais de laboratório (camundongo, cobaio, coelho, pombo), surge a manifestação imediata dos sintomas locais, a dôr nunca falta (um camundongo despedaçou com os dentes a própria pata (O. Magalhães 1935); há hipersecreção das glândulas e mucosas (V. Brazil); a toxina é rapidamente neutralizada ou eliminada; nas intoxicações mais graves há atonia dos membros e finalmente paralisia (Maurano, 1915); ataca as terminações nervosas da região picada e dos nervos próximos o que se traduz pela dôr. A dôr é devida à peçonha inoculada e não à ação perfurante do dardo. J. de Bellesime fechou os dois orifícios de veneno com colóidio; a picada não mais era dolorosa. Na fase tardia da intoxicação grave suspende-se totalmente a excitabilidade reflexa e inicia-se a paralisia medular, do vago, do acessório, do hipoglosso; morte por paralisia bulbar (Joyeux-Laffuie). Atua sobre o músculo estriado, mas não como o curare (Talaat). Antes de tudo, ação seletiva sobre a motricidade (O. Magalhães, 1928); 6.500 experiências com tôda a sorte de animais, para aferir a ação da peçonha (O. Magalhães, 1935); determina eriçamento dos pêlos no local da picada, principalmente, (Magalhães, 1938).

A toxina escorpiônica não é absorvida pela pele íntegra: polvos, peixes, embriões de rã não manifestam intoxicação alguma, quando se adiciona veneno escorpiônico à água de recipiente, em que vivem.

A toxina é inócua, quando ingerida: Caranguejos comem quantidades de vesículas, que se lhes davam, sem intoxicação — Joyeux-Laffuie; Galináceos devoram escorpiões com avidês, também os saguís, os sapos (observações de Maurano, de nós também).

As primeiras gotículas, que afloram no fim do agulhão, quando se segura um escorpião com pinça, são geralmente límpidas e transparentes, as posteriores branco-leitosas e viscosas. O pH é geralmente neutro ou pouco ácido. O veneno fresco, obtido por eletrochoque e dessecado a vácuo, forma palhetas esbranquiçadas; quando a peçonha fôr mais velha, torna-se amarelada, às vêzes com leve tonalidade para o verde. A peçonha pura não se dissolve completamente na água destilada nem no soluto fisiológico; resta sempre um fino precipitado, retido por simples filtro de papel. Segundo Wilson tem o veneno de *L. quinquestriatus* um peso específico em torno de 1.092, com 20,3% de sólidos, 3,4% de resíduos. O veneno é insolúvel em álcool absoluto, no éter; resiste ao clorofórmio e à glicerina; é sensível à amônia, ao iôdo, permanganato de potássio; atravessa a vela de Chamberland, mas muito mal a de Berkefeld; precipita-se sob adição de sulfato de amônio ou por excesso de álcool (Maurano, 1915).

Enquanto que as descrições mais antigas sobre a sintomatologia da intoxicação humana e as experiências laboratoriais das peçonhas acentuavam a grande semelhança, senão a identidade quase, do empeçonhamento escorpiônico do mundo inteiro, vieram os modernos métodos da bioquímica e da farmacologia a demonstrar que êstes sintomas comuns (contraturas musculares, dôr, irregularidades respiratórias progressivas levando em alguns casos à paralisia respiratória, a pilo-ereção, midriase, aumento da pressão, constrição laríngeal, sudorese, febre e frio, etc...) podiam ter mecanismos diferentes, conforme o gênero do escorpião e sua repartição pelo mundo. Atualmente, na América do Sul, no México, no sul dos E.U. da América, na África do Sul, na Argélia, em Israel, no Egito, no Sudão e na Índia, principalmente, estão em andamento intensivos estudos experimentais, bio-químicos e farmacológicos sobre a peçonha escorpiônica. Todos parecem concordar sobre a ação sobre o sistema nervoso e as junções neuro-musculares. A todos os laboratórios, quasi, falta matéria prima em maior quantidade; as técnicas empregadas variam bastante.

*Ação muscular:* A injeção endovenosa de peçonha escorpiônica em cães, gatos, ratos e camundongos provoca imediatamente o aparecimento de caimbras e contraturas musculares generalizadas. Esta atividade origina-se na espinha e persiste após a secção do tronco cerebral ou a transsecção da espinha, mas desaparece completamente após a destruição da medula dorsal ou dos nervos motores. A peçonha ataca a região das placas terminais do músculo. Bloqueando-se a transmissão neuro-muscular pelo curare e injetando-se depois veneno escorpiônico intra-venoso, surge uma decurização. Doses grandes de veneno, entretanto, produzem bloqueio completo da transmissão neuro-muscular, não mais neutralizável pelo curare ou a prostigmina, ficando, porém, preservadas as respostas musculares ao estímulo direto elétrico ou acetilcolínico. Em *resumo*, o efeito muscular do envenenamento escorpiônico é produzido por dois caminhos: um, o central, localizado na medula espinhal e o segundo periférico, sobre as junções neuro-musculares. O veneno parece transpor as membranas excitáveis, alterando o equilíbrio iônico.

*Efeitos respiratórios:* A frequência e a amplitude dos movimentos respiratórios são alterados, assemelhando-se, em intoxicações graves, ao ritmo do tipo de Cheyne-Stokes, até a paralisia final, de origem central. Obstruções bronquiolares, secreção abundante, contrações dos músculos laríngeos e bronquiolares contribuem ao surgimento da paralisia respiratória, mas não são a causa da asfixia. A origem central pode ser comprovada, quando se injeta pequena quantidade de peçonha diretamente na cisterna magna, o que determina a paralisia respiratória imediata.

*Efeitos cardio-vasculares:* Há aumento inicial da pressão sanguínea, aliada à uma bradicardia; depois a pressão retorna aos níveis normais, mas, em intoxicações graves, continua caindo gradualmente até zero. O aumento inicial não é devido a uma ação periférica do veneno mas à sua ação sobre os neurônios pre-sinápticos vaso-constrictores da medula, de um lado, e do outro, sobre a liberação simultânea da epinefrina, também pelos estímulos dos neurônios pre-ganglionares da medula, que ativam as adrenais. A bradicardia corresponde igualmente à uma ação central. Desaparece após destruição da medula ou corte do vago. *Outros efeitos:* Midriase, pilo-creção, sudorese, etc. são explicáveis igualmente pela ação central da peçonha sobre os neurônios simpáticos pre-ganglionares. (E. del Pozo, 1966).

As peçonhas de *T. serrulatus* e *bahiensis* são misturas de proteínas, principalmente de natureza básica e contém componentes tóxicos, uma componente estimuladora da musculatura lisa, uma componente que aumenta a permeabilidade capilar e hialuronidase. A componente tóxica é a *Scorpiotoxina T*, a substância ativa sobre a musculatura lisa é a *Scorpiokinina*. (Diniz e Moura Gonçalves). 69% da peçonha do *T. bahiensis* são proteínas. Em 100 g de peçonha foi encontrada a seguinte composição de amino-ácidos: cistina 5,4 g; tirosina 4,6; valina 3,2; metionina 1,3; ácido asparágico 7,1; ácido glutâmico 9,1; serina 4,3; glicocol 4,1; treonina 3,0; alanina 4,0; lisina 8,1; arginina 4,6; fenilalanina 5,5; isoleucina 3,3; leucina 4,7; prolina 5,8; histidina 1,3; triptofano 1,7; total 81,1 g. A peçonha consta de 6 frações, sendo 5 catódicas e 1 que migra para o anódio. A peçonha de *T. serrulatus* apresenta 7 frações proteínicas (eletroforese), 2 migrando para o anódio.

A bioquímica e principalmente aspectos farmacológicos das peçonhas de *T. serrulatus* e *bahiensis* estão sendo investigados no Instituto Butantan, em Belo Horizonte tanto no antigo Instituto Ezequiel Dias como na Faculdade de Medicina (Prof. Carlos Diniz e colaboradores), em Ribeirão Preto (Prof. Moura-Gonçalves e colaboradores) e em Campinas (Prof. Oswaldo Vital Brazil e colaboradores), tendo êstes grupos contribuído com pesquisas importantes sobre o assunto.

### *Sintomatologia dos picados*

O acidente pela picada de escorpiões constitui obra do acaso. O ponto ou os pontos das picadas nem sempre são visíveis. Os acidentes costumam ser graduados em *leves, graves e mortais*, com tôda a gama possível de variantes. A peçonha age de imediato sôbre o sistema nervoso periférico, com paralisia siderante, de sua presa (baratas, grilos, pequenas aranhas, particularmente *Licosas*). Nos casos *leves* verifica-se calor local, onde penetrou o dardo, ligeiro rubor e dôr local, viva mas tolerável, amainando-se esta depois de algumas horas. O. de Magalhães fala em uma vaso-dilatação local.

Nos casos *graves* distingue o mesmo autor 2 fases: a primeira de *excitação e dôr*. A peçonha age sôbre as terminações nervosas. A dôr se irradia pelos troncos nervosos; torna-se muitas vêzes insuportável, vai dos dedos da mão à axila correspondente ou da ponta do pé à dobra inguinal; os capilares se constriem, não sendo impossível que vasos de calibre pequeno fiquem obstruídos. A vaso-constrição capilar periférica é generalizada e intensíssima, podendo perdurar entre 2 e cêrea de 6 horas. A fase posterior se inicia com vista escura, tonturas, sialorreia, rinorreia, náuseas, vômitos, cefaleias intensas, delírio brando, poliúria, dispneia bem pronunciada; finalmente segue-se um profundo abatimento e o início da paralisia. A esta altura os fenômenos locais são mínimos ou mesmo nulos. As extremidades são lívidas; o corpo inteiro está frio, embora muitas vêzes coberto de suores abundantes e frios. O que mata os indivíduos é a lesão dos núcleos neuro-vegetativos do bulbo pela peçonha escorpiônica. Se o veneno impregna com o tempo outros centros, vegetativos ou não, do cérebro, do diencéfalo ou da medula, isto não invalida o quadro central, nitidamente bulbar, da intoxicação escorpiônica.

Segundo V. Brazil, citado por Maurano, a dôr local, viva, intensa, lancinante, sempre presente já nos primeiros 10 minutos, parece não ser combatível com a vida. Há comprometimento dos gânglios linfáticos, faringite, dificuldade de deglutição, caimbras, espasmos musculares, salivação intensa, priapismo, respiração ofegante, intermitente; nos casos muito graves predominam os fenômenos respiratórios e nervosos: dispneia, cianose das mucosas, abolição dos movimentos espontâneos e reflexos, colapso, algidês, anúria, coma, asfixia por inibição do diafragma. Em casos benignos as crises costumam durar entre 3 e 8 horas.

### *Sôro anti-escorpiônico*

Foi Vital Brazil e com ele o Instituto Butantan o primeiro no mundo a preocupar-se com o envenenamento pelo escorpião e seu tratamento; em 1905 começaram os estudos, em 1907 foi apresentado ao VI Congresso de Medicina e Cirurgia um trabalho sôbre a ação tóxica da peçonha escorpiônica em coelhos e cobaios e, baseado em suas experiências com a feitura dos sôros anti-ofídicos, concluiu Brazil, ser possível imunizar-se um animal de grande porte desde que se tenha bastante antígeno. Em 1915, H. Maurano, sob a orientação de V. Brazil, imunizava o primeiro cavalo, injetando-lhe em cada 3º ou 4º dia uma dose crescente de vesículas de *T. bahiensis*, até chegar na 15.ª injeção ao total de 394 vesículas. A imunização teve que ser interrompida por falta de "matéria-prima"; o sôro obtido tinha um título antitóxico baixo, neutralizando apenas 2 m.m. Em 1916 e 17, finalmente, fez-se no Instituto Butantan a imunização completa de um cavalo, produzindo-se assim a primeira partida do sôro anti-escorpiônico: cêrcia de 1.500 vesículas foram injetadas num período de 3 meses e o sôro obtido neutralizava em cobaios 10 vesículas de escorpião por ml.

No mesmo ano, E. Villela tentava um anti-sôro no Instituto Ezequiel Dias em Belo Horizonte, aumentando O. de Magalhães a produção do mesmo nos anos de 1939/40, dosando 8 U. eamund. p. ml.

Soros anti-escorpiônicos são fabricados hoje no Brasil, México, nos EE.UU. da América, no Inst. Pasteur na Algeria, no Egito, em Israel, na África do Sul e na Índia.

A técnica já vinha desde Calmette: triturar os telsa cortados em água destilada, filtrar o macerado, evaporar o filtrado no vácuo, retomar o extrato seco em água destilada mais glicrina. Todd, no Hygienic Institute de Cairo em 1906 secava os telsa ao sol, durante um a um dia e meio e os conservava depois em dessecadores sobre cloreto de cálcio até o momento do uso. Moía então as vesículas em moinho de café, adicionava sol. fisiológico; passava a suspensão em agitador mecânico durante 1 a 2 horas; decantava o fluido opalescente e o clareava com sulfato de alumínio e água de cal; conservava esta "solução — mãe" a frio, em frasco fechado e com um pouco de clorofórmio. Maurano (e com ele o Instituto Butantan) triturava os telsa em sol. fis. ou dissolvia o veneno seco nesta mesma mistura na proporção de 1 mg para 5 ou 10 ml de mistura.

Nós, durante os anos de 1956 a 1966 conseguimos obter por electrochoque 138 g de peçonha seca de 256.721 *serrulatus* e 15,500 g de peçonha seca de *T. bahiensis* de 30.920 espécimens, sendo esta peçonha empregada no Instituto Butantan para titulação mais rigorosa do sôro e para a hiperimunização de cavalos.

#### Tratamento

O. de Magalhães, após ter assistido a 2.449 acidentes em Belo Horizonte, no Pronto Socorro Policial, tendo aí observado 145 mortes, das quais 109 que não receberam sôro e 37 que receberam sôro, analisou de perto êstes últimos casos, chegando às seguintes conclusões: 9 vieram ao Pronto Socorro *tardamente*, isto é, entre 5 e 23 horas depois do acidente; 8 outros picados receberam *insuficiência de dose de sôro* (apenas 10 ml) e por *via inadequada* (subcutânea), embora tivessem chegado já dentro de 1 h a 1 h e meia.

Em todos os acidentes graves deve ser dado o sôro, principalmente em zonas onde predomina o *T. serrulatus*. Menores de 15 anos são as maiores vítimas e a profissão doméstica é a mais prejudicada. O artrópodo se adapta perfeitamente ao domicílio; dentro do lar acontecem os acidentes.

Em casos graves, em crianças, decorridos já mais de uma hora entre o acidente e a injeção do sôro, êste deve ser dado *intravenosamente*, em doses generosas, até 50 ou 80 ml. A via *intra-raquiana* seria a decisiva, em muitas circunstâncias.

Combater a dôr, a hipotermia, a fase de prostração, se impõem. A intoxicação pelo *T. serrulatus*, sem sôro ou com sôro em quantidade insuficiente ou por via inadequada, leva com freqüência à morte. O tratamento, portanto, deve ser o mais rapidamente possível. Isto exige que a população local receba instruções, que procure imediatamente o Posto de Saúde, sem perda de tempo; por outro lado, os médicos devem ter em estoque o sôro anti-escorpiônico, pelo menos um estoque mínimo de 10 ampôlas. O sôro deve ser instilado na veia, com tôdas as cautelas naturalmente e em quantidades tais que sejam neutralizados certamente pelo menos 3 a 4 mg de peçonha seca.

O *T. bahiensis* (Ouro Preto, Capital de São Paulo) não leva ou apenas excepcionalmente leva ao êxito letal. Em adulto dificilmente será necessário injetar-se sôro, em crianças de pouca idade pode ser necessário.

### Resultados da Sôroterapia

Os autores são unânimes que, antes do advento da soroterapia anti-escorpiônica, a percentagem de mortalidade por picada pelos escorpiões ditos “perigosos” era muito elevada, principalmente em crianças até 5 ou 10 anos. Todd, p. ex., para um período entre 1901 a 1907, relatou as seguintes cifras de mortalidade para 7 cidades do Egito: *Cairo* 153 mortes, *Assuan* 63 mortes, *Henek* 46, *Sohag* 33, *Assiout* 87, *Minia* 15 e *Fayoum* 29 mortes; Bray, citado por Wilson, escreve que em 1902 morreram 21 crianças picadas, na cidade de *Omdurman*, tendo tido 5 menos de 1, 9 entre 1 a 5 e 7 entre 1 a 15 anos. Wilson afirma que *Leiurus quinquestriatus* chega a matar cerca de 60% de crianças de menos de 5 anos e Cavaroz estima que 200 a 250 crianças eram mortas anualmente pelo *Centruroides suffusus* na cidade mexicana de *Durango*. Em 36 anos, a contar de 1891, verificaram-se em *Durango* 1.608 acidentes mortais, a maior parte em crianças de 1 a 6 anos (L. de la Peña e Venzor). Segundo Baerg ainda houve 28 mortes naquela cidade, em 1928; com o emprêgo do anti-sôro decresceu rapidamente a cifra de mortes, até 7 em 1931; em 1953 receberam sôro 551, tendo havido apenas 3 mortes em um total de 1.143 picados. No *Arizona* verificaram-se 64 mortes num período de 1929 a 1948 e de 1949 a 1954 apenas 5 mortes por picada de *C. sculpturatus* e *gerschi* (soroterapia) num total de 1.573 acidentados. Em *Trinidad* houve, segundo a estatística de Waterman, no período de 1929 a 1933, 33 mortes, sendo 22 em crianças de 1 a 5 anos, 5 com 6 a 10 anos, 5 com 11 a 20 e 1 acima de 20 anos. Pelo cálculo do autor importava a percentagem de morte em crianças abaixo de 5 anos em cerca de 25% das picadas e não tratadas pelo sôro. Em anos posteriores adotou aquele país o sôro anti-escorpiônico do Instituto Butantan, fazendo baixar sensivelmente a percentagem de mortes.

O. de Magalhães calcula o número de mortes, anualmente, para o *Brasil* em 237; nos 2.449 picados e que não recebiam sôro houve 145 mortes; com o emprêgo da soroterapia decresceu a mortalidade para apenas 23 em 2.529 picados em Belo Horizonte, no período de 1939 a 1941. Dos 985 picados em Ribeirão Preto por *T. serrulatus*, nos anos de 1945 a 1950 houve 64 casos graves que receberam o sôro do Instituto Butantan, tendo-se verificado apenas 7 mortes (1 criança de 3 meses, 1 de 9 meses, as restantes de 2-3-5-6 e 7 anos), o que prova a eficácia do anti-sôro feito pelo Inst. Butantan (Lopes da Silva). A estatística do Pronto Socorro Municipal daquela cidade, nos anos de 1951 e 52, demonstra ainda melhor a eficiência do sôro; 1951: 193 picados — 44 crianças — sôro nos casos graves = nenhuma morte; 1952: 206 picados — 49 crianças — apenas 1 morte. Estatística do Hospital Vital Brazil, Instituto Butantan, anos de 1954 a 1965 — 1.279 picados — casos graves recebiam sôro — nenhuma morte por *serrulatus* (o escorpião mais venenoso em nosso meio); 2 mortes por *T. bahiensis*! Constitui êste fato algo de insólito, pois quasi não se conhecem mortes por picada desta espécie. Mesmo assim — 2 mortes em 701 picados por esta espécie é mais uma prova de eficácia do sôro.

### Profilaxia

a) *Inimigos naturais dos escorpiões*: Os próprios escorpiões, mesmo da mesma espécie, não se tolcram facilmente, brigam pelo alimento, mães costumam muitas vêzes devorar os próprios filhotes, enquanto repousam sobre suas costas; quando rareia o alimento, os mais fortes dominam e devoram os mais fracos. Quando, em uma cidade se encontram 2 ou mais espécies, como p.ex. em Belo Horizonte ou em

Ribeirão Prêto o *T. serrulatus* e *T. bahiensis* e o *B. magalhaensi*, o primeiro a desaparecer é o *Bothriurus*, depois começa a rarear o *bahiensis*, predominando finalmente apenas o *serrulatus*. Em Ouro Prêto, ao contrário e em São Paulo (Capital), predomina o *bahiensis*.

*Pássaros*, seriemas, corvos e principalmente as *galinhas*, armados de um bico corneo protetor, dão golpes certos nos escorpiões e os devoram com avidês. Em sítios e fazendas, as *galinhas*, ao ciscarem em volta das casas e dependências, eliminam muitos escorpiões.

Os sapos também não se intimidam. Embora picados com frequência e sentindo o efeito da intoxicação, não desistem, enquanto não tiverem devorado o escorpião encontrado.

*Maurano*, em 1915, considera *pouco sensíveis* ao veneno os lagartos, ratos, gatos, as cobras e os próprios escorpiões, *muito sensíveis* as aranhas em geral, os cobaios, as lagostas e de *média sensibilidade* o homem, o cão, o cavalo, o gado vacum.

b) *Combate aos escorpiões por meio de inseticidas*: O DDT líquido a 30%, em solução final de 4%, dá resultados *satisfatórios*; o BHC em pó a 10%, tanto em suspensões aquosas de 0,5 g, 0,25 g e até de 0,13 g por metro quadrado (T. Lopes da Silva, 1950) dá resultados muito bons, quando se repetem pelo menos três aspersões do mesmo local, dentro de um ano (Bücherl, 1959: ensaios em São José dos Campos); o Rhodiatox, nas concentrações de 0,50 e 0,24% de tiosfato, deve ser considerado igualmente um poderoso escorpionicida (L. G. Lordello, 1950). O. de Magalhães empregava o DDT em várias concentrações, em Belo Horizonte, em 1945 e achava, em publicações posteriores "que o escorpionismo era um problema vencido!"

Autores mexicanos, da África e de Israel concordam com as qualidades de qualquer um dos inseticidas de contato. Mas não há que iludir-se: em 1950, nos meses de junho e julho, o Serviço da Profilaxia da Malaria da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, sob a chefia do prof. T. Lopes da Silva, espargia DDT ou BHC em boeiros, muros externos e internos, em paredes, rodapés, nos porões, quintais, sobre todo o entulho de 2.126 residências de Ribeirão Prêto, tendo-se gasto 2.129 kilos de BHC em 766.090 litros d'água e 200 l de DDT líquido em 32.500 l d'água. Os resultados foram impressionantes à primeira vista, mas ainda dois anos depois houve centenas de picados humanos naquela cidade.

A rigor deveriam as campanhas de erradicação com inseticidas de contato ser continuadas, de ano para ano, com vigilância contínua. Há os problemas da toxicidade destes compostos químicos; dificilmente podem ser empregados nas cozinhas e dispensas e mesmo dentro dos dormitórios. Houve quem aconselhou a pura e simples evacuação da cidade, durante alguns dias, para poder colocá-la sob um "guarda-chuva" de inseticidas. Prefeituras mais pobres não podem arcar com as despesas destas erradicações.

Por estes motivos partiu-se para a *coleta direta* dos *escorpiões vivos*, pagando-se uma certa importância por cada animal enviado. Por este caminho temos recebido no Instituto Butantan, no decênio de 1956 a 1966 nada menos de 256.721 *T. serrulatus* principalmente de Sta. Barbara da Nova Era, Passagem, Monlevade, Roseira, Bom Jesus do Galho e Ribeirão Prêto e 30.920 *T. bahiensis* de Ouro Prêto e de Pindamonhangaba, capturados por cerca de meia dúzia de homens apenas, geralmente caçadores. Pelos esforços destes pode o Inst. Butantan fazer o sôro anti-escorpiônico; além disto, contribuem para terminar com o flagelo ou, pelo menos, mantê-lo, dentro de limites toleráveis. Segundo Baerg, 1961, os Ins-

titutos mexicanos incentivavam igualmente a captura direta, chegando-se nas províncias de Durango, Nayarit, Guerrero e Colima a uma verdadeira "comercialização" destes artrópodos, como "varejistas" e "atacadistas"; os "alaeranos" erriavam os escorpiões, para que sua "fonte de renda" não se esgotasse; houve "atravessadores", denúncias, um foi preso! Certas Municipalidades designavam, então, os "profissionais" que podiam caçar e vender um determinado número, atualmente; houve até "concessões" de Terrenos escorpioníferos e só se caçavam escorpiões que tivessem cêrca de 2 anos de idade, para poderem ser aproveitados pelos Institutos. Falava-se em meio milhão de telsa, para que se pudesse produzir sôro em quantidades suficientes para prover a tôdas as localidades.

Mas tanto no México como em Minas, nas regiões ricas em escorpiões, curiosamente o povo nativo não lhes tem muito medo. Em Sabará, Mariana e em Aparecida alguns eidadãos consideram o escorpião um "animal doméstico", embora indesejável, mas cuja presença é algo de natural e costumeiro. Em Durango o principal time de futebol chama-se "Los Alaeranos" e há aí uma canção oficial: "Durango-tierra do alaeran!..."

O. de Magalhães aventou a possibilidade de imunizar-se ativamente a população, pelo menos a juvenil, com toxoide escorpiônico para conferir-lhe uma imunidade de pelo menos meio ano.

Segundo Ezequiel Dias, Samuel Libanio, Marques Lisboa, O. de Magalhães, H. Maurano, Vital Brazil e outros não deve o expurgo das residências ser considerado como meio definitivo. Na própria construção das casas deviam ser obedecidas certas medidas de precaução, evitarem-se fendas, rachaduras, revestir as paredes com reboco; vedar tôdas as frestas nos tetos, nos rodapés; calafetar bem o assoalho e o teto; onde deve entrar ar, devem colocar-se telas finíssimas de barragem; manter as casas sempre limpas, sem baratas, grilos, para que os escorpiões não encontrem alimento; o expurgo prévio da lenha, que chega de fora, deveria ser obrigatório; muros de taipa devem ser proibidos; os terreiros devem ser mantidos sem tijolos, telhas, madeira empilhada, para que o escorpião não encontre, onde esconder-se; a hera deve ser proibida como ornamento de muros e paredes externas.

#### RESUMO

O Relatório inclui dados estatísticos sôbre a freqüência de escorpiões perigosos (*T. serrulatus* e *bahiensis*, principalmente), o número de acidentes em eidades "escorpioníferas", as percentagens de mortalidades (quasi só em errianças) sem e com sôro.

A soroterapia é postulada em tôdas as regiões, onde existe o *T. serrulatus* e quando as vítimas têm menos de 12 a 15 anos. Para os casos ditos graves indica-se a via *intravenosa*, devendo as doses serem generosas, até 5 ou mais ampolas de 5 ml cada, de uma só vez por via venosa. Em casos gravíssimos foi recomendada por O. de Magalhães a via *intra-raquiana*, que dispensaria maiores quantidades de anti-sôro.

Em face do fato, estatisticamente comprovado, de que um prazo de 2 a 3 horas, desde o acidente até a soroterapia, é às vêzes já longo demais, para se salvar a vida, postula-se que, em eidades, onde existam *T. serrulatus* em grande quantidade e onde costuma haver acidentes, em maior ou menor número anual, a população local fique constantemente alertada sôbre o perigo por meio de conferência, palestras, cursos, publicações pela imprensa, para que procure imediatamente o Posto médico,

promova a desinfecção domiciliar constante, elimine dos quintais tijolos, telhas e madeiras empilhadas, tenha particular cuidado em manejar lenha empilhada, etc.

Acentua-se que o Brasil foi um dos primeiros países do mundo a preocupar-se com o problema do escorpionismo, tendo Vital Brazil lançado, já em 1905, as bases para a fabricação de um sôro anti-escorpiónico, mais tarde produzido em escala industrial no Instituto Butantan e temporariamente também no Instituto Ezequiel Dias de Belo Horizonte.

A contribuição brasileira pelas Escolas do *Instituto Butantan*, de *Belo Horizonte* (Inst. Ez. Dias e Faculdade de Medicina), de *Ribeirão Preto* (Faculdade de Medicina) e de *Campinas* (Fac. de Medicina) à bioquímica e farmacologia das peçonhas escorpiónicas formam valiosa contribuição ao esclarecimento destes complexos tóxicos.

As *campanhas profiláticas de erradicação*, conduzidas pelos Serviços de Profilaxia da Malaria, sob a égide da Secretaria da Saúde, nas cidades de *Ribeirão Preto* e em *Belo Horizonte*, em 1950, demonstram a eficiência dos inseticidas de contato, o BHC, o DDT, o Rhodiatox e de outros, mas deixam entrever também, que uma única aspersão não é suficiente e não acaba com o flagelo.

Os acidentes escorpiónicos acontecem dentro das residências; as pessoas, que exercem habitualmente os afazeres de casa, são as mais expostas.

Para cidades, particularmente sujeitas a esta "praga", julgamos oportuno que se criem "Centros de Vigilância Permanentes", possivelmente sujeitos às respectivas Secretarias de Saúde e com as seguintes incumbências:

*divulgação* entre a população dos meios de combate ao escorpião dentro da cidade e das residências;

*promover* para que os picados sejam imediatamente encaminhados aos diversos Postos de Saúde, onde há estoques permanentes de sôro;

*coleta de escorpiões* e seu envio ao Instituto Butantan, para que haja sempre "matéria prima" para a produção do sôro.

#### ABSTRACT

This "relatorium" describes statistical data of the frequency of dangerous scorpions, *T. serrulatus* and *bahiensis*, in Minas Gerais and São Paulo, the number of accidents by *serrulatus* — infested cities, the percentages of deaths (in children) without and with anti-serum. Serumtherapy is postulated for all severe cases, produced by *serrulatus*, chiefly when victims are under 12 to 15 years old. From 5 to more vials of anti-serum have to be administered, by the intravenous-route, as soon as possible after the accident. Even from 2 to 3 hours may often be too late. O. de Magalhães recommended in these cases the intra-rachian-way for the serumtherapy.

In certain cities of Minas, São Paulo and Goiás, the scorpion, *T. serrulatus*, must be considered as "public enemy number one" among all other venomous animals. Permanent Vigilancy-Centers, addicted to Health-Secretaries, are urgently recommended, to instruct all the people of infested places by conferences, in schools, newspapers, radio, etc. to follow some simple precautions:

1. Not to walk around in the house-rooms barefooted after dark (scorpions are night animals);
2. Shake your shoes and your clothes and bed-linen before using.
3. Keep your beds away from the walls. The legs of baby-beds should be kept inside of wide-mouthed porcellan or glass-jars (scorpions cannot climb smooth glass).

4. Scorpions can be killed with DDT, BHC, RHODIATOX, NEGUUVON or one of modern contact insecticides, but their eradication is much more difficult than that of other house-pests. Chickens and cats may act as scorpion controllers. *Cats can be really trained to catch scorpions!* It seems that the most effective insecticide in eradication of scorpions should leave a residue that is toxic to them for a minimum of 3 to 4 months! Therefore, kerosene-dissolved chemicals seem the best. After evaporation of kerosene a very fine layer of insecticide will remain and adhere to the scorpion-body and paralyze it.
5. Keep away of old boxes, rags, bricks, lumber, boards, sticks, papers, etc. from house-rooms, garages, gardens.
6. Old carter- or tractor-oil, poured in the crevice at the house foundations, makes this place uninhabitable for scorpions.
7. Trap scorpions at your home and send it to INSTITUTO BUTANTAN for serum production: Damp burlap sacks or old clothes and spread it in the evening over the ground, along walls. During the night or at evening scorpions will crawl under it and can be readily captured the following morning. BUTANTAN, at request, will send you "Scorpion-boxes".

## BIBLIOGRAFIA

- Adam, K. R. and Weiss, CH. — Some aspects of the pharmacology of the venoms of african scorpions, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Internac.* 33(2):60-614, 1966.
- Amaral, A. do — Specific antivenins to combat scorpionism and arachnidism, *Bull. Antiv. Inst. Am.* 2(3):59-77, 1928.
- Anguiano, L. G., Alcaraz, M. V. y Aguado, E. S. — Efectos pupilomotores provocados por el veneno de alacran, *Bol. Inst. Estud. Méd. Biol.* 15(2):87-96, 1957.
- Baerg, W. J. — Some poisonous arthropods of North and Central America, *IV Intern. Congr. Ent.* 2:418-438, 1929.
- Baerg, W. J. — Regarding the biology of the common Jamaican scorpion, *Ann. Ent. Soc. Am.* 47(2):272-276, 1954.
- Baerg, W. J. — The stinging scorpion, *Today's Health* 32(12):28-30, 1954.
- Baerg, W. J. — Scorpions: Biology and effect of their venom, *Arkans. Experim. Stat., Bull.* 649:1-34, 1961.
- Balozet, L. — La mesure de l'efficacité thérapeutique des sérums antivenimeux, *Arch. I. Pasteur d'Algérie* 37(3):387-400, 1959.
- Ball, E. T. — Scorpion stings, *Science* 88:427-428, 1938.
- Barros, E. F. — Aspectos anátomo-patológicos do SNC na intoxicação escorpionica, *O Hospital* 12(3):3-22, 1937.
- Barros, E. F. — Contribuição ao conhecimento das lesões nervosas centrais provocadas pelo veneno escorpionico. Tesc. Fac. Med. Univ. M.G., Belo Horizonte, 1937, *Mem. Inst. Biol. Ezequiel Dias* 1:9-300, 1937.
- Barros, E. F. — Aspectos clínicos da intoxicação escorpionica, *Mcm. Inst. Biol. Ezequiel Dias* 2:103-278, 1938.
- Barros, E. F. — O quadro clínico da intoxicação escorpionica, *O Hospital* 14(2):1-25, 1928.
- Belesmez, J. de — Essai sur le venin de scorpion, *Rev. Mag. Zool.* 23(2):150-151, 1872.
- Brazil, V. — Contribuição ao estudo do envenenamento pela picada do escorpião e seu tratamento. Mem. apresent. ao VI Congr. de Medic. e Cirurg., 1907, *Colct. Inst. Butantan*, 1:69-81.

- Brazil, V.* — Sôro anti-escorpiônico, *Mem. Inst. Butantan* 1(1):47-52, 1918.
- Bücherl, W.* — Manutenção de escorpiões em viveiros e extração do veneno, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):53-82, 1953.
- Bücherl, W.* — Atividade das peçonhas de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* sobre camundongos, *ibidem*: 83-108, 1953.
- Bücherl, W.* — Combate ao escorpião, *T. serrulatus*, nos terrenos da General Motors do Brasil, em São José dos Campos, *ibidem* 29:243-253, 1959.
- Buchmann, M.* — Tutocain bei Skorpionstichen, *Arch. f. Schiffs-u. Tropenhyg*, 32: 612-613, 1928.
- Calmette, A.* — Les venins, les animaux venimeux et la sérothérapie antivenimeuse, 1. vol. Paris, Masson, 109.
- Camargos Loureiro, M.* — Escorpiões de Minas Gerais, *Ceres* 10(59):360-263, 1958.
- Camargos Loureiro, M.* — Escorpiões de Minas Gerais II. O município Viçosa *Ceres* 61(62):4-72, 1960.
- Camargos Loureiro, M.* — III — Síndrome escorpiônica provocado por *T. trivittatus dorsomaculatus*, *Ceres* 11(62):96-101, 1960.
- Cervera, E.* — Suero anti-alacranico, *Bol. Of. San. Panam.*, 15:142-149, 1936.
- Cervera, E. y Varela, G.* — El veneno del Alacran *Centruroides l. limpidus*, *Medicina* 17:8-84, 1937.
- Corrado, A. P., Antonio, A. & Diniz, C. R.* — Recent advances on the mechanism of action of brazilian scorpion venom, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Intern.* 33(3):957-960, 1966.
- Dias, E., Libanio, S. & Lisboa, M.* — Luta contra os escorpiões, *Mem. Inst. O. Cruz*, 17(1):5-27, 1924.
- Diniz, C. R. & Moura-Gonçalves, J.* — Some chemical and pharmacological properties of brazilian scorpion venoms, in *Venoms*, E. E. Buckley and N. Porges (Edit.). A.A.A.Sc., Washington, 1956: pgs., 131-139.
- Diniz, C. R. and Valeri, V.* — Effects of a toxin present in a purified extract of telson from the scorpion, *T. serrulatus*, on smooth muscle preparations and in mice, *Arch. Int. Pharmacodyn.* 121(1-2):1-13, 1959.
- Diniz, C. R. and Moura Gonçalves, J.* — Separation of biologically active components from scorpion venom by zone electrophoresis, *Bioch. et biophys. Acta* 41:470-477, 1960.
- Diniz, C. R.* — Natureza química dos venenos de arachnídeos. An. II Reunião Quim. Orgân. e Bioquim. P. da Silva Lacaz (Editor), 1962, pgs. 63-69.
- Diniz, C. R. et al.* — Chemical properties and biological activity of *Tityus* venom, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Intern.* 33(2):453-456, 1966.
- Flecker, H.* — Injuries caused by australian scorpion, *Med. J. Austral.* 1(23):875-876, 1937.
- Fischer, F. G. und Bohn, H.* — Die Gifte der brasilianischen Skorpione, *T. serrulatus* und *T. bahiensis* — *Hoppe Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem.* 306:269-272, 1957.
- Gohar, M. A.* — Some observation on scorpion venom with special references to its detoxication, *J. Egypt. Med. Ass.* 17(7):608-618, 1934.
- Gomez, M. V. e Diniz, C. R.* — Separation of toxic components from the brazilian scorpion, *T. serrulatus*-venom, *Mem. Inst. Butantan, Sim. Intern.* 33(3):899-902, 1966.

- Gomez, M. V. — Purificação e caracterização da toxina do escorpião, *T. serrulatus*. Tese. Escola Vet. Univ. F. Minas Gerais, Belo Horizonte, 1967.
- Guyon, M. — Piqûres de scorpion chez l'homme, terminées par la mort, *Comp. Rend. Séanc. Acad. Sci.*: 404-407, 1852.
- Hanan, M. A. — Preparation of antiscorpion serum, *Lancet* 9:364-365, 1942.
- Hody, S. H. — Aphasia and complete right hemiplegia after scorpion bite, *Indian Med. Gaz.* 13:285-286, 1938.
- Hoffmann, C. C. — Contribución al conocimiento de los venenos de los alacranes mexicanos, *Bol. Inst. Hig. 2.ª ser.* 2(4):182-193, 1935.
- Hoffmann, C. C. y Vargas, L. — El suero anti-alacránico, *Bull. Inst. Hig.* 8:182-183, 1935.
- Hoffmann, C. C. y Roaro Neto, D. — Segunda contribución al conocimiento de los venenos de los alacranes mexicanos, *An. Inst. Biología* 10(1-2):83-92, 1939.
- Houssay, B. A. — Action physiologique du venin des scorpions, *B. quinquestriatus e T. bahiensis*, *J. Physiol. Pathol. Générale* 18(2):307-317, 1919.
- Houssay, B. A. y Mazzoco, P. — Mecanisme de l'action des venins des serpentes et des scorpions sur le muscle strié, *Compt. Rend. Soc. Biol.* 93(2):1,120-1.122, 1925.
- Ihering, R. von — Os escorpiões do Brasil Meridional, *An. Paul. Med. Cirur.* 3 (3-4):49-57, 1915.
- Jousset, de Bellesme, M. — Recherches faites avec le venin du scorpion, *Compt. Rend. Soc. Biol.* 5.ª ser. (4):252-243, 1872.
- Joyeux Laffuie, J. — Sur l'appareil venimeux et le venin du scorpion, *Compt. Rend. Soc. Biol.* 95:866-867, 1882.
- Kamon, E. and Shulow, A. — Estimation of locust resistance to scorpion venom, *J. Inst. Pathol.* 5(2):206-214, 1963.
- Kamon, E. and Shulow, A. — Immune response of locusts to venom of the scorpion, *J. Invertebr. Pathol.* 7(2):192-198, 1965.
- Kent, M. L. and Stahnke, H. L. — Effect and treatment of Arizona scorpion stings, *Southw. Med.* 23:120-121, 1939.
- Kjellesvig Waering, E. N. — The scorpions of Trinidad and Tobago, *Carib. J. Sci.* 6(3-4):123-135, 1966.
- Kubota, S. — On the toxicity of the venom of mexican (Durango) scorpion as compared with that of chinese scorpion, *J. Pharm. Exper. Therap.* 11:447-489, 1918.
- Linnell, R. — Note on a case of death following the sting of a scorpion, *Lanncet* 1: 1608-1609, 1914.
- Lopes da Silva, T. — Escorpionismo em Ribeirão Prêto. Notas sôbre epidemiologia e profilaxia, *Arqu. Hig. Saude Publ., S. Paulo*, 15:79-90, 1950.
- Lordello, L. G. E. — Notícia preliminar sôbre a ação do B.H.C. e do Rhodiatox nos escorpiões *T. serrulatus* e *T. bahiensis*, *Rev. Agricult., Piracicaba*, 25(11-12): 367-380, 1950.
- Lordello, L. G. E. — Breves notas sôbre escorpiões e sôbre o problema escorpiônico de Ribeirão Prêto, *Rev. Agricult., Piracicaba*, 25(9-10):313-316, 1950.

- Magalhães, O. de* — Contribuição para o conhecimento da intoxicação do veneno dos escorpiões, *Mem. Inst. O. Cruz* 21(1):5-139, 1928.
- Magalhães, O. de* — Contribuição dos acidentes pelas picadas dos escorpiões no Brasil, *An. Fac. Med. Univ. Minas Gerais* 1:69-111- 1929.
- Magalhães, O. de* — Escorpionismo, 3.<sup>a</sup> Mem. Contribuição para o conhecimento do mecanismo da intoxicação pelo veneno dos escorpiões, *An. Fac. Med. Belo Horizonte* 4(1):3-52, 1935.
- Magalhães, O. de e Tupinambá, A. A.* — Escorpionismo, *Brasil Médico* 52(29):651-652, 1938.
- Magalhães, O. de* — O síndrome escorpiônico, *O Hospital* 15(1):137-149, 1939.
- Magalhães, O. de e Guimarães, R.* — Algumas observações sobre acidentes pela picada dos escorpiões, *Brasil Médico* 55(27):466-467, 1941.
- Magalhães, O. de* — Escorpionismo, 4.<sup>a</sup> Mem., *Monograf. Inst. O. Cruz*, 4:1-220, 1946.
- Marinkelle, C. J. and Stahnke, H. L.* — Toxicological and clinical studies on *Centruroides margaritatus*, a common scorpion in Western Colombia, *J. Med. Ent.* 2(2):197-199, 1965.
- Maurano, H. R.* — Dissertação do escorpionidismo. Tese. Tip. do Jornal do Comércio, Rio. Rodrigues e Co., 1915, 268 pgs.
- Matthiesen, F. A.* — Aspectos morfológicos e biológicos dos escorpiões. Tese. Fac. F. C. Univ. S. Paulo, 1966.
- Nemenz, R. und Gruber, J.* — Experimente und Beobachtungen an *Heterometrus longimanus petersi*, *Verh. Zool. Bot. Ges., Wien*, 107:5-24, 1967.
- Nitzan, M. and Shulow, A.* — Electrophoretic patterns of the venoms of six species of israeli scorpions, *Toxicon* 4:17-23, 1966.
- Phisalix, C. et De Varigny, H.* — Recherches expérimentales sur le venin du scorpion, *B. australis*, *Bull. Mus. Hist. Nat.* 2:67-73, 1896.
- Pozo, E. C. del* — Pharmacology of the venoms of mexican *Centruroides*, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Internat.* 3(2):615-625, 1966.
- Pozo, E. C. del, Salas, M. and Pacheco, P.* — Effects of scorpion venom at neuromuscular junction, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Internat.* 33(3):961-964, 1966.
- Rochat, C., Rochat, H., Miranda, F. and Lissitzky, S.* — Purification des neurotoxines du scorpion, *A. australis*, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Internat.* 33(2)447-452, 1966.
- Sergent, M. E.* — Action thérapeutique du sérum antiscorpionique, *Compt. rend. Séanc. Acad. Sci.* 224:1035-1037, 1947.
- Shulow, A.* — On the poison of scorpions in Palestina, *Harefuah* 15(1-2):14-16, 1938.
- Shulow, A.* — On the poison of scorpions in Israel, *J. Med. As. Isr.* 49(6):131-133, 1955.
- Silva, A. C. Pacheco* — Paralisia dissociada do plexo braquial consecutiva à soroterapia anti-escorpiônica, *Bol. Soc. Med. Cirur.* 17:34-37, 1933.
- Spencer, H. A.* — Scorpion stings, *S. Afr. M. J.* 6:157-159, 1932.
- Stahnke, H. L.* — The Arizona Scorpion problem, *Ariz. Medic.* 7(3):23-29, 1950.

- Stahnke, H. L.* — Scorpions, *Pois. Anim. Research Lab. (Edit.), Tempe, Ariz.* pgs. 1-36, 1956.
- Stahnke, H. L. and Stahnke, J.* — The treatment of scorpion sting, *Ariz. Medicine* 14(10):576-580, 1957.
- Todd, C.* — An anti-serum for scorpion venom, *Journ. Hyg.* 9:69-85, 1909.
- Tomb, J. W.* — The treatment of scorpion sting, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 17:520-521, 1924.
- Varela, G.* — El cloruro de calcio en la intoxicación por la toxina del escorpion de Guerrero, *C. l. limpidus* — *An. Escuela Nac. Ci. Biol.* 1:133-134, 1938.
- Varela, G.* — Toxina del escorpion de Guerrero, *Gaz. Med. de México* 69:335-336, 1939.
- Viana Martins, A.* — Anavaneno escorpiónico, *Brasil Médico* 57(23-24):248-251, 1943.
- Villa, E.* — Soroterapia anti-escorpiónica, *Brasil Médico* 46:93, 1917 e 21:161-162, 1918.
- Waterman, J. A.* — Some notes on scorpion poisoning in Trinidad, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 31:607-624, 1938.
- Waterman, J. A.* — Some observation on the habits and life of the common scorpion of Trinidad, *ibidem* 33(1):113-118, 1939.
- Vital Brazil, O.* — Some aspects of the pharmacology of the venoms of african scorpions. Discussion. *Mem. Inst. Butantan* 33(2):610-612, 1966.
- Waterman, J. A.* — Scorpions in the West Indies. *Carib. Med. J.* 12(5):3-12, 1951.
- Waterman, J. A.* — Some notes on scorpion poisoning in Trinidad, *Carib. Med. J.* 19(1-2):113-128, 1957.
- Weissmann, A. et Shulow, A.* — Investigation on the venom of the scorpion *Buthotus judaicus*. *Arch. de l'Inst. Pasteur d'Algérie* 37(1):202-217, 1959.
- Whittemore, F. W., Keegan, H. L. and Borowitz, J. L.* — Studies of scorpion anti-venins: I. Paraspecificity, *Bull. Org. mond. Santé* 25:185-188, 1961.
- Whittemore, F. W., Keegan, H. L. et al.* — Studies of scorpion antivenins. 2. Venom collection and colony maintenance, *Bull. Org. mond. Santé* 28:505-511, 1963.
- Wilson, W. H.* — On the venom of scorpions, *Rec. Egypt. Govern. School Med.* 2: 7-44, 1904.
- Wilson, W. H.* — The physiological action of scorpion venom, *J. Phys.* 31:48-49, 1904.



## ARANHAS DA FAMÍLIA CTENIDAE

### II. PHONEUTRIINAE SUBFAMÍLIA NOVA \*

WOLFGANG BUCHERL\*\*

*Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

As aranhas do gênero *Phoneutria* Perty 1833 (1) vivem em nosso meio, costumam penetrar em nossas residências, colocar-se em posição de defesa “armada” — o que lhes rendeu o nome popular de “armadeiras” — picam facilmente e o seu veneno é um dos mais ativos sobre o homem e a maioria dos animais domésticos.

Pois, justamente as espécies deste importante gênero, estudado já em 1925 e 26 por Vital Brazil e Jehan Vellard (2, 3) sob o ponto de vista médico sanitário, eram por longo tempo e ainda o são frequentemente confundidas com as do gênero *Ctenus* Walckenaer 1805 (4). Roewer (5), ainda em 1954, no “Katalog der ARANEAE”, páginas 638-657, as incorporava sob o último gênero, em flagrante inobservação da revalidação do gênero *Phoneutria*, feita por Mello-Leitão em 1936 (6).

Estudos sistemáticos (7), de distribuição geográfica (8), da biologia (8, 9), do mecanismo da picada (10), da conformação da glândula de veneno (11), da atividade de seu veneno sobre animais de laboratório (12, 13) não só nos convenceram da profunda diferença entre os dois gêneros *Phoneutria* e *Ctenus*, mas justificam, a nosso ver, o estabelecimento de uma subfamília nova, a das PHONEUTRIINAE, para dirimir em definitivo qualquer dúvida sobre a validade deste importante gênero.

#### MATERIAL E MÉTODO

Desde 1948 temos dedicado especial atenção às aranhas do gênero *Phoneutria*, cujas glândulas de veneno são aproveitadas sem interrupção, a partir de 1925, na elaboração dos soros anti-aracnídicos. Em 500 viveiros, sobrepostos e seriados, foi possível proceder-se às mais diversas observações biológicas: alimentação, consumo de água, acasalamento, ootecas e posturas, eclosão dos filhotes, mudas de pele, extrações periódicas por electro-choque dos venenos. A morfologia de filhotes, jovens e adultos, machos e fêmeas foi e ainda está sendo estudada principalmente no tocante aos caracteres que separam as aranhas deste gênero das de outros.

\* Apresentado por W. Bücherl no simpósio sobre “Web Building spiders”, da A.A.A.S., Section on Zoology, em New York, dezembro de 1967. Trabalho realizado sob os auspícios do F.P.I.B.

\*\* Bolsista do F.P.I.B.

Recebido para publicação em 15 de março de 1968.

De 1956 até fins de novembro de 1967 foram recebidos pelo Instituto Butantan e mantidos vivos na Secção de Artrópodos Pegonhentos 7.303 exemplares de *Phoneutria*, pertencentes possivelmente a duas espécies.

#### *Histórico da família CTENIDAE e de suas subfamílias*

Walckenaer (14), em 1837, distinguiu no gênero *Ctenus* três grupos, "família" *Ambiguae*, *Genuinae* e *Phoneutriae*. Keyserling (15), em 1877, estabeleceu para o gênero a família CTENIDAE. Simon, entretanto, em 1897 (16) reuniu os DRASSIDAE, LYCOSIDAE e THOMISIDAE na superfamília dos CLUBIONIDAE, que compreendia então 8 subfamílias, incluindo a das CTENINAE. Em 1909 (17) agrupou os gêneros das três subfamílias CTENINAE, ACANTHEINAE e CALOCTENINAE, continuando a adotar o nome CLUBIONIDAE para a família. A maioria dos autores, entretanto, adotou definitivamente o nome de CTENIDAE Keys. 1877. Além das três subfamílias, reconhecidas também por Petrunkevitch (18), estabeleceu Mello-Leitão (16), em 1936, a subfamília ARGOCTENINAE e, em 1939, (19) a CORINOCTENINAE.

#### *Caracterização das aranhas da família CTENIDAE*

Labidognatas, dipncumatomorfas, acribeladas, com seis fiandeiras; pernas com duas garras denteadas em uma só fila, com tufos subungueais e com densas escópulas ventrais nos tarsos e nos metatarsos. Em alguns gêneros podem as escópulas metatarsais ser reduzidas no terceiro e no quarto par de pernas, principalmente em machos. Com oito olhos em três fileiras, segundo o esquema: 2-4-2 (apenas em ACANTHEINAE: 4-2-2); lábio livre, mais longo que largo, tão longo quanto largo ou mais largo que longo; lâminas maxilares quase paralelas, distalmente pouco ou muito alargadas, em *Corinoctenus*, foliar, sempre com escópula apical, que costuma estender-se também por uma grande área da face anterior interna; fóvea torácica longitudinal; goteira quelicerai com dentes nas duas margens; face externa do artículo basal das quelíceras com pequeno côndilo.

#### *Descrição de PHONEUTRIINAE subfamília nova*

Em 1902 procedeu F. Pickard Cambridge (20) a uma revisão das espécies neotropicais de *Ctenus* e distinguiu nitidamente dois grupos: o primeiro "tibia and tarsus of pedipalp with thick velvety pad of soft and short hair on inner side. Patella and tibia I in the females much longer than patella and tibia IV... vulva with a pair of dark longitudinal ridges (only on *reidyi* and *andrewsi* without ridges but emarginate anteriorly) — *reidyi*, *andrewsi*, *rufibarbis*, *boliviensis*, *nigriventer*, *feras*", e o segundo grupo: "Tibia and tarsus of pedipalp without any pad of short hair on the inner side. Patella and tibia I in the females equal to or only slightly longer than patella and tibia IV. Vulva with a pair of oval, convex, obliquely convergent tubercles on anterior portion (*Ctenus medius*) or simple, broad, convex (*C. fuleatus*), with or without a stout curved dentiform process".

Ora o primeiro grupo abrange exatamente as espécies do gênero *Phoneutria* e o segundo as do gênero *Ctenus*.

PHONEUTRIINAE subfamília nova pode ser caracterizada:

1.º — pela presença em filhotes e adultos, machos e fêmeas, de uma *densa escópula veludosa*, formada por pêlos curtos, escópula esta que ocupa tanto a face

anterior como a ventral das tíbias e dos tarsos dos palpos (Fig. 1); nas tíbias a escópula é estreita na porção basal e se alarga distalmente, nos tarsos ela é larga na base e se estreita para a frente em sentido tangencial. Em *Ctenus* existem nestas áreas pêlos comuns ou cerdas longas, que nunca formam escópula.

- 2.º — Pelo aspecto do epígino das fêmeas, das apófises tibiais e do bulbo dos machos: O epígino (Figs. 2, 3) ou é alongado, com área central, acompanhada dos dois lados por uma trabécula de quitina espessa e saliente e com mais outra saliência lateral posterior (as espécies do Sul do Brasil) ou (nas espécies amazônicas) a porção central apresenta uma entrância anterior com um processo saliente em cada lado depois do meio. Os epíginos de *Ctenus* apresentam aspecto profundamente e inconfundivelmente diferente, em geral bilobados, largos, com a maior largura no terço anterior. Em *Phoneutria* a maior largura fica no terço posterior e a peça toda é estreita na frente. Os machos de PHONEUTRIINAE apresentam geralmente 1 só apófise tibial, não ou muito pouco bifurcada, os de CTENINAE têm apófise dupla ou nitidamente bífida. O alvéolo do bulbo copulador em PHONEUTRIINAE (Fig. 4) é encoberto geralmente pela escópula veludosa, o que não ocorre em *Ctenus*.
- 3.º — A ooteca das PHONEUTRIINAE apresenta a forma de um disco, é afixada pela mãe num objeto propício e não carregada, pousando a mãe ao lado. A maioria das CTENINAE tem ootecas pequenas, bastante achatadas e que são carregadas pela mãe sob o esterno.
- 4.º — As PHONEUTRIINAE, principalmente no sul do Brasil, onde são mais frequentes, “armam” invariavelmente o bote, colocam-se em defesa “armada”, saltam e picam, enquanto que as CTENINAE procuram fugir.
- 5.º — A ação do veneno, até agora estudado nas espécies do Sul do Brasil, se faz sentir principalmente sobre o sistema nervoso periférico, verificando-se centenas de acidentes humanos de ano para ano (PHONEUTRIINAE). As CTENINAE, ao contrário, além de serem relativamente raras, não têm provocado acidentes humanos quase.

#### Chave das subfamílias de CTENIDAE

1. Lâminas maxilares de base estreita, contornando o lábio e dilatando-se apicalmente em forma de fôlha, com seus bordos externos muito curvos; lábio pouco mais longo que largo, também um pouco dilatado na frente e com os ângulos anteriores arredondados — CORINOCTENINAE Mello-Leitão 1939;

Gênero único: *Corinoctenus* M. L. 1939;

Genótipo: *C. anomalostomus* M. L. 1939 — 1 fêmea. Procedência: Delta de Las Palmas, Argentina. Tipo no Mus. Argent. de Ciências Naturales, Buenos Aires, sob o n.º 3823.

Lâminas maxilares com base relativamente larga e com lados interno e externo relativamente direitos, com ápice mais largo, mas apenas moderadamente dilatado e com a porção externa, que corresponde à inserção dos trocânteres, levemente escavada ..... 2

2. Lábio mais largo do que longo (apenas em poucas espécies de *Odo* tão largo quanto longo), moderadamente arredondado na frente e sem escavações laterais e não ultrapassando geralmente a metade do comprimento das lâminas maxilares ..... 3

- Lábio mais longo do que largo ou pelo menos tão longo quanto largo, ultrapassando ou pelo menos atingindo o meio dos maxilares; sempre com escavações laterais ..... 4
3. Tíbias I e II com 7 a 9 pares de espinhos inferiores muito longos (raras vezes apenas 5 pares) — CALOCTENINAE (Simon) 1897 —
- Gêneros: *Anahita* Karsch 1879 com 18 espécies palaeárticas, 1 oriental e 2 neotropicais (Bahamas e sul de U.S.A.); *Apolania* Sim. 1897, 1 espécie das Scichelas; *Caloecten* Keyserling 1876 com 10 espécies da África e 7 neotropicais (São Vicente, Venezuela e Brasil), *Elassoecten* Sim. 1909 com 1 esp. da Austrália, *Gephyroecten* Mello-Leitão 1936 com 3 esp., Guianas e Paraná, Brasil, *Hestimodema* Sim. 1909 com 2 esp. da Austrália, *Odomasta* Simon 1909 com 1 esp. Tasmania, *Pseudoctenus* Caporiacco 1949 com 1 esp. de Kania, *Thasyraea* L. Koch 1878, com 2 esp. da Austrália e *Trujilina* Bryant 1948, com 1 esp. de San Domingo.
- Tíbias I e II com apenas 4 pares de espinhos inferiores ou menos; olhos anteriores em linha direita ou pouco recurva — ARGOCTENINAE Mello-Leitão 1936. —
- Gêneros: *Argoecten* L. Koch 1878, com 8 esp. da Austrália, *Centroecten* Mello-Leitão 1929, com 2 esp. da Argentina e de Pernambuco, Brasil, *Horioecten* Chamberlin 1916 com 4 espécies sul-americanas (1 — Peru, 2 — Argentina, 1 — Brasil), *Neoecten* Simon 1897 com 3 esp. de Fonteboa; Amazonas, *Odo* Keyserling 1887 com 2 esp. da Austrália e 14 espécies neotropicais, sendo 5 do Brasil, *Paravulsor* Mello-Leitão 1922 com 1 esp. do Rio de Janeiro, *Vulsor* Simon 1888 com 7 espécies da África e 1 do Brasil.
4. Tíbias I e II geralmente com 6 ou mais pares de espinhos inferiores, longos e cerdiformes; cefalotórax relativamente plano, com a região cefálica bem destacada da torácica e mais elevada; olhos 2-4-2 ou 4-2-2 (no segundo caso as dimensões dos olhos anteriores semelhantes às de *Lycosa*) — ACANTHEINAE (Simon) 1897. —
- Gêneros: *Acantheis* Thorell 1891 com 6 espécies da Índia, *Ctenomma* Thorell 1890 com 1 espécie da Austrália, *Diallomus* Simon 1897 com 2 espécies de Ceilão, *Enoploecten* Simon 1896 com 5 espécies exclusivamente do Brasil, *Mesoecten* Mello-Leitão 1929, com 1 espécie de Pernambuco, *Nothroecten* Badcock 1932 com 2 espécies de Paraguassú, Bahia e do Paraguai, *Phymaectoecten* Simon 1896 com 4 espécies, sendo 3 de Costa Rica e 1 do Tocantins, Brasil, *Zora* C. L. Koch 1848 com 18 espécies da Europa e Asia Menor e 1 esp. de Alabama, *Zoroides* Berland 1924 com 1 espécie da Nova Caledônia, *Paracanthais* Kraus 1955 com 1 espécie de El Salvador.
- Tíbias I e II geralmente com 4 a 5 pares de espinhos inferiores, robustos, eréteis e moderadamente longos; olhos 2-4-2; carapaça mais elevada na região da fôvea torácica ..... 5
5. Tíbias e tarsos dos palpos em machos e fêmeas apenas com a costureira escópula ventral; na face anterior dos mesmos artículos há cerdas ou pêlos robustos — CTENINAE Simon 1897 —
- Gêneros: *Asthenoctenus* Simon 1897 com 6 espécies da Argentina, *Celaetycheus* Simon 1897 com 6 espécies de Cuba, Guianas, Porto

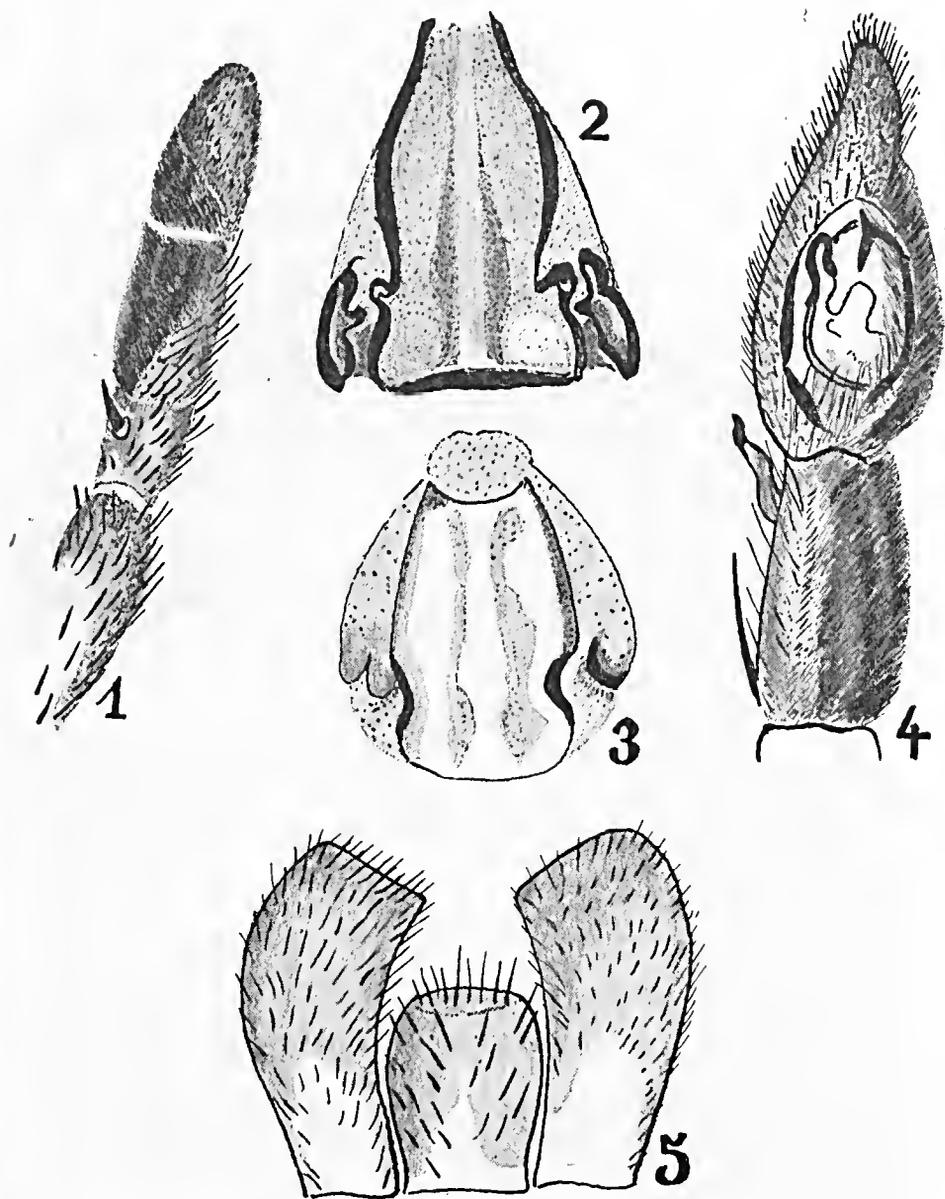


Fig. 1 — Palpo direito de uma *Phoneutria*, fêmea, com escópula veludosa nas faces anterior e ventral da tibia e do tarso.

Fig. 2 — Epígino de um espécimen de *Phoneutria* de São Paulo.

Fig. 3 — Epígino de um espécimen de *Phoneutria* da Amazônia.

Fig. 4 — Palpo do macho de uma *Phoneutria* com o esporão tibial e o bulbo copulador.

Fig. 5 — Lábio e Lâminas maxilares de uma *Phoneutria*.

Rico e Panamá, *Ctenus* Walckenaer 1805 com 127 espécies palaeárticas, 8 da região australiana, 1 neártica e 145 neotropicais, sendo cerca de 60 do Brasil, *Cupiennius* Simon 1891 com 17 espécies exclusivamente neotropicais, *Diactenus* Mello-Leitão 1938 com 1 espécie da Argentina, *Incasoctenus* Mello-Leitão 1942 com 1 espécie do Peru, *Isoctenus* Bertkau 1880 com 4 espécies, sendo 2 do Paraguai e 2 do Rio de Janeiro. *Itatiaya* Mello-Leitão 1915 com 3 espécies, sendo 1 do norte da Argentina, 1 do Brasil e 1 de Porto Rico, *Thoriosa* Simon 1910 com 3 espécies da África, *Titiotus* Simon 1897 com 2 espécies, sendo 1 da Califórnia e 1 do Brasil, *Tuticanus* Simon 1896, com 2 espécies do Peru e Equador, *Uliodon* L. Koch 1873 com 9 espécies da região australiana e 1 da Etiópia.

Tíbias e tarsos dos palpos em machos e fêmeas, além da escópula ventral ainda com escópula veludosa na face anterior — PHONEUTRIINAE subfamília nova —

Genótipo: PHONEUTRIA Perty 1833, com 12 espécies sul-americanas.

#### RESUMO

PHONEUTRIINAE é descrita como sub-família nova de CTENIDAE; é comparada com as demais subfamílias, sendo citados também os gêneros e o número de espécies de cada gênero, bem como sua distribuição geográfica.

#### SUMMARY

PHONEUTRIINAE is described as a new subfamily of the CTENIDAE, LABIDOGNATHA, ARANEIDA and compared with all the other subfamilies; the names of all the genera are given, including their number of species with geographical distribution.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Perty, M. — Brasilianische Spinnen. In J. B. de Spix et F. P. Martius Delectus Animalium... Monachii 1833 pgs. 191-209.
2. Brazil, V. e Vellard, J. — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. *Mem. Inst. Butantan* 2:3-77, 1925.
3. Brazil, V. e Vellard, J. — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas II. *Mem. Inst. Butantan* 3(1):243-299, 1926.
4. Walckenaer, C. A. — Tableau Araneorum, Paris 1805, pgs. 1-88.
5. Roewer, C. F. — Katalog der Araneae, 2. Band, Abl. a, Bruxelles, 1954, pgs. 638-658.
6. Mello-Leitão, C. de — Contribution à l'étude des Ctenides du Brésil. *Festschr. E. Strand* 1:1-31, 1936.
7. Büberl, W.; Lucas, S. e Dessimoni, V. — Redescrção dos gêneros *Ctenus* Walck. 1805 e *Phoneutria* Perty 1833. *Mem. Inst. Butantan* 31:95-102, 1964.
8. Büberl, W. — Estudos sobre a biologia e sistemática do gênero *Grammostola*. *Monograf. Inst. Butantan* 1:1-134, 1951.

9. *Bücherl, W.* — Biologia de Artrópodos peçonhentos. *Mem. Inst. Butantan* 31: 85-94, 1964.
10. *Bücherl, W.* — Distribuição geográfica de Artropodos peçonhentos temiveis e Mecanismo da picada das aranhas peçonhentas perigosas. *Mem. Inst. Butantan* 31:55-76, 1964.
11. *Bücherl, W.* — Histologia das glândulas de veneno de algumas Aranhas e Escorpiões. *Mem. Inst. Butantan* 31:77-84, 1964.
12. *Bücherl, W.* — Nôvo processo de obtenção de veneno sêco, puro, de *Phoneutria nigriventer* e titulação da LD 50 em camundongos. *Mem. Inst. Butantan* 25:153-176, 1953.
13. *Bücherl, W.* — Dosagem comparada das atividades dos extratos glandulares e do veneno puro de *Phoneutria nigriventer*. *Mem. Inst. Butantan* 25:1-22, 1953.
14. *Walckenaer, C. A.* — Hist. Nat. Inséct Aptères 1, Paris 1837, pgs. 360-372.
15. *Keyserling, E.* — Über amerikanische Spinnentiere der Unterordnung CITI-GRADAE. *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien* 26:609-708, 1877.
16. *Simon, E.* — Histoire Naturelle des Araignées 2, Paris 1897, pgs. 1-192.
17. *Simon, E.* — ARANEAE 2. In Die Fauna Südwest Australiens 2(13):155-212, 1909.
18. *Petrunkévitch, A.* — Systema Araneorum. *Trans. Com. Acad. Arts Sci.* 29: 1-277, 1928.
19. *Mello-Leitão, C. de* — Une Araignée argentine type d'une sous famille nouvelle. *Physis* 17:137, 1939.
20. *Pickard Cambridge, F.* — New species of spiders belonging to the genus *Ctenus* with suppl. notes. *An. Mag. Nat. Hist. ser.* 7:407-408, 1902.





SciELO

ARANHAS DA FAMÍLIA CTENIDAE, SUBFAMÍLIA PHONEUTRIINAE

III. REDESCRIBÇÃO DO MACHO DE *PHONEUTRIA FERA* PERTY, 1833 \*

V. DESSIMONI von EICKSTEDT

*Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo*

Até hoje, somente um macho de *Phoneutria fera* Perty, 1833 (1), o espécimen de C. L. Koch, 1848 (2), foi descrito. Todos os outros exemplares-machos mencionados ou redescritos como pertencentes a esta espécie não eram amazônicos. O espécimen de C. L. Koch fôra guardado em sua coleção particular e por consultas a colegas europeus, soubemos que provávelmente deve estar perdido.

Por êstes motivos, tendo à nossa disposição um exemplar macho de *Phoneutria*, do Território do Rio Branco, próximo à Divisa do Brasil com a Venezuela, resolvemos descrevê-lo. Embora não esteja em bom estado de conservação para nos proporcionar detalhes sôbre o colorido, pudemos aferir diversas medidas e fornecer, pela primeira vez, vários esclarecimentos sôbre a sua morfologia externa, inclusive no que diz respeito ao bulbo copulador e à apófise tibial do palpo, caracteres específicos de importância fundamental na sistemática moderna.

DESCRIÇÃO

*Medidas:* (em mm)

Compr. total (com quel.): 27                      Esterno: 5,5 x 5,0  
Cefalotórax: 14 x 11,5                      Lábio: 2,3 x 1,8

Pernas:

	Fêmur	Pa + Ti	Metat.	Tarso	Total
I	19	26	19	5	69
II	18	23	17	5	63
III	14	18	13	4,5	49,5
IV	19	22	22	6	69

*Colorido* — Como o exemplar em estudo está há muitos anos conservado em álcool damos, a seguir, a descrição do seu colorido atual: cefalotórax castanho-aver-

\* Trabalho realizado sob os auspícios do F.P.I.B.  
Recebido para publicação em 15 de março de 1968.



melhado, ornamentado por linhas escuras convergentes para a fôvea, revestido esparsamente por pêlos curtos amarelados e circundado por uma fímbria de longos pêlos flavos. Articulo basal das quelíceras castanho-escuro, revestido na frente por pêlos castanho-amarelados e com uma escópula de pêlos compridos, avermelhados, delimitando a margem superior do sulco ungueal. Pernas da mesma cor que o cefalotórax, munidas de longos pêlos amarelados no lado ventral. Tíbia e metade basal do tarso do palpo de colorido cinza-escuro, quase preto, apresentando no lado dorsal, interno, uma faixa de pêlos esbranquiçados. Esterno e coxas das pernas castanho escuros, revestidos por pêlos curtos amarelados; na base das coxas, uma zona triangular mais clara. Lábio e lâminas maxilares da mesma cor que o esterno; ápice das lâminas maxilares com pêlos longos, amarelados. Nada se pode afirmar quanto à existência ou não de desenho ou manchas no dorso do abdomen; ventre com quatro filas longitudinais de sigilas, convergentes para as fiandeiras, delimitando um campo triangular.

*Caracteres morfológicos* — *Cefalotórax* mais longo que largo com fôvea longitudinal distinta. *Quelíceras*: margem inferior do sulco ungueal com 5 dentes, o basal muito pequeno e os outros quatro equidistantes e quase do mesmo tamanho; margem superior com três dentes, o médio, o maior. *Olhos*: ver Fig. 1. *Pernas*: Espinulação — tíbias I e II com 5 pares de espinhos ventrais, o último par apical (na tíbia II os espinhos de cada par não se conservam bem lado a lado) metatarsos I a III com 3 pares de espinhos ventrais, o IV com séries irregulares de numerosos espinhos. A espinulação dos demais segmentos é semelhante à descrita para a fêmea (3). Ao redor da inserção dos espinhos existem pêlos esbranquiçados. Escópula de pêlos revestindo toda a extensão da face ventral dos tarsos I a IV, chegando até quase a base dos metatarsos I e II, revestindo a metade apical do metatarso III e ápice do metatarso IV. Longos pêlos amarelados em toda a extensão da face ventral dos fêmures, patelas e tíbias I a IV, formando um tufo basal nos metatarsos I e II, presentes na metade basal do metatarso III e praticamente em todo o metatarso IV. Tarsos com tufos subungueais e duas garras munidas de dois dentes grandes e um pequeno, seguidos ou não por uma fileira de denticulos; eles são curvos para baixo e dispostos em uma única fila (Fig. 2a, 2b). *Palpos*: com escópula anterior de pêlos cinza amarelados revestindo o terço basal do tarso, toda a tíbia, praticamente ausente na patela e presente apenas nos dois terços apicais do fêmur; tíbia cerca de duas e meia vezes mais longa que larga, com uma apófise lateral externa subapical em forma de gancho, curva para o lado ventral, praticamente do mesmo tamanho que a largura da tíbia e que termina em ponta afilada, levemente achatada (Fig. 3). As estruturas do bulbo podem ser vistas na Fig. 4.

*Material e procedência* — macho, Exemplar n.º 1183, Coleção Aracnológica do Instituto Butantan, 1/VII/1952 — Território do Rio Branco, próximo à Divisa do Brasil com a Venezuela.

*Diagnose diferencial*: distingue-se do macho de *Phoneutria boliviensis* Cambridge, 1897 pelas estruturas do bulbo e da apófise tibial (4). Do macho de *Ctenus sus* Strand, 1910 (5), proveniente do Surinam e que, conforme Caporiacco já assinalara (6), deve pertencer ao gênero *Phoneutria*, distingue-se pela apófise tibial do palpo; segundo Strand ela apresenta dois ramos que aos poucos se fundem em um só.

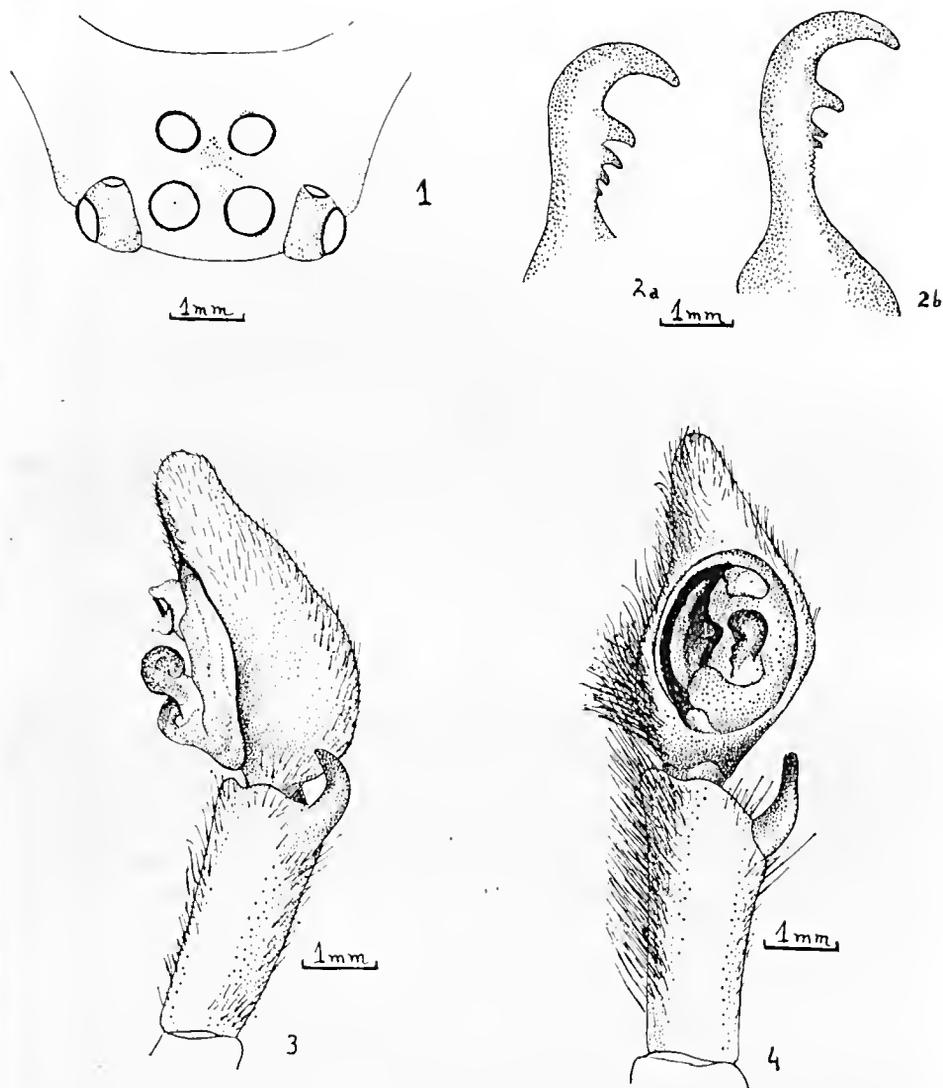


Fig. 1 — Grupo ocular do macho de *Phoneutria fera*, visto de cima, estando a aranha em posição vertical.

Fig. 2a, 2b — Garras tarsais vistas de perfil.

Fig. 3 — Tibia e tarso do palpo esquerdo, vista lateral externa.

Fig. 4 — Tibia e tarso do palpo esquerdo, vista ventral.

## DISCUSSÃO

Como a descrição do macho de *Phoneutria fera* feita por C. L. Koch em 1848 não fornece elementos realmente úteis à identificação dos machos dessa espécie e como o exemplar de Koch, muito provavelmente, está perdido, é impossível, tendo apenas um exemplar à disposição, afirmar com certeza que o macho em estudo pertença de fato à espécie *fera*. Somente com maior quantidade de material (machos e fêmeas) da localidade típica das espécies de Perty, poderíamos confirmar ou não esta classificação. Apesar disso, a escassez de exemplares machos descritos desse gênero, até esta data, procedentes da região norte do Brasil e o fornecimento de dados de morfologia externa, principalmente no que diz respeito à estrutura do órgão copulador do macho, justificam o presente trabalho.

## RESUMO

É redescrito o macho de *Phoneutria fera* Perty, 1833 (ARANEAE, LABIDOGNATHA, CTENIDAE). O primeiro macho dessa espécie foi descrito por C. L. Koch, 1848. Após várias consultas, chegamos à conclusão de que esse exemplar deve estar perdido.

## SUMMARY

The male of *Phoneutria fera* Perty, 1833 (ARANEAE, LABIDOGNATHA, CTENIDAE) is redescribed. The first male of this species was described by C. L. Koch, 1848. We are sure, after consultation of European colleagues that *P. fera* Koch's specimen as well as the *P. ochracea* type (probably a synonym of *fera*) must be considered lost.

*Agradecimentos* — Agradeço a W. Bücherl, ex-chefe da Seção de Artrópodos Peçonhentos a orientação dada na execução deste trabalho e ao Sr. Klaus Stevic, bolsista do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan, a colaboração prestada.

## BIBLIOGRAFIA

1. Perty, M. — *Delect. Anim. Artic.*, p. 197, 1833, Pl. 39, Fig. 3.
2. Koch, C. L. — *Die Arachniden*, 15:60, 1848, Pl. DXX, Fig. 1459.
3. Von Eickstedt, V. D.; Lucas, S. e Bücherl, W. — Contribuição ao estudo de *Phoneutria fera* Perty, 1833. Revalidação e sinonimias de *Phoneutria rufibarbis*, 1833, *Mem. Inst. Butantan*, 34:67, 1969.
4. Cambridge, F. O. P. — On Cteniform spiders from the Lower Amazons, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 19 (Ser. 6):80, 1897, Pl. III, Figs. 3a, b, c.
5. Strand, E. — Neue oder wenig bekannte Sudamerikanische *Cupiennius* und *Ctenus* arten, *Zool. Jahr. Syst.* 28:300, 1910.
6. Caporiacco, L. di — Arachnida of British Guiana, *Proc. Zool. Soc. London*, 118(3):681, 1948.

ARANHAS DA FAMÍLIA CTENIDAE, SUBFAMÍLIA *PHONEUTRIINAE*

IV. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA OOTECA, DOS OVOS, E A ECLOSÃO  
DA ARANHA ARMADREIRA — *PHONEUTRIA SP.*\*

SYLVIA LUCAS

*Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil.*

Em 1951 e 1952, Bücherl (1, 2) fez algumas anotações sobre o acasalamento, a ooteca e o desenvolvimento de *Phoneutria fera* e *nigriventer*. Em 1957, Tretzel (3) publicou dados interessantes sobre a criação e manutenção de *Phoneutria fera* em cativeiro.

Como nos laboratórios da Secção de Artrópodos Peçonhentos são mantidas vivas, anualmente, centenas de aranhas armadeiras para extração do seu veneno, achamos oportuno aproveitar este material para um estudo mais detalhado sobre a ooteca e o desenvolvimento embrionário.

MATERIAL E MÉTODO

Tivemos à disposição as aranhas enviadas por fornecedores, além de grande número de ootecas fixadas em álcool. Observamos a evolução de dezenas de ootecas, anualmente confeccionadas no cativeiro.

Através de uma pequena incisão num dos bordos da ooteca, retiramos embriões em diferentes fases de desenvolvimento e continuamos a observá-los dentro de pequenos tubos de vidro, envoltos em papel preto tampados com algodão.

Apesar de que o fornecimento de aranhas armadeiras para o laboratório é ininterrupto, verificando-se durante todo o ano, nota-se uma maior freqüência nos meses de abril a agosto, predominando inicialmente os machos adultos e surgindo as primeiras fêmeas com ootecas em meados de julho. Assim durante o ano de 1966 foram recebidas entre abril e agosto 486 *Phoneutria sp.*, enquanto que nos restantes meses do ano recebemos 259. Em 1967 recebemos 828 entre abril e agosto e 340 nos meses restantes.

A *OOTECA*: confeccionada em laboratório como também na natureza, apresenta-se de cor branca. Não há uma camada externa mais escura, que a confunde com o meio, como é frequentemente observado entre aranhas caranguejeiras.

A sua confecção se dá durante a noite e a mãe fixa-a num substrato. Em cativeiro observa-se muitas vezes que a ooteca é afixada ao vidro que serve de tampa para a gaiola. Não há, portanto, receio de expô-la a uma maior intensidade luminosa.

Recebido para publicação em 15 de março de 1968.

\* Trabalho realizado sob os auspícios do F.P.I.B.

A mãe cuida da ooteca cobrindo-a parcialmente com o esterno e repousando os palpos e os dois primeiros pares de pernas sobre ela. Eventualmente o terceiro e o quarto par de pernas também podem colaborar. Sentindo-se perturbada procura defender ferozmente a ooteca, despregando-a mesmo de seu substrato para afixá-la em outro ou segurando-a presa entre as quelíceras, junto ao corpo. Quando se isola a mãe, ao retornar, logo volta a procurar a sua ooteca. Retirando-se a ooteca e devolvendo-a mais tarde a mãe também a aceita sem maiores problemas.

Cada aranha faz e cuida somente de uma ooteca por vez. Excepcionalmente aceita além da sua própria uma outra, que rejeita porém mais tarde.

Raros são os casos de abandono da ooteca. Geralmente isso ocorre quando a mãe morre. A aranha não aceita alimento, de modo geral, quando está cuidando de sua ooteca. Somente a deixa por alguns segundos para beber água, que nunca deve faltar no viveiro. Às vezes devido ao estado de inanição não consegue cuidar da ooteca até a eclosão dos filhotes.

Há também parasitas que atacam a ooteca, alimentando-se tanto de ovos em início de desenvolvimento como também de aranhas prestes a eclodir. Resta, ao final, apenas um pó muito fino e a mãe termina por abandoná-la. Outras

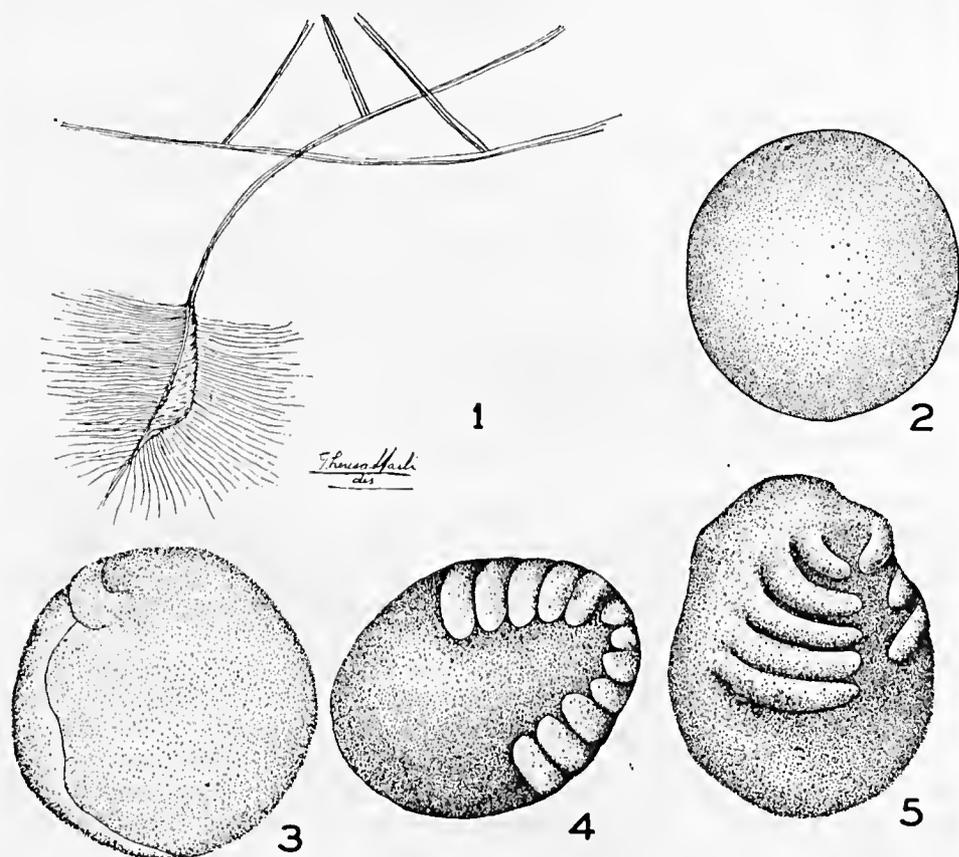


Fig. 1 — "Ventosa", detalhe de um fio de fixação.

Fig. 2 — Ovo de *Phoneutria* sp.

Fig. 3 a 9 — Diversas fases de desenvolvimento do embrião.

vêzes os ovos não se desenvolvem. Aglutinam-se numa região da ooteca e tornam-se duros e de cor amarelo forte.

A fixação da ooteca no substrato se dá por meio de inúmeros fios que se fixam no substrato através de uma espécie de "ventosa". Cada fio, realmente, é constituído de inúmeros, a "ventosa" é formada pelo fio múltiplo que termina espessado e do qual partem para ambos os lados inúmeros fios curtos (Fig. 1). Estas "ventosas" aderem fortemente ao substrato e mesmo depois de retirada a ooteca elas permanecem no local. Assim, facilmente pode-se identificar o local onde havia sido fixada uma ooteca.

A ooteca é formada por dois "pratos", um, inferior, achatado, que adere perfeitamente ao substrato e o outro, superior, que serve de tampa. Ambos estão fortemente unidos na linha equatorial. Cada "prato" é formado por duas camadas de tecido diferente. A externa é constituída de fios densos, serve para proteger a ooteca, isolando-a do meio ambiente. A outra, interna, é formada de fios frouxamente entrelaçados semelhante a uma camada de algodão. Conforme a ooteca esta camada é constituída apenas por fios formando uma rede em cima dos ovos, ou é bem espessa. Protege os ovos contra choques e os mantém no seu lugar.

O tamanho das ootecas varia. As confeccionadas em julho, agosto, isto é no início do período, são grandes atingindo em média cerca de 35 mm de diâmetro. As últimas, confeccionadas em fevereiro e início de março são pequenas raramente ultrapassando 25 mm de diâmetro.

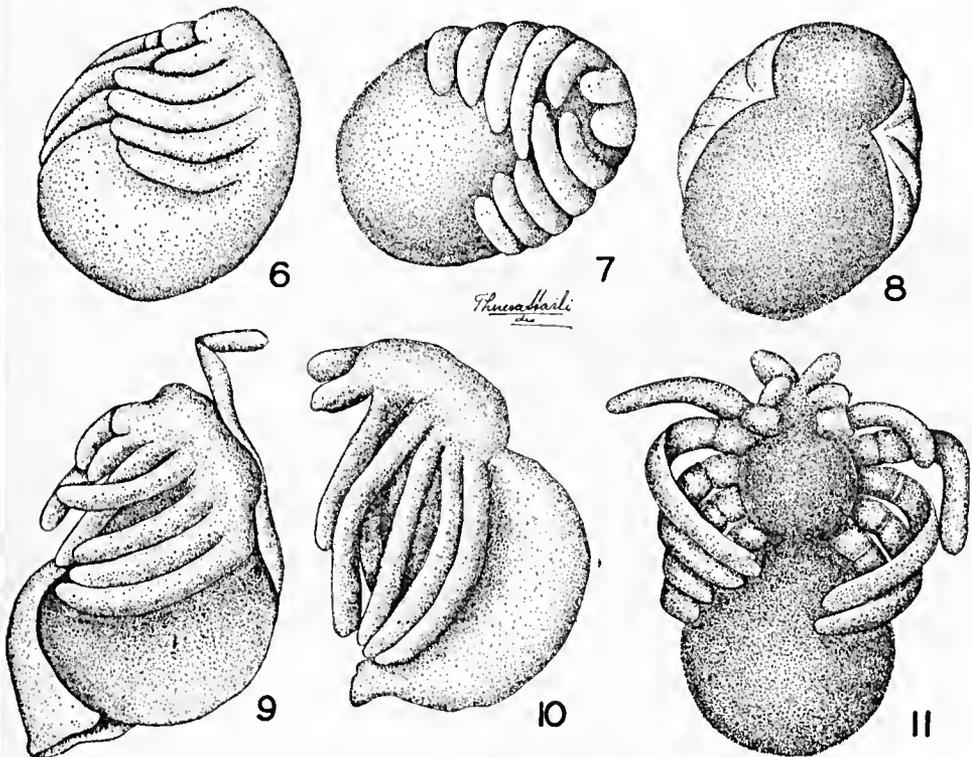


Fig. 10 — Aranha recém eclodida do corion, vista lateral.  
Fig. 11 — Aranha recém eclodida do corion, vista ventral.

Os OVOS estão dispostos dentro da ooteca lado a lado e em camadas, sem porém obedecerem a uma orientação determinada. Medem de 1,2 a 1,5 mm de diâmetro e são redondos, de cor amarelo esbranquiçada (Fig. 2). Seu número varia conforme as dimensões da ooteca, sem contudo se poder estabelecer um critério rígido. De modo geral, ootecas grandes tem maior número de ovos do que as menores.

Diâmetro da

ooteca — mm 11 12 16 19 20 21 21 24 30 31 32 38

Número de ovos 347 145 418 664 376 1073 1122 211 678 1482 1308 1677

O desenvolvimento embrionário é rápido. Pode-se acompanhar as diversas fases de desenvolvimento retirando-se, periodicamente, embriões de dentro da ooteca. Simultaneamente podem-se também observar várias fases dentro de uma mesma ooteca. Assim, ao lado de embriões bem evoluídos, há ovos ainda em início de desenvolvimento (Figs. 3, 8).

Cerca de 20 dias após a confecção da ooteca as aranhas começam a nascer, isto é, irrompem pelo corion. Este, ao final do desenvolvimento, é uma cutícula delgada, transparente, que se rompe a altura das quelíceras da aranha. Abre-se uma tampa e libertam-se o cefalotórax e os dois primeiros pares de pernas, além dos palpos. O corion através de movimentos lentos da própria aranha é empurrado para trás em direção à ponta do abdomen. Saem depois as pernas posteriores e finalmente o corion permanece preso apenas à ponta do abdomen e termina por cair (Figs. 9, 10 e 11).

Nem o filhote recém nascido, nem a mãe se alimentam do corion. Este seca, fica cada vez mais enrugado e adquire cor branea opaca e fica dentro da ooteca.

A aranha recém nascida é muito frágil. Permanece semidobrada como se ainda estivesse envolta pelo corion. Seus movimentos são lentos e raros. As pernas ficam dobradas sobre o abdomen, assim como também o cefalotórax. Lentamente procura desdobrar-se. As pernas dobram-se e novamente esticam-se, as quelíceras abrem-se e fecham-se. A aranha é muito sensível à luz. Quando retirada, nesta fase, de dentro da ooteca, para mantê-la viva é necessário colocá-la em ambiente escuro. Não pode caminhar pois não coordena seus movimentos. As fiandeiras não podem emitir fio. Toda aranha tem cor branco amarelada e é semi transparente. Não apresenta pigmentação e nem pêlos revestindo o corpo e as pernas. Os olhos estão esboçados sob forma de manchas mais brancas e a disposição corresponde à fórmula ocular das aranhas adultas. O cefalotórax, por transparência deixa ver parte do sistema nervoso. No esterno, também por transparência, observa-se a musculatura que movimenta as extremidades. As pernas são transparentes mas já existe a divisão em artículos, apesar de que a separação entre tíbia e patela, e metatarso e tarso não é muito nítida. As quelíceras apresentam uma pequena garra terminal. Os pulmões aparecem sob forma de duas manchas brancas e não há indício de fenda genital. As fiandeiras formam uma protuberância na ponta do abdomen, podendo-se ver, por transparência, os três pares. O abdomen está repleto de gema nutritiva (Fig. 10).

Com o passar dos dias a aranha torna-se mais ágil nos seus movimentos e perde um pouco seu aspecto transparente. Após eêrea de sete dias muda pela primeira vez de pele, dentro da própria ooteca.

Após a primeira muda, a aranha, apesar de ainda permanecer protegida, dentro da ooteca, apresenta maior mobilidade e suas fiandeiras já são capazes de



emitir fios. A transparência da aranha desaparece, e surge um leve revestimento piloso, tanto nas pernas como no corpo. Com o passar dos dias a aranha torna-se cada vez mais acinzentada, principalmente as pernas e o cefalotórax e aparece um desenho no abdômen. Os olhos ficam com o aspecto do dos adultos apesar de que são relativamente maiores, ocupando tôda frente do cefalotórax.

Uma semana depois os filhotes começam a sair da ooteca. A mãe ajuda a abri-la, mordendo num dos bordos fazendo uma pequena abertura. Esta ajuda da mãe é necessária. Os filhotes saem em geral durante a noite. Agrupam-se perto da mãe e permanecem quase imóveis na teia que eles próprios constroem. Não procuram alimento. Seu abdômen ainda está cheio de gema. Dois a três dias após a eclosão manifesta-se um geotropismo negativo, os filhotes constroem uma teia semelhante a um véu e procuram localizar-se no alto do viveiro, mudam pela segunda vez de pele e procuram se dispersar.

A mãe termina por abandonar a ooteca onde restam apenas o eorion, a primeira exúvia e algumas aranhas mortas e ovos que não se desenvolveram.

#### RESUMO

Nêste trabalho é feito um estudo da ooteca, dos ovos e do desenvolvimento embrionário de *Phoneutria sp.*, da família CTENIDAE, sub-família PHONEUTRIINAE.

#### SUMMARY

This work is a study about the egg sac, the eggs and the embrionary development of *Phoneutria sp.*, family CTENIDAE, subfamily PHONEUTRIINAE.

AGRADECIMENTOS — Agradecemos ao Dr. Wolfgang Bücherl pela orientação dada e a Laurinda Caly pela cooperação prestada durante a criação das aranhas. A Theresa Sarli agradecemos a feitura das ilustrações.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Bücherl, W. — Estudos sôbre a biologia e a sistemática do gênero *Grammostola* Simon, 1892. *Mon. Inst. Butantan* (1), 1951.
2. Bücherl, W. — Brutfürsorge und Brutpflege bei einigen brasilianischen Spinnen, *Trans. Internat. Congress Entomol.*, Amsterdam, 1:1091-1092, 1952.
3. Tretzel, E. — Haltung, Zucht und Entwicklung von *Phoneutria fera* (Perty) und anderen Spinnen, *Zool. Garten*, 23:74-110, 1957.



## ARANHAS DA FAMÍLIA CTENIDAE, SUBFAMÍLIA PHONEUTRIINAE

### V. A SEGUNDA FILA OCULAR EM *PHONEUTRIA* PERTY, 1833 \*

V. DESSIMONI von EICKSTEDT e WOLFGANG BÜCHERL \*\*

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Nêste trabalho é feito um estudo morfológico comparativo dos olhos, principalmente da segunda fila ocular da aranha *Phoneutria* Perty, 1833. O autor do gênero e das duas primeiras espécies, *rufibarbis* e *fera*, omitiu no desenho de *rufibarbis*, os olhos laterais anteriores e em *fera*, desenhou a segunda fila muito recurva (1). O primeiro revisor do gênero, F. O. P. Cambridge (2), em 1897, em face desses desenhos, declarou a *rufibarbis* como "forma ignota", designou *fera* como tipo do gênero e afirmou que, baseando-se na descrição sumária e nos desenhos de Perty, o gênero *Phoneutria* só poderia ser separado de *Ctenus* pela disposição dos olhos da segunda fila (reta ou procurva em *Ctenus* e recurva em *Phoneutria*) Strand (3), em 1917, reexaminou o exemplar tipo de *fera*, etiquetado pelo próprio Perty, exemplar êste que, inexplicavelmente, veio parar no Museu de Berlim e constatou que o campo ocular do espécimen estava parcialmente lesado, o que contribuiu para o deslocamento dos olhos do lado esquerdo, enquanto que do lado direito a segunda fila era, na realidade, ligeiramente recurva e não fortemente recurva como Perty, exageradamente, a representou. Assinalou não ser possível diferenciar *Ctenus* de *Phoneutria* baseando-se unicamente na disposição ocular, pois, examinando vários exemplares de *Ctenus* constatou ligeiras variações da segunda fila de olhos: desde ligeiramente procurva até ligeiramente recurva. Afirma ainda que os demais caracteres morfológicos do exemplar de Perty são semelhantes aos de *Ctenus*, não vendo, por isso, razão em separar os dois gêneros. Estudos posteriores (4, 5) permitiram o reconhecimento de caracteres que possibilitam essa diferenciação. Como Strand observou os olhos de apenas um exemplar de *Phoneutria*, achamos interessante pesquisar, em vários exemplares de uma mesma espécie desse gênero, a variação existente no tocante à segunda fila de olhos, já que, por muito tempo, êsse assunto foi alvo de intensa polêmica entre os aracnólogos.

### MATERIAL E MÉTODO

Foram estudados 50 exemplares de *Phoneutria*, procedentes dos arredores da cidade de São Paulo e pertencentes todos a 1 só espécie. As observações foram feitas com auxílio de lupa estereoscópica. A segunda fila ocular é dita *procurva* tôda vez que, traçando-se imaginariamente, uma reta tangente à margem

\* Trabalho realizado sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

\*\* Bolsista do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

Recebido para publicação em 15 de março de 1968.

anterior dos dois olhos medianos posteriores, o prolongamento dela cortar os olhos laterais da mesma fila; *reta*, quando êsse prolongamento também fôr tangente à margem anterior dos laterais e *recurva* tôda vez em que êsse prolongamento passar adiante da margem anterior dos olhos laterais.

#### RESULTADOS

O número de exemplares observados foi suficiente para mostrar a grande variabilidade existente em relação à segunda fila ocular. Conforme a posição em que se segura a aranha, num mesmo exemplar ela pode se apresentar proeurva, reta e até mesmo levemente recurva. Note-se também que, freqüentemente, ocorre assimetria quanto à posição dos olhos laterais de um e outro lados, resultando que uma metade da linha pode ser reta, por exemplo, e a outra ser proeurva.

Num dos exemplares estudados foi verificado que, segurando-se a aranha em posição vertical e observando-se os olhos de cima, a segunda fila apresentava-se reta de um lado e levemente recurva do outro. Inclinando-se um pouco a aranha para trás, mas mantendo-a ainda na posição vertical, a metade reta da linha passava a levemente proeurva e a metade levemente recurva passava a reta e até mesmo a levemente proeurva, se a inclinação fôsse um pouco maior. Segurando-se a aranha de perfil, a segunda fila ocular apresentava-se nitidamente proeurva e, quando a aranha era observada pelo lado dorsal com o cefalotórax ligeiramente inclinado para cima, a linha mostrava-se ligeiramente recurva. Pode existir, portanto, uma pluralidade de interpretações diferentes em decorrência do modo de segurar a aranha (Fig. 1 e 4).

Para obter-se um desenho que mostre a exata posição relativa dos olhos de *Phoneutria*, é necessário segurar a aranha em posição bem vertical, de tal forma que o plano dos olhos da aranha seja paralelo ao plano dos olhos do observador, isto é, que o elípeo esteja em posição horizontal. Nessa posição, vêem-se quase num mesmo plano, os dois olhos medianos anteriores e os quatro olhos da segunda fila; os dois olhos laterais posteriores ficam num plano diferente, pois estão situados um pouco mais para trás, mas, para desenhá-los não se deve mudar a posição da aranha a fim de não eausar distorsões na representação dos olhos.

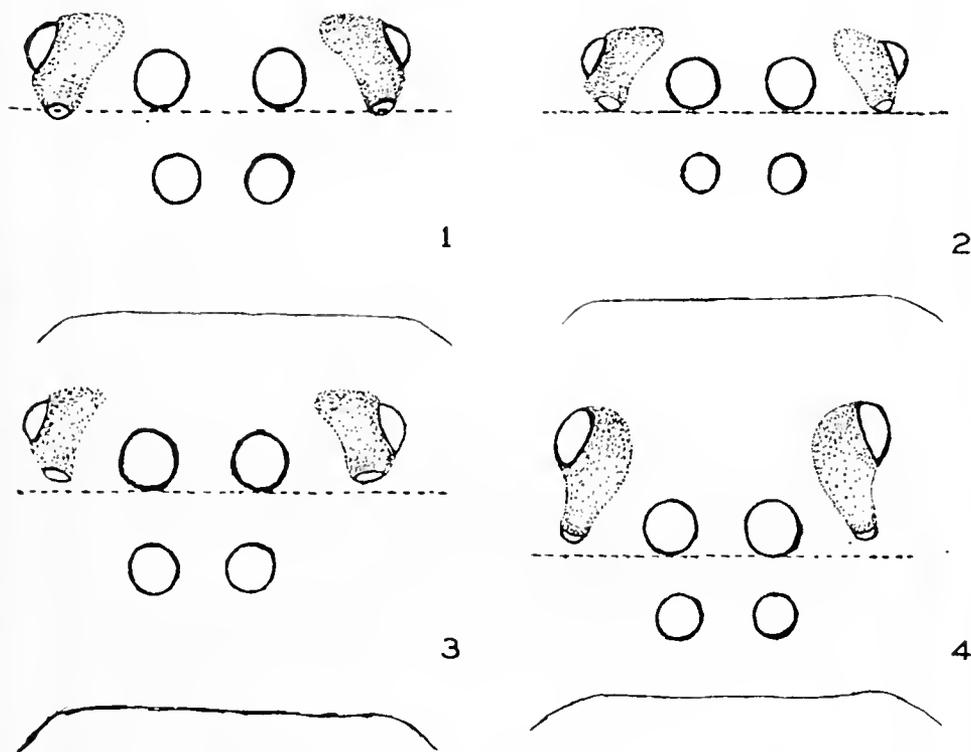
Observando-se a segunda fila ocular de vários exemplares de *Phoneutria*, sempre do mesmo modo, (elípeo horizontal), encontramos as três modalidades possíveis: de 50 aranhas examinadas, 22 apresentaram-se com segunda fila ocular ligeiramente proeurva, 17 com segunda fila ligeiramente recurva e 11 com segunda fila praticamente reta (Fig. 1 a 3).

#### CONCLUSÃO

Em face dos resultados obtidos, conclui-se que, no gênero *Phoneutria*, a disposição dos olhos da segunda fila ocular é caráter muito variável, mesmo dentro de uma mesma espécie e, portanto, não pode ser usado para caracterizar nem espécie nem gênero.

#### RESUMO

É feito um estudo da variação da segunda fila ocular da aranha *Phoneutria*, mostrando não ser possível considerá-la caráter específico ou genérico.



Figs. 1, 2 e 3 — Olhos de três aranhas de uma mesma espécie de *Phoneutria*, estando os exemplares em posição vertical, vendo-se os olhos de cima. Fig. 1 — segunda fila ocular procurva. Fig. 2 — segunda fila ocular reta. Fig. 3 — segunda fila ocular recurva.

Fig. 4 — Olhos do mesmo exemplar utilizado para a Fig. 1, estando a aranha em posição horizontal com o céfalotórax inclinado de 45° em direção ao observador. A segunda fila ocular mostra-se recurva.

#### SUMMARY

This is a study on the variation of the second ocular row of the spider *Phoneutria*, showing that it is impossible to consider it as a specific or generic character.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Perty, M. — Delect. Anim. Artic., 1833, prancha 39, figs. 2 e 3.
2. Cambridge, F. O. P. — On Cteniform Spiders from the Lower Amazons, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, Ser. 6, 19:58-60, 1897.
3. Strand, E. — Arachnologia varia. *Arch. Naturges.*, 82A(2):72, 1917.
4. Mello-Leitão — Contribution à l'Étude des Ctenides du Brésil. *Festschr. Strand*, 1:18, 1936.
5. Bücherl, W., Lucas, S. e Dessimoni, V. — Redescricao dos gêneros *Ctenus* Walckenaer, 1805 e *Phoneutria* Perty, 1833, *Mem. Inst. Butantan*, 31:95, 1964.



SPIDERS OF THE FAMILY CTENIDAE, SUBFAMILY PHONEUTRIINAE  
VI. BIBLIOGRAPHIA PHONEUTRIARUM

WOLFGANG BUCHERL \*, SYLVIA LUCAS and VERA DESSIMONI von EICKSTEDT

*Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil.*

The *Bibliographia Phoneutriarum* contains: 1. References to all original descriptions of species, with their primary synonyms, including the sex, type-locality, range of the species, and the deposition of the type specimen (when known); 2 The most important topics of the original descriptions in the languages of authors; 3. Only for the first time we cited behind the author's name and the publication's date the full title of the publication and the periodic in which it has appeared.

Petrunkevitch's (1911), Roewer's (1954), and Bonnet's (1958) general spider-catalogues dealing with *Phoneutria* (the last one) or with *Phoneutria* but sub *Ctenus* (the first two) are frequently cited in the checklist and the bibliography.

The validity of all nominal species of *Phoneutria* is not questioned here.

*Phoneutria* Perty 1833 — Bras. Spinnen, in C. F. Ph. de Martius (Editor), *Delectus Animalium...*, Monachii, 1834, pp. 196-197; Pl. 39, Fig. 3. Character Essentialis: oculi 8, subaequales: 4 antice in quadratum positi, postice utrinque 2, fere inter se contingentes. Pedes elongati: illi paris primi et quarti longitudine fere aequales, pedes paris tertii inter omnes brevissimi. Labium rotundatum. Character Naturalis: oculi 8, subaequales: 4 minores antici in quadratum positi, postice utrinque 2 parum maiores per paria valde remoti, inter se fere contingentes. Palpi subfiliformes, apicem versus paulo crassiores. Chelicornua stipite crasso robusto, unguibus paene decussatis. Maxillae ad apicem subtrigonae. Labium rotundatum. Cephalothorax antrorsum coarctatus, postice rotundatus. Abdomen ovatum. Pedes elongati: illi paris primi et quarti longitudine fere aequales, paris secundi praecedentibus breviores, paris tertii inter omnes brevissimi; omnes tarsis attenuatis. "Phoneutria" significat interfecatrix, peremptrix. Genus *Lycosae* proximum, a qua vero notis sufficientibus differt. Praeter species hic descriptas adhuc plures novi, omnes Americas Meridionalis indigenas. staturas grandis.

Type — species *Phoneutria fera* Perty, by subsequent selection by F. O. Pickard-Cambridge 1897 — *Ann. Mag. Nat. Hist.* (6) 19, pg. 59: "... and I therefore select *P. fera* Perty as the type of the genus *Phoneutria*..., one is compelled to regard it as a "forma ignota", though its generic relations are certain so far as the eye-formula is concerned...", and by E. Strand 1917 — *Arachnol. varia* 16, *Arch. Naturg.* 82 A(2), pp. 72-73: "Es liegen mir einige trockene Exemplare von Spinnen vor, die mit Perty's Handschrift "Brasília" etikettiert sind, und die ich für Perty'sche Typen halte, trotzdem leider keine Namenetiketten daran

\* Granted by the Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.  
Received for publication in march 18, 1968.

stecken; wahrscheinlich sind die Etiketten nicht an, sondern neben der Nadel des Tieres eingesteckt gewesen und sind dann nachher verloren gegangen, während die an der Nadel steckenden Lokaltatsetiketten noch vorhanden sind. Von *Ctenus* findet sich nur Cephalothorax mit Extremitäten eines einzigen Exemplares, das die Type (wenn überhaupt eine solche) von *Phoneutria fera* sein muss, da die dunkelbraune Behaarung der Mandibeln sofort zeigt, dass es *P. rufibarbis* unmöglich sein kann."

Gervais, P. 1840, *Dic. Sci. Nat. Suppl.* 1, p. 307; Erichson, G. F. 1845, Nom. syst. gen. Arachnid, in L. Agassiz, Nomencl. zool., Soloduri, p. 10; Agassiz, L. 1848, Nomencl. zool. Soloduri, p. 328; Koch, C. L. 1848, Die Arachniden, Nürnberg, p. 101, and 1851, Übersicht d. Arachnidensyst. 5, Nürnberg, p. 36; Simon, E. 1864, Hist. Nat. Araign. I, p. 377; Karsch, F. 1879, Westafrik. Arachn., *Zeitschr. ges. Naturw.* 52, p. 344; Keyserling, E. 1881, Neue Spinn. aus Amerika II., *Verh. zool. bot. Ges. Wien* 30, p. 575; Scudder, S. H. 1882, Nomencl. zool. Washington, and *Bull. U. S. Nat. Museum*, 19; Pickard-Cambridge, F. O. 1897; Seherborn, C. D. 1922, Index Animalium... London, p. 4923; 1932, p. 829; Petrunkevitch, A. 1928, Syst. Araneae., *Trans. Conn. Acad. Arts Sci.* 29, p. 241; Mello-Leitão, C. de 1936, Contr. à l'étude des Clénides du Brésil, *Festschr. E. Strand* 1, pgs. 2, 14; Neave, S. A., 1939, Nomencl. zool. London, p. 725; Bonnet, P. 1958, *Bibl. Ar.* II, p. 3619; Bücherl, W., Lucas, S. and Dessimoni, V. 1964, Redescrção dos gêneros *Ctenus* e *Phoneutria*, *Mem. Inst. Butantan* 31, pgs. 95-102.

*Ctenus*: Walckenaer, C. A. 1837, Hist. Natur. des Ins. Aptères, Paris, pgs. 369-370; Simon, E. 1864, p. 478; 1897, Hist. Nat. des Araign. II, Paris, pgs. 108-111; Keyserling, E. 1891, Spinn. Amerikas, Bras. Spinn., Nürnberg, 3, pgs. 144-145; Pickard-Cambridge, F. 1897, On Cteniform Spid. from the Lower Amazons... *Ann. Mag. Nat. Hist.* (6) 19, pgs. 78-79; 1898, On the Cteniform Spiders... *Proc. zool. Soc. London*, p. 18; Strand, E. 1907, Über drei Clubioniden... *Zeitschr. Naturw.* 79, p. 425; Petrunkevitch, A. 1911, Synonymie Ind. Catalogue... *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 29, p. 471; Mello-Leitão, C. de 1917, Notas Aracnol., *Broteria* 15, p. 97; Novas Club. do Brasil, *Arch. Esc. Sup. Agr. med. Vet.* 6, p. 41; Aracnídeos de Sta. Catarina, *Rev. Mus. Paul.* 15, pgs. 397-403; Roewer, C. F. 1954, Katalog der Araneae 2, Abt. a, Bruxelles, pgs. 638-639.

#### 1. *Phoneutria andrewsi* (Pickard-Cambridge, F. O.)

*Ctenus andrewsi* Pickard-Cambridge, F. O. 1897, On Cteniform spiders from the lower Amazons. pgs. 79-80 Pl. III Fig. 2 e; "Hab. Santarém and Pará Forest. Type in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London. Female. Length 32 mm. Colour the same as in *reidyi*, except that the abdomen has a dorsal series of three conspicuous and three smaller and less conspicuous spots on each side of the central line. Vulva longer in proportion to its breadth. Lateral curved side-pieces absent, their place taken by a black tubercle surmounted by sharp black spur. Measurement in millim. Tot. len. 32, carp. 12,25; legs I — 56, II — 51,5, III — 42,5, IV — 56; pat. + tib. I — 20, IV — 16, III — 12,25. Two females were taken from the hollow stem of a decayed palm-tree in the forest close to Pará, near the Casa da Orlaria. Both of them had a large dull white egg-sac attached to the inner surface of the hollow stem. This form is evidently very closely allied to *reidyi*, but, seeing that the two specimens from Pará were evidently fully adult, the differences are not merely those due to immaturity, as one would have otherwise suspected. I shall be surprised if fresh material does not confirm the specific differences between the two forms, though it is never safe to prophecy without being in possession of the facts. A third example was taken in the forest near Santarém,

wandering about some wooden palings close to the "Sitio Andirobal". These huge spiders are evidently nocturnal in their habits, the last mentioned specimen having been disturbed from its hiding-place; P. Cambridge, F. O. 1902, New species of Spiders belonging to the genus *Ctenus*, with supplementary Notes, *Ann. Mag. Nat. Hist. Série 9* (7), pgs. 409-412; Petrunkevitch 1911, p. 471; Strand, 1915, *Archiv. f. Naturg.* A9, pg. 129; Vellard, J. 1936, Le venin des Araign. Paris, p. 173; Roewer, F. 1954, p. 647.

*Phoncutria andrewsi* Mello-Leitão, C. de — 1936, p. 15: "Nós vimos uma fêmea do Alto Juruá: compr. tot. 32 mm; pernas: 46 — 41,5 — 34,5 — 44,5; pat. + tíb. I — 18,5; II — 16; III — 13; IV — 15; metat. I — 11; II — 10; III — 8; IV — 13,5 mm. Pêlos das quelíceras róseos; tibia dos palpos marron com duas linhas cinzentas; dorso do abdomen com quatro pontos vermelho-escuros; tíbias com longos pêlos".

## 2. *Phoncutria boliviensis* (Pickard-Cambridge, F. O.)

*Ctenus boliviensis* Pickard-Cambridge, F. O. 1897, *Ann. Mag. Nat. Hist.* 19 (6), pgs. 80-81; Pl. III, 3 a-c: "Male and female. *Hab.* Bolivia. *Types* in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London, 1896. Male: total length, including mandibles, 34 mm; female 40 mm. Male-colour: carapace, legs and sternum very dark red-brown mahogany, clothed with dull yellow-brown pubescence. Abdomen brown, clothed with yellow-brown pubescence. Legs clothed beneath with thick yellowish hair. Female: colour similar to that of the male, but darker. Abdomen with broad central scalloped pale band and two or three oblique lateral bands of pale spots extending down the sides, while the integuments have been denuded of pubescence. Pedipalps without pale lines in front. Mandibles clothed at apex with dull orange hairs. Male: *structure* - carapace, profile almost straight. Eye-formula similar to that of *reidyi* and *andrewsi*. Lateral eyes on a distinct tubercle; second row straight by anterior margins. Ocular quadrangle slightly longer than broad, scarcely narrowed in front. Armature of legs similar in both sexes to that of *reidyi*. Lower margin of fang-groove with 5 teeth, upper with 3. Tarsal elaws 2, with 4 curved denticules. Clawtuft present. Scopula thick on protarsi and tarsi I and II, slighter on protarsus III, and absent on that of IV. Tibia of pedipalp furnished with a very thick scopula, and its apex on outer side armed with a very stout, curved, chisel-headed spur. For palpal organs see Pl. III, fig. 3, a, b, c. Female: *structure* similar to that of the male. The vulva was so damaged that no satisfactory figure can be made of it. It is, however, similar in general character to those of *keyserlingi* and *nigriventer*.

Measurements in millim. — Tot. len. 41, carap. 16,75; legs I — 65; II — ?; III — ?; IV — 64. These, the largest species of the genus I have met with (except *reidyi*), were taken by Herr Rolle at "Madre de Dios (Bolivia). They are allied to *reidyi*, but have not the pale lines on the palps (female), nor is the hair on the mandible of so bright an orange".

Strand, E. 1907 — Über drei Clubioniden und eine Pisauride von Sorata in den Cordilleren. *Zeitschr. Naturw.* 79, pgs. 426-427: "*Ctenus boliviensis* F. Cambr. 1897 — Günther leg. Museum Lübeck. Weibchen: Totallänge 39 mm. Cephalh. 17,5 mm lang, 13,5 mm breit, am Clypeus 7-8 mm breit. Abdomen 19 mm lang, 14 mm breit. Mandibeln 8,5 mm lang, an der Basis 6,5 mm breit. Palpen: Fem. 7, Pat. 3,5, Tib. 4,8, Tars. 5,6 mm, zusammen 20,9 mm. Beine: I — Fem. 16, Pat. 7,5 Tib. 16,2, Metat. 14,5, Tars. 4,5 mm; II — bezw. 15; 7,2; 14,2; 13; 4,5 mm; III — 12,5; 6; 10; 10,5; 4,3 mm; IV — 15,5; 6,2; 13;

17; 4,5 mm. Total: I — 58,7; II — 53,9; III — 43,3; IV — 56,2 mm. Epigyne 2,8 mm lang, grösste Breite (über die Seitenfortsätze) 2,9 mm, Breite des Endstückes 2 mm, grösste Breite des Mittel (Vor) stückes 1,9 mm, Länge desselben 1,7 mm. Sie besteht aus einem dunkelbraunen, an den Seiten senkrechten, oben mitten der Länge nach eingesenkten, an den Seiten, insbesondere hinten, wulstartig verdickten, nach vorne verschmälertem Mittelstück, das sich vorn in einen ganz kurzen, grob gekörnelt "Hals" verlängert, hinten plötzlich niedergedrückt ist und unmittelbar vor dieser Einsenkung eine kleine mittlere Erhöhung zeigt; das beiderseits gerundete, hinten quergeschnittene, doppelt so breites als langes Endstück ist durch eine fein erhöhte Querleiste von dem Mittelstücke getrennt; die Seitenwülste des letzteren glatt, glänzend, sonst das Ganze fein gestreift und matt. In Flüssigkeit erscheint das Mittelstück an den Seiten schwarz, sonst dunkelrot, das Endstück braun, die Seitenfortsätze schwarz. Letztere bilden zwei nach hinten leicht konvergierende, dicke, schräg nach hinten gerichtete, am Ende horizontal abgeschnittene, also an der hinteren Ecke spitze, an der vorderen stumpfe Längsplatten, deren Spitze im Niveau mit den Seitenwülsten des Mittelstückes gelegen ist; eine die beiden Fortsätze hinten tangierende Gerade würde mit der das Mittel — und Endstück trennenden Leiste zusammenfallen. Von vorne gesehen erscheinen die Seitenfortsätze als zwei etwa parallelgerichtete, vom Mittelstück um mehr ihre Breite entfernte, nach aussen stark konvex gebogene Längsleisten, die von vorn nach hinten allmählich ansteigen.

F. Cambridge's Bestimmungstabellen der neotropischen *Ctenus*-Arten (1897) führen auf *Ct. reidyi*; unsere Art unterscheidet sich aber von dieser ausser durch die Epigyne noch durch den rötlichbraunen, vorn am stärksten verdunkelten Cephalothorax, Abdomen ebenfalls im Grunde dunkelbraun mit kaum merklich helleren Flecken, die eine Längsreihe von vier quergestellten, dreieckigen Doppelflecken bilden. Behaarung der Mandibeln in der Basalhälfte aus schwarzbraunen, nur an der Spitze gelblichen Haaren bestehend; Lippenteil und Palpencoxen dunkelbraun, schwarz behaart, auch ersterer an der Spitze rötlich behaart. Die ganzen Beine im Grunde rötlichbraun, schwach violettlich glänzend, Femoren I und II unten in der Endhälfte schwärzlich, unten innen in der Basalhälfte lebhaft ockergelb behaart; Behaarung der Tibien unten olivenfarbig dunkelgrau, Scopula grauschwarz bis rein schwarz; Oberseite aller Glieder rost-rotbraun, goldig schimmernd behaart; an der Basis aller Stacheln ein kleiner weisslicher Haarfleck. Unten am Gelenke zwischen Tibien und Metatarsen einige ockergelbe Haare. Hinterbeine unten mehr einfarbig, trüblich bis braungelblich behaart, die Scopula heller als an den Vorderpaaren. Palpenfemoren oben an der Spitze und die Patellen wie die Oberseite der Beine, erstere aussen gelblich behaart, Scopula dunkelgrau; Tibial- und Tarsalglied wie bei *reidyi*; die helleren Längslinien erscheinen trocken gesehen weisslich und erstrecken sich am Tarsalglied nur über die 2 basalen Drittel. Tibia I etwa bis zur Mitte scopuliert, II nicht so weit, aber beide unten mit dichter, fast scopulaähnlicher Behaarung. Metatarsen III nicht ganz bis zur Basis, IV im apikalen Drittel scopuliert; Tibien und Metatarsen III und IV länger behaart als I — II. Behaarung des Cephalothorax aus feinen anliegenden rostbraunen und darunter gemischten weissen Haaren, sowie, jedenfalls hinten, mit unter sich entfernt stehenden, längeren hellgelblichen, abstehenden Haaren. Abdomen mit rötlichbraunen, am Ende weisslichen bis gelblichen Haaren unten wie oben bekleidet. Vordere S.A. um reichlich ihren Durchmesser von den hinteren entfernt; vordere M.A. unter sich um erheblich weniger, von den hinteren M.A. fast um ihren Durchmesser entfernt. Sonst Augen wie bei *reidyi*. *Bestachelung*: Femoren I- oben 1-1-1, vorn in der Endhälfte 1-1, hinten 1-1-1-1; II — III: oben 1-1-1, vorn und hinten je 1-1-1-1, IV: oben 1-1-1, hinten an der Spitze 1-1 Stacheln. Patellen III — IV vorn

und hinten je 1 Stachel. Tibien I — II unten 2-2-2-2-2, III — IV unten 2-2-2, vorn und hinten je 1-1, oben in der Endhälfte 1 Stachel. Metatarsen I — II unten 2-2-2, an der Spitze scheint ein kleiner Stachel jederseits vorhanden gewesen, III unten 2-2-2, vorn und hinten je 1-1-2, IV unten hinten je 1-1-2-2, unten vorn 1-1-1, an der Spitze unten mitten 2, vorn und hinten je 1-1-1, oben in der Endhälfte 1 Stachel. Palpen: Fem. oben am Ende 1-4 (dasselbst innen scopuliert, sonst die Palpen wie bei *reidyi* scopuliert), Pat. innen 1, Tib. an der Basis 4, nämlich innen 2, oben und aussen je 1, Tars. an der Basis innen 2, aussen ebenda 1 Stachel.

In Flüssigkeit erscheinen Cephalothorax und Extremitäten dunkelrot, die Seiten des Kopfteiles und eine Schrägbinde von den hinteren S.A. bis zum Rande undeutlich dunkler; Augen dunkel bernsteingelb. Mandibeln schwarz, vorn in der Endhälfte lebhaft orange gelb behaart. Abdomen oben schwärzlich mit deutlich erkennbarer Fleckenreihe, an den Seiten mit gelblicher Behaarung. Bauch und Abdominalseiten dunkel olivengraubraun, ersterer um 2,7 mm hinter der Spalte mit zwei kleinen, weissen, unter sich um 2,2 mm entfernten Muskelpunkten, letztere mit schwacher Andeutung hellerer Querbinden. Unterseite des Cephalothorax und Coxen rötlich dunkelbraun.

*Männchen* — stimmt mit Beschreibung und Figuren von *Ct. boliviensis* F. Cambridge 1897 mit der Ausnahme, dass es ein wenig grösser ist, das Tibialglied der Palpen vorn 2 helle, sich auch an der Basis des Tarsalgliedes fortsetzende Längsbinden hat (wie bei *Ct. reidyi*) und die Metatarsen IV wie III scopuliert. Letztere beiden Abweichungen würden sich wohl durch die Annahme, F. Cambridge's Typen seien abgerieben, erklären lassen und erstere ist von wenig Belang. Falzrandbürste lebhaft orange. Totallänge 38 mm. Cephal. 19 mm lang (ohne Mandibeln), 15 mm breit, am Clypeus 7,5 mm breit. Abdomen 17 mm lang, 13 mm breit. Mandibeln 8,5 mm lang, 7 mm breit. Sternum 8 mm lang, 7 mm breit. Palpen: Fem. 9, Pat. 4, Tib. 5, Tars. 7 mm lang, 3,5 mm breit. Beine. I — Fem. 21,5 Pat. 9, Tib. 32,5, Metat. 32,5, Tars. 7 mm; II — 20,5; 8,5; 20; 20; 6; III — 17,5; 7,5; 14; 16; 5,5; IV — 21; 7,7; 18,5; 26,5; 6,5. Totallänge: I — 102,5; 75; 60,5; 80,2 mm. Abdomen erscheint in Flüssigkeit bräunlich mit 2-3 Paaren kleiner, hellerer Punkte. Femoren (jedenfalls I u. II) unten in der Endhälfte dunkler als an der Basis und als oben. Abdomen oben höchst undeutlich mit feiner schwarzer Längslinie und 3 helleren Wischen jederseits dieser vor der Mitte gezeichnet.

Da die Palpenorgane des Männchens ganz mit *boliviensis* stimmen, die Epigynen jedenfalls ähnlich sind (über die von *boliviensis* enthält die Beschreibung nur eine Andeutung), die Lokalitäten nicht sehr weit entfernt und Cambridge's Typen, jedenfalls das Weibchen, abgerieben waren, wird unsere Art wahrscheinlich *Ct. boliviensis* F. Cambr. sein. Auf alle Fälle möchte ich jedoch den Namen *bolivicola* mihi vorschlagen.

Bei einem weiteren, wahrscheinlich derselben Art angehörenden, kleineren und anscheinend jüngeren, wenn auch reifen *Weibchen* ist die Epigyne heller rot, die Seitenwülste nicht so schwarz, eine deutliche Querleiste zwischen Mittel- und Endstück findet sich nicht, die Seitenfortsätze sind etwas schräg gegen das Mittelstück geneigt und erscheinen von vorne gesehen gerade, nur an der Basis leicht nach aussen gebogen; ihre Spitze ragt auch ein wenig höher und zwar ein klein wenig höher als die Seitenwülste des Mittelstückes. Ich möchte diese Abweichungen als Altersunterschied erklären... Eventuell wäre das grösste Weibchen als Type meiner *bolivicola* anzusehen".

Petrunkevitch, A. 1911, p. 471; Roewer, F. 1954, p. 648; Bonnet, P. 1956, p. 1276.

*Phoneutria boliviensis* Schmidt, G. 1954, Zur Herkunftsbestimmung von Bananenimporten nach dem Besatz an Spinnen, *Zeitsch. f. angew. Entomol.* 36(4), pgs. 414-415, Figs. 7a and 7b — vulva: one female. Hamburg.

### 3. *Phoneutria colombiana* Schmidt.

*Phoneutria colombiana* Schmidt, G. 1954, *Zeitschr. f. angew. Entomol.* 36(4), p. 406; Type of the vulva of the female like in Fig. 7b (*Ph. boliviensis*); ventral side of the abdomen with four series of whitish points- *Ph. colombiana* sp. n.; p. 418: *Phoneutria colombiana* sp. n. gehört gleichfalls in die *P. boliviensis* Gruppe. Die sehr grosse Spinne trägt dorsal auf dem Abdomen eine 2-reihige Punktzeichnung". Type in coll. of the Institut für Umweltforschung der Universität Hamburg. Type-place- Colombia; with bananas.

### 4. *Phoneutria dccora* Gerstäcker

*Phoneutria dccora* Gerstäcker, A. 1873, Arachnoidea, in C. Von Der Deeken, Reisen in Ostafrika 3(2), Leipzig, p. 483 Pl. 18, fig. 7. Type- one female; Type-place- Mbaramu, East Africa; Simon, E. 1890, Études Arachnol. 22. *Ann. Soc. ent. Fr.* (6) 10, p. 851; 1892, Arachnida in Höhnel, L. R. von, Zum Rudolph See und Stephanie See, Wien, p. 851; Bösenberg, W. and Lenz, H. 1894, Ostafrikanische Spinnen, *Jahrb. Hamb. wiss. Anst.* 12(2), p. 35; Pickard-Cambridge, F. O. 1898, On some arctic spiders. . . , *Journ. Linn. Soc., London* 26, pgs. 15,18; Arts. L. Des 1912, Zusammenstellung der afrikanischen Arten der Gattung *Ctenus*, *Jahrb. Hamb. wiss. Anst.* 29(2), p. 213; Bonnet, P. 1958, p. 3620.

*Ctenus decorus* Roewer, Fr. 1954, p. 640.

### 5. *Phoneutria fera* Perty

*Phoneutria fera* Perty, M. 1833, *Delect. Anim.* p. 197, Pl. 39, Fig. 3: "Tota fusco brunnea; pedibus nigro setulosis. Leg. 15'" (34 mm). Habitat ad flumen Rio Negro dictum, Provinciae ejusdem nominis. Specie praecedente (*rufibarbis*) satis major, crassior, robustior. Supra et subtus fusco — brunnea, unicolor, opaca, brevi — pilosa. Chelicornua ungue atro, nitido. Pedes passim setulis nigris muniti, quae e punctis albis oriuntur; subtus in geniculis flavi".

Gervais P. 1840, p. 307; Koch, C. L. 1848: "Männchen 13'" = 29 mm; Weibchen 15'" = 34 mm. Vaterland — Brasilien. Beschreibung des Männchens: . . . Die 4 Mittelaugen . . . ziemlich im Quadrate stehend und kaum um Augenbreite voneinander entfernt, die 2 hinteren Mittelaugen etwas grösser als die vorderen, alle vier vorwärts sehend. Das vordere Seitenaugsehr klein, dem hinteren Mittelaugse zur Seite, . . . das hintere Seitenaugse ein klein wenig seitwärts hinter dem vorderen liegend, das hintere von der Grösse des vorderen der 4 Mittelaugen und ziemlich rückwärts sehend. . . Das Tasterendglied stark gewölbt, muschelförmig, mit verlängerter etwas dünner Spitze; alle Tastenglieder dicht filzig behaart. Die männlichen Genitalien dick, nierenförmig, an der Spitze nach unten ein schwärzliches Anhängsel. Der kleine Hinterleib des Mannes ist zottig dicht behaart. Die Beine sehr lang, die zwei vorderen und hinteren ziemlich gleich lang, das 2. Paar etwas kürzer als das 1., das 3. am kürzesten. . . Die Stachelborsten an diesen kurz und nicht stark. Vorder- und Hinterleib erdfarbig bräunlich ocker gelb, der Hinterleib oben etwas dunkler. Die Fresszangen rostrot, vorn aufs Ockergelbe ziehend, an der Spitz ins Rote übergehend. Taster und Beine ockergelb, wie der Vorderleib, die Schenkel an der Spitze ins Hellbraune übergehend, die folgenden



Glieder braungelb, der bürstenartige Filz unten an den Fersen und Tarsen grauschwarz. Die Iris der Augen dunkelbernsteinfarbig". "Das Weibchen ist grösser, stämmiger und hat kürzere Beine. In der Farbe sind beide Geschlechter gleich. Nach den Beschreibungen von Perty und Walckenaer geht letztere ins dunkler Braune über.

A fêmea, recharacterizada por Koeh, era a mesma que Perty usara para descrever *P. fera*. A mesma, em 1917, já se encontrava no Museu de Berlim e foi redescrita por Strand. A etiqueta de procedência "Brasília" era ainda manuscrita por Perty (Strand, 1917). Em vista disto, tudo faz supor de que também o macho, descrito por Koeh, era da coleção do Gabinete Real de Munich, e pertencia também às coletas que Spix e Martius realizaram às margens do rio Negro, Amazonas.

Holmberg, E. L. 1876, Aracnidos argentinos. *An. Agr. Argent.* 4 p. 26: "Sólo un ejemplar, hembra, tomado eêrca de Buenos Aires, en San José de Miraflores por el Sr. Coni, existe en nuestra colección (Musco Público de Buenos Aires). Por este hallazgo, su distribueión geográfica se extiende desde las Guayanas, por el Brasil, hasta Buenos Aires".

É evidente, que o exemplar citado por Holmberg dos arredores de Buenos Aires, não pertence à espécie *P. fera*, que é amazônica e sim a uma espécie nova, aliás a primeira do gênero da área atlântica sul e à qual a maioria dos autores posteriores continuaram errôneamente designando como *fera*. Parece-nos que devem ser referidos a ela a diagnose e os desenhos de R. D. Selhiapelli e B. S. Gerschman de Piekelin, em Mem. Inst. Butantan 33(3), pgs. 675-679, 1966.

Piekard-Cambridge, F. O. 1897, p. 66: "... The specific identity (of Perty's specimen) cannot be determined. I have little doubt that the figure of the eyes is entirely wrong.. but no one, not even the "earliest author", has any right to assume that Perty's figure of the eyes is wrong... If the figure is correct, then Keyserling's *ferus* is not the same as Perty's. I have assumed the figure to be correct, and have therefore given to Keyserling's *ferus* a new name... Whatever Koeh's species (male, 29 mm, female, 34 mm) may be (and possibly the type is still in existence), one cannot consider it *P. fera* Perty, nor *Ctenus ferus* Walck., with both of which Koch regards his species as identical.

Mello-Leitão, C. de 1936, pgs. 15, 16: "*P. fera* e *P. nigriventer* constituem as duas espécies mais frequentes do Brasil e também as mais volumosas, medindo as fêmeas de 35 a 40 mm e os machos de 30 a 32 mm. Medidas mais comuns para *P. fera* — Fêmeas — 32 a 35 mm; Patas I: 14 — 15; 20,5; 12 — 13; 4,5 = 52 — 54 mm; II: 13 — 14; 19,5; 10 — 12; 4,5 = 47 — 51 mm; III: 10 — 11; 14,8; 9 — 10; 4 = 37 — 40 mm; IV: 14 — 15; 17 — 20; 15 — 17; 5 = 51 — 56 mm. Machos — 30 mm; Patas I: 18 — 26,5; 20; 6,5 = 71; II: 18; 24; 17,5; 6,5 = 66; III: 14; 18; 13; 4 = 49; IV: 19; 23; 21; 7 = 70 mm.

Schmidt, G. 1954, Zur Herkunftsbestimmung von Bananenimporten nach dem Besatz an Spinnen, *Zeitsch. f. angew. Entomol.* 36(4), p. 419, Figures 12a and 12b: "*Phoncutria fera* Perty wird bis zu 4 cm lang und ist durch Augenstellung, braune Körperfarbe und Form der Vulva hinlänglich gekennzeichnet". Bücherl, W., Studies on dried venom of *P. fera* Perty, in E. E. Buckley and N. Porges (Editors), *Venoms*, Amer. Ass. Adv. Sci. Washington, pgs. 95-97, 1956. Bonnet, P. 1958, p. 3620.

*Ctenus ferus*: Walckenaer 1837, p. 370 (the same specimen of Perty); Keyserling, E. 1891, Die Spinn. Am. Bras. Spinn. 3, p. 145: Weib- Totallänge 30 mm; Cephalothorax lang 17,2; in der Mitte breit, 13,1; vorn breit 7,3 mm; Abdomen lang 18,5, breit 13 mm; Bein I: 14,6 — 7 — 13,5 — 12,2 — 3,6 = 50,9 mm;

II: 14,0 — 6,9 — 12,6 — 11,2 — 3,6 = 48,3 mm; III: 11,0 — 5,8 — 8,5 — 8,8 — 3,0 = 37,1; IV: 14,6 — 6,2 — 12,0 — 15,0 — 4,0 = 51,8. Das ganze Tier dicht und kurz behaart, Cephalothorax und Abdomen einfarbig braun, die Beine, besonders oben, gelblich, die Schenkel unten am Ende und die Tibien, sowie die Metatarsen unten in ihrer ganzen Länge schwärzlich, die Mandibeln vorn mit rötlichen Haaren besetzt... Position of eyes and leg lengths are the same like in *C. nigriventer*. *Habitat*: Rio de Janeiro. Prof. Göldi legit. *Type*: in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London. Göldi, E. A. 1892, Zur Orientierung in der Spinnenfauna Brasiliens. *Mitt. Osterl.*, (N. F.) 5, p. 213. Simon, E. 1897, p. 108; 1897, List des Arachnides... dans la République Argentine et le Paraguay... *Bol. Mus. Zool. anat. comp. Torino* 12(270), pgs. 2, 3. Pickard-Cambridge, F. O. 1897, pgs. 53, 58, 81, Pl. 3, fig. 2c: "The two forms referred by Count Keyserling to *P. rufibarbis* and *P. fera* Perty, sub *Ctenus*, have been re-named (by me) *pertyi* and *keyserlingi* respectively"; p. 55: "*C. keyserlingi* nom. nov. = *C. ferus* (Perty) Keys. P. 81, Pl. 3, fig. 2-c". P. 58: "...it is probable that Perty is describing one of the larger *Cteninae*, there is no certainty in the matter. He says "oehracea, chelicornubus rufo — hirtis", a coloration which is to a greater or less extent characteristic of several other large species. There is, however, *one character which, if it appeared on any form of large Ctenus, would go far to substantiate its identity*" — abdomine albobueto. Seriebus tribus longitudinalibus punctorum alborum" — a character which receives double significance from Perty's figure. If one (spider) is found so decorated, my conclusion would need reconsideration... The figure of the eye formula... the second row of eyes is strongly recurved (in the figure). In all the New World forms I have been able to examine this row is either *straight* or *procurved*... The *type* of the form to which Keyserling assigned the name *P. fera* Perty, is now before me, and in this specimen the second row of eyes is most distinctly *straight*. It cannot be called *fera* Perty, and I have much pleasure... to refer it as *C. keyserlingi*. As to the specific identity of the true *P. fera* Perty, one is compelled to regard it as a "forma ignota" also, though its generic relations are certain so far as the eye-formula is concerned. Keyserling probably concluded that Perty's figure was erroneous; most likely it is, but without any description bearing out such a conclusion, one has no right to assume it to be so". P. 61: "*Ctenus ferus* (Perty) Walck. 1837. Female, 34 mm. Rio Negro, Brazil". P. 64: "*Ctenus ferus* (Perty) Keyserling 1891. Female, 30 mm; Rio de Janeiro; Göldi legit; *type* in coll. Brit. Mus. Nat. Hist. I changed the name of this specimen to *C. keyserlingi*... I may add, however, that it is very unlikely that a species found at Rio Janeiro would be identical with one taken on the Rio Negro. The vulva having never to my knowledge been figured, I give one from Keyserling's *types* Pl. III, fig 2-c"; 1902, p. 412: *C. keyserlingi* F. Cambridge for *C. ferus* (Perty), the specimen of Keyserling — Rio de Janeiro. Moenkhaus, W. J. 1898. Contribuição para o conhecimento das aranhas de São Paulo, *Rev. Mus. Paulista*, 3, p. 78: *Habitat*-Piquete, State of Rio de Janeiro, Brazil; Banks, N. 1899, Spiders among Bananas, *Ent. News* 10, p. 44; Petrunkevitch 1911, p. 473 (*keyserlingi*); Strand, E., 1917, *Arachnol. Var. Arch. Naturg.* 32A(2), p. 72: "Es liegen mir einige trockene Exemplare von Spinnen vor, die mit Perty's Handschrift "Brasília" etikettiert sind, und die ich für die *Perty'schem* *typen* halte, trotzdem leider keine Namenetiketten daran stecken. Wahrscheinlich sind die Etiketten nicht an, sondern neben der Nadel des Tieres eingesteckt gewesen und sind dann nachher verloren gegangen, während die an der Nadel steckenden Lokalitätsetiketten noch vorhanden sind. Von *Ctenus* findet sich nur Cephalothorax mit Extremitäten eines einzigen Exemplares, das die *Type* (wenn überhaupt eine



solche) von *Phoneutria fera* sein muss, da die dunkelbraune Behaarung der Mandibeln sofort zeigt, dass es *P. rufibarbis* unmöglich sein kann... Bei dem Typen... exemplar ist leider das Augenfeld etwas beschädigt, wodurch das linke hintere M. A. stark verschoben und das linke vordere M. A. schwach verunstaltet worden ist. Jedenfalls deuten die rechten Augen, die unbeschädigt geblieben, an, dass die 2. Augenreihe tatsächlich schwach recurva ist, als der Hauptsache nach wie von Perty gezeichnet, wenn auch weniger stark gebogen... weil der Unterschied so gering ist und die allmählichsten Übergänge zwischen der procurva, geraden und schwach recurva gebogenen Form der 2. Augenreihe bei sonst gänzlich übereinstimmenden *Ctenus* vorkommen... Unwahrscheinlich ist es auch nicht, dass die 2. Augenreihe bei Alkoholexemplaren gerade sein würde... Das mittlere Augenfeld ist vorn ein klein wenig schmaler, die vorderen M. A. kleiner, von den hinteren M. A. fast um ihren Durchmesser entfernt; die vorderen S.A. von den hinteren M. A. und hinteren S. A. um reichlich ihren längsten Durchmesser entfernt; letztere scheinen unbedeutend kleiner als ihre M.A. zu sein... Beine — I: 11; pat. + tib. 16; 9,5; 3,5 = 40 mm; II: 10,5; 14,5; 9; 3,5 = 37,5 mm III: 9; 11,5; 11,5; metat. u. Tarsen mindestens 11 = circa 31 mm; IV: 11; 13; 13,5; 4 = 41,5 mm. Bestachelung: Alle Femuren oben mitten 1-1-1; I: vorn 1-2-1, hinten 1-1-1; II: vorn 1-1-1-1 in gekrümmter Reihe, hinten 1-1-1; III: vorn und hinten 1-1-1-1; IV: vorn 1-1-1-1 oder 1-1-1, hinten an der Spitze-1. Patellen I und II scheinen unbewehrt, III und IV vorn und hinten je 1. Tibien I: unten 2-2-2-2-2, an den Seiten scheinen keine zu sein; II: unten wie I, vorn 1-1 (oder 1-1-1?); III: unten 2-2-2, vorn und hinten je 1-1, oben 1-1-1; IV: wie III Metatarsen I und II der trockenen Type so dem Körper angedrückt, dass eine genaue Untersuchung nicht möglich ist, III und IV mit vielen. Palpen: Femur oben nahe der Spitze 4 oder 5, Patellen jedenfalls innen 1, Tibien jedenfalls mit 2 innen nahe der Basis und 1 oben, auch das Tarsalglied bestachelt".

This is very important, because the descriptions of *P. fera* from Rio Negro, Amazonas, made by Perty (the first female), by Koeh (the first male), and by Strand (redescription of the type from Perty), point out that the amazean species of this genus are really different from the species of the south of Brazil, Argentina, and Uruguay, described under the same name (*fera*) by several authors (Keyserling, Holmberg, Mello-Leitão, Moenkhaus, Brazil and Vellard, Gerschman de Pikelin and Schiapelli, Bucherl, and others). Brazil, V. & Vellard, J. 1925, Contribuição ao estudo do veneno de aranhas, *Mem. Inst. Butantan* 2, p. 28: "A *Ctenus ferus* é uma aranha grande, a fêmea cinzenta escura, o macho quase preto, podendo a primeira atingir 42 mm, o segundo 36 mm; reconhece-se esta espécie pelas suas fortes queliceras cobertas de pêlos fulvos e pelos espinhos, em série, das patas, implantados em pontos brancos... quando é atacada, toma uma atitude ameaçadora, levantando suas patas anteriores, pronta a pular sobre as posteriores, funcionando como uma mola. Esta espécie se encontra com muita facilidade nos arredores do Rio de Janeiro e Niterói, sobre as bromélias; é encontrada igualmente no Estado do Espírito Santo e no litoral do Estado de São Paulo". Berland, L. 1932, Les Araehnides, *Encyclop. entomol., Paris*, 16, p. 247; Mello-Leitão, C. de 1933, Catal. Aranhas Argent., *Arch. Esc. Sup. agr. med. veter.* 10(1), p. 47; Schmidt, G. 1953, p. 101, Fig. 9; Roewer Fr. 1954, p. 650.

#### 6. *Phoneutria lucderwaldti* (Mello-Leitão)

*Ctenus lucderwaldti* Mello-Leitão, C. de, 1927, Arachnídeos de Santa Catarina (Brasil), *Rev. Mus. Paul.* 15, pgs. 397-403, One female; type in coll. Musco Paulista, São Paulo, Brasil, n.º 823. Type-locality: Blumenau, Santa Catarina, Brasil.

Olhos L. A. formando com os M. P. uma linha reta. Área dos olhos médios quase tão larga quanto alta, muito pouco mais estreita adiante. Tibias anteriores com 5 pares de espinhos inferiores, sendo os apicais bem menores, sem espinhos laterais; metatarsos com densa escópula até a base e com 3 pares de espinhos inferiores. Escópulas dos metatarsos IV apenas no têrço apical. Cefalotórax fulvo claro, côr de mogno, com pêlos curtos, brancos e pequenas cerdas negras, apresentando no meio estreita faixa mediana longitudinal fulvo escura, em ponta de flecha, entre os olhos da 2.<sup>a</sup> fila e terminando no sulco toracal, onde está situada a parte sagitiforme. Olhos com orlas de pêlos brancos, maiores que os do revestimento. Face com duas linhas escuras que partem dos olhos da 3.<sup>a</sup> fila e vão terminar nos ângulos infero-laterais do clipeo. Abdomen no dorso pardo-amarelado, com densos pêlos sedosos brancos e amarelos e com cerdas negras eretas; no têrço anterior uma linha mediana longitudinal escura e de cada lado, outra linha clara. Depois seguem-se 4 pares de manchas indecisas, formadas de pêlos brancos, orladas, na posição externa, por pêlos negros. Ventre fusco adiante da fenda genital, negro atrás desta fenda e junto às fiandeiras, sendo os dois campos negros separados por larga faixa vermelho-alaranjada, curva para diante em "U" muito aberto e cortada na linha mediana por 2 estrias longitudinais negras, paralelas, duas pontes ligando os dois campos negros. O campo posterior em forma de "V", de vértice muito largo. Epígino com duas cristas virguliformes longitudinais. O desenho característico distingue facilmente a espécie das outras". Camargo-Andrade, C. A. De 1937, Índice das formas novas... *Rev. Mus. Paulista*, 21, p. 688; Roewer, Fr. 1954, p. 652.

*Phoneutria luederwaldti* Mello-Leitão, C. De 1936, pgs. 15, 18; Bonnet, P. 1958, p. 3620, V.R.D. von Eickstedt e S. Lucas 1969, Revisão dos tipos de *Phoneutria paca* (Mello-Leitão), 1922 e *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927, *Mem. Inst. But.*, vol. 34.

#### 7. *Phoneutria nigriventer* (Keyserling)

*Ctenus nigriventer* Keyserling 1891, pgs. 144, 145, Pl. 4, fig. 98- vulva: Weib; Totallänge 30 mm; Cephalothorax lang — 15, in der Mitte breit — 11,5, vorn breit — 6,8 mm; Abdomen lang — 16, breit — 11 mm; 1. Fuss: 12,6 — 6 — 11,9 — 10,4 — 4 = 44,9 mm; 2. Fuss: 12 — 6 — 10,7 — 9,7 — 3,8 = 42,2 mm; 3. Fuss: 10 — 5 — 7,8 — 8 — 3,5 = 34,3 mm; 4. Fuss: 13 — 5,6 — 10,8 — 13,3 — 4,1 = 46,8 mm. Das ganze Tier dunkel braun, das Sternum, die Coxen, die untere Seite der Tibien, Metatarsen und Tarsen, besonders der vorderen Beinpaare und das Endglied der Palpen fast schwarz, vorn an den Mandibeln rote Härchen. Das dicht und länger behaarte Abdomen auch braun, oben mit undeutlichem Längsbande hellerer Flecken und am Bauche mit einem vorn sehr breitem, nach hinten zu schmaler werdendem schwarzem Bande. Der Cephalothorax... oben nicht hoch gewölbt, von der Mittelritze bis zu den Augen gleich hoch, der Kopfteil an den Seiten recht schräge abfallend. Die beiden vordersten Augen etwas kleiner als die hintersten und sichtlich kleiner als die M.A. der 2. Reihe und mehr als doppelt so weit vom Stirnrande. Die 2. Reihe gerade, d.h. eine gerade Linie würde den unteren Rand (vorderen) der M.A. und S.A. berühren. Die kleinen S.A. sitzen etwas mehr als um ihren Durchmesser von den M.A. und ebenso weit von denen an der Seite einer Wulst befindlichen der hintersten Reihe. Die M.A. der 2. Reihe liegen nicht ganz um ihren Durchmesser von einander und doppelt so weit von den kaum kleineren der etwas breiteren hintersten Reihe... An dem Falz der starken Mandibelklaue sitzen vorn 3 und hinten 5 Zähnechen, von denen der 1., von der Basis aus gerechnet, ganz klein ist und sich dicht an den 2.

grösseren anlegt. Die stark gewölbte, vorn gerundete Lippe, so breit als lang und kaum halb so lang als die Maxillen. Das dicht behaarte flache Sternum etwas länger als breit... Die dichte Scopula erstreckt sich an den beiden vorderen Beinpaaren bis auf den grössten Teil der unteren Seite der Tibien, an den hinteren reicht sie nicht ganz bis an den Anfang der Metatarsen. Die Bestachelung der einzelnen Glieder ist folgendermassen: Femur an allen oben und an den Seiten-zahlreiche; Patella nur an III und IV vorn und hinten 1; Tibia I und II unten 5 Paar, III und IV unten 3 Paar, an jeder Seite 2 und oben 3; Metatarsus I und II unten 3 Paar, III und IV zahlreiche.

Habitat: Rio Grande do Sul (Brazil). Dr. von Ihering legit. Die Epigyne von *C. nigriverter* ist wesentlich anders gestaltet als die von (*Phon.*) *Ctenus rufibarbis* (Perty) Keys., die beide grosse Ähnlichkeit haben, sich aber noch durch den schwarzen Bauch des ersteren von einander unterscheiden... Da *C. nigriverter* eine ganz ebensogestaltete Epigyne wie *C. ferus* (Perty) Keys, 1891 (Pickard-Cambridge = *C. keyserlingi*) besitzt, ähnlich gefärbt, nur dünner behaart ist und sich eigentlich nur durch das schwarze Feld am Bauche auszeichnet, ist er vielleicht nur eine Varietät von *C. ferus*! Die Stellung der Augen, sowie die Längenverhältnisse der Beine sind bei beiden Arten auch dieselben". Pick- . Cambridge, F. 1897, p. 55, Pl. 3, fig. 2-d: *Ctenus nigriverter*; p. 64: *C. nigriverter* Keys, 1891: *Type* in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London. This form is very closely allied to *C. boliviensis* as well as to *C. keyserlingi*. The external plate of the vulva is, however, shorter in proportion to the breadth than in either of the two latter species.; p. 81: distinguished from *keyserlingi* and *boliviensis* by the black ventral surface of the abdomen and a difference in the form of the vulva. Pl. 3, Fig. 2-e and d. To finally confirm or refute the apparent distinctions between these forms one needs many more specimens. It is impossible to make definite assertions based on a single specimen of each form; 1902, pgs. 410, 412; Moenkhaus, W. J. 1898, p. 77: *Habitat* — Piquete, Raiz da Serra, Alto da Serra. Perus, around the city of São Paulo, and Ipiranga in the city of São Paulo; Strand, E. 1910. Neue oder wenig bekannte südamerikanische *Cupiennius* und *Ctenus* Arten, *Zool. Jahrb. Syst.* 28(3), p. 296-297: "Exemplare aus Paraguay und Mato Grosso. Cf. Strand, *Zeitschr. Naturw.* 79, pgs. 268-269, 1907, Ferner Exemplares von Rio Alto, Paraná; col. Niederlein. Bei unreifen Exemplaren von San Bernardino, Paraguay, unter Steinen gefunden (Fiebrig), die wahrscheinlich dieser Art angehören, ist eine schwarze Längsbinde am Bauche nicht oder höchst undeutlich vorhanden, dagegen befindet sich hinter der Spalte ein die ganze Vorderhälfte des Bauches einnehmendes tief schwarzes Querfeld. Die helle Längsfigur des Abdominalrückens meistens wenig deutlich, die Beine am Ende bisweilen an der ganzen Oberseite geschwärzt, an den Beinen I und II unten mit je einem tiefschwarzen Fleck am Ende der Femoren, an der ganzen Unterseite der Patellen und in der Endhälfte der Tibien. Mandibeln in Flüssigkeit blutrot. Ein weiteres unreifes Exemplar (21 mm lang), von Fiebrig am 17. Dezember gefangen, "in der Krone eines hohen Baumes. Springt aggressiv." Ferner fand Fiebrig ein Exemplar an einer Blattunterseite, 8 Meter über dem Boden. Ein unreifes Exemplar von nur 19 mm Körperlänge fand Fiebrig am 4. Dezember an einer Blattunterseite, 7 Meter über dem Boden, wohin die Spinne zwei starke Fäden gesponnen hatte. Ein Weibchen von *Blumenau*, Brasilien — 32 mm Totallänge, Cephaloth. 15 mm lang, 11,5 mm breit, 6,5 mm vorn breit; Beine — I: 13,5 — 6,5 — 13 — 11 — 4 = 48 mm; II: 13 — 6,2 — 11,2 — 10,2 — 4 = 44 mm; III: 10,5 — 5 — 8 — 8 — 4 = 35,5 mm; IV: 13,5 — 5 — 12 — 14,5 — 4 = 49 mm. Epigyne 3 mm lang und hinten breit. Der Bauch ist nicht schwarz hinter der Spalte, jedoch dunkel. Ferner ist eine deutliche Reihe heller Flecke auf dem Abdominalrücken

nicht vorhanden, der helle Herzstreif aber scharf ausgeprägt. Ein Männchen, von San Bernardino, von Fiebrig am 3. März im Haus gefangen. Mandibeln und Abdomen ventralteils ziegelrot. 32 mm; Cephalothorax 16,5 mm lang, 12,5 mm breit, vorn 5-6 mm breit. Beine — I: 18 — 7 — 18,5 — 19 — 7,5 = 70 mm; II: 17 — 7 — 16 — 17,5 — 7 = 64,5 mm; III: 16 — 6 — 12 — 13 — 5 = 50 mm; IV: 18 — 6 — 16 — 22 — 7 = 69 mm. Palpen: Femur 9, Patella 4, Tibia 5, Tarsus 5,5 mm = 23,5 mm. Die Färbung wie die des Weibchens, sowohl der Herzstreif als die Schrägflecken des Abdominalrückens deutlich, Bauch aber mit gelblicher Behaarung; in Alkohol erscheinen aber in gewissen Richtungen gesehen vier dichte Reihen gelblicher Flecken auf schwarzem Grunde. Cephalothorax mit dichter graugelblicher Behaarung, aber die grosse tiefe Mittelritze dunkler erscheinend. Tibial- und Tarsalglied der Palpen innen dicht scopulaähnlich behaart, erstere vorn mit zwei schmalen parallelen Haarblössen. Tibialglied der Palpen am Ende aussen mit einem schwarzen, zungenförmigen, dem Tarsalgliede dicht anliegendem Fortsatz, der von der Seite gesehen schräg nach unten und vorn gerichtet erscheint, oben der Länge nach gewölbt und leicht wellenförmig begrenzt, am Ende breit abgerundet ist. Von oben und etwas vorn erscheint er gerade schräg nach aussen und vorn gerichtet, mit schwach zusammengedrückten Ober- und Endrand; die Länge fast gleich der Breite des Gliedes an der Spitze. Der rotbraune, hinten quergeschnittene und etwas verjüngte, im Profil gesehen, an der Unterseite kaum gewölbt erscheinende Bulbus trägt unten in der Endhälfte einen runden, am Ende etwas zaekigen weissen Fleck. Längs dem Innenrande des Bulbus ein starker, siehelförmiger, gekrümmter, am Ende zugespitzter Fortsatz, der etwas hinter der Spitze, an der Aussenseite leicht ausgerandet ist. Am Ende des roten Bulbushügels befindet sich ein etwa bohnenförmiger schwarzer, schräg quer- gestellter Fortsatz, der vorn die Begrenzung des weissen Fleckes bildet... Diese Form wird wohl gleich *C. keyserlingi* F. Cambr. (= *ferus* Keys.) sein, wenn auch weder die Färbung noch genau die Epigyne übereinstimmen. Sowohl Cambr. als Keys. waren übrigens geneigt, beide Formen als Varietäten einer Art anzusehen. Spezifische morphologische Unterschiede kann ich nicht finden. Die Bauchfärbung erinnert mehr an die jungen Individuen. Bei letzteren können auch die Rückenfiguren ebenso undeutlich sein. Ferner unreifes Exemplar (Weibchen) von Sta. Catarina, Brasilien (Kilman). Ein reifes gravidus Weibchen von "Südbrasilien, Sta. Catarina. Von botanischen Garten erhalten;... der Bauch schwarz behaart, etwa wie beim typischen *nigriventer*. Rücken mit scharf markiertem Herzstreif und dahinter zwei parallele Längsreihen von je 4 kleinen, weissen, aussen und innen schmal schwarz begrenzten Haarflecken. Weisse Haarpunkte auch an der Basis aller Stacheln. Zusammen mit diesen ein ganz junges Exemplar. Auch an diesem ist am Abdominalrücken an hellen Zeichnungen nur der Herzstreif vorhanden; der Bauch nur hinter der Spalte mit schwarzer Querbinde... Von San Bernardino liegt ein altes Weibchen... vor, das oben wie die dunkleren *keyserlingi* gefärbt ist. Der Bauch ist aber ganz einfarbig schwarz und zwar auch an den Seitenpartien; 1916: Systematische-faunistische Studien..., *Arch. Naturg.* 81A(9), p. 129. Petrunkevitch, A. 1911, p. 575. Brazil, V. and Vellard, J. 1925, p. 45-46: "A *Ctenus nigriventer* é uma espécie muito vizinha da *ferus*, que ela substitui nos arrabaldes de São Paulo, onde é comum em casas velhas, nas casas de eupins. Mello-Leitão, C. de, 1927, p. 397. Berland, L. 1932 pgs. 247-251. Gerh & Kästn., 1938 p. 628.

*Phoneutria nigriventer* Mello-Leitão, C. de, 1936, pgs. 15-16: "As fêmeas entre 28 e 40 mm; machos entre 20 e 30 mm. Medidas de exemplares por nós medidos: Fêmeas: Comprimento total do corpo: 28 mm; 29 mm; 31 mm; 34,5 mm; 38 mm. Comprimento total das pernas: I — 47; 42; 4). 51,5; 57,5 MM; IV —

48; 41; 43; 53; 60; Pat. + Tibias I e IV — 15,5 — 16,5; 16,4 — 15; 15,5 — 15; 20,5 — 18; 22,5 — 20; Metatarsos I e IV — 11,5 — 14; 10 — 12; 9,6 — 16,5; 12 — 2); 13,5 — 17,5.

Em 3 machos: comprimento total: 20 — 22 — 27. Comprimento total das pernas I e IV — 54 — 53,5; 62 — 59,7; 56 — 57. Patelas e tíbias I e IV — 20,5 — 18; 22,5 — 20; 21 — 19. Metatarsos I e IV — 15 — 16,5; 17 — 18,5; 13 — 18. Variação de colorido: Em uma fêmea, abdome flavo, no dorso com uma faixa mediana lanceolada e com 4 pares de manchas grandes, indecisas, mais pálidas; pêlos das quelíeiras vermelhos. Em outra fêmea, abdome com pêlos pálidos, no dorso sobre a faixa pálida indecisa 3 pares de pontos flavos; campo preto do ventre cortado por duas faixas transversais marrons, perto do epíginio e em frente às fiandeiras". Bücherl, W. 1951 — Estudos sobre a biologia e a sistemática do gênero *Grammostola*, *Monograf. Inst. Butantan* 1: pgs. 22, 23, 30, 40, 53, 67; 1952. Aranhas do Rio Grande do Sul, *Mem. Inst. Butantan* 24(2): p. 135, 1953. Novo processo de obtenção de veneno sêco, puro, de *P. nigriventer*, *Mem. Inst. Butantan* 25(1): pgs. 153-174, 1953. Dosagem comparada da atividade dos extratos glandulares e do veneno puro de *P. nigriventer* (Keys.) 1891, *Mem. Inst. Butantan* 25(2):1-22. Bonnet, P. 1958, p. 3621. Schiapelli, R. D. and Gerselman de Pikelin, B. S. 1966, *Mem. Inst. Butantan* 33(3):675-682.

*Phoneutria fera* Schmidt, G. 1954. Über das Auftreten mittel- und südamerikanischer Giftspinnen in Deutschland, *Ärztliche Praxis* 6(39), p. 5, synonym *C. ferus*, *C. nigriventer*, *C. keyserlingi*. Bücherl, W. 1956, pgs. 95, 97.

### 8. *Phoneutria nigriventroides* (Strand)

*Ctenus nigriventroides* Strand, E. 1907. Über drei Cluhioniden und eine Pisauride vom Sorata in den Cordilleren, *Zeitschr. Naturw.* 79, pgs. 425, 426. "Weibchen, Totallänge 42 mm; Ceph. 18 mm lang, 14 breit, 7,5 vorn breit. Palpen: Fem. 7, Pat. 3,8, Tib. 5, Tars. 6 mm = 21,8 mm. Beine — I: Fem. 17, Pat. 3, Tib. 16,5, Met. 15,5, Tars. 5,2 = 62,2 mm; II: 16,3; 7,7; 14,5; 14,5; 5 = 58; III: 13,5; 6,5; 11; 11,5; 4,5 = 47; IV: 17,5; 6,8; 15; 19,5; 6 = 64,8 mm. Epigyne 2,8 mm lang und ebenso breit über die beiden Seitenfortsätze, das Hinterstück 2 mm breit, Aussenseiten der Enden der Längskiele (zwischen den Seitenfortsätzen gemessen) unter sich um 1,5 mm entfernt; sie ähnelt jedenfalls der Epigyne von *C. nigriventer* Keys. (cfr. Cambr. in *Ann. Mag. Nat. Hist.* (6)19, p. 3, fig. 2-d), aber die schwarzen Längskiele sind gleichbreit, divergieren ganz allmählich von der Basis bis zur Spitze (d.h. zwischen den beiden Seitenfortsätzen) und zwar ganz stark, das Endstück ist breiter, etwa doppelt so breit als lang und jederseits in der vorderen Hälfte mit zwei sichtbaren Querfurchen versehen. Vor den Seitenfortsätzen je eine tiefe Längsfurche. Die Originalabbildung der Epigyne von *nigriventer* stimmt eigentlich besser mit meinen Exemplaren als die Abbildung von Cambr. Bauch mit schwärzlichem, nach hinten verschmälertem, beiderseits von einer grauweisslichen Punktfleckenreihe begrenztem Mittelfeld, in welchem zwei weitere ähnliche, mit den äusseren parallele Fleckenreihen sich befinden. Rücken scheint eine hellere, durch einen braunen Streif geteilte Längsbinde zu haben. Vorderbeine unten, mit Ausnahme der Basalhälfte der Tibien, schwärzlich. Alle Scopulen schwarz. Gegen die Identität der vorliegenden Art mit *C. nigriventer* würde sprechen, dass die Palpen vorn mit zwei hellen Längslinien, ähnlich wie bei *C. reidyi* und *C. boliviensis* versehen sind und dass der Bauch mit hellen Punktflecken gezeichnet ist; beide Abweichungen lassen sich aber durch die

Annahme, Keyserling's einziges Exemplar sei abgerieben, erklären. Eventuell möge die Art *C. nigriventroides* m. genannt werden". Mello-Leitão, C. De, 1936, p. 16. "Como temos dito acima, é bem difícil de precisar, se tôdas as *Phoneutria* conhecidas, não sejam apenas uma única espécie. Deveríamos, então, considerar, pelo menos provisoriamente, a *C. nigriventroides* Strand, como uma espécie bem caracterizada". Roewer, Fr., 1954, p. 653.

*Phoneutria nigriventroides* Bonnet, P., 1958, p. 3621.

#### 9. *Phoneutria niveobarbata* Mello-Leitão

*Phoneutria niveobarbata* Mello-Leitão, C. De, 1945. Arañas de Misiones, Corrientes y Entre Rios, *Rev. Mus. La Plata (N.S.), S. Zool.* 4, pgs. 256-257, Fig. 41. "Macho — 22 mm. Pernas I: Fem. 13; Pat. + Tib. 18; Met. 12,4; Tar. 4 = 47,4 mm; II: 12,6; 16,4; 11,2; 3,8 = 44 mm; III: 10; 12,4; 9,4; 3,2 = 35 mm; IV: 13; 15,8; 15,6; 4,2 — 48,6 mm. Cefalotorax anaranjado, revestido de corta vellozidad blanca, con estrecha línea mediana negra, desde el borde posterior hasta los ojos posteriores. Faz con dos fajas castaño negruzcas desde los ojos laterales anteriores hasta el borde del elípeo y dos fajas blancas y ancha mancha mediana en la cual están los ojos médios. Quelíceros de tegumento casi de color carmín, con largos pelos blancos. Palpos de color caoba; las tibiae con una fimbria de color castaño oscuro; patelas con dos anchas fajas negruzcas, separadas por ancha faja blanca; tarso negruzco con larga fimbria de largos pelos blancos. Patas de color caoba, con largos pelos sedosos amarillentos. Pieza labial de color caoba; láminas maxilares de color caoba en su mitad basilar, negras en su mitad distal y con estrecha faja blanca apical. Esternón negro. Abdomen pardo-oscuro, revestido de pelos sedosos de color anarillo claro y de cerdas negras; cara ventral parda, mosqueada de amarillo y ornada de una gran mancha castaño-oscuro, parecida al dibujo ventral de *Polybetes pythagoricus*, con dos hileras de puntos amarillos y dos manchas circulares de pelos blancos. Coxas negras. Segunda hilera ocular reta. Área de los ojos medios poco más larga que ancha, paralela, los ojos anteriores algo menores. Quelíceros con cuatro dientes en su borde inferior y tres en el superior. Protarsos y tarsos con densas escópulas. Tibias armadas de 2-2-2-2 espinas ventrales y 1-1 laterales, en su tercio basilar. Protarsos armados de 2-2-0-0-2 espinas ventrales. Palpos presentando en la cara interna de la tibia y de la patela un denso cepillo de largos pelos sedosos. *Localidad tipo*: Rosario Tala. Entre Rios. Col. Boero.

*Cteuus niveobarbatus* Roewer, Fr., 1954, p. 653.

#### 10. *Phoneutria ochracea* C. L. Koch

*Phoneutria ochracea* Koch, C. L., 1843. Die Arachniden, 15, p. 62, T. 1460: "München. "Brasilien"... Im Bau des Körpers, aller Glieder und Augenstellung mit *fera* übereinstimmend, nur ist der Hinterleib nicht zottig behaart, sondern seidenartig mit kurzen Härchen dicht bedeckt. 26,5 mm. Das ganze Tier ist samt Taster und Beinen einfarbig bräunlich ockergelb, nur der Bauch und die Seiten etwas heller. Ich kenne nur die männliche Spinne, wovon ein gut erhaltenes Exemplar sich in dem Königlichen Cabinet in München vorfindet. Vaterland: Brasilien; 1851, *Übers. d. Arachnidensyst.* 5, Nürnberg, p. 36. Pickard-Cambridge, F., 1897. "I have not met with any form which agrees with this figure and description. Possibly the *type* is also in existence". Mello-Leitão, C. de, 1936, pgs. 15, 17". Males-Tibia des pattes machoires environ deux fois plus long que large;

il y a deux apophyses tibiales — *P. ochracea* C. Koch, 1848. Nous avons identifié à cette espèce un mâle de São Paulo. Mâle — 29 mm; Pattes — Fémur 20,5; Pat. + tib. 27; Protarse 21; Tarse 5,5 = 73 mm; II: 18; 24,5; 18,5; 5 = 66 mm; III: 15,5; 19; 14,5; 5 = 54 mm; IV: 19; 25; 23,5; 5,5 = 73 mm. Céphalothorax élevé en avant. Deuxième ligne oculaire droite. Aire des yeux médians plus longue que large, parallèle, des yeux egaux. Bandeau plus étroit que les yeux antérieurs. Marge inférieure des chélicères avec 4 dents sériees, le basal le plus petit. Tibias I et II avec 5 paires d'épines inférieures et 1 latérale basale. Céphalothorax fauve, avec des lignes rayonnantes un peu plus pâles et orné de poils pâles marginaux. Abdomen fauve-brûlé concolore; le ventre orné de poils noirâtres de pointes pâles. Pattes, chélicères, sternum et pièces buccales fauve foncé". Bonnet, P. 1958, p. 3621.

*Ctenus ochraceus* Simon, E., 1864, p. 378; Petrunkevitch, A. 1911, p. 475; Roewer, Fr., 1954, p. 653.

#### 11. *Phoncutria paca* (Mello-Leitão)

*Ctenus paca* Mello-Leitão, C. de, 1922. Novas Clubionidas do Brasil, *Arch. Esc. sup. agr. med. veter.* 6, p. 41: "Female; Type in coll. Departamento de Zoologia, Ipiranga, São Paulo. 33 mm; Cef. 16,5 por 12,5 mm; Pernas — 51; 45; 38,5; 51 mm. Patela + tibia — 20; 18; 13; 17,5 mm. Clípeo mais estreito que a área dos olhos médios. 2a. fila ocular direita. Área dos olhos médios pouco mais estreita adiante, os anteriores menores. Quelíceras com 4 dentes iguais na borda inferior e 3 na superior, dos quais o médio muito maior. Tibias anteriores com 4 pares de espinhos inferiores, sem espinhos laterais ou superiores, do II par com 4 pares e mais 1-1 de cada lado; protarsos dos 2 primeiros pares com 3 pares de espinhos inferiores, sem laterais. Cefalot. fulvo escuro com uma linha negra mediana. Quelíceras da cor do cefalotórax, com pêlos vermelhos dorsais. Esterno e ancas das pernas, lábio e lâminas maxilares, negros. Pernas fulvo escuras, tendo, na face ventral, manchas negras nos ápices dos fêmures, nas patelas e na metade apical das tibias, protarsos e tarsos negros. Abdomen negro, tendo na parte anterior do dorso 3 linhas claras longitudinais, das quais a mediana maior e mais estreita, seguida por uma larga faixa denteada, formada por manchas triangulares de base posterior; de cada lado dessa faixa há 3 linhas obliquas para baixo e para trás, paralelas, formadas de pequenos pontos claros; ventre castanho escuro, com um grande campo triangular mediano negro. Epígino com duas cristas longitudinais, semelhantes às de *C. nigri-ventris* Keys. *Habitat* — São Paulo". Roewer, Fr., 1954, p. 653.

*Phoncutria paca* Mello-Leitão, C. de, 1936, pgs. 15, 13; V.R.D. von Eickstedt e S. Lucas 1969, Revisão dos tipos de *Phoncutria paca* (Mello-Leitão), 1922 e *Phoncutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927, *Mem. Inst. But.*, vol. 34.

#### 12. *Phoncutria reidyi* (Pickard-Cambridge)

*Ctenus reidyi* Pickard-Cambridge, F., 1897, p. 54. "*C. reidyi* sp.n. — Female, Santarém, Lower Amazons. Pl. 3, Figs. 1 a 2". P. 78. "*Ctenus reidyi* sp.n., Female. *Hab.* Forest, Santarém. Type in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London. Length, including mandibles, 40 mm. Colour-Carapace orange mahogany, clothed with short golden brown hairs. Abdomen dull yellow-brown, clothed with golden-brown hairs. Mandibles stout, black, densely clothed with bright orange hairs in front. Coxae of pedipalps and sternum dark brown, the latter clothed with golden-brown hairs. Legs-Coxa, trochanter, femur and tibia orange-brown; pro-

tarsus and tarsus dark brown, entirely clothed with golden-brown pubescence. Pedipalp-Femur and patella orange-brown; tibia and tarsus clothed with a broad band of black pubescence on inner side, a thin line of gray pubescence, and another broader band, black, followed on the outer side with a broad band of gray pubescence, appearing on the upperside as two narrow grey lines. Structure-Carapace 16 mm long, 13,5 mm broad; abruptly inclined behind, slightly raised towards caput. Central groove distinct, segmental striae just discernible. Eyes-laterals situated on a strong tubercle; diameter of anteriors half that of posteriors, situated one diameter from them. Second row straight by anterior margins; the four centrals situated in a quadrangle, slightly longer than broad; posterior centrals very slightly larger. Mandibles with a shiny tubercle at base on outer side. Fanggroove with 5 teeth on outer margin, 3 on inner margin. Legs — (1-4)- 2-3. Every segment except the first and last spinose. Tibiae I and II with a double series of 5, of III and IV of 3 stout spines beneath. Protarsi I and II with a double series of 3 spines, of IV with an irregular series beneath. Tarsi, protarsi I and II, and apex of tibia slightly, tarsi and protarsus III and tarsi and apex of protarsus IV clothed with thick scopula. Femora, tibia, and protarsi III and IV clothed beneath with golden-yellow hairs, I and II with pubescence only. Tarsal claws 2, with claw-tuft on each side; armed on inner side with 3 small denticles. Spinners 6, anterior pair and posterior pair two-jointed. Vulva consisting of a broad dark chitinous plate, emarginate before, broadly truncate behind (towards spinners), with two curved yellow side-pieces. Total len. 40, carap. 15,75 mm; Legs — I: 62,5; II: 59; III: 47,5; IV: 62,5 mm; pat. + tib. I: 23, IV: 19; III: 15 mm.

A single female of this species, the largest of the group met with, was taken by myself in the forest near Santarém. It was started from the palm-leaf thatch of a hut in the forest, in which we have taken refuge from the rain. 1902, p. 409: "Females-Tibia and tarsus of pedipalps with thick pad of short hairs on the inner side. Patella and tibia I much longer than IV; vulva without pair of longitudinal dark ridges. Tibia and tarsus of pedipalp black, with two narrow, sulphur-gray, longitudinal lines in front. Inner side of femur I sulphur-grey. Mandibles black, clothed with scarlet hairs in front; a band of black hairs along the side, followed by a narrow band of scarlet hairs, passing into sulphur-grey at the base of the mandible. Vulva emarginate anteriorly. Size 40 mm". Petrunkevitch, A., 1911, p. 476. Vellard, J., 1936, p. 173.

*Phoneutria reidyi* Mello-Leitão, C. de, 1936, p. 15, 18. "Provavelmente a mesma espécie como *andrewsi*. Caporiaeco, L. Di, 1949, Arachnida of British Guiana. *Proc. soc. Zool.* London 118, p. 681". A great female at Bartica... *Hab.* Brazil (Amazonas). Bonnet, P., 1958, p. 3621.

### 13. *Phoneutria rufibarbis* Perty

*Phoneutria rufibarbis* Perty, M., 1833, p. 197; Pl. 39, Fig. 2. "Female; oehraeca; chelicornubus rufo-hirtis; abdomine albo punctato; pedibus nigro-setulosus. Longitudo 14". Habitat ad flumen Rio Negro dietum, provinciae ejusdem nominis. Chelicornua stipite supra rufo-hirto. Maxillae fusco-nigrae. Palpi fusco-grisei, articulis duobus ultimis lineis duabus albis. Cephal. fusco-oehraecus. Abdomen ferrugineo-oehraecum, seriebus tribus longitudinalibus punctorum alborum. Subtus fulvo-oehraecum. Pedes omnes oehraeci, pilosi, punctis albis et setulis nigris e puncto quovis orientibus". Gervais 1840, p. 307; Koeh, C. L.,



1848, p. 63. "Vorderleib rotbraun, Hinterleib rotgelb mit 4 Längsreihen weisser Flecken; die Fresszangen rostrot, oben dicht rot behaart; Taster und Beine ockergelb, auf ersteren zwei weisse Linien, Schenkel und Schienen unten blassgelb mit einem braunen Fleck vor der Spitze. Länge 13" = 29 mm. Der Hügel der zwei Seitenaugen halbkugelförmig. Die Beine — unten mit wolligen und längeren Haaren. Die Taster oben braun, unten gelblich, oben zwei Längslinien gelblich weiss, die äussere oben an den Seiten weniger deutlich. Der Hinterleib auf dem Rücken 4 Längsreihen weisser Flecken, die der äusseren Reihe etwas grösser und weniger deutlich; der Bauch einfarbig ockergelb. Die Beine bräunlich ockergelb, die Schenkel und Schienenbeine unten gelb, an den Schenkeln der Vorderbeine schwefelgelb; vor der Spitze der Schenkel der 4 Vorderbeine auf der Unterseite ein breiter Querfleck braun, eben ein solcher an der Spitze der Schienbeine, aber weniger deutlich; an den Wurzeln aller Stachelborsten ein gelblich weisses Flecken. Mann (male) noch nicht entdeckt. *Habitat* — Brasilien.

Keyserling, E., 1881, p. 576, 577. "Weibchen. Totallänge 32,2 mm; Beine 46,6 — 41,8 — 33,5 — 46 mm; Pat. + Tib. I — 18,5; IV — 16 mm; Metat. I — 11, IV — 13,6 mm. Beide vorderen Beinpaare, unten am Ende der Schenkel und Tibien, an der ganzen Unterseite der Patellen und Metatarsen fast schwarz gefärbt. Die ersten Glieder der Palpen rot, die beiden Endglieder schwarz, unten gelb und oben dicht schwarz behaart. Der Hinterleib oben auf dem Rücken mit einem wenig sichtbaren hellem Längsbande aus helleren Dreiecken. Die Mittelaugen der Mittelreihe nur unbedeutend grösser als die beiden der obersten und untersten, aber mindestens dreimal so gross als die kleinen Seitenaugen, welche um ihren Durchmesser von ihnen und den hintersten Seitenaugen entfernt sind und nicht oder nur unbedeutend niedriger sitzen. Die vorderen Mittelaugen fast um ihren Durchmesser voneinander und um das Doppelte derselben von dem Stirnrande entfernt. Die vier Mittelaugen bilden ein Quadrat. Eine dichte und ziemlich lange Scopula an den Tarsen und Metatarsen. Am ersten Fusspaar reicht sie sogar noch bis auf die Tibien. Die Bestachelung ist folgendermassen: 1 Fuss: F. oben 3, vorn 4, hinten 3; Pat. keine; Tib. unten 5 Paare, an der Innenseite 1-2, an der aussenseite 1 ganz kleiner; Metatarsen unten 3 Paare. 2. Fuss: ebenso. 3. und 4. Fuss: Femur oben, hinten und vorne 3, Patellen hinten und vorn je 1, Tibien unten 3 Paare, jederseits und oben 2; Metarsus zahlreichere aber weniger regelmässig stehende. Brasilien: Neu Freiburg, Rio de Janeiro. In der Sammlung des Herrn Dr. Koch.

Pickard-Cambridge, F. O., 1897, p. 65, 66. "... there is not sufficient evidence as to the identity of this form. None of the authors who have adopted Perty's name mention that they have seen the original type specimen, so that one can conclude that their only evidence is drawn from Perty's description and figures. These, in the case of *rufibarbis*, are sufficient neither for generic purposes nor for specific identification. Mello-Leitão, C. Dc, 1936. "Existem no Brasil 9 espécies de *Phoneutria* que nos parecem tôdas apenas variedades das espécies *P. fera* e *P. rufibarbis*. *Habitat* de *rufibarbis*. Todo o Brasil desde o sul de Piauí até a Argentina". Bonnet, P., 1958, p. 3621.

*Ctenus rufibarbis* Walckenaer, B., 1837, p. 369. "... Nouveau Monde — Amér. Mér. — Brésil: sur les bords du Rio Janeiro". He has not seen any specimen of *Phoneutria*, but changed only the generic name of *rufibarbis* Perty to *Ctenus*, and changed also the habitat *Rio Negro* to *Rio Janeiro*. Lucas 1840, p. 366. Simon, E. 1864, p. 378; 1897, p. 108, 111. Pick.-Cambridge, O. 1897, p. 61 (in relation with Walcken. Rio de Janeiro); 1902, p. 412: *rufibarbis*

(Perty) Walck. Rio de Janeiro, *rufibarbis* Holmberg — Argentine Republic. Moenkhaus 1898, p. 78. "Piquete, Estado do Rio, and São Sebastião, Estado de São Paulo. Petrunkevitch, A. 1911, p. 476; Mello-Leitão, C. De, 1923". A female, a male and another female, Alcatrazes-island, State of São Paulo. Specimens in coll. Depart. de Zoologia, Ipiranga, São Paulo. Franganillo 1930, p. 33; 1935, p. 43; 1936, p. 102. Vellard, J., 1936, pgs. 173, 181. Roewer, F., 1954, p. 654.

*Ctenus pertyi* Pick-Cambridge, F. O., 1897, p. 80 — nomen novum pro *Ctenus rufibarbis* Keyserling 1881. Hab. Nen Freiburg, Rio.

#### 14. *Phoneutria rufichelis* (Mello-Leitão)

*Ctenus rufichelis* Mello-Leitão, C. De, 1917. Notas arachnológicas V. Espécies novas ou pouco conhecidas do Brasil, *Broteria* 14, pgs. 12, 13; Figures 15, 16 — Male, 19 mm. *Habitat* — São João del Rei, State of Minas Gerais, Brazil; leg. Alvaro Leitão. Cephalothorax laevis, fere planus, vix eminens, longitudine latitudinem partis posterioris paulum excedens, laete fulvo rufescens, sulco area oculorum vittaque marginali exili fuscis. Chelae rufescentes, pilis igneo-rufis erectis, crebris vestitae, margine inferiore sulci dentibus quinque, superiores dentibus 3 ornato. Laminae labiumque fulvo rufescentes, apice testaceo. Sternum coxaque fusca. Pedes rufescentes, fusco variati, femoribus supra aculeis 3-3 utrinque 2 et supra 3, metatarsi I et II subtus aculeis 2-2 utrinque 2 armatis. Abdomen fuscum, supra vitta longitudinali testacea in parte antica instructum subtus pilis aureis seriatis ornata, processu apicali nigro laminoso, subtus et extus incurvato, apice bifido, tarso acuminato, valde convexo, ovato, bulbo fulvo, reniformi foveis mediis testaceis duabus atque processu nigro obtuso munito, stylo curvo. Cefalotorax liso, muito pouco elevado, quase plano, pouco mais longo que largo; 11 por 8,2 mm, pardo avermelhado claro, com o entalhe mediano, a região ocular e uma estreitíssima orla marginal muito mais escuros. Quelíceras avermelhadas, densamente revestidas de pêlos eretos, vermelhos côr de brasa. Garras mais escuras. Margem inferior do sulco ungueal com 5 dentes, o inferior um pouco menor, margem superior com 3 dentes, pouco visíveis entre as cerdas vermelhas. Maxilares e lábio da côr do cefalotórax, de pontas amareladas. Esterno e coxas fuscas. Pernas brúneo avermelhadas, lavadas de fusco, os fêmures com espinhos numerosos na face dorsal, dispostos em 3 filas paralelas, com 1 pequeno espinho na face posterior; tíb. I e II com 5-5 espinhos inferiores, 3 de cada lado e 3 superiores; III e IV com 3-3 espinhos inferiores, 2 de cada lado e 3 superiores; Metatarsos I e II com 2-3 pares de espinhos inferiores, 1 de cada lado na base e outro no ápice. Escópulas em todos os tarsos e metatarsos. Pubescência das pernas amarelo doirada, escópulas fuscas. Abdomen fusco, revestido no dorso de pubescência pouco densa amarelo parda e com uma faixa clara mediana, ocupando a metade anterior; de cada lado da faixa correm duas ordens de manchas indistintas, confluentes atrás, indo quase até as fiandeiras. Ventre muito densamente revestido de curta pubescência alaranjada, tendo de cada lado uma linha clara, ponteadada muito finamente. Palpos da côr das pernas, fuscos nos dois últimos segmentos; tibia maior que a patela, com uma linha dorsal longitudinal de pêlos doirados; apófise apical negra, laminosa, curva para baixo e para fora, levemente bifida na ponta; tarso ponteagudo, muito convexo, ovóide, o bulbo avermelhado, brúneo, ocupando a face inferior do tarso, nos dois terços basais, reniforme, com 2 fossetas claras no meio e 1 apófise negra curta e obtusa; estilete delgado, ponteagudo, curvo, terminando pouco adiante da apófise. "2.ª fila de olhos direita. Abdomen 9 por 5,7 mm". Roewer, F., 1954, p. 654.

*Phoneutria rufichelis* Mello-Leitão, C. Dc, 1936, p. 15. Bonnet, P. 1958, p. 3622.

15. *Phoneutria sus* (Strand)

*Ctenus sus* Strand, E., 1910, pgs. 300, 301. "Ein Männchen von Surinam (Michaelis). Totallänge mindestens 31 mm; Cephalot. ohne Mandibeln 15 mm lang, 11,5 mm breit, vorn 6 mm breit; Abdomen 13 mm lang, 8 mm breit Palpen: Fem. 7,5; Pat. 3; Tib. 3,6, Tars. 6 mm lang und 3 mm breit = 20,1 mm. Beine — I: F. 20; Pat. 7; Tib. 20; Metat. 20; Tar. 5,5 = 72,5 mm; II: 18,5; 7; 17,5; 5 = 65,5 mm; III: 14,5; 6; 16; 23,5; 5 = 52 mm; IV: 18,5; 6; 16; 23,5; 5 = 69 mm. Färbung nicht mehr genau zu erkennen; in Flüssigkeit erscheinen Cephalothorax und Extremitäten hell rötlich oder braun gelb, jedenfalls Beine I und II mehr gelblich, unten in der Endhälfte der Femuren und Tibien geschwärzt, alle Metatarsen wegen der Scopulierung unten geschwärzt; Mandibeln wahrscheinlich violettlich braun; Unterseite der Coxen und des Cephalothoraxes nur unbedeutend dunkler. Abdominalrüken hat wahrscheinlich vorn eine hellere Längsbinde und hellere Paarflecken gehabt. Ob Bauchfeld dunkler, bleibt fraglich. Tibialglied der Palpen am Ende aussen mit einem kräftigen, 2,5 mm langen, stark abstechendem und daher auffallendem Hacken versehen, der von oben, bzw. von vorne gesehen, wie aus 2, allerdings allmählich ineinander übergehenden Tasten zu bestehen scheint: der basale dicker, besonders an seiner Basis, nach aussen und ein klein wenig nach vorn gerichtet, am Ende, etwa im Niveau mit der Spitze des Gliedes reichend, während die Apikalhälfte des Hackens parallelseitig, gerade nach vorn etwa parallel zum Gliede gerichtet und am Ende aussen schräggeschnitten erscheint. Von der Seite gesehen, erscheint er am Ende oben abgeschnitten (die untere Eeke also erhalten und zugespitzt). Der Längsfortsatz am Innenrande des Bulbus nicht hackenförmig gebogen, vor der Spitze, an der Aussenseite mit einem kurzen, plattenförmigen, nach unten gerichtetem, etwa senkrecht zu der Längsachse des Hauptfortsatzes, gestelltem Fortsatz und gegenüber, an der entgegengesetzten inneren oder vorderen Seite des erstern befindet sich eine höckerförmige Verdickung. Tibial- und Tarsalglied innen dicht scapulaähnlich behaart." Petr. 1911, p. 478. Roewer, Fr. 1954, p. 656. Bonnet, P. 1958, p. 1290.

*Phoneutria sus* Caporiacco 1949, p. 681: In Dutch Guiana lives, too, *Ctenus sus* Strand, which, judging from the description, is surely a *Phoneutria*".

DISCUSSION

The definitive elucidation about the "good" and really "objective" species among those described for the genus *Phoneutria* will constitute an arduous and laborious task. Too old and insufficient descriptions, which do not permit to recognize the species or distinguish one from the other; "subjective" descriptions of new species, usually based on one single sample, being the opposite sex unknown up to now; the irreparable loss of the types from the old collections as well as from C. Mello-Leitão's material; the fact of species having been described (usually one sample) from distant and less accessible places such as Surinam, Santarém, Belém surroundings, Rio Negro, Colombia, Bolivia, Paraguai, Southern and Central Brazil — all this will demand a patient gathering of these rare arachnida, an international cooperation among the arachnologists in the search of the specimens, and also patient and detailed comparisons, mainly of the male copulating bulbs.

It seems correct to establish, since now, three groups of *Phoneutria*: a) *An Amazonic group* (*jera*, *rufibarbis*, *reidyi*, *andrewsi*, *sus* and *oehracea*), certainly reducible to 2 or 3 species. *Fera* and *rufibarbis*, and possibly *oehracea*, have been captured by Spix and Martius, the first one "at Rio Negro banks". *Reidy* and *andrewsi* are very much alike and resemble *rufibarbis*.

b) *A group from Southern Brazil, Uruguai, Argentina and Paraguai*, where the species *nigriventer* seems to be the best known.

c) The third group is the *Bolivian group* (*P. boliviensis*, *bolivicola* (?), *colombiana*), according to Cambridge and Strand showing much resemblance to the Amazonic group and partially to *nigriventer* (Strand).

The species *luederwaldti*, *nivobarbata*, *paca* and *rufichelis* will probably not resist to the synonymisation to the older species, since really "objective" comparative elements are available.

#### SUMMARY

As an introduction to the systematic revision of species of the genus *Phoneutria* Perty the bibliography of the species with the principal topics of original descriptions is presented, their primary synonyms, including the sex, type-locality, and the deposition of the type-specimens in official collections (when known).

#### RESUMO

Como preâmbulo a uma revisão sistemática das espécies do gênero *Phoneutria* é apresentada a bibliografia tanto quanto nos foi possível reuni-la, incluindo informações sobre os tipos, os sexos dos espécimens descritos, os locais de captura e as coleções, onde os tipos estão ou estavam depositados.



## ARANHAS DA FAMÍLIA CTENIDAE, SUBFAMÍLIA PHONEUTRIINAE

### VII. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE *PHONEUTRIA FERA* PERTY, 1833. REVALIDAÇÃO E SINONÍMIAS DE *PHONEUTRIA RUFIBARBIS* PERTY, 1838 \*

V. DESSIMONI von EICKSTEDT, S. LUCAS e W. BÜCHERL \*\*

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Como já mencionamos em trabalhos anteriores (1, 2, 3), Perty, em 1833, descreveu como novos o gênero *Phoneutria* e as espécies *rufibarbis* e *fera*, baseadas em duas fêmeas, capturadas por Spix e Martius às margens do Rio Negro, na província do mesmo nome, Brasil e então depositadas no Gabinete Real de Munique. Embora a descrição tivesse sido sumária, é, contudo, suficiente para justificar o gênero.

C. L. Koch (4), em 1848, descreveu o primeiro macho de *Phoneutria fera* citando também uma fêmea, e redescreveu uma fêmea de *rufibarbis*, devendo estes espécimens terem sido depositados em sua coleção particular em Nürnberg. Nem a procedência dada por Koch, que é apenas "Brasília", nem o texto, oferecem elementos suficientes para se poder afirmar com certeza que estas aranhas realmente pertençam às espécies amazônicas de Perty, não se podendo excluir, porém, a possibilidade deste autor ter trabalhado com material da coleta de Spix e Martius (a fêmea de *Phoneutria fera* estudada por Koch tem a mesma medida do exemplar de *Phoneutria fera* de Perty).

Em 1897, Cambridge (5) descreveu duas novas espécies de *Phoneutria*: *reidyi* e *andrewsi*, não as comparando com as de Perty. No mesmo trabalho justificou a designação de *fera* como tipo do gênero *Phoneutria*, por considerar *rufibarbis*, "forma ignota".

Vinte anos depois, Strand (6) descobriu no Museu de Zoologia de Berlim e redescreveu o exemplar tipo de *Phoneutria fera*, etiquetado pelo próprio Perty. Infelizmente, o exemplar, seco e espetado em alfinete, já nessa época encontrava-se com a região ocular parcialmente lesada e sem abdomen, impossibilitando a observação do epígino e de pormenores do colorido.

Walckenaer (7), Gervais (8), Holmberg (9), Keyserling (10, 11), Goeldi (12), Simon (13), Moenkhaus (14) e outros autores mais recentes mencionaram ou redescreveram diversos espécimens, capturados desde a Argentina e sul do Brasil até o Rio de Janeiro, atribuindo-lhes erroneamente, o nome de *fera* ou *rufibarbis*, como já assinalara Cambridge (5) ao alterar os nomes *fera* e *rufibarbis* de Keyserling para *keyserlingi* e *pertyi*, respectivamente.

\* Trabalho realizado sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

\*\* Bolsista do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan, Ex-Chefe da Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan.

Recebido para publicação em 17 de junho de 1968.

De acôrdo com consultas feitas aos colegas W. Engelhardt (Munique), O. Kraus (Frankfurt), W. Crome (Berlim) e G. Rack (Hamburgo) é pouco provável a atual existência dos tipos de Perty e dos exemplares da coleção de Koch.

Como os exemplares estudados dêste gênero, procedentes da região amazônica, são, até esta data, em número muito limitado, achamos interessante realizar o presente trabalho, baseado em onze espécimens coletados nessa zona.

*Phoneutria fera* Perty, 1833

1833 *Phoneutria fera* Perty, *Delect. Anim. Artic.*, p. 197, Pl. 39, Fig. 3 — Margens do Rio Negro, Amazonas, Brasil, Spix e Martius col. 1817-1820, Gabinete Real de Munique, Holótipo fêmea, por designação de Cambridge, 1897.

1848 *Phoneutria fera* C. L. Koch, *Die Arachniden*, 15: 60, Pl. DXX, Fig. 1459 — 1 macho e 1 fêmea, Brasil, Col. part. C. L. Koch, Nürnberg, provavelmente perdidos.

1917 *Ctenus ferus* Strand, *Arachnol. Var., Arch. Naturg.*, 82A(2): 72 — redescoberta do tipo de Perty, Museu de Zoologia de Berlim, provavelmente perdido.

DIAGNOSE

Aranha marron escura, revestida por pêlos amarelo-acinzentados. Artícuo basal das quelíceras, na face anterior, com pêlos castanhos, que passam a vermelho junto ao sulco ungueal. Face dorsal dos três últimos artícuos do palpo percorrida por uma larga faixa longitudinal, mediana, escura. Dorso do abdomen com manchas claras.

DESCRIÇÃO

*Medidas* (em mm): Compr. total (com quel.): 39. Cefalot.: 17 compr.; 13 larg. max.; 7,5 larg. frente. Esterno: 8 compr.; 6 larg. Lábio: 3 compr.; 2,3 larg. meio. Epígino: 3,8 compr.; 3,5 larg. incluindo peças laterais.

Pernas:

	Fêmur	Patela	Tíbia	Metat.	Tarso	Total
I	17,5	7,5	19,5	17	4	65,5
II	16,5	7,5	16	15	4	59
III	13,5	6,5	12	12	4	48
IV	17,5	6,5	15,5	20,5	4,5	64,5

*Colorido*: Aranha de colorido marron escuro, revestida de curtos pêlos amarelo-acinzentados. Artícuo basal das quelíceras, em sua face anterior, com pêlos castanho-amarelados, que passam a vermelho junto à margem superior do sulco ungueal. Lábio e lâminas maxilares denegridos, ápice das últimas com fimbria de pêlos alaranjados. Abdomen dorsalmente com três faixas claras, longitudinais: uma mediana, que parte da base e vai até pouco antes da metade do dorso e duas laterais a ela, formadas por pares de manchas claras, que se dirigem

para as fiandeiras. Indícios de linhas oblíquas de manchas claras, dorso-ventrais. Ventre com 4 linhas longitudinais de sigilas, convergentes para as fiandeiras. Face dorsal das patelas, tíbias e tarsos dos palpos com uma faixa mediana escura, quase negra, acompanhada de ambos os lados por pêlos cinza-claros. Escópulas dos palpos e da face ventral das pernas cinza-escureas, quase negras. Fêmures I e II com mancha escura, ventral, subapical. Pernas posteriores com longos pêlos amarelados na face ventral.

*Morfologia:* *Cefalotórax* mais longo que largo, com fôvea longitudinal distinta e pouco profunda; perfil cefalotorácico plano; clipeo vertical. *Olhos:* os quatro medianos formando um quadrângulo, ligeiramente mais estreito na frente; M.A. distantes entre si e dos M.P. pouco menos de um seu diâmetro; M.P. distantes entre si e dos L.A. pouco mais de um raio dos M.P.; L.P. distantes entre si pouco mais de 4 vezes seu diâmetro; segunda fila ocular levemente procurva; M.P. um pouco maiores que os M.A., L. P. um pouco maiores que os M.P. *Quelíceras:* cinco dentes na margem inferior do sulco ungueal, o interno, o menor e os quatro outros, grandes e aproximadamente iguais; margem superior com três dentes, o médio, o maior. *Lábio* e *esterno* mais longos que largos. *Pernas* (1.4) 2.3. Escópula em tôda a face ventral dos tarsos e metatarsos I e II, nos 4/5 apicais do metatarso III e nos 2/3 apicais das tíbias I e II. Tarsos com duas garras terminais munidas de 3 dentes nítidos, seguidos por uma fileira de denticulos. Longos pêlos amarelados revestindo tôda a face ventral dos fêmures, patelas e tíbias III e IV, formando um tufo basal no metatarso III e ocupando todo o metatarso IV. *Espinulação* (dm = dorso-mediano; la = lateral anterior; lp = lateral posterior; v = ventral; ap = apical):

Perna	Fe	Pa	Ti	Met
I	3 la, 3dm, 4 lp	0	10v (5 pares)	6v (3 pares)
II	4 la, 3dm, 4 lp	0	10v (5 pares)	6v (3 pares)
III	4 la, 3dm, 4 lp	1 la, 1 lp	6v (3 pares) 2 la, 3dm, 2 lp	6v (3 pares) 4 la, 3 lp, 2d ap
IV	4 la, 3dm, 4 lp	1 la, 1 lp	6v (3 pares) 2 la, 3dm, 2 lp	vários (16-17) irreg. disp.

*Palpos:* com escópula nítida na face anterior das tíbias e tarsos e uma garras com cinco dentes grandes, seguidos por outros muito pequenos. *Espinulação:* fêmur com 4 d.ap. e 1 dm.; patela: 1 la; tíbia: 1 lp, 1 dm, 2 la, 1 d. ap.; tarso: 3 la, 2 lp.

*Epígino:* formado por uma placa fortemente quitinizada e duas peças laterais, curvas para dentro (Fig. 1).

*Material e procedência:* ♀ N.º C. 3945, Dep. Zool. Secr. Agr. S. Paulo, Pe. Pereira col. 1964, Tapurueuara, Amazonas, Brasil.

*Phoneutria rufibarbis* Perty, 1833

1833 *Phoneutria rufibarbis* Perty, *Delect. Anim. Artic.*, p. 197, Pl. 39, Fig. 2 — Holótipo fêmea, Margens Rio Negro, Amazonas, Brasil, Spix e Martius col. 1817-1820, Gabinete Real de Munique. Perdido.

- 1848 *Phoneutria rufibarbis* C. L. Koch, *Die Arachniden*, 15:63, Pl. DXXI, Fig. 1461 — 1 fêmea, Brasil, Col. part. C. L. Koch, Nürnberg. Provavelmente perdido.
- 1897 *Ctenus reidyi* F. O. P. Cambridge, *Ann. Mag. Nat. Hist.* 19 (Ser. 6): 78, Pl. III, Fig. 1a, 2a — 1 fêmea, Santarém, Baixo Amazonas, F. O. P. Cambridge col., Museu Britânico (História Natural).
- 1897 *Ctenus andrewsi* F. O. P. Cambridge, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 19 (Ser. 6): 79, Pl. III, Fig. 2b — 2 fêmeas, Santarém e Pará, Baixo Amazonas, Museu Britânico (História Natural).

Outros exemplares de *Phoneutria reidyi* e *andrewsi* da região amazônica, foram citados também por Mello-Leitão (15), que menciona uma fêmea capturada no Alto Juruá e por Caporiacco (16), que cita uma fêmea de Bartica, Guianas Britânicas.

Em 1897, F. O. P. Cambridge (5) considerou *P. rufibarbis* "forma ignota", no que não foi apoiado por autores posteriores. Praticamente do mesmo biótopo de *P. rufibarbis*, descreveu nessa mesma data, 2 espécies novas de *Ctenus*, que posteriormente foram colocadas sob *Phoneutria* (15): *reidyi* e *andrewsi*.

Os dois exemplares de *reidyi* e *andrewsi* só se diferenciam, conforme o próprio autor assinala, apenas pela presença ou não de pontos brancos no dorso do abdomen, pelo tamanho e pelo epígino.

Tendo à nossa disposição vários exemplares de *Phoneutria* da região amazônica, cujos caracteres morfológicos são plenamente concordantes com os das espécies de Cambridge, pudemos avaliar que os caracteres específicos diferenciais apontados são apenas variações individuais: "a série dupla dorsal de três pontos brancos conspícuos e 3 menores e menos conspícuos de cada lado da linha central" do dorso do abdomen ora se apresenta muito nítida ora é praticamente inexistente; o tamanho não é, como se sabe, caráter específico; o fato de o epígino ser mais longo que largo em *andrewsi* e praticamente tão largo quanto longo em *reidyi* não é suficiente para distinguir duas espécies quando se tem vários exemplares de uma mesma espécie à disposição (Figs. 2 a 4); as duas peças laterais curvas que Cambridge cita como presentes apenas no epígino de *reidyi*, são provavelmente excrescências que ficam aí aderidas e endurecem com o tempo, pois são facilmente removíveis, não constituindo parte integrante do epígino. Levantando-se, cuidadosamente, essa "peça", observa-se por baixo dela o tubérculo preto que Cambridge cita como presente em *andrewsi*. Para confirmar nossas observações, consultamos o Dr. D. J. Clark do Museu Britânico (História Natural) que, examinando os exemplares tipo, verificou que de fato as peças curvas do epígino de *reidyi* são excrescências e quando elas são removidas, os dois epíginos não se distinguem.

Cambridge, dando unicamente importância à disposição da segunda fila ocular dos seus exemplares, não os colocou sob *Phoneutria* e assim não os comparou com as duas espécies mais antigas do gênero. Verificamos também que os nossos espécimens, além de concordarem com a minuciosa descrição de Cambridge, também se enquadram perfeitamente nos caracteres apontados por Perty para *Phoneutria rufibarbis*.

Pelo exposto, conclui-se que *P. reidyi* e *andrewsi* são sinônimas entre si e idênticas à *Phoneutria rufibarbis* Perty.

MATERIAL

Damos, a seguir, a relação de 4 dos exemplares de *Phoneutria rufibarbis* estudados:

♀ N.º 6305 — Col. Dep. Zool. Seer. Agric. S. Paulo, exped. 20/X/59, Rodovia Belém-Brasília, Km. 93, Pará, Brasil.

*Medidas* (em mm):

Cefalot.: 15 x 12,5                      Lábio: 2,5 x 2  
Esterno: 7 x 5,5                        Compr.: 37 (com mand.)

Pernas:

	Fe	Pa+Ti	Met.	Tarso	Total
I	16,5	24	14,5	4	59
II	16	21,5	13,5	4	55
III	13	16	11	4	44
IV	15,5	19,5	18	4,5	57,5

♀ N.º 6328 — Col. Dep. Zool. Seer. Agric. S. Paulo, exp. Dep. Zool. 20/IV/67, Margem esquerda Rio Negro, abaixo ilha Anavilhana, Amazonas, Brasil.

*Medidas* (em mm):

Cefalot.: 14 x 11                        Lábio: 2,5 x 2,1  
Esterno: 6,5 x 5,5                      Compr.: 36 (com mand.)

Pernas:

	Fe	Pa+Ti	Met	Tarso	Total
I	15,5	22	13	4	54,5
II	14,5	20	12	4	50,5
III	12	15	9,5	4	40,5
IV	14,5	18	16	4,5	53

♀ N.º 6313 — Col. Dep. Zool. Seer. Agric. S. Paulo, Vanzolini col. 1-5/IV/67, Boea Purus, Amazonas, Brasil.

*Medidas* (em mm):

Cefalot.: 13 x 10,5                        Lábio: 2,4 x 1,9  
Esterno: 5,5 x 5                        Compr.: 27,5 (com mand.)

Pernas:

	Fe	Pa+Ti	Met.	Tarso	Total
I	12	18	11	3	44
II	11	16	9,5	3	39,5
III	9	12,5	7,5	3	32
IV	11,5	15	13	3,5	43

♀ N.º 2002 — Col. Inst. Butantan, Reinaldo Damaseeno col., Macapá, Território Amapá, Brasil.

*Medidas* (em mm):

Cefalot.: 16 x 12                        Lábio: 3 x 2,5  
Esterno: 7 x 5                        Compr.: 40 (com mand.)



Pernas:	Fe	Pa+Ti	Met.	Tarso	Total
I	16	23,5	14,5	4	58
II	15	21	13	4	53
III	12,5	16	10,5	3,5	42,5
IV	15	19,5	17	4	55,5

Além desses 4 exemplares, tivemos em mãos uma fêmea adulta de Utinga, Pará (N.º 2169 Col. Inst. Butantan), uma fêmea e um macho jovem de Iquiri, Território do Aere (N.º 2435 Dep. Zool. Seer. Agric. S. Paulo) e uma fêmea e 2 machos jovens do Rio Traeajatuba, Território do Amapá (N.º 1957 Col. Inst. Butantan).

Para complementar a descrição de Cambridge, fornecemos em seguida alguns pormenores sobre o colorido e a morfologia externa de *P. rufibarbis*: Abdomen com pares de pontos brancos no dorso e filas oblíquas de manchas brancas indo da região dorsal até o ventre; quatro filas longitudinais de pequenas sigilas na região ventral, as 2 mais anteriores e centrais, maiores e cercadas por pêlos claros. Compridos pêlos amarelados revestindo toda a face ventral dos fêmures, pat. e tíbias III e IV, ocupando a 1/2 basal do met. III e praticamente todo o met. IV. Escópula em toda a face ventral dos tarsos I a IV e met. I e II, nos 2/3 apicais do met. III, no ápice do met. IV e no terço apical da tíbia I. Espinulação das pernas e dos palpos como a descrita para *fera*, notando-se pequenas diferenças individuais quando se comparam os diversos exemplares.

*Diagnose diferencial*: Distingue-se *P. fera* de *P. rufibarbis* pelo epígino, pela presença de um desenho formado por manchas claras no dorso do abdomen em *fera* e de uma série dupla de pontos brancos em *rufibarbis*, pelo colorido dos pêlos da face anterior do artículo basal das quelíceras, castanho em *fera* e vermelho em *rufibarbis*, pela existência de uma larga faixa long. mediana escura nos 3 últimos artículos do palpo de *fera* e de 2 linhas claras long. paralelas em *rufibarbis*. Quanto à *boliviensis* Cambridge, 1897, distingue-se de *rufibarbis* pelo desenho do dorso do abdomen, pelo epígino (Cambridge o compara com os de *keyserlingi* e *nigriventer*, que são muito diferentes do de *rufibarbis*). O exemplar descrito neste trabalho como *P. fera* assemelha-se bastante com *Phoneutria boliviensis* Cambridge mas difere dela pelo epígino, que não se parece com o de *nigriventer*.

#### DISCUSSÃO

O estudo do material amazônico disponível revelou que a espécie *rufibarbis* de Perty é bem definida e válida, não se justificando a designação de "forma ignota" feita por Cambridge. O exemplar procedente de Tapuruera foi classificado como *P. fera*, apesar de apresentar desenho nítido no dorso e lados do abdomen porque tudo faz supor que tenha sido capturado num biótopo semelhante ao do tipo de *fera*. Além disso, como êle distingue-se nitidamente dos espécimens de *rufibarbis* estudados e como Cambridge designou *fera* o tipo do gênero e êste nome já está consagrado na literatura, achamos ser êste o procedimento mais acertado.

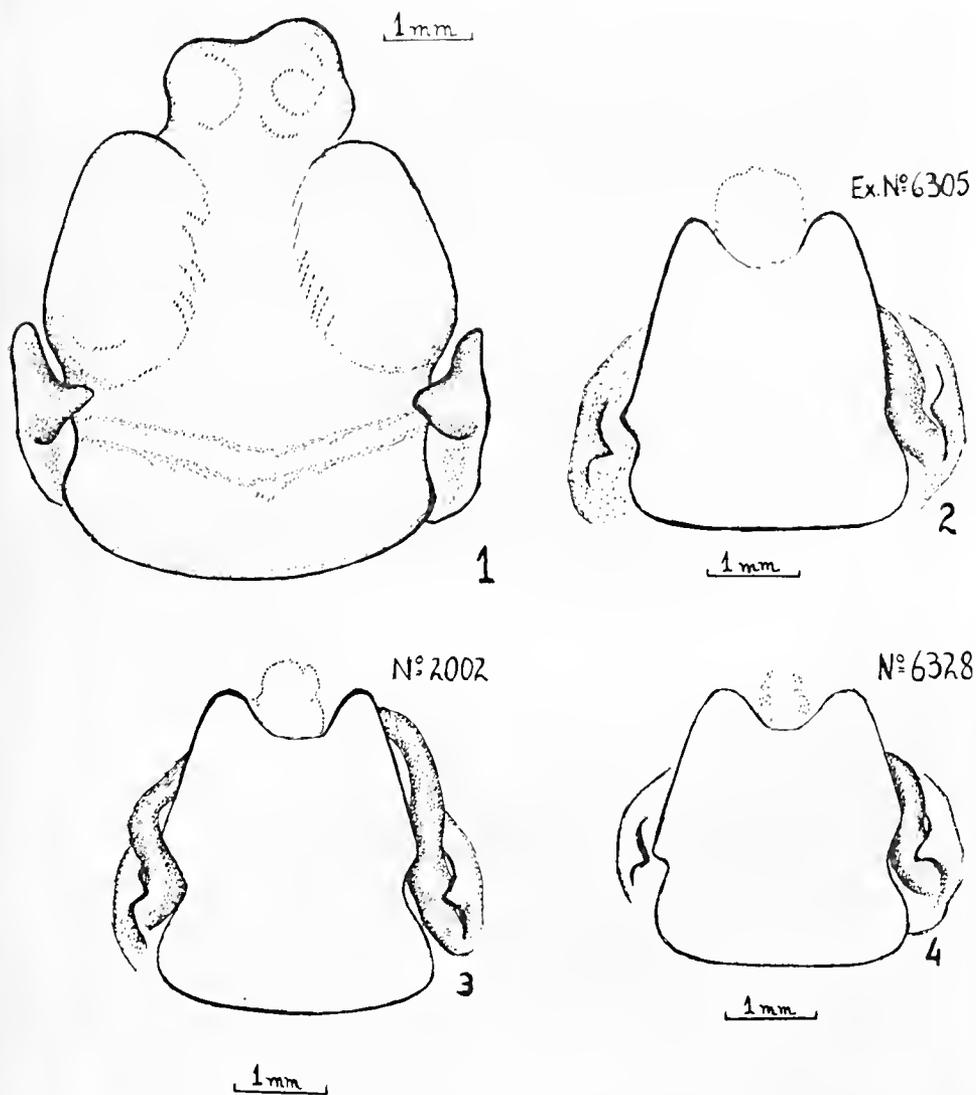


Fig. 1 — *Phoneutria fera* Perty, 1833, epigino, face ventral.

Fig. 2-4 — *Phoneutria rufibarbis* Perty, 1833, epigino, face ventral.

## RESUMO

Uma fêmea adulta de *Phoneutria fera*, Perty, 1833, procedente de Tapurucuara, junto ao Rio Negro, Amazonas, é descrita e sua posição específica é justificada. É demonstrado que as espécies amazônicas *Phoneutria reidyi* e *andrewsi* são sinônimas entre si e idênticas à *Phoneutria rufibarbis*.

## SUMMARY

An adult female of *Phoneutria fera* Perty, 1833 from Tapurucuara, on the Rio Negro, Amazonas, is described and its specific position is discussed. The Amazonian species, *Phoneutria andrewsi* and *Phoneutria reidyi* (Cambridge), 1897 are synonymous of the older species *Phoneutria rufibarbis* Perty, 1833.

*Agradecimentos:* Agradecemos aos Drs. P. E. Vanzolini e P. de Biasi, Dep. Zool. Seer. Agric. S. Paulo, pelo empréstimo do material que possibilitou este trabalho, ao Dr. D. J. Clark, British Museum (Natural History) pelo exame dos tipos de Cambridge, aos Drs. W. Engelhardt, Zoologisches Sammlung des Bayerischen Staates, Munique, O. Kraus, Senckenberg Museum, Frankfurt, W. Crome, Zoologisches Museum, Berlim, e G. Raek, Zoologisches Staatsinstitut und Zoologisches Museum, Hamburgo pelos esclarecimentos sobre o destino dos tipos e coleções antigas.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bücherl, W.; Lucas, S. e Dessimoni, V. — Redescricao dos gêneros *Ctenus* Walckenaer, 1805 e *Phoneutria* Perty, 1833, *Mem. Inst. Butantan*, 31:95-102, 1964.
2. Bücherl, W. — Phoneutriinae, subfamilia nova. *Mem. Inst. Butantan*, 34:25, 1969.
3. Bücherl, W.; Lucas, S.; Von Eickstedt, V. — Bibliographia Phoneutrium, *Mem. Inst. Butantan*, 34:47, 1969.
4. Koch, C. L. — *Die Arachniden*, 15:60-63, 1848.
5. Cambridge, F. O. P. — On Cteniform Spiders from the Lower Amazons, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 19 (Ser. 6):78-79, 1897.
6. Strand, E. — Arach. Var., *Arch. Naturg.*, 82A(2):72, 1917.
7. Walckenaer, M. — *Histoire Naturelle des Insectes Aptères*, 1:369-370, 1837.
8. Cuvier, P. — Articles sur les Araignées, *Dic. sci. nat.*, 1:307, 1840.
9. Holmberg, E. L. — Arácnidos argentinos, *An. agr. Arg.*, 4:26, 1876.
10. Keyserling, E. — *Die Spinnen Amerikas. Brasilianische Spinnen*, 3:145, 1891.
11. Keyserling, E. — Neue Spinnen aus Amerika, *Verh. zool. bot. Ges. Wien*, 30: 576, 1881.
12. Goeldi, E. A. — Orientierung in der Spinnenfauna Brasiliens, *Mitt. Osterl.* 5:213, 1892.
13. Simon, E. — Liste des Arachnides recueillis aux îles du Cap-Vert, dans la République Argentine et le Paraguay, *Boll. Mus. zool. anat. comp. Torino*, 12 (270):2-3, 1897.
14. Mocnkhaus, W. J. — Contribuição para o conhecimento das aranhas de S. Paulo, *Rev. Mus. Paulista*, 3:78, 1898.
15. Mello-Leitão, C. — Contribution à l'étude des Ctenides du Brésil. *Festschr. Strand* 1:15-18, 1936.
16. Caporiacco, L. — Arachnida of British Guiana. *Proc. Zool. Soc. London*, 118:681, 1948-49.

REVISÃO DOS TIPOS DE *PHONEUTRIA PACA* (MELLO-LEITÃO), 1922 E  
*PHONEUTRIA LUEDERWALDTI* (MELLO-LEITÃO), 1927 (ARANEAE;  
LABIDOGNATHA; CTENIDAE) \*.

VERA REGINA DESSIMONI VON EICKSTEDT e SYLVIA LUCAS

*Secção Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil*

INTRODUÇÃO

Mello-Leitão, em 1922 (1) e 1927 (2), descreveu duas novas espécies pertencentes ao gênero *Ctenus*: *paca* e *luederwaldti*, que o próprio autor, em 1936 (3), ao fazer a revisão dos Ctenídeos brasileiros, colocou sob o gênero *Phoneutria*. A fim de verificar a validade dessas espécies, examinamos o material-tipo pertencente à coleção aracnológica do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo.

REVISÃO DOS TIPOS

*Phoneutria paca* (Mello-Leitão), 1922

Holótipo fêmea N.º 537, A, Coleção aracnológica Depto. Zool. Seer. Agrie. Paulo e em todo o sul do Brasil.

Comparando a descrição original com o exemplar catalogado como tipo verifica-se uma sensível discrepância em relação às medias e à espinulação.

O texto de Mello-Leitão não oferece elementos suficientes para distinguir esta sua espécie de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891, que é comum em São Paulo e em todo o sul do Brasil.

Mello-Leitão distinguia (3) as duas espécies apenas pela presença ou não de três linhas oblíquas formadas de pequenos pontos claros, partindo do dorso do abdômen. Verificamos que em *Phoneutria nigriventer*, tanto em animais vivos como em exemplares da coleção do Instituto Butantan, êsse desenho ora se apresenta muito nítido, ora praticamente inexistente.

O estudo da evolução do epígino, por nós observada em numerosos exemplares de *Phoneutria nigriventer*, criados em laboratório, permite-nos afirmar que o epígino de *Phoneutria paca* corresponde a uma das fases jovens do desenvolvimento do epígino de *Phoneutria nigriventer* (Fig. 1).

A observação detalhada do tipo confirma que *Phoneutria paca* é um exemplar imaturo de *Phoneutria nigriventer*.

\* Trabalho realizado sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan. Recebido para publicação em junho de 1969.

*Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927

Holótipo fêmea N.º 823 (atual N.º 940), Colção aracnológica do Depto. Zool. Sscr. Agric. S. Paulo, H. Luederwaldt leg. XI-1924, Blumenau, Santa Catarina.

O tamanho (20 mm), o aspecto do cpígino (Fig. 2) e o desenho do ventre revelam tratar-se de uma fêmea jovem de *Phoneutria nigriventer*, espécie freqüente em várias localidades de Santa Catarina, conforme foi verificado nos catálogos da coleção do Instituto Butantan.

O desenho, tido por Mello-Leitão como tão característico dessa espécie, é apenas uma fase evolutiva do colorido ventral: em exemplares muito jovens nota-se, junto ao sulco epigástrico e depois também adiante das fiandeiras, uma estreita faixa negra que, com o desenvolvimento do animal, vão-se alargando até se unirem completamente, formando um único campo triangular negro nas fêmeas adultas, fato êste já observado por Büchlerl (4).

Pelo que foi exposto, pode-se afirmar que também esta espécie não deve ser considerada válida por ser sinônima de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891.

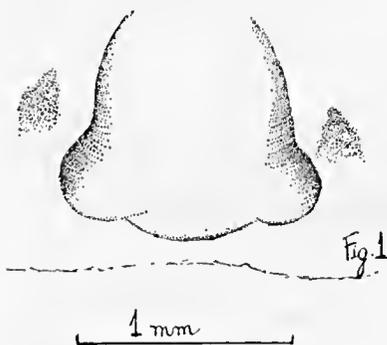


Fig. 1 — Epígino de *Phoneutria paca* (Mello-Leitão), 1922. Vista Ventral.

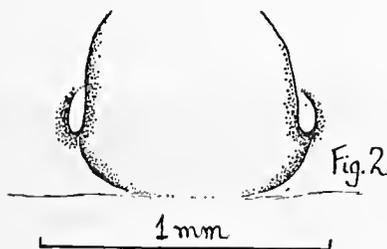


Fig. 2 — Epígino de *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927 vista ventral

## RESUMO

*Phoneutria paca* (Mello-Leitão), 1922 e *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927 são sinônimas de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891.

## SUMMARY

*Phoneutria paca* (Mello-Leitão), 1922 and *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927 are synonymous of *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891.

*Agradecimentos:* Agradecemos ao Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo pelo empréstimo do material que possibilitou a execução deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

1. *Mello-Leitão, C. F.* — Novas Clubionidas do Brasil, *Arch. Esc. sup. agr. med. veter.*, 6:41, 1922.
2. *Mello-Leitão, C. F.* — Arachnideos de Santa Catharina, *Rev. Mus. paul.* 15:403, 1927.
3. *Mello-Leitão, C. F.* — Contribution à l'étude des Cténides du Brésil, *Festschr. Strand*, 1:15, 1936.
4. *Bücherl, W.* — Aranhas do Rio Grande do Sul, *Mem. Inst. But.*, 24(2):136, 1952.



## ESTUDOS SISTEMÁTICOS SÔBRE ARANHAS CARANGUEJEIRAS

DESCRIÇÃO DA FÊMEA DE *ACANTHOSCURRIA MUSCULOSA* SIMON, 1892,  
(AVICULARIIDAE, THERAPHOSINAE). \*

KLAUS E. STEWIEN

*Seção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

Em 1892, descreveu Simon o macho de *A. musculosa* de San Mateo, Bolívia, e Mello-Leitão, em 1923, redescreveu a espécie com machos de Cáceres, Mato Grosso, conservados na coleção aracnológica do Departamento de Zoologia de S. Paulo. De então para cá, a espécie não mais foi estudada.

### MATERIAL

A descrição da fêmea de *A. musculosa* foi baseada no estudo comparativo de 25 exemplares, dos quais 16 vivos, suas exúvias, além de 9 exemplares conservados da coleção do Instituto Butantan.

O material é procedente do Estado de Mato Grosso das seguintes localidades: 17 indivíduos de Cáceres, 4 de Agachi, 1 indivíduo de Salobra, 1 de Corumbá e 1 do Rio Cuiabá.

*Descrição* — Exemplar n.º 3.756, Coleção Aracnológica Instituto Butantan — fêmea, Cáceres, Mato Grosso, Instituto Santa Maria leg. 24-1-66.

*Dimensões* — Comprimento total: 70,0 mm;

Cefalotórax — comprimento: 27,0 mm; largura: 25,5 mm;

Esterno — comprimento: 13,0 mm; largura: 8,0 mm;

Pernas — comprimento: I = 78,5 mm; II = 70,5 mm; III = 68,5 mm;  
IV = 81,5 mm;

Patela + tibia I = 24,0 mm; patela + tibia IV = 23,5 mm.

*Dimensões médias de 8 exemplares* — Comprimento total médio: 65 mm.

\* Trabalho realizado sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan, e sob a orientação de W. Buecherl.

Recebido para publicação em 1 de fevereiro de 1966.

Cefalotórax — comprimento médio: 22,0 mm; largura média: 20,0 mm; a diferença percentual média da relação comprimento-largura está demonstrada na Tabela I.

TABELA I — *A. musculosa* SIMON, 1892 — VARIACÃO DA RELAÇÃO COMPRIMENTO-LARGURA DO CEFALOTÓRAX.

N.º	Comprimento	Largura	Dif. percentual
1	28,5	26,5	7%
2	26,5	23,5	11%
3	23,0	20,5	11%
4	22,5	20,5	9%
5	21,5	20,0	7%
6	20,0	17,5	12%
7	17,5	16,0	9%
8	16,0	14,0	12%
Média . . . . .	22,0 mm	20,0 mm	10%

Rima ocular mais larga que longa, variando de sub-eireular até perfeitamente elíptica (Tabela II).

TABELA II — VARIACÃO DA RELAÇÃO COMPRIMENTO-LARGURA DA RIMA OCULAR

N.º	Largura	Comprimento	Dif. percentual
1	2,6	1,6	39,0%
2	3,7	2,4	35,0%
3	3,2	2,2	33,3%
4	3,0	2,0	33,3%
5	3,4	2,3	32,0%
6	3,3	2,4	27,0%
7	3,7	2,8	25,0%
8	2,7	2,2	18,5%
Média . . . . .	3,2 mm	2,2 mm	30,0%

Tamanho, forma e disposição dos olhos na rima ocular bastante variável (Diagrama I).

Quelíceas robustas com 10 a 12 dentes eônicos na face ventral interna; os 5 primeiros, a partir do ápice, grandes, seguidos sempre por 1 dente pequeno.

Fóvea toráica profunda e direita. Lábio na porção posterior bem mais largo que longo, apresentando na metade anterior numerosas eúspides. Esterno mais longo que largo, normalmente convexo, com sigilas posteriores elípticas, afastadas da margem no máximo por um diâmetro.

Comprimento das pernas de seqüência decrescente: IV, I, II, III.

A Tabela III mostra os comprimentos de patela + tibia I e IV e a Tabela IV, os comprimentos do cefalotórax de 15 indivíduos. Encontram-se, também, as diferenças das relações patela + tibia I e IV, e patela + tibia I e o cefalotórax, bem como os valores médios.

Metatarsos I e II esepulados quase até a base, os metatarsos III, pouco mais que a metade apical, e os metatarsos IV, por um quarto apical. Esepulas internas dos fêmures do 4.º par de pernas de grande densidade. Aparelho estridu-

TABELA III — *A. musculosa* SIMON, 1892 — RELAÇÃO DOS COMPRIMENTOS DE PATELA + TIBIA I E IV.

N.º	P. + T. I	P. + T. IV	Diferença
1	25,0	24,5	0,5
2	25,0	24,3	0,7
3	24,5	24,0	0,5
4	24,0	23,5	0,5
5	24,0	23,5	0,5
6	23,8	23,2	0,6
7	23,5	23,0	0,5
8	22,5	22,0	0,5
9	22,5	22,0	0,5
10	20,2	20,0	0,2
11	20,0	19,5	0,5
13	17,7	17,2	0,5
14	16,5	16,2	0,3
15	15,5	15,0	0,5
Média . . . . .	21,6 mm	21,1 mm	0,5 mm

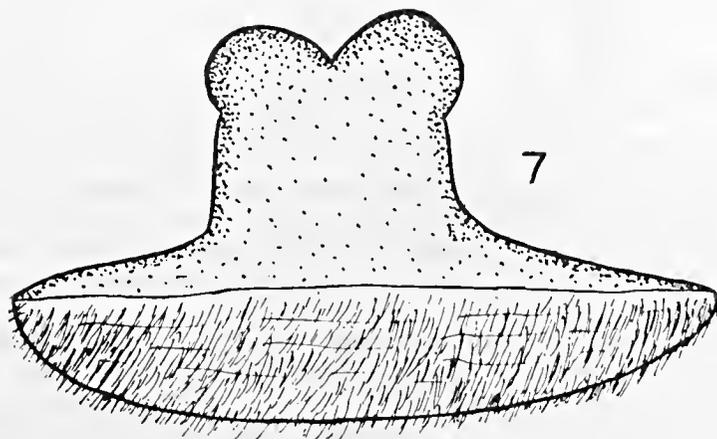
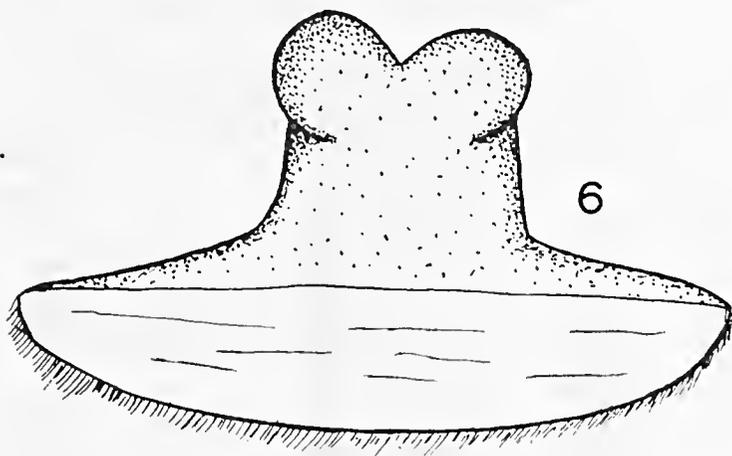
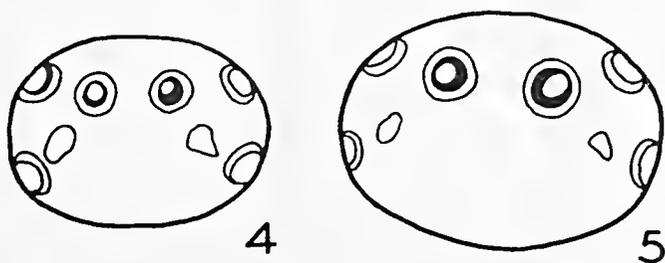
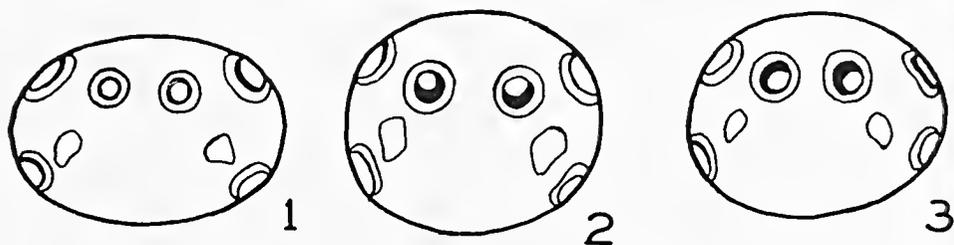
TABELA IV — *A. musculosa* SIMON, 1892 — RELAÇÃO DOS COMPRIMENTOS DE PATELA + TIBIA I E O CEFALOTÓRAX.

N.º	P. + T. I	Cefalotórax	Diferença
1	25,0	28,5	3,5
2	25,0	29,0	4,0
3	24,5	27,5	3,0
4	24,0	25,0	1,0
5	24,0	26,5	2,5
6	23,8	26,5	2,7
7	23,5	25,0	1,5
8	22,5	23,0	0,5
9	22,5	23,5	1,0
10	20,2	23,5	3,3
11	20,0	22,5	2,5
12	19,5	20,0	0,5
13	17,7	18,0	0,3
14	16,5	17,5	1,0
15	15,5	16,0	0,5
Média	21,6 mm	23,5 mm	1,9 mm

lante formado por 25 a 35 cerdas claviformes plumosas, dispostas na face posterior do trocânter dos palpos; na face anterior do 1.º par de pernas, poucas cerdas curtas nos trocânteres. Pernas munidas por poucos espinhos. Unhas tarsais com uma série variável de 5 a 15 pequenos denticulos. Tarsos dos palpos com uma unha ímpar muito robusta e lisa.

Espermatecas: unidas intimamente a uma bolsa quitinosa, resultando aspecto característico, conforme Diagrama II. Neste conjunto bolsa-espermatecas, estas se apresentam como dois lobos fundidos e apoiados sobre a bolsa, cuja abertura está na extremidade inferior, sob forma de fenda total. Dimensões: altura: 3,2 mm; base da bolsa: 8,0 mm; largura dos lobos juntos: 3,0 mm. O conjunto é quitinoso e aparece sempre na exúvia.





- 
- Fig. 1 — L.A. maiores que os L.P. e os M.A.; M.P. contíguos aos L.P.
- Fig. 2 — L.A. iguais aos L.P. e aos M.A. os M.P. apenas ligeiramente menores. M.P. de disposição quase mediana entre M.A. e L.P.
- Fig. 3 — L.A., L.P. e M.A. de tamanho praticamente igual. M.P. menores e medianos entre os M.A. e os L.P.
- Fig. 4 — L.A., L.P. e M.A. do mesmo tamanho. M.P. maiores do que na fig. anterior.
- Fig. 5 — M.A. maiores que os L.A. e os L.P.; M.P. bem pequenos e algo mais próximos aos L.P.
- Fig. 6 — *A. musculosa* Simon 1892. Desenho semi-esquemático do conjunto bolsa-espermatecas. Aumento: 15 vezes. Face dorsal (= superior).
- Fig. 7 — Mesmo que Fig. 6. Face ventral (= inferior).

*Colorido* — Cefalotórax, abdômen e pernas de pubescência negra, densa e veludosa, com variação conforme a idade, e principalmente com as trocas de pele. Após a muda, a pubescência é negra e brilhante, com reflexos esverdeados nas escópulas dos tarsos; com o tempo surgem tonalidades desde cinza a marron escuro, permanecendo o ventre sempre negro; animais, antes da muda, podem apresentar coloração marron pronunciada. Os segmentos das pernas após os fêmures ostentam, às vezes, coloração cinza, com duas faixas longitudinais negras nítidas em cada segmento. O corpo se reveste de pêlos ruivos, longos e deitados de 5 a 10 mm de comprimento; cefalotórax e pernas com pêlos louro-ruivos ou ruivo-pálidos até ruivos.

Pilosidade das pernas bem mais abundante nas fêmeas. Esterno e ancas das pernas negros, com alguns pêlos ruivo-pálidos; lábio e coxas dos palpos roxos, as últimas com uma franja de pêlos longos cor de braza.

As côrcs se conservam mal em álcool, ficando a aranha após alguns anos com tonalidade castanho-rósea.

#### RESUMO

É descrita a fêmea de *Acanthoscurria musculosa* Simon, 1892, baseando-se num estudo comparativo de 25 exemplares, vivos e conservados, procedentes de diversas localidades do Estado de Mato Grosso.

#### SUMMARY

The description of the female of *Acanthoscurria musculosa* Simon, 1892, is based on the comparative study of 25 specimens from Mato Grosso, Brazil.

*Agradecimento* — Agradeço a Sylvia Lucas e Vera Dessimoni por sua ajuda e estímulo.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Simon, E. — *Ann. Soc. Ent. Fr.* 61:281-283, 1892.
2. Simon, E. — *Hist. Nat. Ar., Paris* 1:152 e 2:941, 1892.
3. Mello-Leitão, C. de — *Rev. Mus. Paulista* 13:281-302, 1923.
4. Petrunkevitch, A. — *Trans. Connecticut Acad. Sc.* 33:235, 1939.
5. Bonnet, P. — *Bibliographia Araneorum, Toulouse* 2:137, 1955.
6. Buecherl, W. — *Ann. Acad. Brasil. Cien.* 29(3):397, 1957.

## CHIRONIUS SCURULUS (WAGLER) RECORDED FROM VENEZUELA

A. R. HOGE

*Department of Herpetology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

Recently Hoge and Nina (:72) considered *Natrix scurula* Wagler as a valid species belonging to the genus *Chironius*, and recorded several specimens from Brazil and Peru.

A specimen in the "Museo de Biología de la Universidad Central de Venezuela" extends the range of this species far Northwards and represents the first record from Venezuela.

*Description:* A specimen without number in the MBUCV; a female, from Rio Paragua between the mouth of Rio Kauni and Raudal Guaiginina, Estado Bolívar, Venezuela, Brewer leg. Jan. 13-1962. Rostral larger than high, visible from above; internasals longer than broad; prefrontals as long as broad, as long as the internasals; preocular well visible from above; frontal longer than broad, much broader anteriorly than posteriorly; supraoculars elongated, broadest behind; nine upper labials the fifth and sixth entering the orbit; one pre and two postoculars; temporals 1 + 2, large; loreal longer than high; nasal divided; ten lower labials, the five pairs in contact with the anterior chin-shields; anterior chin-shields as long as posterior ones (the posterior one abnormally elongated, nearly twice as long as his fellow). Ventrals 158; subcaudals 117/117; dorsals in 10-10-10 longitudinal series, all smooth.

Ground color brownish yellow, with irregularly distributed dark brown to black scales in strong color contrast against ground color. Head dark-brown, nearly black, above. Rostral and nasals light brown; upper labials as dark as upper surface of head, except sixth and seventh which are of a slightly lighter color below. Lower jaw yellowish white. The dark dorsum color invades the ventrals; belly strongly marked with dark, underside of tail mottled with dark brown.

*Distribution:* Peru, Brazil (Amazonian aequatorial forests); Venezuela; from Paragua River (affluent of Orinoco).

*Acknowledgments* — We are indebted to Drs.: J. Racenis and H. Solano G., who gave us all the facilities to study the specimens in the MBUCV, Caracas and to Conselho Nacional de Pesquisas do Brazil who supported travel and living expenses in Venezuela.

### LITERATURE

Wagler, in Spix — "Serpentum brasiliensium species novae, ou Histoire Naturelle des Espèces Nouvelles de Serpents, recueillies et observées pendant le voyage dans l'intérieur du Brésil dans les années 1817, 1818, 1819, 1820, exécuté par ordre de Sa Majesté le Roi de Bavière" 1-4, 1-75, Pl. I-26. Monachii, 1824.

Hoge, A. R. and Nina, A. C. M. — Serpentes coletadas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia, *Mem. Inst. Butantan*, 30:71-96, 1964.

Received for publication in May 8, 1969.





NOTES ON THE HOLOTYPE OF *DIPSAS INDICA CISTICEPS* (BOETTGER)  
(SERPENTES-DIPSADINAE)

A. R. HOGE

*Department of Herpetology, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil*

Generally the specimens of Linnaea Institut. after description, they were sold to several Museums and consequently the actual location of types is sometimes unknown.

From the three new species of snakes described by Boettger (1885) we already had the opportunity to examine: the Holotype of *Rhinaspis Rhodei* = *Simophis rhinostoma* (Schlegel) now in Z.M.H.U. Berlin 10602, and one of the eotypes of *Liophis (Lygophis) genimaculata* = *Liophis joberti* (Sauvage) now in British Museum of Natural History.

Recently we found a specimen of *Dipsas indica cisticeps* in the collections of Z.I.L.\* which although not labelled as Type specimen is without doubt the Holotype of *Dipsas indica cisticeps* (Boettger).

Boettger's description of *cisticeps* was based on a unique specimen from Paraguay, leg. by Linnaea Institut at Frankfurt a/Main, (a commercial organization).

The specimen ZIL 6659, a male, is registered as being from Paraguay, 1885, leg. Linnaea Firma (with an annotation that the Firma Linnaea was a commercial institution that traded specimens).

Comparing the original description with the ZIL specimen it becomes evident that it is the Holotype of *Dipsas indica cisticeps*.

*Redescription of holotype:* Rostral a little wider than deep (4 x 3,3 mm) not visible from above; internasals half the length of prefrontals; frontal slightly longer than wide, shorter than the parietals; nasal semidivided above (the division does not reach the nostril); loreal entering the orbit; two postoculars, equal in height, the upper one slightly longer than the lower; 7<sup>th</sup> upper labial in contact with unique primary temporal on left side, none on the right side; two first pairs of lower labials in contact behind the symphysial; 4(R.) and 5(L.) Lower labials in contact with anterior chin-shields, chin tubercles present; dorsals in 13/13:13 rows, the vertebral one enlarged; first 11 caudodorsals enlarged.

The dorsal dark blotches are opposed and fused anteriorly and alternating posteriorly, the blotches are chocolate brown with a fine darker brown border; on some places in the dorsal region an external fine white orla can be detected; first blotch with some very thin white streaks on vertebral line; belly light

\* Zoological Institut of Leningrad.

Received for publication in May 8, 1969.

TABLE I

Characters	Original description	Z.I.L. number 6659
Body length in mm. ....	432,5	439,0
Tail length in mm. ....	155,0	156,0
Head length in mm. ....	17,5	17,4
Head width in mm. ....	11,4	11,5
Præoculars. ....	2 (equal)	2 (equal in height)
Postoculars. ....	2	2
Temporals. ....	1-2 and 2-3	1-2 (L.) and 1-3 (R.)
Dots in parietals. ....	one in each	one in each
Upper labials. ....	7	7
Lower labials. ....	12-13	12-13
Upper labials in eye. ....	3,4,5 and 4,5	3,4,5 (R.) and 4,5 (L.)
Ventrals. ....	187	186
Anal. ....	1	1
Subcaudals. ....	87/87	87/87
Body blotches. ....	22	22 + ½
Tail blotches. ....	14	13 + ½

The comparison of data on table I shows clearly that the Z.I.L. specimen is the Holotype of *Dipsas indica cisticeps* (Boettger)

brown; the dark color of dorsal blotches invading lightly the ventrals; no white or whitish dots between the bases of dark blotches.

## SUMMARY

The Holotype of *Dipsas indica cisticeps* Boettger 1885 is rediscovered in the collections of the Department of Herpetology from the Zoological Institut at Leningrad. A redescription of the rediscovered Holotype is given.

*Acknowledgments* — We are indebted to Dr. I Darevsky who allowed us free access to all the collections of the Department of Herpetology at the Zoological Institut of Leningrad; to the National Library of Medicine, Grant NLM 00418-01 00418-01 who permitted us the visit to the Zoological Institut of Leningrad.



## NOTES ON *PSEUSTES DIEPERINCKII* (SCHLEGEL) SERPENTES

A. R. HOGE and S. A. ROMANO

*Seção de Herpetologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil*

*Historical* — *Natrix sulfurca* described by Wagler (1824; 26 pl. IX) from a single specimen collected on the riverside of Rio Japura, Estado de Amazonas, Brazil.

*Dipsas Dieperinckii* described by Schlegel (1837, 1:163 and 2:232) from a single specimen, collected in Surinam.

Fitzinger (1843: 26-27) erected the genus: *Thamnobius* with *Coluber poecilostoma* Wied as "species typica" and *Pseustes* with *Dipsas dieperinckii* as "species typica".

Duméril, Bibron and Duméril (1854, 7:221-1050) referred erroneously specimens from Surinam as *Spilotes poecilostoma*.

Cope (1862:348) described the genus *Phrynonax* with *Tropidodryas lunulatus* Cope as "species typica".

Boulenger (1894, 2:18) uses Cope's *Phrynonax* and did not mention *Dipsas dieperinckii* in his Catalogue.

*Phrynonax Fauchéri* described by Mocquard (1903, n.º 5:214) (4) (a single specimen) from Dutch Guyana sented ot the Paris Museum by Fauchér.

Amaral (1930 (1929) 4:13), includes *Phrynonax fauchérie* in the synonymy of *Phrynonax sulphureus sulphureus* (Wagler) and in an other paper, 1930 (1929) 4:302, mentions that he considers *dieperinckii* as a probable synonym of *sulphureus*, but that this cannot be proved since the type specimen of *Dieperinckii* was lost.

Brongersma (1937, 20:5-6, fig. a 2b) proves that the type specimen of *Dipsas dieperinckii* still exists in the Leiden Museum under n.º 384 and considers the specimen as belonging to *Phrynonax sulphureus sulphureus* as described by Amaral in his revision (1929:306, fig. 5).

Brongersma in the same paper pointed out that the oldest name for the genus is *Thamnobius* Fitzinger, 1843 with *Coluber poecilostoma* Wied = *Phrynonax sulphureus poecilostoma* "aucto", as "species typica" but is preoccupied by *Thamnobius* Schoenherr 1836 (fide Sherborn, Index Animalium, S.2, Pl.26, 1931:6480) and that the next available generic name is *Pseustes* Fitzinger 1843 which has priority over *Phrynonax* Cope 1862.

Hoge (1964, 30:61) identifies a specimen of the Surinam Museum, from River Paloemen, Kamp Jeté-té Tumue-humae Brazilian-Surinam border, as *Pseustes sulphureus sulphureus* (Wagler), he mentions that the specimen shows some characters of *P. fauchéri*, but that the lack of material does not allow a conclusion about the validity of *fauchéri*.

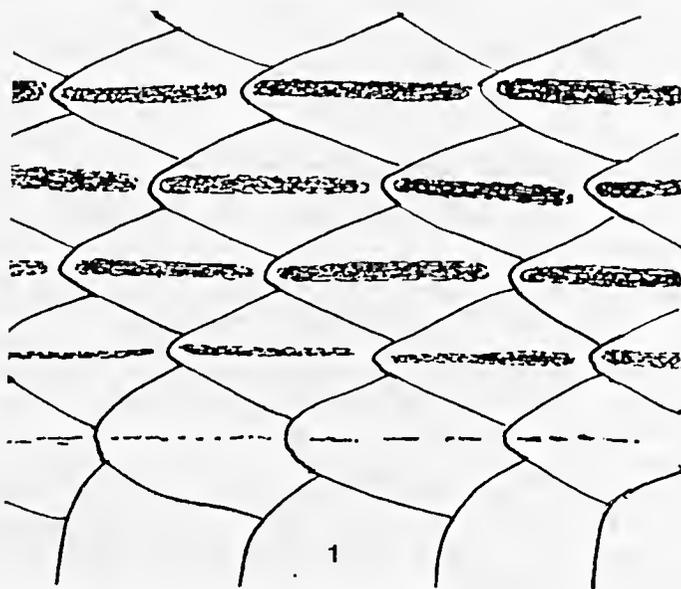
During 1967-1968 we were able to examine several specimens from the Guyanas and compare them with the data already available on *P. sulphureus sulphureus* and now consider *P. dieperinekii* as a valid subspecies of *P. sulphureus* with *fauchèri* as synonym.

*Pseustes sulphureus dieperinekii* (Schlegel)

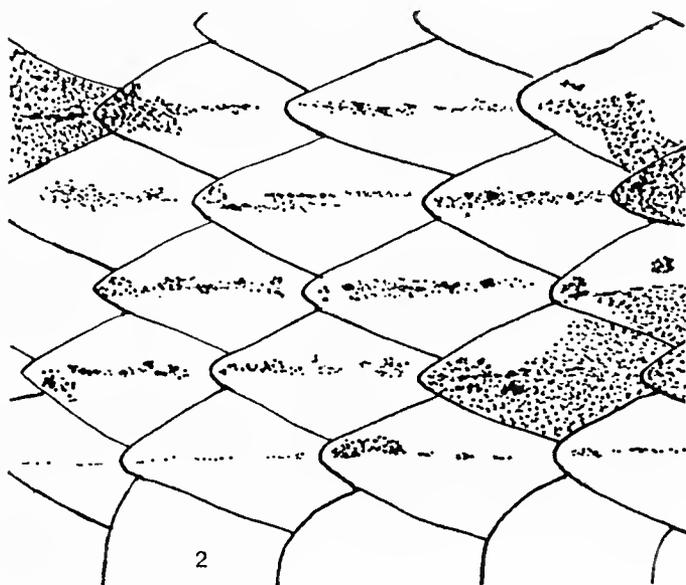
- 1837 — *Dipsas Dieperinekii* Schlegel Phys. Scrp. 1:163 and 2:283.  
 1843 — *Pseustes*... type species *Dipsas Dieperinekii* Fitzinger. Syst. Rept. (1):27.  
 1854 — *Spilotes poecilostoma*: Duméril, Bibron et Duméril ("partim" specimens from Guyana) Erpet. gén. 7:221-223.  
 1894 — *Phrynonax sulphureus*; Boulenger (partim B) Cat. Snak. brit. Mus. 2:19.  
 1903 — *Phrynonax Fauchèri* nsp. Mocquard, Bull. Mus. Hist. Nat. (5):212 (4).  
 1930 — (1929) *Phrynonax sulphureus sulphureus*: Amaral, (partim) (consider *fauchèri*) as a synonym of *P. sulphureus sulphureus* Mem. Inst. But. 4: 13 and 4:306.  
 1930 (1929) — (*Dipsas* (*dieperinekii*: Amaral (considers it a probable synonym of *P. s. sulphureus*) Mem. Inst. But. 4:302.  
 1937 — *Dipsas dieperinekii* = *Pseustes sulphureus sulphureus* sensu Amaral 1928; Brongersma, Zool. Med. 20:5, fig. a 2b.  
 1964 — *Pseustes sulphureus sulphureus*; Hoge — Mem. Instituto Butantan 30:61.  
 Type locality. Surinam.  
 Type RNHL n.º 384.

*Range*: coastal regions of the Guyanas and NE Venezuela.

*Diagnosis*: closest related to *Pseustes sulphureus sulphureus* (Wagler) but distinguishable from it by: the black borders on upper labials; the keels which, although sometimes darker than ground color, never form distinct longitudinal stripes (Fig. 1-2); dark crossbands present in adults, at least on posterior part of



body; tail black. In juveniles and sometimes in adults the nuchal stripes are in contact with the postocular stripe.



#### MATERIAL

*Pseustes sulphureus dieperinckii*: AMNH 8595 Vega Oropouche; AMNH 60753 Kuyuwini river, Brit. Guyana; AMNH 25171 Brit. Guyana; AMNH 60817 Kuyuwini river, Brit. Guyana; AMNH 98215 Karlabo, Brit. Guyana; USNM 65575, Caripito, Venezuela. MNHNP., Type of *Fauchèri*, Surinam; SSM. 6 Paloemeu river (final Camp Jeteté, Tummuc Humac, Brazilian-Surinam border line).

*Acknowledgments* — We are indebted to: Drs. J. Guibé, Alice Grandisson; C. Bogert, J. Peters, Brongersma and Ramon Lancini who allowed us free access to their collections; to the "Conselho Nacional de Pesquisas" which grant permitted us to visit American and European Museums.

#### RESUMO

*Pseustes sulphureus dieperinckii* é considerado subespécie válida.

#### LITTERATURE

Amaral, A. do — Estudos sobre Ophidios Neotrópicos. XVII. Valor systematico de varias fórmãs de Ophidios Neotrópicos. *Mem. Inst. Butantan*, 4:4-68, 1929 (1930).

Amaral, A. do — Estudos sobre Ophidios Neotrópicos. XX. Revisão do gênero *Phrynonax* Cope, 1862. *Mem. Inst. Butantan*, 4:301-320, Fig. 1-6, 1929.

Boulenger, G. A. — Catalogue of the Snakes in the British Museum (Natural History) 3:1-727, + pl., 1894.

- Brongersma, L. D.* — Herpetological notes. XV. The Type of *Dipsas Dieperinckii* Schlegel, 1837, and the Genus *Pseustes* Ditzinger, 1843. *Zool. Med. Leiden* 20:5-10, fig. a e b.
- Cope, E. D.* — Catalogues of the Reptiles obtained during the Exploration of the Paraná, Paraguay, Vermejo and Uruguay Rivers, by Capt. Thos. J. Page, U.S.N.; and of the Expedition conducting the Survey of the Atrato River, *Proc. Ac. Nat. Sci. Philad.*, pp. 346-359, 1862 (1863).
- Duméril, A. M. C., Bibron, G. & Duméril, A.* — Erpétologie Générale ou Histoire Naturelle complète des Reptiles, vol. 7, and part. Paris, XII pp. — pp. 781-1536, 1854.
- Pitzinger, L.*, — Systema Reptilium. Fasciculus Primus. Vindobonae, 106 pp. 1843.
- Hoge, A. R.* — Serpentes da Fundação "Surinaam Museum". *Mem. Inst. Butantan*, 30:51-64, 1960 (1962).
- Mocquard, M. F.* — Notes Herpetologiques. *Bull. Mus. d'Hist. Nat.* n.º 5, p. 209, 1903.
- Wagler, J. and Spix, J.* — Serpentes Brasiliensium species novae ou Histoire Naturelle des Espèces Nouvelles de Serpens, Recueillies et Observées Pendant le voyage dans L'Intérieur du Brésil dans les années 1817, 1819, 1820, exécuté par ordre de Sa Majesté Le Roi De Bavière, Monachii, 1824.

A NEW SPECIES OF *CHIRONIUS* (SERPENTES — COLUBRIDAE)

A. R. HOGE and S. A. ROMANO

*Seção de Herpetologia, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

In 1962 (:54) we identified provisorily as *Chironius multiventris* a specimen from Onverwacht, Surinam.

Since more specimens became available the description of a new species is now possible.

*Chironius cochranae* n. sp. \*

*Holotype*: U.S.N.M. N.º 1581103, from Agua Preta Utinga (near Belem), State Pará, Brazil, ♂ collected by E. Dente, July 19, 1965.

*Diagnosis*: A *Chironius* characterized by: dorsals in (12-14)-12-8 rows the two vertebrals, strongly keeled: Ventrals 181-189, caudals 181-203; 9 upper labials (526) the 4th not or nearly not entering the orbit; the dorsal dark color extending to ventrals and caudals all over the body and in strong color contrast; very large and distinct apical pits; no white, black bordered, vertebral streak; ventrals without black edges except on midline suture between caudals; the light colored cross bands, when present, not bordered with dark, and nearly always ill defined.

*Relationship*: closely allied to *Chironius multiventris* Schmidt 1942 and *Chironius carinatus* (Linnaeus, 1758) but easily distinguished from *C. carinatus* by his higher ventral counts the absence of yellowish dots on paraventral row and different pattern, from *multiventris* by: the absence of vertebral light stripe; absence of black edges on ventrals and caudals, the dark dorsal color invading ventrals and caudals all over the body; the indistinct, never dark edged, light colored crossbands.

*Description of Holotype*: rostral wider than deep, visible from above, internasals as long as wide; prefrontals wider than long, longer than the internasals; frontal (anteriorly) only a little smaller than its length, as long as its distance to the end of snout, nearly in contact with preocular; 9 upper labials, the fifth and sixth largely entering the orbit, the 4th scarcely in contact; nasal divided; loreal longer than deep; one pre and two postoculars; temporals 1 + 2; 10 lower labials, 5 first pairs in contact with anterior chin shields, the 5th and 6th much larger than the other ones; anterior chin shields as long as posterior ones; dorsals (12-13)-12-8 smooth, except the two vertebral rows which are strongly keeled, the keels extending on the two vertebral rows of tail till the 8 subcaudal; very distinct apical pits on the two vertebral rows, the pits always on the outer side of keel; ventrals 3 + 181; Anal 1/1; caudals 180/181.

\* Dedicated to Dr. Doris Cochran curator of Reptiles and Amphibians at the Smithsonian Institution.

Received for publication in May 20, 1969.

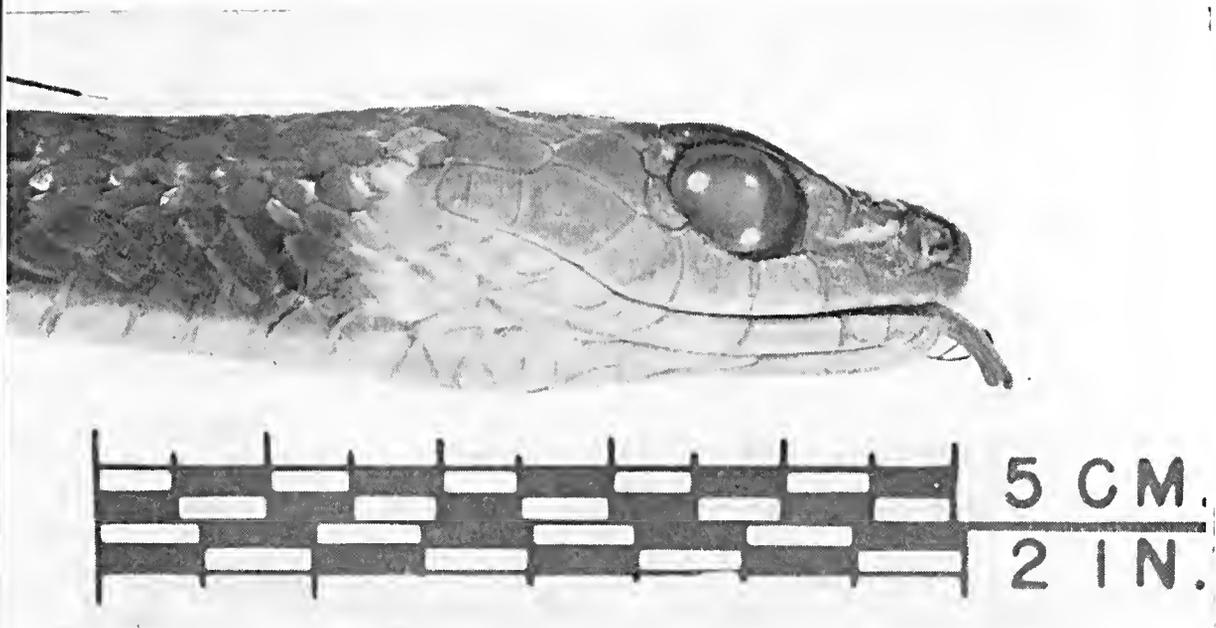


Fig. 1 — *Chironius cochrane* Holotype USNM 158103

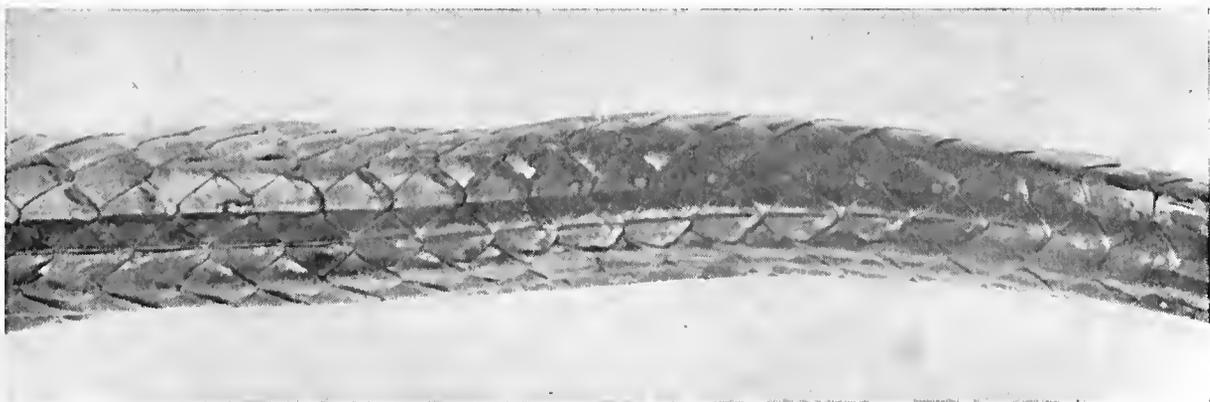


Fig. 2 — Holotype USNM 158103

Ground color brown-olive; the keels of dorsal scales slightly darker than ground color; a series of light, very indistinct crossbands on the posterior part of the body, without black edges and heavily spotted with dark olive-brown; the dorsal ground color extending laterally on the ventrals and caudals.

The head, above of same brown-green ground color, slightly lighter behind the parietals. After some time of preservation the somewhat light regions of occiput and lateral sides of the head becomes of a very light brown, even white color, giving a peculiar aspect only observed in this species.

*Paratypes*: IBH 64629 from Moengo, Surinam collected by C. Bonne. SSM. (Surinam, Stichting Museum) N. 10 from Onverwacht, Surinam, collected by Geyskes, April 25, 1954 (This specimen was provisorily identified as *C. multiventris* (Hoge, 1954).

The paratypes besides scale counts are almost identical in pattern and coloration except that, in some specimens the ground color is much darker on the outer side of ventrals building up a dark lateral stripe from posterior part of body till the end of the tail becoming more distinct on tail.

Another specimen USMM n.º 28947 in bad state, from "Lower Amazon", although not quoted as a paratype is here identified as *C. cochranæ*

MMNH 18174, — Kartabo, Brit. Guyana, Berbe — V. 183, T. 1 + 1 (by fusion

MMNH 18174, — Kartabo, Brit. Guyana, Berbe — V. 183, T. 1 + 1 (by fusion of first and 2nd upper temporal, two vertebral strongly keeled in both specimens

AMNH 25030, — V. 187, Kamakusa, Brit. Guyana — caud. 190/190

AMNH 8216, — V. 186, Kalacoon, W. Beebe — G. 183/184

AMNH 8991, — V. 183, Kalacoon, W. Beebe — V. 183, T. 1 + 2, caudals, (inj.)

AMNH 15151, — Kartabo, Brit. Guyana, Beebe — V. 186, G. 199/200 a very faint central gray streak at middle of ventrals,

AMNH 6801, — Rochstone — Brit. Guyana, A. Lutz Head only

SSH 10, Onverwacht, Surinam V. 189. G. 203/203.

*Acknowledgments* — We are indebted to Drs. J. Peters, C. Bogert, J. Guibé and Brongersma, and to the Conselho Nacional de Pesquisas.

#### RESUMO

Descrição de uma sp. n. de *Colubridae*; *Chironius cochranæ* — loc. tipo.. Água Preta, Utinga, próximo a Belém, Pará, Brasil.



SISTEMÁTICA DOS *OPISTHOGONIMIDAE* (TREMATODA, *PLAGIORCHIOIDEA*). CRIAÇÃO DA FAMÍLIA *BIERIIDAE* N.FAM.

PAULO DE TOLEDO ARTIGAS\* e MÁRIO DEMAR PEREZ\*\*

*Secção de Parasitologia, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*  
*Departamento de Parasitologia, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, U.S.P.,*  
*S. Paulo, Brasil*

Em 1896, West descreve um trematódeo encontrado nas cavidades bucal e nasal de *Philodryas schotti*; ao parasito em aprêço deu West a denominação de *Distoma philodryadum*, esclarecendo ser o hospedeiro originário do Brasil.

Nesse trabalho, West oferece uma descrição aceitável, além de figuras bem demonstrativas, para o reconhecimento do trematódeo descrito.

Lühe, em 1900, descreve *Opisthgonimus lecithonotus* n.g. et n.sp., parasito de bôca e intestino de *Coluber* sp., da bôca de *Coluber eririo* e de *Philodryas schotti*. Como no caso de West, os parasitos encontrados por Lühe eram provenientes de ofídios brasileiros. No mesmo ano, Lühe externa a opinião de que *O. lecithonotus* seria sinônimo de *D. philodryadum*, afirmando que o parasito descrito por West deveria passar a ser considerado como *Opisthgonimus philodryadum* (West, 1896); Lühe, 1900. Em nenhum dos seus dois trabalhos publicou Lühe figuras, limitando-se a descrições extensas e bastante pormenorizadas.

Em 1943, Artigas, Ruiz e Leão demonstram que *Distoma philodryadum* e *Opisthgonimus lecithonotus* são espécies distintas e retificam os erros a que tinham sido levados vários autores, confiados nas duas publicações já referidas de Lühe. Entre os autores induzidos a êrro, merece proeminência Pereira que, em 1929, redescreveu *Opisthgonimus philodryadum* (West, 1896). Provaram Artigas, Ruiz e Leão que *O. philodryadum*, no senso de Pereira não corresponde a *Distomum philodryadum* de West; na realidade, *O. philodryadum*, redescrito por Pereira, se ajusta bem ao parasito descrito por Lühe com o nome de *O. lecithonotus*.

Esta afirmativa foi apresentada com bastante segurança, desde que a espécie figurada por West tem o poro genital nitidamente pré-testicular e pós-acetabular, características anatômicas das espécies do gênero *Westella* Artigas, Ruiz e Leão, 1942. Lühe, quando descreve o *O. lecithonotus*, frisa, na página 556: "Die genitalöffnung liegt median, etwas hinter dem Vorderrandc des vorderen Hodens". Portanto, *O. lecithonotus* apresenta uma característica anatômica bem assinalada por Lühe e que, justamente, serviu mais tarde para diferenciar as espécies de *Westella* das espécies de *Opisthgonimus*.

\* Professor Catedrático da Cadeira de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da U.S.P.

\*\* Professor Assistente Docente da Cadeira de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da U.S.P. e Biologista do Instituto Butantan.  
Recebido para publicação em 2 de abril de 1968.

Nossa impressão, fazendo a análise do trabalho de West, é que este autor teve exemplares de *Opisthagonimus* e de *Westella* no material à sua disposição. Esta dedução se impõe, pela leitura do seguinte trecho de páginas 323-324 da publicação de West: "The genital orifice is situated posterior to the ventral sucker and a little to the left of the median line; its posterior position is not quite constant, being only just posterior to the ventral sucker in some, and in others a considerable distance posterior to it".

Pelo que temos observado, a situação do poro genital é constante numa determinada espécie de *Opisthagonimus*, ou de *Westella*, ou de *Liophistrcma*. De outro lado, eventualmente, encontramos mais de uma espécie de trematódeo parasitando o mesmo hospedeiro, sejam espécies do mesmo gênero, ou de gêneros diferentes. Pereira também verificou este fato biológico. Não obstante, que fique declarado que a norma é encontrar-se uma única espécie e todos os exemplares, via de regra numerosos, apresentam uniformidade no tocante à situação do poro genital.

Nesse trabalho, Pereira, põe em sinonímia *D. philodryadum* e *D. xenodontis*, espécie descrita por Cordero e Vogelsang, em 1928. Estes últimos autores referem o encontro de *D. xenodontis* (125 exemplares) no intestino da cobra parasitada; e que é verdadeiramente extraordinário, pois que trabalharam com trematódeos parasitos exclusivos da bôca e vias aéreas.

A segunda espécie de *Opisthagonimus* foi encontrada em 1914, por Nicoll que a descreveu com o nome de *Opisthogenes interrogativus* n.g. et n.sp., sendo o trematódeo parasito de *Philodryas schotti*.

Nicoll criou o gênero *Opisthogenes*, invocando, entre os caracteres diferenciais, a situação testicular do poro genital. A observação de Nicoll foi criteriosa e o novo gênero *Opisthogenes* deveria subsistir se não tivesse sido revalidada a espécie de Lühe, *Opisthagonimus lecithonotus*. Entretanto, Travassos, em 1928, ao considerar *Opisthogenes* sinônimo de *Opisthagonimus*, declarou que Nicoll fôra vítima de confusão devida à deficiência na descrição e nas imperfeições das figuras de West.

Nicoll, na realidade, não se confundiu; ao contrário observou muito bem as diferenças entre *Opisthagonimus philodryadum* (no seu trabalho, "lapsus calami", *Opisthagonimus philodryochus* West) e *Opisthogenes interrogativus*. Não fôsse, como já assinalamos, o ensejo de ter sido revalidada a espécie de Lühe, deveríamos considerar *Opisthogenes* um bom gênero, no qual seriam incluídas as atuais espécies de *Opisthagonimus*; em *Opisthagonimus*, a seu turno, teriam que ser incluídas as atuais espécies de *Westella*.

Ruiz e Leão, em 1950, tornam a encontrar e redescrevem *O. lecithonotus*, numa condição anormal, como parasito errático de pâncreas de *Tomodon dorsatus*.

Pereira, em 1928 e 1929, descreve *Opisthagonimus mcgabothrium* e *Opisthagonimus afranoi* e redescreve *Opisthagonimus philodryadum*; como já dissemos, *O. philodryadum* de Pereira é *O. lecithonotus* de Lühe. Pereira, discípulo de Travassos, seguiu a orientação do mestre e não vislumbrou o verdadeiro mérito da descrição de Lühe e da descrição e figuras de West.

Mais três espécies de *Opisthagonimus* foram descritas em 1942, por Ruiz e Leão; são as seguintes, *O. artigasi*, *O. fonsecai* e *O. pcreraei*. Finalmente, em 1943, Ruiz e Leão descreveram *O. furiai*.

Em 1942, Artigas, Ruiz e Leão descrevem, com a denominação de *Westella sulina* um trematódeo muito próximo de *Opisthagonimus* e dos quais se

diferencia principalmente pela conformação de bolsa do cirro e pela posição do poro genital. Em 1943, Artigas, Ruiz e Leão apresentam razões para considerar *Westella* na situação de sub-gênero de *Opisthogonimus*. Em 1956, Teixeira de Freitas, sem discutir o assunto, reconsidera *Westella* como gênero. Na realidade, existem caracteres que diferenciam nitidamente os dois agrupamentos:

1 — *Opisthogonimus*: Bolsa do cirro muito grande. Poro genital no campo acetabular.

2 — *Westella*: Bolsa do cirro menos desenvolvida. Poro genital na zona ovariana ou pré-ovariana e fora do campo acetabular.

O gênero *Liophistrema* Artigas, Ruiz e Leão, 1942, monotípico, com a espécie tipo *L. pulmonalis* Artigas, Ruiz e Leão possui características suficientes para ser isolado em uma sub-família à parte. Em seus trabalhos, Artigas, Ruiz e Leão propuseram o nome de LIOPHISTREMINAE, que Teixeira de Freitas modificou, atendendo a normas de etimologia sistemática, para LIOPHISTREMATINAE.

*Bieria* Leão, 1946 e *B. artigasi* Leão, 1946 são gênero e espécie que se afastam dos opistogonimídeos, quer por seu tamanho, relativamente grande, quer pela situação nitidamente anterior das ventosas e, de um modo geral, pela organologia interna. Teixeira de Freitas, com acerto, erigiu para o gênero *Bieria* a sub-família BIERIINAE.

Quanto a *Stieolecitha* Prudhoe, 1945 e *S. serpentis* Prudhoe, 1945, devemos dizer que se trata de tipo curioso de trematódeo, com uma gibosidade dorsal onde se alojam os vitelinos. Como *Bieria*, afasta-se morfológicamente dos opistogonimídeos, com os quais coparticipa parasitismo da cavidade oral e vias aéreas superiores. Teixeira de Freitas cria para este parasita a sub-família STICHOLECITHINAE; talvez fôsse mais acertado colocá-lo em família à parte.

#### MATERIAL E MÉTODO

O presente trabalho é baseado na observação de grande número de exemplares de trematódeos OPISTHOGONIMIDAE, parasitas de ofídios, integrados nas coleções helmintológicas do Instituto Butantan e da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo. O exame do material em aprêço permitiu a revisão do grupo, em particular, das espécies do gênero *Opisthogonimus*, não tratadas em conjunto desde 1929, data da publicação do trabalho de Percira. Pudemos examinar todas as espécies dos gêneros *Opisthogonimus*, *Westella*, *Liophistrema* e *Bieria*, para um estudo geral do grupo que, em 1956, Teixeira de Freitas reuniu em uma nova família, OPISTHOGONIMIDAE. Só não pudemos microscopar *Stieolecitha serpentis*, cujo conhecimento nos foi dado pelo trabalho de Prudhoe e pelas informações de Teixeira de Freitas. A nosso ver, têm oportunidade as apreciações que passamos a enumerar.

#### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

##### *Gênero Opisthogonimus* Lühe, 1900.

As características morfológicas invocadas pelos vários autores para a definição das espécies de *Opisthogonimus*, são, em geral, satisfatórias. Te-

mos alguma dúvida quanto a *O. afranioi* e *O. jonseci* e quanto a *O. leithonotus* e *O. interrogativus*. Nos dois casos, a diferença específica reside no comprimento dos cecos, curtos em *O. afranioi* e *O. interrogativus* atingindo a extremidade posterior em *O. jonseci* e *O. leithonotus*. Este carácter, cecos relativamente curtos ou se prolongando até o extremo do corpo, já utilizado na chave de Pereira, talvez não seja de valor decisivo. Não nos sentimos, entretanto, capacitados para pôr em sinonímia, respectivamente *O. afranioi*, e *O. jonseci* e *O. interrogativas* e *O. leithonotus*.

Para a identificação das espécies de *Opisthgonimus* apresentamos a seguinte chave:

- |  |                          |
|--|--------------------------|
| 1 — Acetábulo maior que a ventosa oral .....   | <i>O. megabothrium</i>   |
| 1a — Acetábulo e ventosa oral subiguais .....  | 2                        |
| 2 — Porção proximal da bolsa do cirro dilatada (pelo menos duas vezes mais grossa que a porção distal) .....                       | <i>O. artigasi</i>       |
| 2a — Porção proximal da bolsa do cirro não dilatada .....  | 3                        |
| 3 — Trematódeos de tamanho médio (9,5 — 12 mm) Vitelinos dispostos em campos distintos .....                                       | <i>O. pererai</i>        |
| 3a — Trematódeos de tamanho pequeno (menos de 7,5 mm). Vitelinos irregularmente dispostos e com campos em parte coincidentes ..... | 4                        |
| 4 — Poro genital pré-testicular, ou situado na zona anterior do testículo anterior .....   | 5                        |
| 4a — Poro genital francamente testicular ou pós-testicular ...   | 6                        |
| 5 — Cecos curtos, terminando à certa distância da extremidade posterior .....  | <i>O. afranioi</i>       |
| 5a — Cecos longos, prolongando-se até à extremidade posterior  | <i>O. jonseci</i>        |
| 6 — Poro genital testicular .....  | 7                        |
| 6a — Poro genital pós-testicular .....   | <i>O. jariai</i>         |
| 7 — Cecos curtos, terminando à certa distância da extremidade posterior .....  | <i>O. interrogativus</i> |
| 7a — Cecos longos, prolongando-se até a extremidade posterior  | <i>O. leithonotus</i>    |

*Gênero Westella Artigas, Ruiz e Leão, 1942.*

As espécies de *Opisthgonimus* caracterizam-se por terem a bolsa do cirro, em parte, pré-acetabular, ou acetabular, ou pós-acetabular e muito desenvolvida, assumindo frequentemente a forma de C, ou de ponto de interrogação; a porção proximal da bolsa sendo nitidamente dirigida para diante e a distal dirigida para trás. Outra característica é a situação do poro genital, que se abre sempre no campo acetabular. Em *Westella*, a bolsa do cirro, embora desenvolvida, não tem o comprimento observado em *Opisthgonimus*; além de que o poro genital em *Westella* é paramediano, fora do campo acetabular.

Quando descreveram *W. sulina*, Artigas, Ruiz e Leão não tinham conhecimento do trabalho de West, referente a *Distomum philodryadum*. Em 1943, descreveram *W. serpentis*, que se diferenciava de *W. sulina* pela morfologia da bolsa do cirro, de menor tamanho, e pela presença de um receptáculo seminal muito volumoso. Este órgão, também presente em *W. sulina*, é, nesta espécie, muito menor.

Nesse trabalho, Artigas, Ruiz e Leão se reportam à publicação de West e ehegam à conclusão de que *D. philodryadum* deve ser colocado no gênero *Westella*. Referem, na publicação em apêço, a confusão de que foi presa Pereira, quando publicou a revisão do gênero *Opisthognimus*; reconsideraram *O. philodryadum* e afirmam o modo de ver de Lühe, que opinava serem *O. lecithonotus* e *D. philodryadum* uma mesma espécie. Está elaro que, se as duas espécies forem diferentes, o nome *lecithonotus* tem que ser mantido e *O. lecithonotus* passa a ser a espécie tipo do gênero. De outro lado, *D. philodryadum*, também revalidado, passa para a nova combinação *Westella philodryadum*.

Aliás, tôda esta argumentação já foi bem elueidada em 1943. Entretanto, faça-se justiça ao trabalho de West; Travassos externou: "Consideramos o gênero *Opisthogenes* Nicoll igual do (*sic*) *Opisthognimus* Lühe, sendo a confusão de Nicoll devida a defieiência na deserição e imperfeições nas figuras de West"; afirmam Artigas, Ruiz e Leão: "A deserição oferecida por West é deficiente sob vários aspectos e, sobretudo, por não fazer referêcia aos vitelinos...". Realmente, West poderia ter sido mais preciso na deserição, mas seus desenhos são elueidativos e é elara a situação dos vitelinos na figura do seu *D. philodryadum*, que aparecem em situação dorsal, eecal e extraeecal; não têm, pois, procedêcia as eríteas acima referidas.

Estamos com Artigas, Ruiz e Leão, que consideram três espécies de *Westella*, cuja diferenciação pode ser feita com as earacterísticas oferecidas na seguinte ehave:

- |   |                        |
|---|------------------------|
| 1 — Vitelinos eceais e extraeceais .....          | <i>W. philodryadum</i> |
| 1a — Vitelinos eceais e intraeceais .....         | 2                      |
| 2 — Vesícula seminal relativamente pequena .....  | <i>W. sulina</i>       |
| 2a — Vesícula seminal notõriamente volumosa ..... | <i>W. serpentis</i>    |

Seria interessante fazer o estudo comparativo entre *W. philodryadum* e *W. sulina*. São, sem dúvida, espécies muito próximas; no caso da figura de West não representar a realidade, teríamos que considerar *W. sulina* sinônimo de *W. philodryadum*. É de notar, porém, que *W. sulina* é de maiores dimensões; entretanto, a nosso ver, êste earáter, tamanho, não tem valor de primeira ordem, pois variação de tamanho oorre com freqüência nos trematódeos.

#### Gênero *Liophistrema* Artigas, Ruiz e Leão, 1942

A diferenciação essencial invocada pelos autores para a ereção dêste gênero e da espécie monogenérica, *L. pulmonalis*, é a situação pré-ovariana do poro genital, que em *Opisthognimus* é pós-ovariana. Êsse e outros earacteres bem definidos permitiram a ereção da sub-família LIOPHISTREMATINAE (*Liophistreminae* in Artigas, Ruiz e Leão). Teixeira de Freitas oferece, baseado no trabalho daquêles autores, a seguinte diagnose: "Corpo foliáceo, de contõrno elítico. Poro genital imediatamente pós-acetabular, intra-eeal, levemente afastado da linha mediana, pré-ovariano. Bolsa do cirro pequena, pós-acetabular e pré-ovariana, fraecamente encurvada, com a porção distal dirigida pra diante. Testículos arredondados, oblíquos, com campos e zonas em contato. Ovário no campo do testículo posterior, levemente adiante do testículo situado mais anteriormente. Vitelinos pós-acetabulares".

A definição proposta por Artigas, Ruiz e Leão para esta sub-família foi a seguinte: "Poro genital de situação pós-acetabular e pré-ovariana, localizado li-

geiramente para fora da linha mediana na espécie tipo do gênero tipo. Bolsa do cirro pequena, pré-ovariana, dirigindo-se do lado do ovário para o do acetábulo. Ovário arredondado, de superfície lisa. Receptáculo seminal presente, testículos ligeiramente piriformes, de superfície lisa, de situação equatorial. Vitelinos dorsais, intracecais, formados de cachos de ácinos volumosos. Vesícula excretora em forma de Y, com o ramo ímpar muito curto”.

Dentro da consideração de que os caracteres específicos se impõem para a diferenciação das espécies, que os genéricos são comuns nas espécies do gênero e que os de sub-família são comuns nos gêneros da sub-família, no futuro, caso venham a ser descritas novas espécies de LIOPHISTREMATINAE, qualquer uma das duas diagnoses deverá ser modificada.

*Gêneros Bieria* Leão, 1946 e *Sticholecitha* Prudhoe, 1945.

Nossa maneira de ver diverge da de Teixeira de Freitas, que criou para êsses dois gêneros, duas sub-famílias monogenéricas, subordinando-as à família OPISTHOGONIMIDAE Teixeira de Freitas, 1956. Por isso, propomos uma alteração na sistematização proposta por aquêle autor para os trematódeos parasitos do aparelho respiratório e primeiras porções do aparelho digestivo dos ofídios, até o presente exclusivamente sul-americanos. É o que passamos a discutir.

Teixeira de Freitas reuniu em uma família, OPISTHOGONIMIDAE Teixeira de Freitas, 1956, as sub-famílias OPISTHOGONIMINAE Travassos, LIOPHISTREMATINAE Artigas, Ruiz e Leão, 1928, BIERIINAE Teixeira de Freitas, 1956 e STICHOLECITHINAE Teixeira de Freitas, 1956.

Quanto às afinidades de OPISTHOGONIMINAE e LIOPHISTREMATINAE, elas são indiscutíveis. As duas outras sub-famílias se afastam das citadas; em BIERIINAE e STICHOLECITHINAE, temos trematódeos que se separam pela posição do poro genital pré-acetabular e bolsa do cirro também pré-acetabular. A conformação da bolsa do cirro, em *B. artigasi* e *S. serpentis*, também diverge decididamente do que se observa nas espécies de *Opisthognimus*. Se separamos *Liophistrema* de *Opisthognimus* sem esforço, pela reduzida dimensão relativa da bolsa do cirro, devemos convir que a conformação geral orgânica do trematódeo obedece ao plano anatômico dos *Opisthognimus*. Evidentemente, não é o que acontece com *B. artigasi* e *S. serpentis*, com relação aos gêneros de OPISTHOGONIMINAE e LIOPHISTREMATINAE. Daí a nossa divergência quanto ao plano sistemático de Teixeira de Freitas. Opinamos que BIERIINAE e STICHOLECITHINAE devem ser separadas em uma família à parte, para a qual propomos o nome de BIERIIDAE n.fam., com a seguinte definição:

BIERIIDAE n.fam.

PLAGIORCHOIDEA. Trematódeos de corpo alongado, com a parte anterior ligeiramente mais larga que a posterior. Eventualmente, com gibosidade dorsal, no sentido longitudinal. Ventosa oral sub-terminal. Acetábulo de situação nitidamente pré-equatorial. Aberturas genitais masculina e feminina contíguas. Poro genital pré-acetabular, extracecal, marginal ou sub-marginal. Bolsa do cirro, embora desenvolvida, relativamente pequena e de situação pré-acetabular. Testículos pós-ovarianos, com zonas coincidentes ou parcialmente coincidentes e campos distintos. Ovário pós-acetabular, pré-testicular e intracecal, seu campo coincidindo com o testicular. Vesícula seminal presente, paraovariana. Vitelinos pós-acetabulares, ou parcialmente pré-acetabulares. Poro excretor terminal. Vesícula seminal em Y. Parasitos da bôca, vias respiratórias e esôfago de ofídios.

Sub-família tipo: BIERIINAE Teixeira de Freitas, 1956.

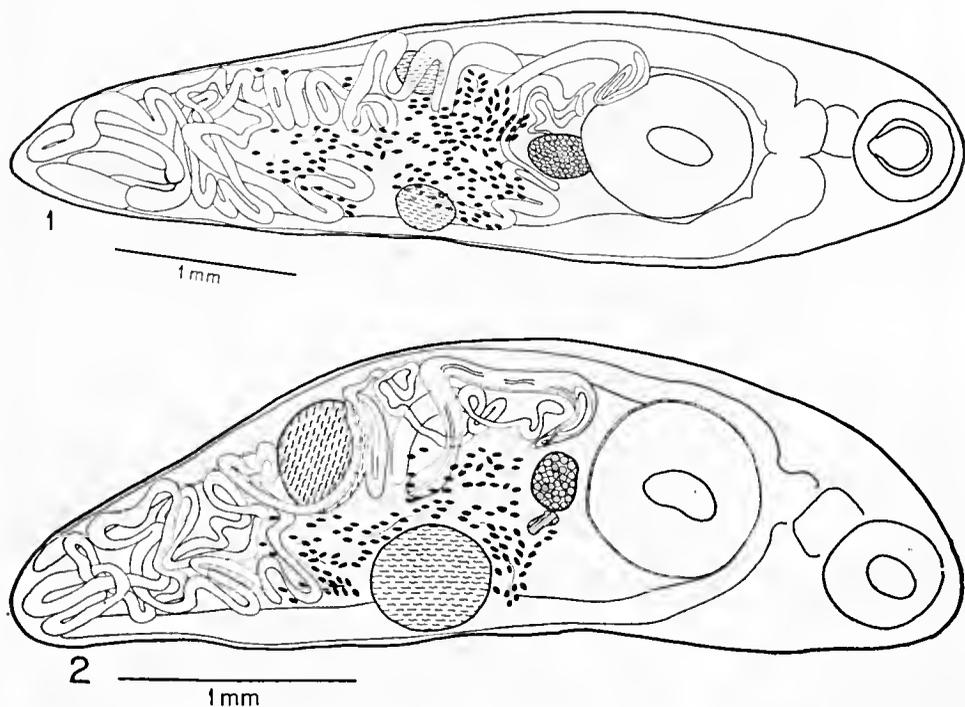
Outra sub-família: STICHOLECITHINAE Teixeira de Freitas, 1956.

Com a proposição da família BIERIIDAE, a diagnose da família OPISTHOGONIMIDAE Teixeira de Freitas, 1956, deverá ter a seguinte enunciação:

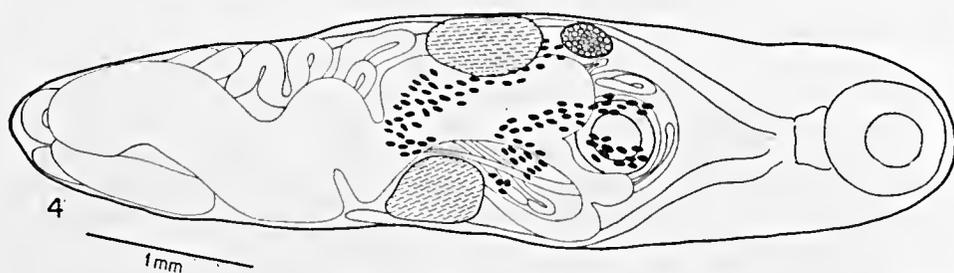
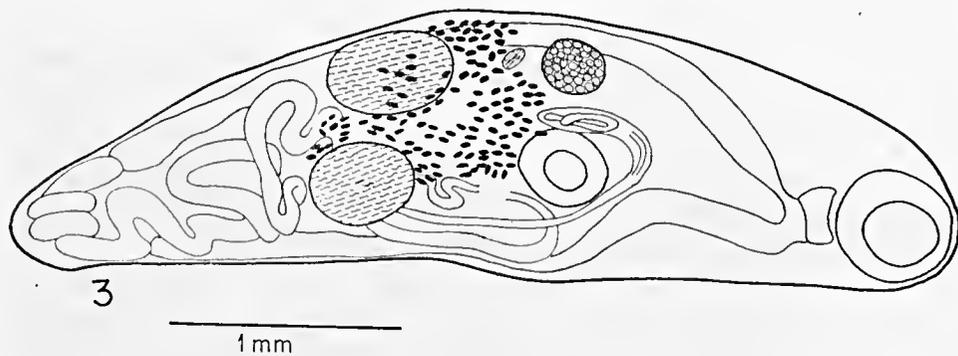
PLAGIORCHOIDEA. Trematódeos com o corpo tendendo para a forma elíptica, relativamente pouco alongados, com a porção anterior mais larga que a posterior. Ventosa oral sub-terminal. Acetábulo situado no terço médio do corpo. Aberturas genitais masculina e feminina contíguas, de situação pós-acetabular, intracecal, ou paramediana, nas zonas pré-ovariana, ovariana ou pós-ovariana, ou testicular. Bolsa do cirro em geral, muito desenvolvida, eventualmente com menor desenvolvimento, de situação acetabular ou pós-acetabular, ou pré-acetabular. Testículos pós-ovarianos, com zonas em parte coincidentes e campos afastados ou não. Ovário pós-acetabular, eventualmente na zona acetabular. Vesícula seminal presente, paraovariana. Vitelinos essencialmente pós-acetabulares. Poro excretor terminal. Vesícula excretora em Y. Parasitos do esôfago e vias respiratórias de ofídios.

#### RESUMO

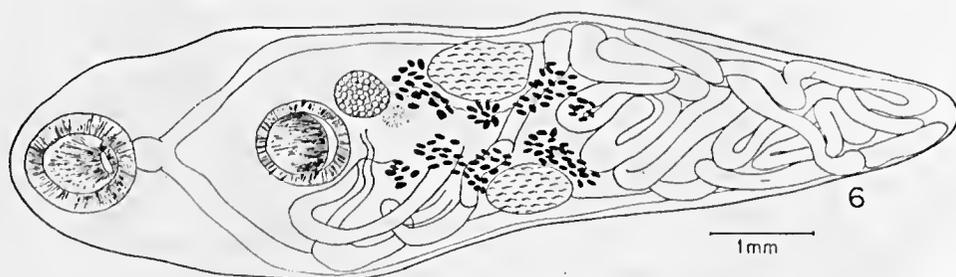
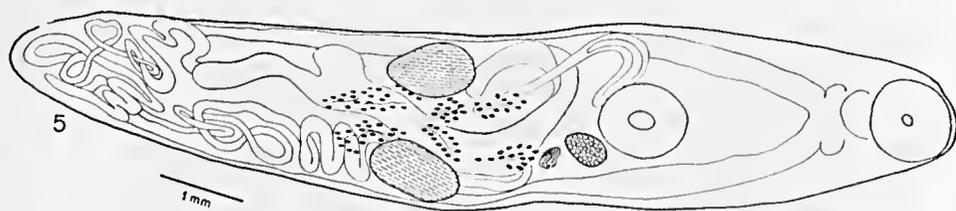
No presente trabalho é feita uma revisão do gênero *Opisthogonimus* Lühe, 1900, com a apresentação de dados relativos à diferenciação das suas várias espécies; o mesmo é feito com relação aos gêneros *Westella*, *Liophistrema*, *Biera* e *Sticholecitha*. Levando em conta o trabalho de Teixeira de Freitas, são sugeridas a alteração do *status* proposto por esse pesquisador para a família *Ophistgonemidae* e a criação de nova família, *Bieriidae*.



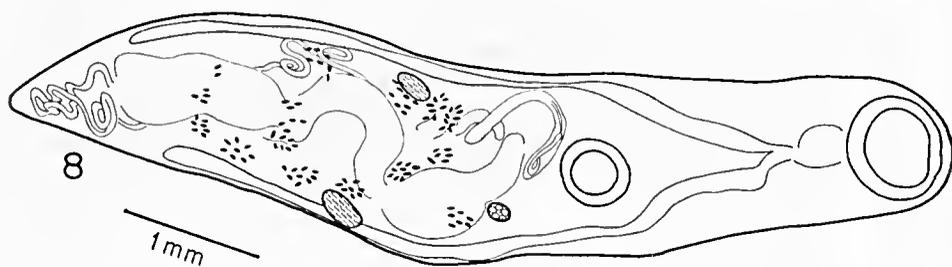
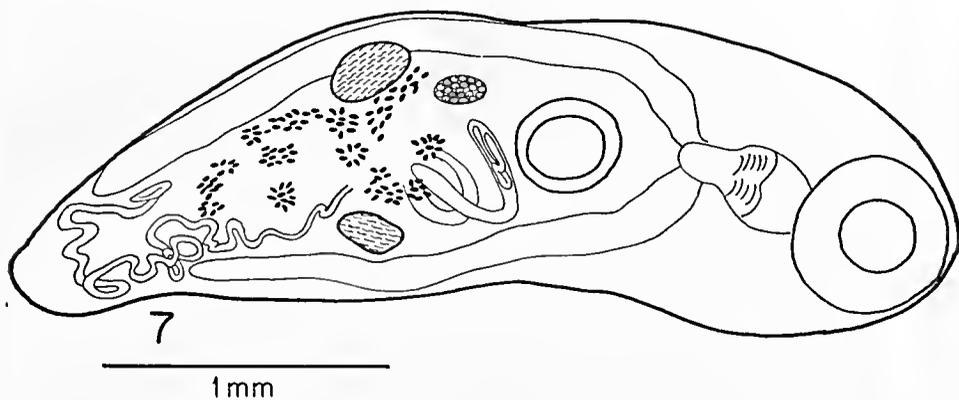
Figs. 1 e 2 — *Opisthogonimus megabothrium* Pereira, 1928. Exemplos dos lotes 5556 e 5522 — Original.



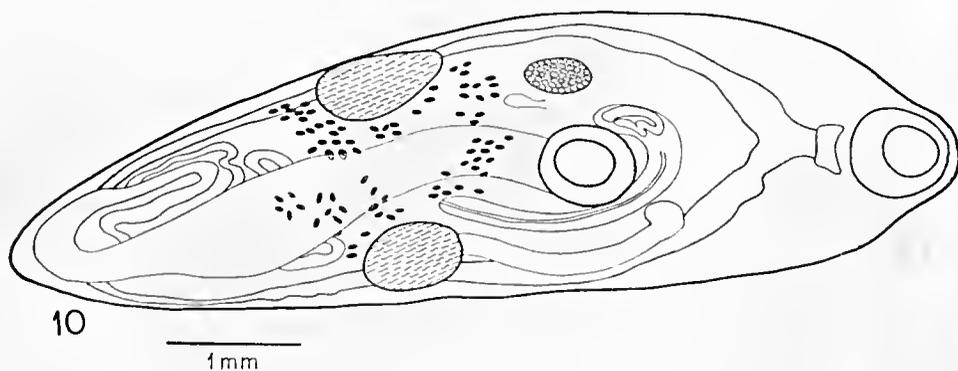
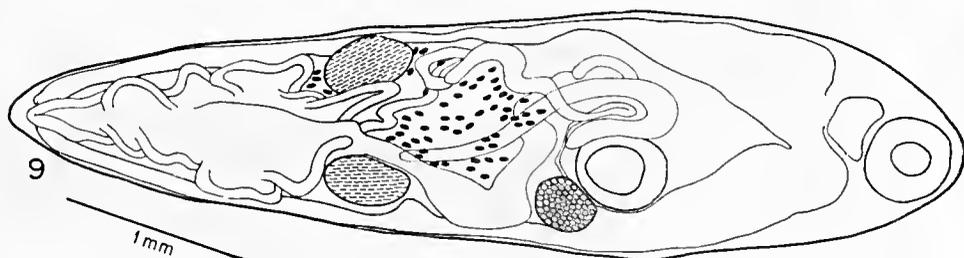
Figs. 3 e 4 — *Opisthogonimus artigasi* Ruiz e Leão, 1942. Exemplos dos lotes 3709 e 5130 — Original.



Figs. 5 e 6 — *Opisthogonimus perera* Ruiz e Leão, 1942. Exemplos dos lotes 5590 e 5151, cootipo — Original.

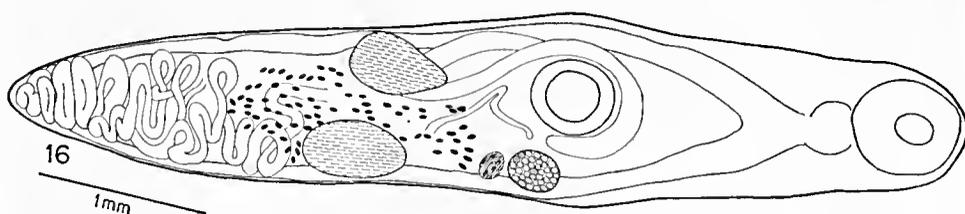
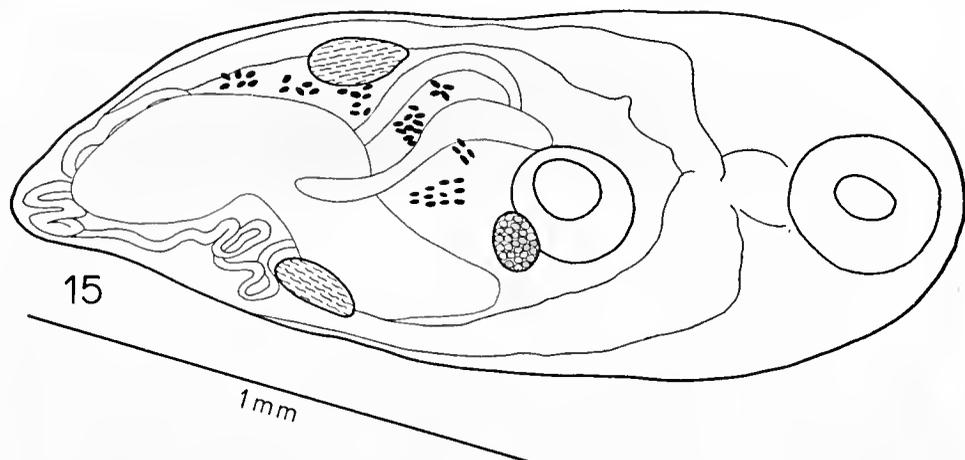


Figs. 7 e 8 — *Opisthogonimus afranoi* Pereira, 1929. Exemplos do lote 3606 — Original.

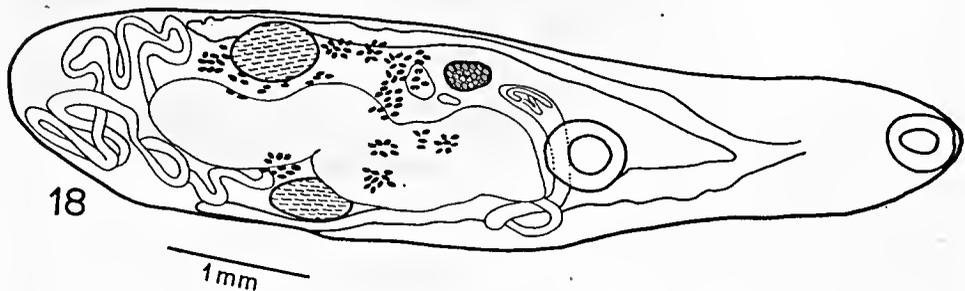
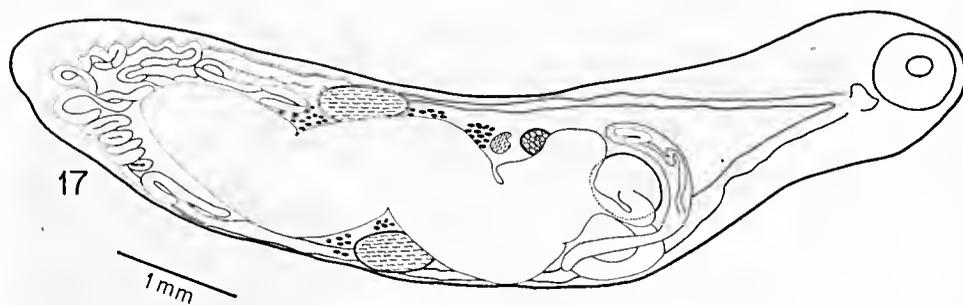


Figs. 9 e 10 — *Opisthogonimus fonsecai* Ruiz e Leão, 1942. Exemplos dos lotes 5317 e 5496 — Original.

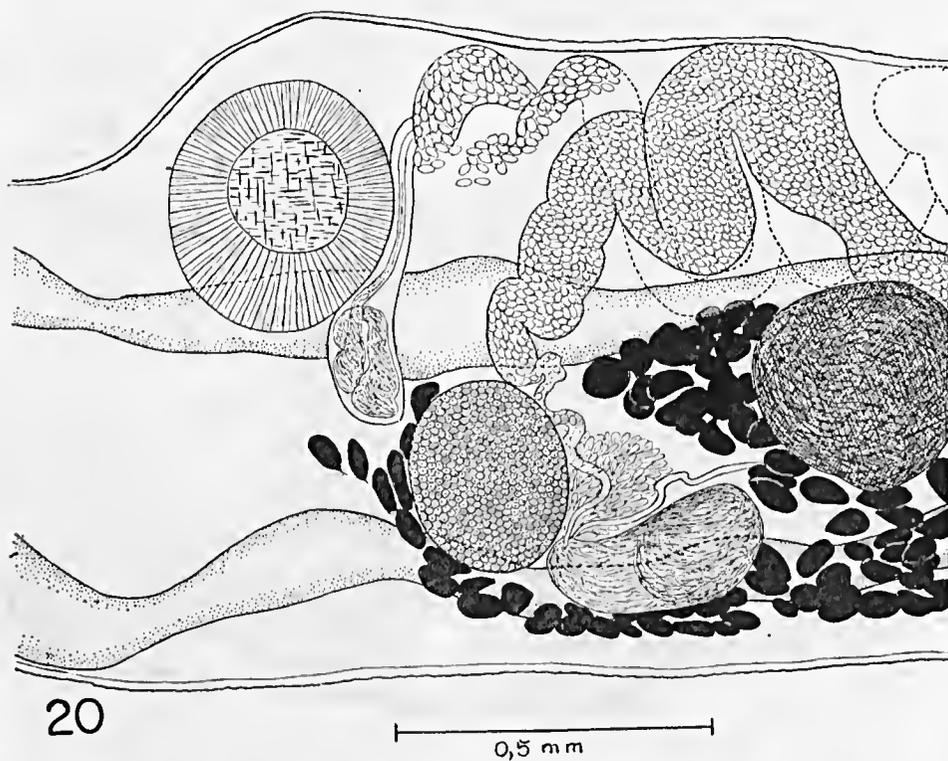
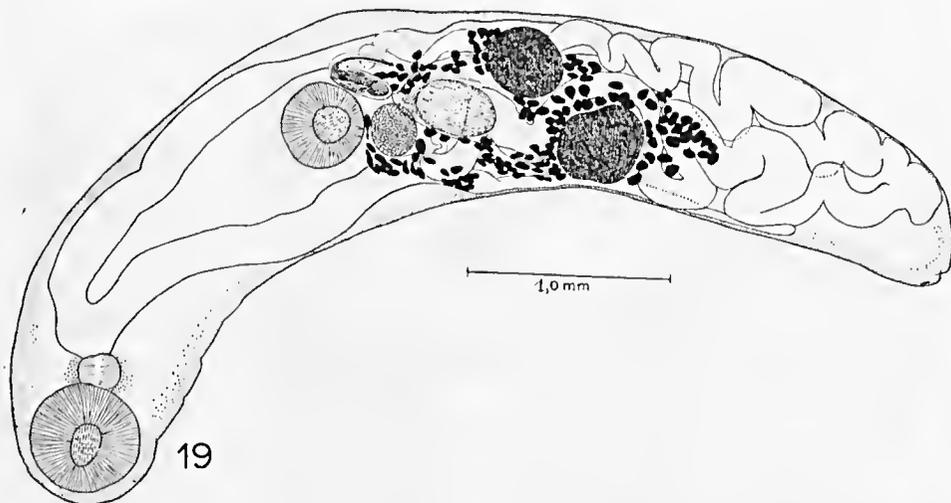




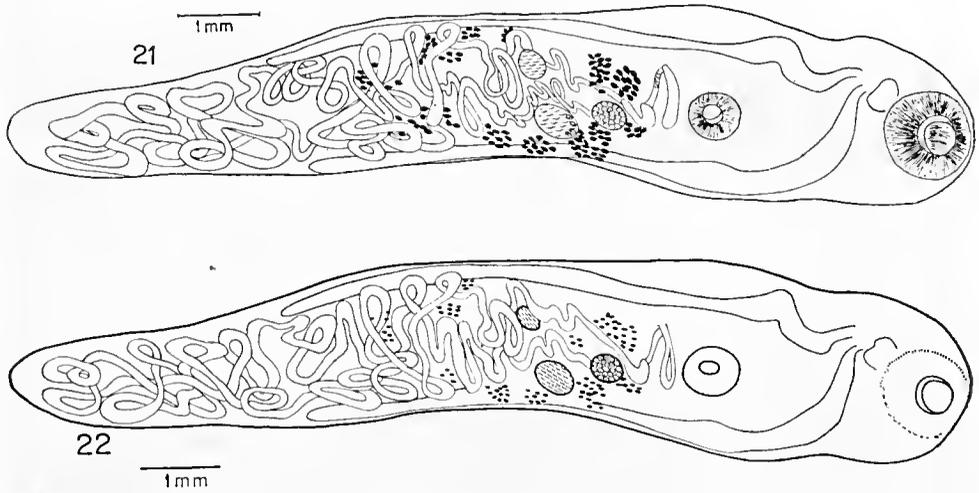
Figs. 15 e 16 — *Opisthogonimus lecithonotus* Lühe, 1900. Exemplos dos lotes 5495 e 3612 — Original.



Figs. 17 e 18 — *Westella sulina* Artigas, Ruiz e Leão, 1942. Exemplos do lote 5316 — Original.



Figs. 19 e 20 — *Westella serpentis* Artigas, Ruiz e Leão, 1943. Original de Artigas, Ruiz e Leão, 1943.



Figs. 21 e 22 — *Liophistrema pulmonalis* Artigas, Ruiz e Leão, 1942. Exemplos do lote 2444, cootipo — Original.

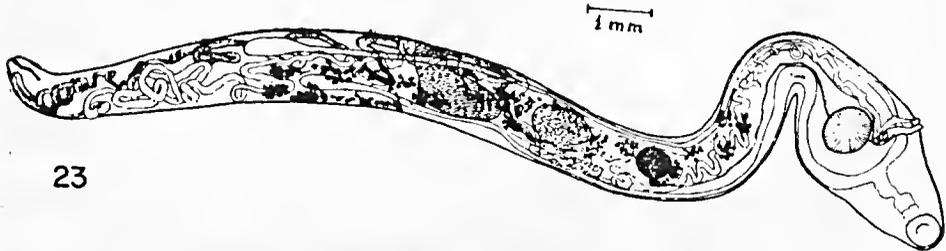


Fig. 23 — *Bieria artigasi* Leão, 1946. In Leão, 1946.

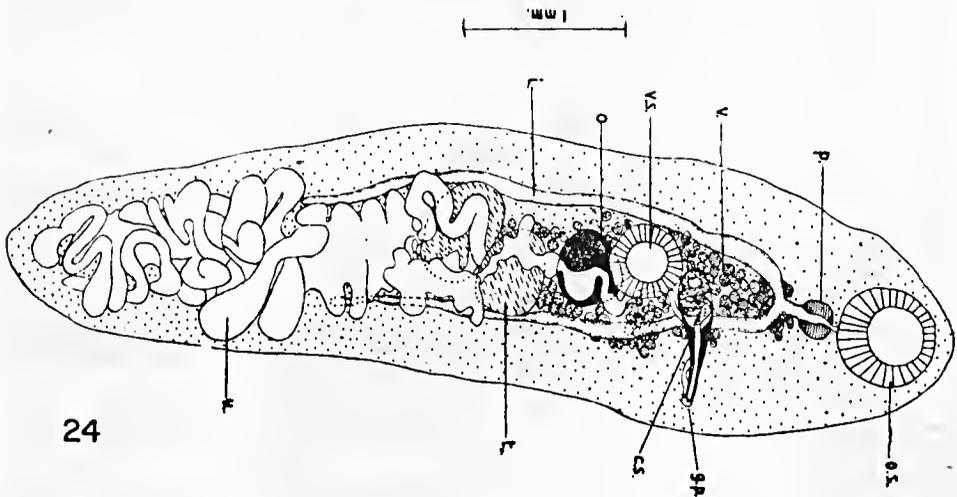


Fig. — 24 — *Sticholecitha serpentis* Prudhoe, 1949. In Prudhoe, 1949.

## SUMMARY

The present work deals with the genus OPISTHOOGONIMUS, adding some considerations to their various species; the same proceeding is applied to the genus WESTELLA, LIOPHISTREMA, BIERIA and STICHOLECITHA. Concerning to the work of Teixeira de Freitas, a change of the status of the OPISTHOOGONIMIDAE family is proposed and a new family, BIERIIDAE, suggested.

AGRADECIMENTO — Agradecemos a colaboração do Sr. Flávio Sarti, do Instituto Butantan, que conosco compartilhou o acabamento dos desenhos originais.

## BIBLIOGRAFIA

1. Artigas, P. T., Ruiz, J. M. e Leão, A. T. — 1942 — “Trematóides de ofídios. *Liophistrema pulmonalis* n.g., n. sp., LIOPHISTREMINAE n. subfam., *Westella sulina* n.g., n.sp., (PLAGIORCHIIDAE)”. *Mem. Inst. Butantan*, 16:157-169, 5 figs.
2. Artigas, P. T., Ruiz, J. M. e Leão, A. T. — 1943 — “Algumas notas sobre o gênero *Opisthogonimus*. Lühe, 1900. Descrição de *Opisthogonimus serpentis*, sp.n., trematóide de ofídio”. *Mem. Inst. Butantan*, 17:47-59, 4 figs.
3. Cordero, E., Vogelsang, H. G. — 1928 — “*Distomus xenodontis* n.sp. Nuevo trematode del intestino de *Xenodon merremi* (Wagler) de Jujuij”. *Cuarta Reun. Soc. Arg. Pat. Reg. Norte*, pp. 636-641, 2 figs.
4. Leão, A. T. e Ruiz, J. M. — 1942-1943 — “Notas helmintológicas. 7. *Opisthogonimus fariái* n.sp. (Trematoda. Opisthogoniminae)”. *An. Fac. Farm. Odont. da U.S.P.*, 3:96-104, 6 figs.
5. Leão, A. T. — 1946 — “Sobre um novo gênero de *Liophistrematinae* Artigas, Ruiz e Leão, 1942 (Trematoda, Plagiorchiidae)”. *Mem. Inst. Butantan*, 19: 33-40, 3 figs.
6. Lühe, M. — 1900 — “Über einige *Distomum* ans Schlangen und Eidechsen”. *Centralbl. Bakt.*, abt. 1, 28:555-556.
7. Lühe, M. — 1900 — “Über *Distomum philodryadum* West.” *Centralbl. Bakt.*, abt. 1, 28:743.
8. Nicoll, W. — 1914 — “Trematodes parasites from animals dying in the Zoological Society's Garden during, 1911-1912”. *Proc. Zool. Soc.* 1:139-154, pfs. 1-4, 11 figs.
9. Pereira, C. — 1928 — “Fauna helmintológica dos ofídios brasileiros (3.º)”. *Bol. Biol.*, 12:50-54, 8 figs.
10. Pereira, C. — 1929 — “Revisão do gênero *Opisthogonimus*”. *Rev. Mus. Paul.*, 16:995-1009, 19 figs.
11. Prudhoe, S. — 1949 — “Some roundworms and flatworms from the West Indies and Surinam. III. Trematodes”. *J. Linn. Zool.*, 41:415-419, 2 figs.
12. Ruiz, J. M. e Leão, A. T. — 1942 — “Notas helmintológicas. 1. Sobre dois casos de parasitismo errático verificado no gênero *Opisthogonimus* (Trematoda. Plagiorchiidae). *An. Fac. Farm. Odont. U.S.P.*, 8:99-103, 6 figs.
13. Ruiz, J. M. e Leão, A. T. — 1942 — “Notas helmintológicas. Três novas espécies de *Opisthogonimus* parasitas de ofídios brasileiros (Trematoda. Plagiorchiidae)”. *Mem. Inst. Butantan*, 16:171-185, 5 figs.
14. Teixeira de Freitas, J. F. — 1956 — “Breve nota sobre “*Opisthogoniminae*” Travassos, 1928 e grupos afins (Trematoda. Plagiorchoidea)”. *Rev. Bras. Biol.* 16:141-144.
15. Travassos, L. — 1928 — “Fauna helmintológica de Mato Grosso (Trematoda, I Parte)”. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 21:309-341, ests. 42-54, 44 figs.
16. West, G. S. — 1896 — “On a new species of *Distomum*”. *J. Linn. Soc.*, 25: 322-324, pl. 11, 10 figs.

## MYXOMATOSE EXPERIMENTAL EM ORYCTOLAGUS SP. E SYLVILAGUS SP.

A. VALLEJO-FREIRE, B. OLIVEIRA FILHO e A. BRUNNER Jr.

*Secção de Virus, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil*

A myxomatose, infecção grave, específica dos coelhos, foi reconhecida numa epizootia em laboratório, no Uruguai e descrita pela primeira vez por Sanarelli (1) em 1898. Epizootias ocorrem nas Américas do Sul, Central e Oeste da América do Norte.

Sanarelli reproduziu experimentalmente a doença e estudou os tumores subcutâneos característicos, afirmando serem êles devidos a proliferação de células de formas dendríticas que denominou "células myxomatosas". Incluiu a myxomatose entre as doenças causadas por virus, em virtude de ter mostrado sua natureza infecciosa, não encontrando formas bacterianas nas preparações feitas com aquêle material; denominou o agente infectante de "vírus myxomatogênico". É um vírus classificado entre os do grupo pox (2), embora se comporte quanto a algumas propriedades adotadas como critérios taxonômicos, de modo diverso em relação aos demais componentes do grupo.

Splendore (3) descreveu inclusões em tecido tumoral corado pelo Giemsa e comparou-as com os corpos de inclusão descritos por Halberstaedter e Prowazek nas lesões tracomatosas. Moses (4) não confirmou a presença de inclusões citoplasmáticas, mas demonstrou que o agente infectante atravessa as velas esterilizantes Berkefeld, comprovando, assim, tratar-se de um vírus filtrável. Aragão (5) também não evidenciou corpos de inclusão no citoplasma, mas descreveu inclusões intranucleares, reconhecendo, posteriormente, tratar-se de acúmulos de cromatina (6). Torres e Almeida Cardoso (7) descreveram inclusões intranucleares em células não caracterizadas admitindo, porém, a possibilidade de contaminação dos animais por um vírus intranuclear.

Foi Aragão (5) quem primeiramente reconheceu partículas intracitoplasmáticas, identificando-as como sendo o vírus do myxoma, muito semelhante ao vírus da varíola e do molluscum contagiosum. Lipschütz (8) e Findlay (9) constataram também a presença de corpúsculos no citoplasma das células myxomatosas, às vêzes agrupados, formando massas mais ou menos extensas.

O tecido tumoral subcutâneo, é de natureza edematosa, não proliferativa, segundo Findlay (9). Rivers (10), todavia, observou um processo proliferativo, seguido da destruição dos elementos celulares.

Alterações no epitélio foram descritas por Rivers (11), com ocorrência de hipertrofia das células seguida da formação de uma inclusão eosinófila que pode ocupar grande parte do citoplasma. Verificou também inclusões azurófilas e, concomitantemente, uma rarefação do núcleo, disposto excêntricamente.

---

Recebido para publicação em 2 de fevereiro de 1968.

Além de partícuas azurófilas intraeitoplasmáticas, foram descritos também corpos esféricos basófilos, de 2 a 3  $\mu$  de diâmetro, que por vèzes davam reação positiva ao Feulgen (12).

Van Rooyen e Rhodes (13) observaram pelo método de Pasehen, corpúsculos elementares em sedimentos obtidos por centrifugações da suspensão do material colhido de lavagens da conjuntiva de coelhos infectados; as primeiras eletromicrografias do vírus parcialmente purificado foram obtidas por Borries e col. (14).

Este trabalho tem por objetivo mostrar aspectos decorrentes da infecção pelo vírus do myxoma em coelhos domésticos e silvestres nos tecidos epitelial e conjuntivo da pele.

#### MATERIAL E MÉTODOS

*Inóculo* — A amostra do vírus do myxoma foi fornecida pelo Dr. Paulo Mello Freire, do Instituto Biológico de São Paulo, isolada em 1954 de coelho doméstico (*Oryctolagus*), em Itaquaquecetuba. Foram feitas duas passagens em coelho e os tumores mantidos a -20°C, em glicerina a 50%.

Os tumores eutâneos eram triturados com areia e as partícuas suspensas em salina com tampão fosfato de pH 7,2 — 7,4. As inoçulações eram feitas por via intradérmica ou subcutânea, com 0,1 a 1,0 ml da suspensão. Diariamente, em dois período, eram verificadas as temperaturas dos animais (*Oryctolagus* sp e *Sylvilagus* sp.).

O coelho doméstico apresentava febre no 2.º ou 3.º dia após a inoçulação, que regredia no 7.º ou 8.º dia e a morte sobrevinha geralmente no 10.º dia apresentando o animal todos os sintomas característicos da doença.

As biópsias dos tumores eutâneos, eram feitas de 3 a 10 dias e a pele do local da inoçulação, de 4 a 24 horas após a infecção.

O coelho silvestre apresentava temperaturas variáveis e o animal se recuperava em tórno de 60 dias. O material era colhido de 7 a 48 dias após a inoçulação.

*Microscopia Eletrônica* — Fragmentos de pele, de 1-2 mm<sup>3</sup> aproximadamente, foram fixados em ácido ósmico a 1% em tampão veronal-acetato, isotônico, de pH 7,4 ou em subtosan, durante 1-2 horas, desidratados na série alcoólica e incluídos em metil-butil metaacrilatos misturados na proporção de 3:7, contendo 1% de peróxido de benzoila. A polimerização se processou a 54°C, durante 12 a 24 horas.

O sangue foi colhido da veia marginal da orelha, no 3.º ou 5.º dia e no período agônico, fixando-se e incluindo 2 ou 3 gôtas nas mesmas condições que os fragmentos de tecido, por centrifugações e decantações sucessivas.

Os cortes foram obtidos num micrótomo Porter-Blum e fotografados no microscópio Siemens UM100b com aumentos de x1300 a x15000.

#### RESULTADOS E CONCLUSÕES

*Sylvilagus* — Nos coelhos silvestres observamos uma tumoração apenas no local da inoçulação do vírus, ocorrendo uma recuperação dos animais ao redor de 60 dias, os quais adquiriram inclusive imunidade. Quanto ao aspecto ultramicroscópico do epitélio, podem-se salientar as alterações que ocorrem no tecido, devidos à intensa infestação pelo vírus, como se observa na fig. 1. É uma região próxima à camada basal, em que as células se apresentam com distribuição e contornos irregulares. Os

núcleos, excêntricos e também irregulares, apresentam com freqüência uma rarefação possivelmente correlacionada com o processo de desenvolvimento dos corpúsculos elementares no citoplasma. Nos núcleos e no citoplasma observam-se membranas cujas secções, aproximadamente circulares, envolvem material de menor ou igual densidade que a zona circunvizinha. Há poucos desmosomas, estando as células, em extensas regiões, apenas apostas umas às outras. A fig. 2 corresponde a uma célula epitelial, com o citoplasma totalmente ocupado por partículas de vírus. Há regiões pouco densas aos eletrons, limitadas por membranas simples ou múltiplas, de contornos irregulares. Observa-se, aproximadamente no centro do citoplasma, uma região granular, homogênea densa, já descrita em outras infecções por vírus do grupo pox, como o vacínico (15, 16, 17, 18, 19) e o mollusum contagiosum (20). No centro dessa região granular há uma massa compacta e densa de aproximadamente 1200 x 400 m $\mu$ . Não se observam mitocôndrias e retículo endoplasmático, que estão presentes nas fases iniciais do desenvolvimento do vírus, diminuindo aquêles em número e êste em extensão, até o total desaparecimento, à medida em que aumenta o número de partículas, o que pode ser considerado como uma consequência da infecção. O núcleo, alongado e excêntrico, apresenta uma rarefação contendo no seu limite uma formação elíptica, densa aos eletrons. Junto à membrana há duas vesículas, contendo uma delas uma partícula da mesma densidade e dimensões que as de um corpúsculo elementar. Êste aspecto pode corresponder a uma invaginação nuclear coincidente com a presença de uma partícula naquela região do citoplasma.

Algumas células apresentam, além de partículas livres, aglomerados de corpúsculos, bem delimitados, semelhantes aos corpos de Bollinger da varíola aviária, quanto a densidade e compactidade, descritos por Eaves e Flewett (21). Uma das células da fig. 3 contém duas inclusões desse tipo. A maior contém regiões mais ou menos circulares pouco densas, em cujos limites se dispõem aglomerados de partículas de vírus.

Na fig. 4 observa-se uma formação de secção circular, constituída na sua periferia por uma massa granular, densa aos eletrons. A maior parte dessa formação é constituída por regiões circulares pouco densas, delimitadas umas com as outras por finos cordões de citoplasma nos quais se dispõem as partículas. Ê, possivelmente, o citoplasma de outra célula, invaginado numa célula não infectada.

Numa fase, ao que se supõe, mais adiantada do parasitismo, o citoplasma se desintegra apresentando apenas vesículas em cujos limites se observam os corpúsculos elementares (fig. 5). Ê interessante observar que em algumas regiões do epitélio, as células apresentam diferentes graus de intensidade de parasitismo, havendo mesmo algumas, apostas a células de aspectos semelhante à da fig. 5, cujas secções não apresentam partículas.

Com a regressão do tumor, o epitélio sofre descamação, seguida da completa destruição do tecido. As células se desintegram e as partículas de vírus são liberadas (fig. 6), o que pode explicar, em parte, a disseminação do vírus no campo e a consequente aquisição de imunidade pelos coelhos silvestres. O epitélio se regenera, a partir da camada basal, tomando as características normais do tecido.

As partículas aparentemente livres das estruturas citoplasmáticas apresentam-se menos densas na região central, com secção circular, enquanto que as incluídas no citoplasma, ou mesmo no tecido já desintegrado, porém, próximas a vestígios de estrutura celular, apresentam secção elíptica e são mais densas aos eletrons.

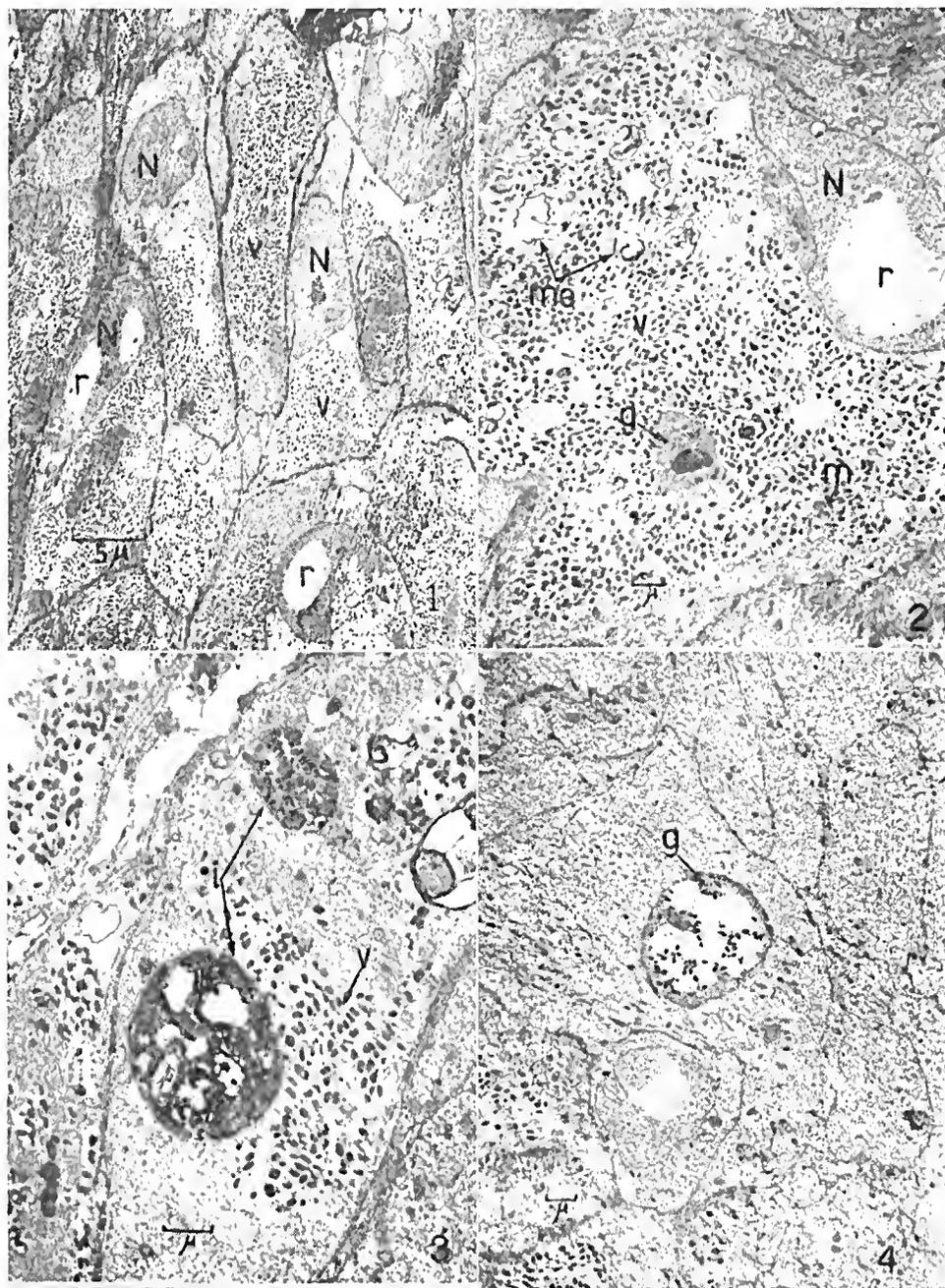
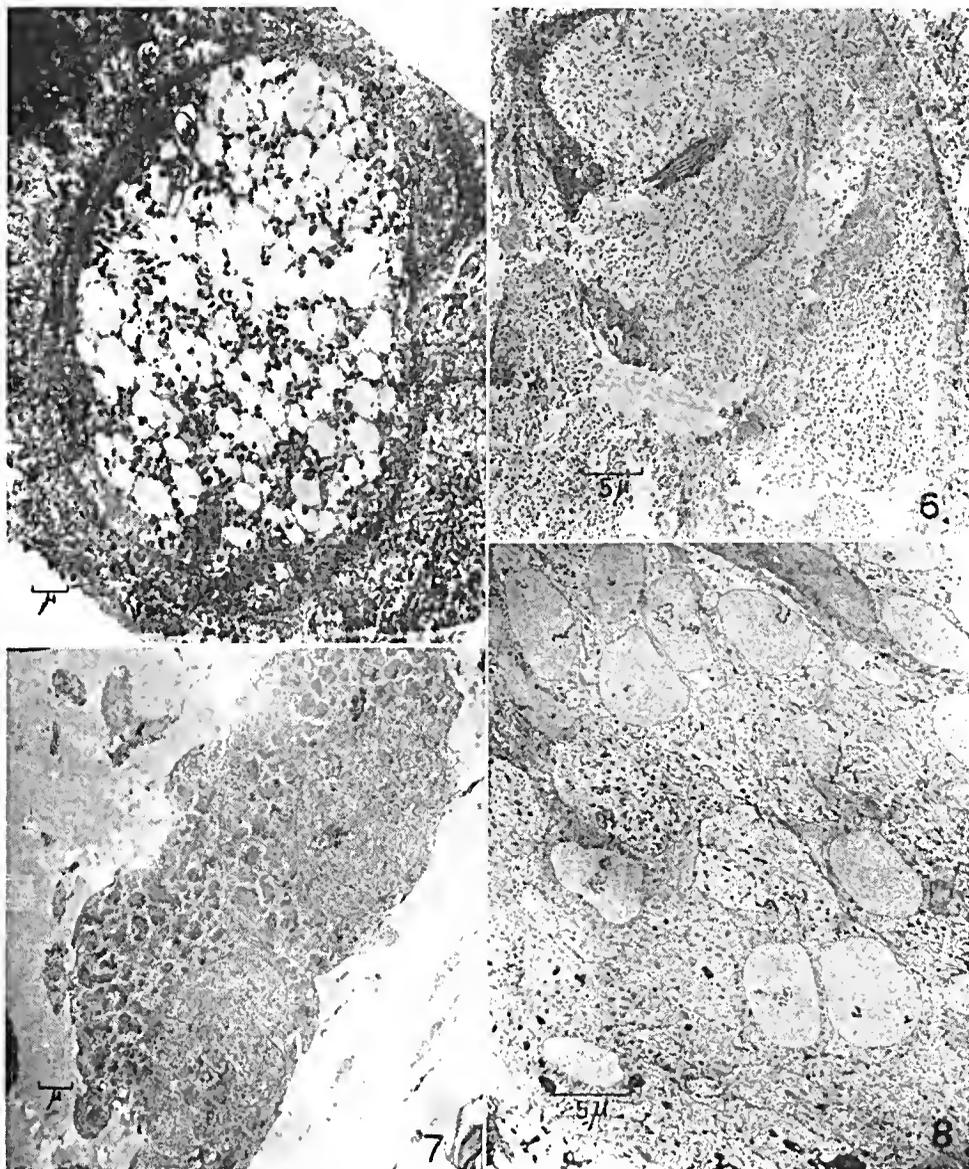
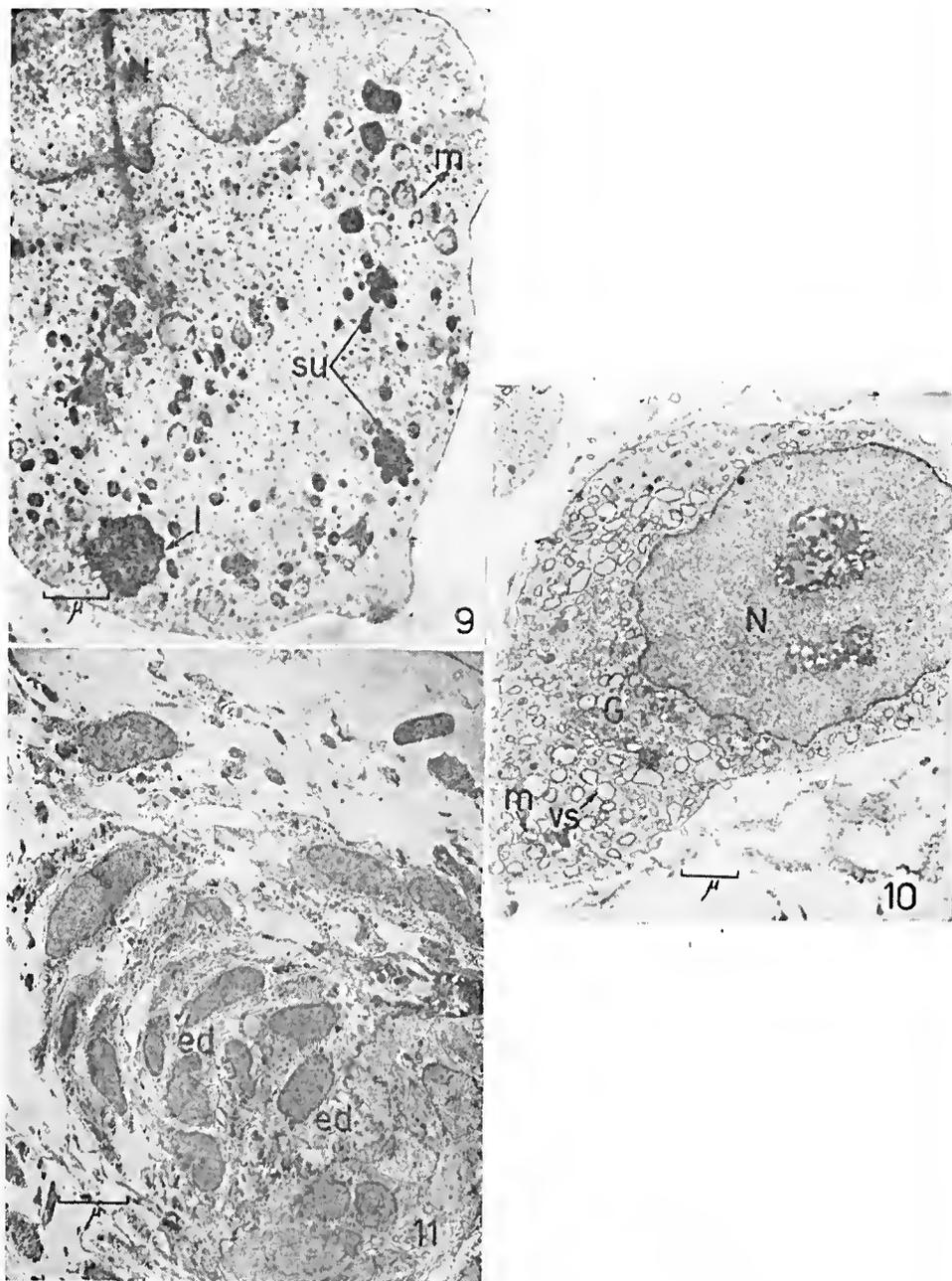


Fig. 1 a 6 — Cortes do epitélio cutâneo de *Sylvilagus* inoculado com o vírus do myxoma.

- 1) Células de forma e distribuição irregulares, com núcleos (N) excêntricos e geralmente rarefeitos (r). No citoplasma observam-se numerosas partículas de vírus V.
- 2) Célula com o núcleo N excêntrico e rarefeito (r). O citoplasma contém numerosos corpúsculos elementares V, membranas me simples ou duplas, irregulares, e uma região G contendo uma massa densa aos eletrons. Observam-se alguns mitocôndrios m dispostos no citoplasma periférico; não há mais retículo endoplasmático.



- 3) Célula com duas inclusões *i*, densas aos eletrons, constituídas por aglomerados compactos de partículas de vírus. A inclusão de secção maior, contém algumas vesículas pouco densas aos eletrons, e, próximas a essa inclusão, observam-se partículas de vírus *V* livres.
- 4) No centro da figura, observa-se uma formação aproximadamente circular, limitada por uma massa granular *G*. Esta formação contém vesículas delimitadas por finos cordões citoplasmáticos nos quais se dispõem partículas de vírus.
- 5) Célula com o citoplasma vesiculado, contendo partículas de vírus dispostas em cordões citoplasmáticos que delimitam as vesículas. Esta parece constituir uma fase adiantada de degeneração celular devida à infecção.

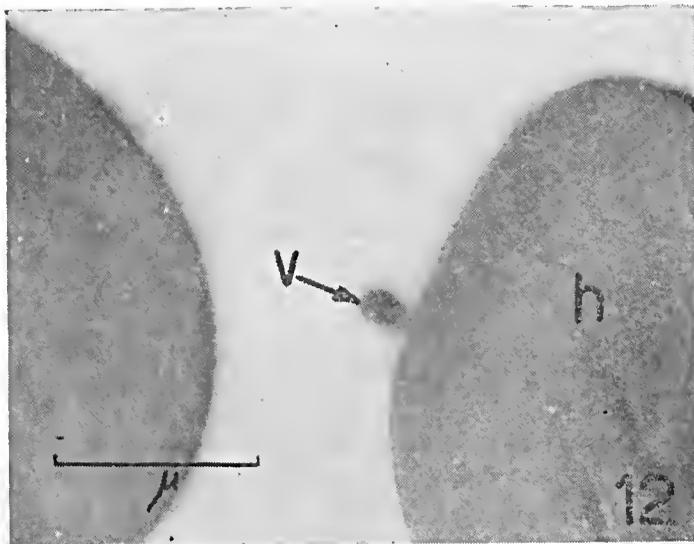


6) Células totalmente degeneradas, apresentando apenas vestígios de delimitação e contendo praticamente só partículas de vírus maduro.

Fig. 7 — Célula com características de mastócito, encontrada somente no tecido conjuntivo de *Sylvilagus*, contendo grãos de forma variável, densos aos eletrons.

Fig. 8 a 12 — Corte de células de coelho *Oryctolagus* inoculado com o vírus do myxoma.

8) Epitélio cutâneo de *Oryctolagus*. As alterações do tecido são menores do que no *Sylvilagus*, quanto à forma e disposição das células.



- 9) Célula do tecido conjuntivo, não identificada, com o núcleo *N*, contendo subunidades *SU* das quais se originam as partículas de vírus; *m* — mitocôndrios; *l* — inclusão lipídica.
- 10) Célula myxomatosa com numerosas vesículas *VS* associadas aos grãos de ribonucleoproteínas; *N* — núcleo; *G* — zona de Golgi; *m* — mitocôndrios.
- 11) Capilar obliterado pela proliferação de células endoteliais *ed*, segundo alguns autores (12).
- 12) Hemácia *h* de sangue de coelho no período agônico da infecção, contendo uma partícula *V* adsorvida à membrana.

Fig. 1 to 6 — Sections of cutaneous epithelial cells of the wild rabbit *Sylvilagus*, infected by myxoma virus.

- 1) Cells with irregular forms and distribution with excentric and generally rarefacted (*r*) nucleus *N*. Numerous viruses particles *V* are seen in the cytoplasm.
- 2) A cell with an excentric and rarefacted (*r*) nucleus *N*. The cytoplasm contains numerous elementary corpuscles *V*, simple or double irregular membranes *me* and a granular region *G* with an electron dense mass. Some mitochondria *m* are disposed in the periphery of the cytoplasm. There is not endoplasmic reticulum.
- 3) A cell with two electron dense inclusions *i*, constituted of agglomerated virus particles. The greater section contains some vesicles of low electron density and near to this inclusion free virus particles *V* are seen.
- 4) In the center of this figure, an approximately circular formation limited by a granular mass *G*, is seen. This formation contains vesicles limited by fine cytoplasmic cords in which virus particles dispose themselves.
- 5) A vesiculated cell with virus particles disposed in the cytoplasmic cords. This seems an advanced phase of cellular degeneration due to the viral infection.

- 6) Totally degenerated cells with debris of cellular membranes, containing practically only mature virus particles.

Fig. 7 — A cell with characteristics of mast-cell, observed only in the *Sylvilagus* conjunctive tissue. It contains electron dense grains of variable forms.

Fig. 8 to 12 — Sections of cutaneous tissues and cells of the domestic rabbit *Oryctolagus*, inoculated with the myxoma virus.

- 8) Cutaneous epithellum in which alterations are not so evident as in *Sylvilagus*, concerning the form and disposition of the cells.
- 9) A not identified conjunctival cell, with the nucleus *N*, containing subunits *SU* from which virus particles are originated; *m* — mitochondria; *I* — lipidic inclusion.
- 10) Myxomatous cell with numerous vesicles *VS*, associated to ribonucleoprotein grains; *N* — nucleus; *G* — Golgi zone; *m* — mitochondria.
- 11) A blood capillar obliterated by the proliferation of endothelial cells *ed*, accordingly to some authors (12).
- 12) A red blood cell *h* of rabbit in the agonic period of the infection, containing on the membrane an adsorbed particle *V*.

No tecido conjuntivo não observamos inclusões a vírus nos vários tipos de células. Epstein e col. (22) mostraram partículas de dimensões e formas irregulares, o que não convence quanto a sua natureza viral, no citoplasma de células identificadas como sendo myxomatosas.

Encontramos com freqüência, células contendo numerosos grãos de forma e dimensões características que poderiam ser identificadas como mastócitos (fig. 7).

*Oryctolagus* — O epitélio cutâneo desses animais, se apresenta menos infestado por partículas de vírus do que o do coelho silvestre.

As células sofrem alterações em menor grau, quanto à forma, disposição no tecido e quanto a posição dos núcleos que se situam normalmente (fig. 8). Como no coelho silvestre, mitocôndrios e retículo endoplasmático diminuem em número e extensão, respectivamente, até o seu desaparecimento quando a célula está totalmente infectada.

Nestas células surpreendemos diferentes fases de desenvolvimento das partículas semelhantes às dos vírus integrantes do grupo pox, já descritas por vários autores, acima citados. Estas fases não são observadas com freqüência nas células epiteliais da pele de *Sylvilagus*, provavelmente por ser mais rápido o processo de desenvolvimento do vírus nestes animais. Verificamos entre partículas maduras, mais densas na periferia, e, medindo 195x420 m $\mu$ , corpúsculos imaturos de 220 x 265 m $\mu$ . As partículas, à medida que se desenvolvem, diminuem em dimensões, e aumentam em densidade aos electrons. A fase inicial da evolução é semelhante à do vírus vacínico, já descrita por Vallejo-Freire e col. (16), surpreendida numa célula do tecido conjuntivo, não identificada. Os corpúsculos elementares se originam de regiões densas, denominadas subunidades, por um processo semelhante ao de um brotamento. As partículas se individualizam durante o desenvolvimento até se tornarem livres no citoplasma. As subunidades medem, aproximadamente, em secções, 800 x 460 m $\mu$  (fig. 9).

O tecido conjuntivo apresenta, com freqüência, células alongadas, às vezes de forma dendrítica, que seriam responsáveis pelo desenvolvimento da tumoração. São,

por êstes aspectos, consideradas como sendo as células chamadas myxomatosas (fig. 10). Além de mitocôndrios, aparelho de Golgi e retículo endoplasmático, estas células contêm, mantendo continuidade com esta última estrutura e distribuídas por todo o citoplasma, vesículas delimitadas por membranas associadas a grãos provavelmente de ribonucleoproteínas, dadas as dimensões que apresentam (150-200 Å). Não observamos no tecido conjuntivo de *Oryctolagus*, células com características de mastócitos. É comum surpreender capilares parcial ou totalmente obliterados. Esta obstrução é devida à proliferação das células endoteliais, fenômeno já observado por Hurst (12). Há destruição dos demais elementos dos vasos, podendo ocorrer um extravazamento de hemácias, que se dispõem nas proximidades dos mesmos (Fig. 11).

A infectividade do sangue foi constatada por Splendore (2) e Sanarelli (1) 48 horas após inoculação subcutânea e 24 horas quando a inoculação era endovenosa. A infectividade do sangue se inicia no segundo dia e perdura até o período agônico (6), tendo Moses (4) obtido um maior título nesta última fase da moléstia. Na fig. 12, observa-se a secção de uma hemácia, de sangue de *Oryctolagus* no período agônico, tendo adsorvida à sua membrana, uma partícula de secção elipsóidica, de dimensões (250 x 130 m $\mu$ ) e densidade aos electrons que se aproximam das do vírus do myxoma. Êste seria o meio de disseminação do vírus no organismo do animal, resultando na generalização da tumoração.

Surpreendemos aspectos da myxomatose visando não somente a observação das alterações celulares mas também acompanhar as diferentes fases do ciclo evolutivo do vírus, o que oferece dificuldades, pois quando a tumoração se manifesta, as partículas encontram-se já numa fase adiantada de desenvolvimento. Fazendo-se a biópsia do local da inoculação, encontramos alterações que podem ser atribuídas também à ação mecânica exercida pela agulha, além das devidas à atividade do vírus. Afim de contornar estas dificuldades, estamos estudando o ciclo evolutivo do vírus utilizando a técnica de cultura de tecido epitelial de rim de coelho, o que constitui um sistema simples de trabalho para esta investigação.

#### SUMÁRIO

Tumores cutâneos de coelhos domésticos (*Oryctolagus* sp.) e Silvestres (*Sylvilagus* sp.), com myxomatose, foram estudados por meio de cortes ultra-finos ao microscópio eletrônico.

São analisadas não somente as alterações celulares devidas a infecção pelo vírus, mas também os diferentes aspectos correspondentes às várias fases do desenvolvimento das partículas, nos tecidos epitelial e conjuntivo da pele de ambos os gêneros. A viremia em alguns animais foi igualmente observada.

#### SUMMARY

Tumors of domestic (*Oryctolagus*) and wild (*Sylvilagus*) rabbits with myxomatosis, obtained by biopsy with the skin were studied through the electron microscopy of thin sections of the tissues.

Not only the cellular alterations, due to the viral parasitism, but also the different aspects of the corresponding phases of particles development in the epitelial and connective skin tissues of both genus were analysed. The viremia was also observed in some domestic animals.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Sanarelli, G.* — Das myxomatogene Virus. *Centralblatt Bakter.*, 23(20):865-873, 1898.
2. *FCnner, F.* — Classification of myxoma and fibroma viruses. *Nature*, 171:562-563, 1953.
3. *Splendore, A.* — Il virus mixomatoso dé conigli. *Rev. Soc. Cíent. São Paulo*, n.º 1-2:13-15, 1908.
4. *Moses, A.* — O Virus do mixoma dos coelhos. *Mcm. Inst. Oswaldo Cruz*, 3:46-53, 1911.
5. *Aragão, H. B.* — Sôbre o micróbio de myxoma dos coelhos. *Brasil Med.*, 47:471, 1911.
6. *Aragão, H. B.* — Myxoma dos coelhos. *Mcm. Inst. Oswaldo Cruz*, 20:225-236, 1927.
7. *Torres, C. M. e Almeida Cardoso, R. A.* — Transplantação de baço de coelho com myxoma infeccioso na câmara anterior do olho da cobaia. Sôbre a degeneração myxomatosa. Inclusões intranucleares. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 53:367-377, 1955.
8. *Lipschütz, B.* — Untersuchungen über die Aetiologie der Myxomkrankheit des Kaninchens. *Wiener Klin. Wochschr.*, 40:1101-1103, 1927.
9. *Findlay, G. M.* — Notes on infectious myxomatosis of rabbits. *British Jour. Exptl. Path.*, 10:214-219, 1929.
10. *Rivers, T. M.* — Changes observed in epidermal cells covering myxomatous masses induced by Virus Myxomatosum (Sanarelli). *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 24:435-437, 1926-27.
11. *Rivers, T. M.* — Infectious myxomatosis of rabbit. Observations on the pathological changes induced by Virus Myxomatosum (Sanarelli). *J. Exptl. Med.*, 51:965-976, 1930.
12. *Hurst, S. W.* — Myxoma and the Shope Fibroma. I. The Histology of Myxoma. *British J. Exptl. Path.*, 18:1-15, 1937.
13. *Rooyen, C. E. Van and Rhodes, A. J.* — Centrifugation of the elementary bodies of infectious myxomatosis of the rabbit. *Zentr. Bakt.*, 140:117-120, 1937.
14. *Borries, B. von, Ruska, E. und Ruska, H.* — Bakterien und virus in übermikroskopischer aufnahme. *Klin. Wochschr.*, 17(27):921-925, 1938.
15. *Morgan, C.; Ellison, S. A.; Rose, H. M. and Moore, D. H.* — Structure and development of viruses observed in the electron microscope. II. Vaccinia and fowl pox viruses. *J. Exp. Med.*, 100:201-309, 1954.
16. *Vallejo-Freire, A.; Brunner, Jr., A. and Beçak, W.* — Vaccinia virus multiplication in rabbit-kidney cell cultures. Aspects of the evolution cycle. *Mcm. Inst. Butantan*, 28:275-284, 1957-58.
17. *Peters, D.* — Morphologie menschen und tierpathogener viren. *Zentr. Bakt. Pars. Infekt. Hyg.* 176:259-295, 1959.
18. *Hygashi, N.; Ozaki, Y. and Ichimia, M.* — Electron Microscopy of Pox Virus to cell adsorption and the ultrastructure of developmental forms of pox virus. *J. Ultrastructure Res.*, 3:270-281, 1960.
19. *Flewett, T. H.* — Intracellular growth of some viruses of the pox group. An electron microscopic study of infected chick chorionic cells. *J. Hyg.*, 54:393-400, 1956.
20. *Dourmashkin, R. and Bernhard, W.* — A study with the electron microscope of the skin tumor of molluscum contagiosum. *J. Ultrastructure Res.*, 3:11-38, 1959.
21. *Eaves, G. and Flewett, T. H.* — The structure of fowl-pox inclusions (Bollinger Bodies). *J. Hyg.*, 53:102-105, 1955.
22. *Epstein, B.; Reissig, M. and De Robertis, E.* — Studies by Electron Microscopy of Thin Sections of Infectious Myxomatosis in Rabbits. *J. Exptl. Med.*, 96:347-354, 1952.

## MULTIPLICATION OF MYXOMA VIRUS IN EPITHELIAL CELL CULTURE OF RABBIT KIDNEY

E. de RIZZO, A. BRUNNER Jr. and A. VALLEJO-FREIRE

*Virus Department, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil*

The study of the development of virus, utilizing the tissue culture technique, permitted to follow the various phases of particle formation from adsorption to maturation. This simple system presents less factors interfering in the mechanism, permitting, with even higher evidence, the observation of alterations caused by intracellular parasitism, different from the ones caused by tissue ageing.

Sanarelli (13) was the first author to show that the rabbit myxoma has a virus as its ethiological agent, which is presently classified as a member of the Pox group (6).

The verification of virus presence in the cell, as a morphologic entity, was done by Aragão (1) and has been confirmed by several other studies; (12, 10, 7). The first photos of partially purified virus, at the electron microscope, were done by von Borries et al. (3). Its presence in the conjunctive cell, denominated myxomatous, was evidenced by Epstein et al. (5); those documentations, however, are not convincing, since the particles do not show constant shape and size.

Some aspects on virus infection in conjunctive and epithelial tissue of the domestic rabbit (*Oryctolagus* sp.) and of the wild one (*Sylvilagus* sp.) were described in a more recent paper (15).

Several authors succeeded in the multiplication of the virus in rabbit tissue culture, as well as in pleural cavity cells, (2), testicle, (16), and more recently, in epithelial tissue of kidney (4). The methods used in our laboratory to study the evolutionary cycle of vaccine virus (14), permitted to follow some phases of the virus development at the electron microscope.

The purpose of this work is to show, at the electron microscope, the cellular alterations through culture infections by virus of low and high passages.

### MATERIALS AND METHODS

*Cell cultures* — Casein-hydrolysate medium, (8, 9), has been used with the following modifications:

---

Received for publication in march 25, 1968.

- a) Laetalbumin hydrolysate (enzymatic) instead of Caseyn hydrolysate.
- b) 0.07% final of laetalbumin hydrolysate instead of 0.05%.
- c) no alpha-thocopherol.

The medium for culture growth contained 18 to 20% inactivated calf serum. The inoculated cultures sometimes received no more than 5% serum, but in general, during growth and after inoculation, the culture medium was enriched with 18 to 20% calf serum, adding 200 U.I. Penicillin and 50  $\mu$ g Streptomycin.

Primary rabbit (60 to 70 days old) kidney cell cultures were obtained by 0.20% trypsin dispersion in phosphate buffer solution at room temperature and moderate stirring during 4-5 hours. After filtration through 8 layers of cheese cloth, the cell suspension was centrifuged (20 min at 45 g) and the sediment washed in serum-free medium. The cells were centrifuged and suspended in culture medium enriched with 18% calf serum and antibiotics. After incubating for 48 hours at 37°C the medium was discarded, new one was added and generally the cultures became confluent in three to four days. A previous washing was done with warmed PBS to remove destroyed cells. Since the growth medium with the same percentage of serum and antibiotics was to be used also for maintenance of the inoculated cultures, no washing was necessary to remove serum excess.

While the cultures did not show a cytopathic effect the medium was changed every 2 or 3 days. Harvesting of the supernatant of the inoculated tubes was done after stirring with glass pearls, to liberate cells not yet detached, when the cytopathic effect and infection of the whole layer appeared.

Only primary cultures of rabbit kidney cells were used to obtain passages but replication cultures were used sometimes for virus titration.

*Virus* — The sample was originally isolated by P. M. Freire from the Instituto Biológico de São Paulo, during an outbreak in a rabbit colony at Itaquaquecetuba, São Paulo. It has had two rabbit passages. The resulting tumours were maintained in glycerin solution at -20°C. A fragment of these tumours was used as inoculum for rabbits *Oryctolagus*, after being triturated with sand and buffer.

Two virus samples obtained from experimental tumours were used in this work:

Sample E — has been inoculated in tubes and bottles, dilutions of 1:10 till 1:1,000. The supernatants of the infected tubes and bottles were harvested after 7 days, and when inoculated in rabbits proved to be non-infectious.

Sample D — has been inoculated in tubes and bottles, incubated for 31 days with periodical changes of medium.

The supernatant harvested on the 31st day from several tubes proved infectious when inoculated in rabbits. The same occurred with the supernatants harvested from bottles on either the 7th, 13th and 20th day. The virus harvested from the tubes on the 31st day, constituting the first passage of myxoma virus in rabbit kidney cells, was used as inoculum for the second passage of the virus in the same cell system. For the subsequent passages always the pure supernatant has been used as inoculum.

As the myxoma virus is of slow adaptation to cultures, it has been kept in contact with the cells during variable periods of time in the incubator at 37°C.

The first change of medium was done only after 96 hours. In the continuance of the passages, the adaptation time virus-to-cell at the incubator was given up and the first change was done after 48 hours.

An immune-serum was prepared in rabbit by one endovenous inoculation of 1.0 ml of suspension of virus of high passage (38th). The bleeding was done by cardiac-puncture 15 to 20 days after inoculation and the obtained serum was inactivated, distributed to flasks and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ .

*Electron microscopy* — The electron micrographs showed infected cells collected 20 to 48 hours after contact with myxoma virus of the 10th, 33rd and 38th passage in tissue culture. Only the virus of the latter induced evident cytopathic effect.

After elimination of the medium, the infected cultures were trypsinized for 5 minutes at  $37^{\circ}\text{C}$  with a 0.20% trypsin solution (Difco 1:250) in phosphate buffer (pH 7.0), to detach the tissue from tube walls. The cell suspensions obtained were centrifuged for 10 minutes at 60 g and the sediment was resuspended in osmic acid at 1% in subtosan. After fixation for 15 to 20 minutes the cells were dehydrated in alcoholic series and included in a 3:7 mixture of methyl-butyl meta-crylate. Every change of medium from fixation to final inclusion was done after successive centrifugation and decantation.

Ultrathin sections were obtained through a Porter-Blum microtome and examined with a Siemens UM 100 b and a Elmiskop 1 microscopes, magnifying x 1.300 to x 20.000. The electromicrographs were amplified photographically.

## RESULTS AND DISCUSSION

In the passages from 1 to 12 the virus did not induce any cytopathic effect in the cultures, but the samples collected from the replaced media, showed always a positive lethal result when inoculated in rabbits.

From the 13th passage on, a morphologic alteration of the infected cells started 40 to 50 hours after inoculation, diminishing the time necessary to appear this cytopathic effect until, in the 67th passage, 50% of the culture showed the effect even before the 20th hour after infection.

There also appeared a change in the pathogenic properties of the virus used in this experiment. In the low passages no cytopathic effect was induced by the virus, but when inoculated in rabbits *Oryctolagus*, it proved to be lethal within 10 to 11 days. In the high passages, the virus caused great cytopathic effect showing, however, only antigenic properties.

Rabbits inoculated several times with the virus of the 38th passage, did not show any myxomatous symptoms when inoculated afterwards with virus of low passages. The activity of the virus was determined then by inoculations in monolayer cell cultures. The virus dilutions were done with the same culture medium and 8 to 10 confluent cell cultures received each 0.1 ml of the virus dilution. 0.9 ml of culture medium with calf serum and antibiotics were added to complete the volume to 1.0 ml. After an incubation for 48 hours at  $37^{\circ}\text{C}$  the reading of the infected tubes was done and the TCID<sub>50</sub> (Reed-Muench method) resulted in titer of  $10^{9.19}$  / 0.1 ml (38th passage). Mc Kercher & Saito (11) obtained a similar result working with the same material and conditions, with a titer of  $10^{3.71}$  in the 21st passage and  $10^{6.15}$  in the 40th passage.

The myxoma virus obtained in the 38th passage, diluted from 1:10 to 1:100 million, was neutralized with nondiluted immune-serum (mixture of equal parts). Since nothing was known about the activity of the immune-serum, no particular attention was given to inoculate known quantities of virus. It has been observed thus that the serum which neutralized the virus of that passage, proved to be immune.

Electron microscopic observations of the culture cells infected with first passages virus demonstrated nuclear rarefaction as the principal alteration, similar to that observed in epithelial cells of the rabbit *Oryctolagus*, inoculated with pathogenic virus, obtained through passages in animals, or low passages in cultures. Apparently, the cytoplasm still contains immature virus particles, mitochondria and endoplasmic reticulum are present (Figs. 1 and 2). The cultures infected with virus of high passages, antigenic and not pathogenic, present cells with numerous electron dense particles, displayed at the periphery, and corpuscles of low density. Mitochondria and endoplasmic reticulum are present. This aspect corresponds to a still intermediate phase of virus development in cell (Fig. 3). In a more advanced phase of infection the cell components tend to disappear and practically only dense and agglomerated particles may be observed (Fig. 4). In other cells, besides those particles, we found numerous corpuscles, delimited by the membrane and the central region of less electron density (Fig. 5). Remarkable is the fact that in both cases the nucleus did not show rarefaction, only alterations of morphology and disposition.

Probably a relation exists between vacuolated nucleus and pathogenic virus and non-vacuolated nucleus with non-pathogenic but antigenic virus.

This vacuolation is a consequence of the infection of the cells by the loss of nuclear material. The newly formed virus is a structurally complete particle and shows pathogenicity which can be demonstrated by the inoculation of rabbits *Oryctolagus*; tissue cultures infected with this virus do not show any cytopathic effect.

To verify the relation between vacuolation and formation of complete virus particles it would be necessary that the cells incorporate radioactive substances, constituent of their desoxyribonucleic acid or nuclear proteins, infecting them afterwards with the virus, and then doing an autoradiograph of the corpuscles formed in these cells.

Referring to the virus of high passages, incomplete particles also are formed, showing, however, antigenic activity. The synthesis of the virus structural components proceeds intensely, causing a cytopathic effect in a short period of time. In several animals, at the site of inoculation with the 38th passage virus, a small response appeared persisting from 8 to 10 days, with posterior desquamation. This response may be caused by some complete virus that develop in the cultures or by particles of the inoculum of low passages that did not penetrate into the cells and did not follow the successive passages.

#### SUMMARY

The myxoma virus, isolated from cutaneous tumours of the rabbit *Oryctolagus*, was partially purified and inoculated in epithelial tissue cultures of rabbit kidney. Ultrathin sections from cultures infected with this virus, when observed with the electron microscope, demonstrated frequently a vacuolated nucleus, signifying a loss of nuclear material, evidently related to the infection with the virus of low passage. Nuclear vacuolation has also been observed with frequency in epithelial

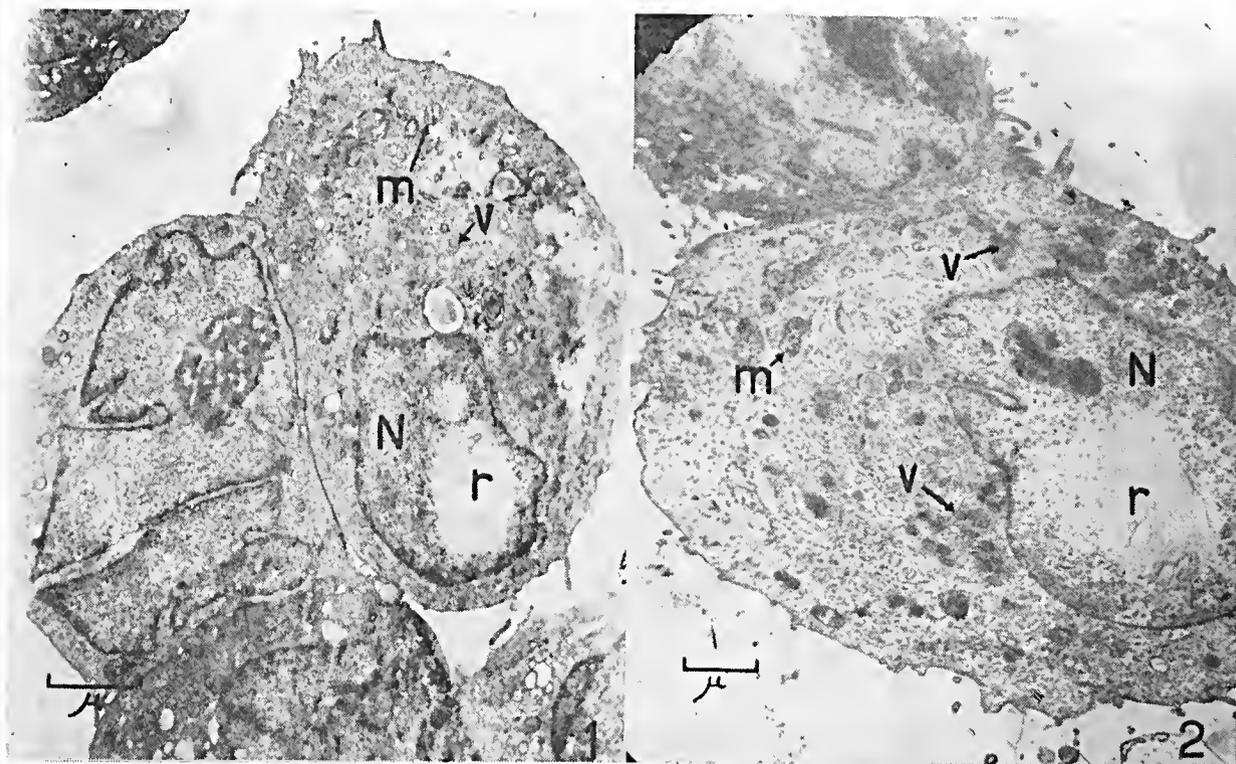


Fig. 1 — Cell infected with virus of 10th passage; N — nucleus with vacuolation r; V — immature virus particles; m — mitochondria. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 24,000.

Fig. 2 — Cell infected with virus of low passage (10th) showing: N — nucleus; r — vacuolation; V — immature virus particles; m — mitochondria. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 21,500.

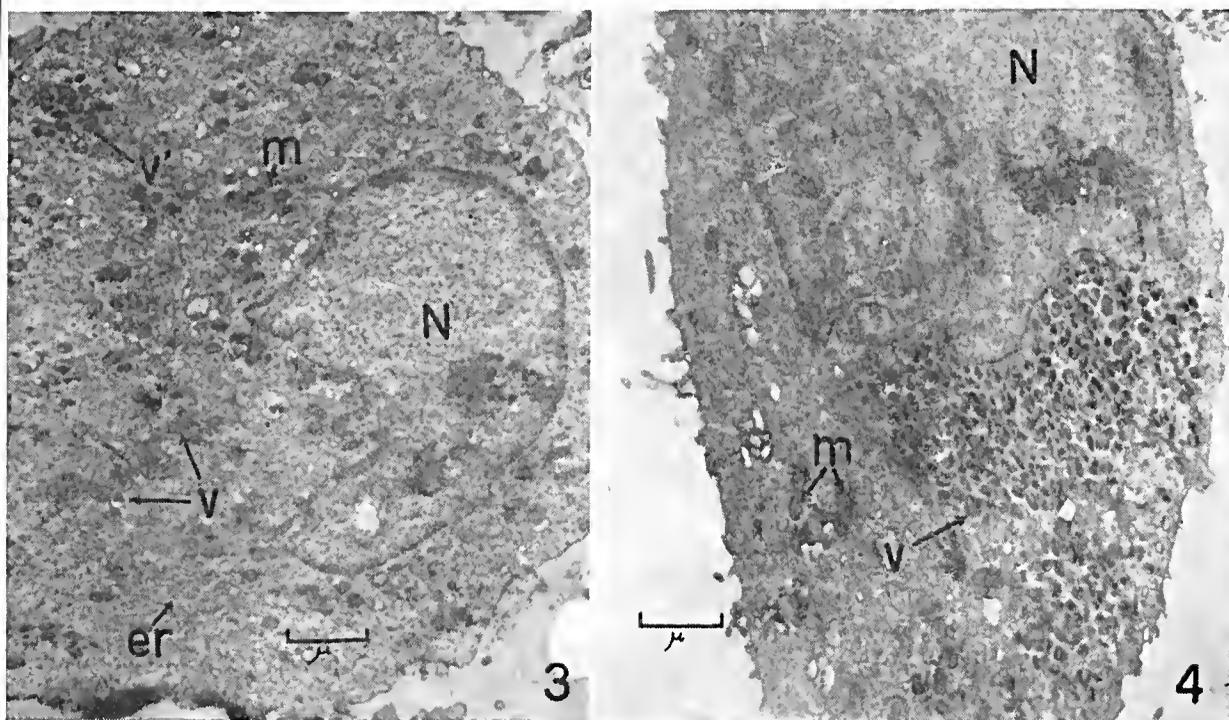


Fig. 3 — Cell infected with virus of high passage (33rd); N — nucleus without vacuolation; V — immature virus particles; V' — viruses in a more advanced phase of development; m — mitochondria. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 21.500.

Fig. 4 — Cell infected with virus of 33rd passage; N — nucleus without vacuolation; V — virus in an advanced phase of development; m — mitochondria in low number. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 21.500.

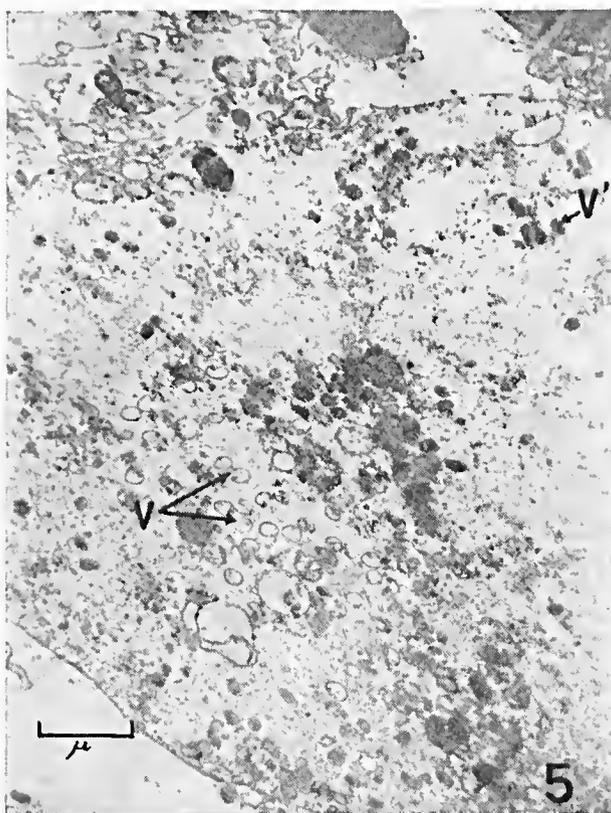


Fig. 5 — Cell infected with virus of 33rd passage; V — virus particles of low electron density, apparently limited only by membranes; V' — electron dense virus particles. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 24,000.

cells of rabbit skin. Up to the 12th passage, no cytopathic effect occurred, but the virus maintained its pathogenic characteristics when inoculated in rabbits.

The viruses of high passages (33rd and 38th) induced evident cytopathic effect 48 hours after inoculation. They have no pathogenic properties when inoculated in rabbits, but are antigenic. An immune-serum was prepared from those animals and its activity demonstrated by virus neutralization, preventing a cytopathic effect in tissue cultures. Cultures infected with 33rd and 38th passage virus showed cells with numerous particles, however without nuclear vacuolation. It is possible that there exists a connection between vacuolated nucleus and pathogenic virus, and non-vacuolated nucleus with non-pathogenic but antigenic virus.

#### RESUMO

##### *Multiplicação do vírus do myxoma em cultura de célula epitelial de rim de coelho*

O vírus do myxoma, obtido de tumores cutâneos do coelho *Oryctolagus*, foi parcialmente purificado e inoculado em culturas de células epiteliais de rim de coelho. As células das culturas infectadas com esse vírus, examinadas ao micros-

cópico eletrônico através de cortes ultrafinos, apresentavam núcleo rarefeito, efeito êsse, também observado nas células epiteliais da pele de coelhos. Até a 12.<sup>a</sup> passagem não ocorreu efeito citopático e o vírus manteve suas características patogênicas quando inoculado em coelhos.

O vírus de altas passagens (33.<sup>a</sup> e 38.<sup>a</sup>) provocou efeito citopático evidente nas células das culturas com ele infectadas, embora elas não apresentassem núcleos com rarefação. Quando inoculado em coelhos, o vírus apresentava apenas propriedades antigênicas.

É possível a existência de uma relação entre núcleo rarefeito e vírus patogênico e, núcleo não rarefeito e vírus não patogênico, porém, antigênico.

## REFERENCES

1. Aragão, H. B. — Sobre o micróbio do myxoma dos coelhos. *Brasil Méd.* 47: 471, 1911.
2. Benjamin, B. & Rivers, T. M. — Regeneration of virus myxomatousum (Sanarelli) in the presence of cells of exudates surviving "in vitro". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 28:791-792, 1931.
3. Borries, B.; von Ruska, E. & Ruska, H. — Bakterien und virus in übermikroskopischer aufnahme. *Klin. Wochschr.* 17:921-925, 1938.
4. Chaproniere, D. M. — The effect of myxoma virus on cultures of rabbit tissues. *Virology* 2:599-610, 1956.
5. Epstein, B.; Reissig, M. & de Robertis, E. — Studies by electron microscopy of infectious myxomatosis in rabbits. *J. Exp. Med.* 96:347-354, 1952.
6. Fenner, F. — Classification of myxoma and fibroma viruses. *Nature (London)* 171(4.352):562-563, 1953.
7. Findlay, G. M. — Notes on infectious myxomatosis of rabbits. *Brit. J. Exp. Path.* 10:214-219, 1929.
8. Lépine, P.; Slizewicz, P.; Daniel, Ph. & Paccoud, M. — Cultures cellulaires dans un milieu utilisant l'hydrolysate de caséine comme source d'acides aminés. *Ann. Inst. Pasteur* 90:654-656, 1956.
9. Lépine, P.; Slizewicz, P.; Daniel, Ph. & Pelmont, J. — Besoins nutritifs des cellules rénales de singe et des cellules de la souche HeLa cultivés "in vitro". *Ann. Inst. Pasteur* 92:567-575, 1957.
10. Lipchütz, B. — Untersuchungen über die aetiologie der myxomakrankheit des kaninchens. *Wiener Klin. Wochschr.* 40:1.101-1.103, 1927.
11. Mc Kerehar, D. G. & Saito, J. K. — An attenuated live virus vaccine for myxomatosis. *Nature (London)* 202(4.935):933-934, 1964.
12. Rivers, T. M. — Changes observed in epidermal cells covering myxomatous masses induced by virus myxomatousum (Sanarelli). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 24:435-437, 1926/1927.
13. Sanarelli, G. — Das myxomatogene virus. *Centralblatt Bakter.* 23:865-873, 1898.
14. Vallejo-Freire, A.; Brunner, Jr., A. & Beçak, W. — Vaccinia virus multiplication in rabbit kidney cell cultures. Aspects of the evolution cycle. *Mem. Inst. Butantan*, 28:275-302, 1957/1958.
15. Vallejo-Freire, A.; Oliveira Filho, B. & Brunner Jr., A. — Myxomatose experimental em *Oryctolagus* sp. e *Sylvilagus* sp (in press).
16. Von Haagen & Du, D. H. — Weitere untersuchungen über das verhalten des kaninchenmyxomavirus "in vitro". *Zbl. Bakt. (Orig.)* 143:23-31, 1938/939.

## CONSIDERAÇÕES SÔBRE A ULTRAESTRUTURA DE UM MELANOMA MALIGNO DO CORPO CILIAR

CELSO DE TOLEDO \*

*Secção de Microscopia Eletrônica do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil*

A microscopia eletrônica do melanoma maligno da coróide foi descrita por Bierring, Egelberg, François, Rabaey e Lagasse, (2, 3 e 6), e Jensen, (1), Hogan, e Feeney (5), Kroll e Kuwabara (4). A descrição da ultraestrutura do melanoma maligno do corpo ciliar é, no entanto, muito mais rara.

Nosso trabalho tem por finalidade descrever a eletromicroscopia de um melanoma maligno do corpo ciliar em um olho que tivemos a oportunidade de enuclear.

### MATERIAL E MÉTODOS

O caso por nós operado é o de um moço de 24 anos, branco, brasileiro, comerciário. O tumor, estudado à oftalmoscopia direta, indireta e ao biomicroscópio, com e sem lente de contacto, tinha uma forma elíptica de cor preta que comprimia e deformava o cristalino por um lado e, por outro, se estendia até os limites da *pars plana*.

Finda a intervenção, o olho foi aberto com uma lâmina cortante à altura do equador. O tumor foi dividido em duas metades, sendo uma fixada em formol e enviada para exame anátomo-patológico. Um pedaço da outra metade foi fixado em ácido ósmico a 1%, tamponado em veronal acetato.

A desidratação foi feita na série alcoólica. A inclusão, fizemo-la em mistura de metil e butilmetacrilatos na proporção de 3:7 com peróxido de benzoila a 2%, como catalizador, e nitrato de uranila a 0,1%, como corante.

Os cortes foram feitos num micrótomo de Porter-Blum e, depois de colhidos em grades metálicas, foram postos a secar em temperatura ambiente.

Os exames foram feitos nos microscópicos eletrônicos UM 100b e Elmiskop I da Siemens. Os aumentos variaram de 7.200x a 40.000x. As chapas foram ampliadas fotograficamente.

---

\* Do Serviço de Oftalmologia do I.N.P.S. (São Paulo). Contratado pelo Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

Recebido para publicação em 19 de fevereiro de 1968.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame da peça ao microscópio ótico, feito pelo Dr. Donato de Próspero, anátomo-patologista do I.N.P.S., mostrou um melanoma maligno de tipo misto, com células fusiformes e epitelióides. Não foi feita impregnação argêntea para fibras de reticulina.

Provavelmente por motivos técnicos, por termos usado mais o córtex tumoral ou porque a fixação se iniciou na sala de operações, fora da geladeira, os limites celulares, em muitos campos, não se apresentam retilíneos, com desmossomos, como se vêem em preparações de outros autores.

Um fato que chama a atenção neste tumor é a grande riqueza em vesículas, que parecem fazer parte do retículo endoplasmático agranular. Na fig. 1 podemos observar esta riqueza em vesículas (V) e em alguns casos, se pode constatar que estão interligadas por canais do retículo endoplasmático (Re); P — pigmento.

Mitocôndrios foram encontrados freqüentemente em grande número. Apresentam-se em forma cilíndrica, circular ou mais ou menos irregulares. Estas formas podem ser observadas na fig. 2; m — mitocôndrios; N — núcleo.

Morfologicamente poderia pensar-se na transformação de mitocôndrios em pigmento, particularmente quando se observam grânulos osmiofílicos no interior dos mitocôndrios. François, Rabaey e Lagasse (3), acharam possível esta transformação. Seiji, Shirmao, Birbeck e Fitzpatrick (8), mostraram, por métodos bioquímicos, que isto é improvável, porque os mitocôndrios estão sempre associados à glutamatoxidase e à succinoxidase, ao passo que os grãos de melanina são muito ricos em tirosinase. A fig. 3 mostra uma porção de citoplasma de célula tumoral em que se vêem mitocôndrios (m), alguns com grânulos osmiofílicos, misturados com grande número de grãos de melanina (P).

François Rabaey e Lagasse (6), descreveram, em melanomas malignos, mitocôndrios inchados, com sinais de degeneração turva. Na fig. 4 pode-se observar alguns mitocôndrios (m) entumescidos, em franca degeneração. Em algumas delas ainda se podem ver cristais intramitocôndriais. Ribossomos livres são muito evidentes nesta micrografia.

François, Rabaey e Lagasse (3), descreveram chanfraduras nucleares neste tipo de tumores. No presente caso, foram observadas freqüentemente pequenas chanfraduras, como são vistas na fig. 5 (Ch). Em alguns casos estas chanfraduras nucleares podem atingir grandes proporções, como se pode observar na fig. 6 (Ch). N — núcleo.

Hogan e Feenay (5), descreveram, em alguns melanomas malignos, células com citoplasma escuro e outras com citoplasma claro. Esta diferença seria devida à maior ou menor riqueza em ribonucleoproteínas. No caso descrito foi observado freqüentemente este aspecto (fig. 7), claras (c) e escuras (E).

O estudo do pigmento neste melanoma maligno do corpo ciliar mostra que ele apresenta todos os graus de maturidade desde o melanossomo até a melanina madura. A fig. 8 mostra toda esta escala evolutiva. Me — melanossoma. P — pigmento em fase de maturação. Observa-se a evidente tendência da melanina em sintetizar-se formando faixas longitudinalmente dispostas. Esta tendência já se esboça nitidamente no melanossomo (Me). Alguns grãos melâni-

cos, de aspecto compacto, estão muito próximos da maturidade, tendo perdido quase toda atividade tirosinásica.

A fig. 9 mostra, num mesmo campo, algumas células tumorais (CT) e um macrófago (M). Este tipo de célula pode ser um macrófago verdadeiro ou uma célula tumoral com atividade fagocitária. Observe-se como as granulações pigmentadas do macrófago são muito mais grossas, contendo pigmento e uma substância menos eletrodensa que, em alguns casos, chega a obscurecer a membrana limitante das vesículas.

Nucléolos com estrutura reticular são muito evidentes em grande número de células mas, como no caso de Biering, Egelberg, e Jensen (1), não vimos retículo endoplasmático granular em quase uma centena de preparações examinadas. A fig. 10 mostra dois nucléolos (NU) bem típicos.

Nada encontramos, neste tumor, que se parecesse com vírus.

#### RESUMO

Foi estudada a ultraestrutura de um melanoma maligno do corpo ciliar. Talvez por razões técnicas, ou por ter sido usado preferentemente o córtex tumoral, as células não apresentam a coesão intercelular geralmente vista em preparações de outros autores. Estudaram-se os mitocôndrios e suas possíveis relações com a melanina. Constatou-se a presença de pequenas e grandes chanfraduras nucleares. Foram observadas freqüentemente grandes vesículas interligadas, muitas vezes, por canais do retículo endoplasmático. Observou-se a existência, neste tumor, de células de citoplasma escuro e de outras de citoplasma claro, de acordo com a maior ou menor quantidade de ribonucleoproteínas. O pigmento foi estudado desde a forma de melanossoma até a de melanina madura, sem atividade tirosinásica. Chamou-se a atenção para os nucléolos de estrutura reticular que foram freqüentemente encontrados. Evidenciou-se a presença de macrófago ou de células tumorais com atividade fagocitária. Viu-se freqüentemente, no citoplasma das células tumorais, grande número de ribossomos livres. Não foram observados no tumor, partículas parecidas com vírus nem retículo endoplasmático granular.

#### SUMMARY

The ultrastructure of a malign melanoma of the ciliary body was studied. Perhaps by technical reasons, or because it was used preferently the tumoral cortex of the cells did not show the intercellular cohesion usually found in the preparations of other papers. Mitochondria and their eventual relations to melanin are studied. Presence of small and large nuclear chanferings are shown. The frequent existence of great vesicles intereconnected, often, by canals of the endoplasmatic reticulum is indicated. It was observed that in this tumor exist cells of dark as well as of light cytoplasm in accordance to the major or minor quantity of ribonucleoproteins. The pigment is studied from the form of melanosome to the one of mature melanin, without tyrosinasic activity. Attention was given to the nucleolus of reticular structure frequently found. The presence of macrophages or of tumoral cells with phagocytical activity were observed. In the cytoplasm of the tumoral cells, many free ribosomes were present. In the examined tumor neither granular endoplasmatic reticulum nor virus-like particles were found.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Bierring, F., Egelberg, J. e Jensen, O. A.* — Electron Microscopy of a malignant Melanoma of the Choroid. *Acta Ophthalmologica*, **41**:224-235, 1963
2. *François, J., Rabey, M. e Lagasse, A.* — Electron Microscopie Observations on Choroid, Pigment Epithelium and Pecten of the Developing Chick in Relation to Melanin Synthesis. *Ophthalmologia*, **146**:415-431, 1963.
3. *François, J., Rabey, M. e Lagasse, A.* — Examen au Microscope Electronique dun Sarcome de L'uvé. *Ophthalmologia*, **137**:65-73, 1959.
4. *Kroll, A. J. e Kuwabara, T.* — Electron Microscopy of Uveal Melanoma. *Arch. Ophthalmology*, **73**:378-386, 1965.
5. *Hogan, M. J. e Fecncy, L.* — Ultrastructure of Malignant Melanomas of the Chordid. *Investigative Ophthalmology*, Vol. 1, N.º 4:544-555, 1962.
6. *François, J., Rabey, M. e Lagasse, A.* — Electron Microscopie data on Pigment Formation in Melano-Blastomata. *Arch. of Ophthalmology*, **61**:377-381, 1960.
7. *Duk-Elder, S.* — System of Ophthalmology — Londres, Vol. IX:880, 1966.
8. *Seiji, M., Shirmao, K., Birbeck, M. e Fitzpatrick, T.* — Sub-Cellular Localization of Melanin Biosynthesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **100**:497-533, 1963.
9. *Toledo, Celso, A. P. de* — Eletromicroscopia da Melanina Conjuntival Limbica Humana. Considerações sobre sua Biossíntese. *Revista Brasileira de Oftalmologia*, Vol. XXV, N.º 4:305-310, 1966.



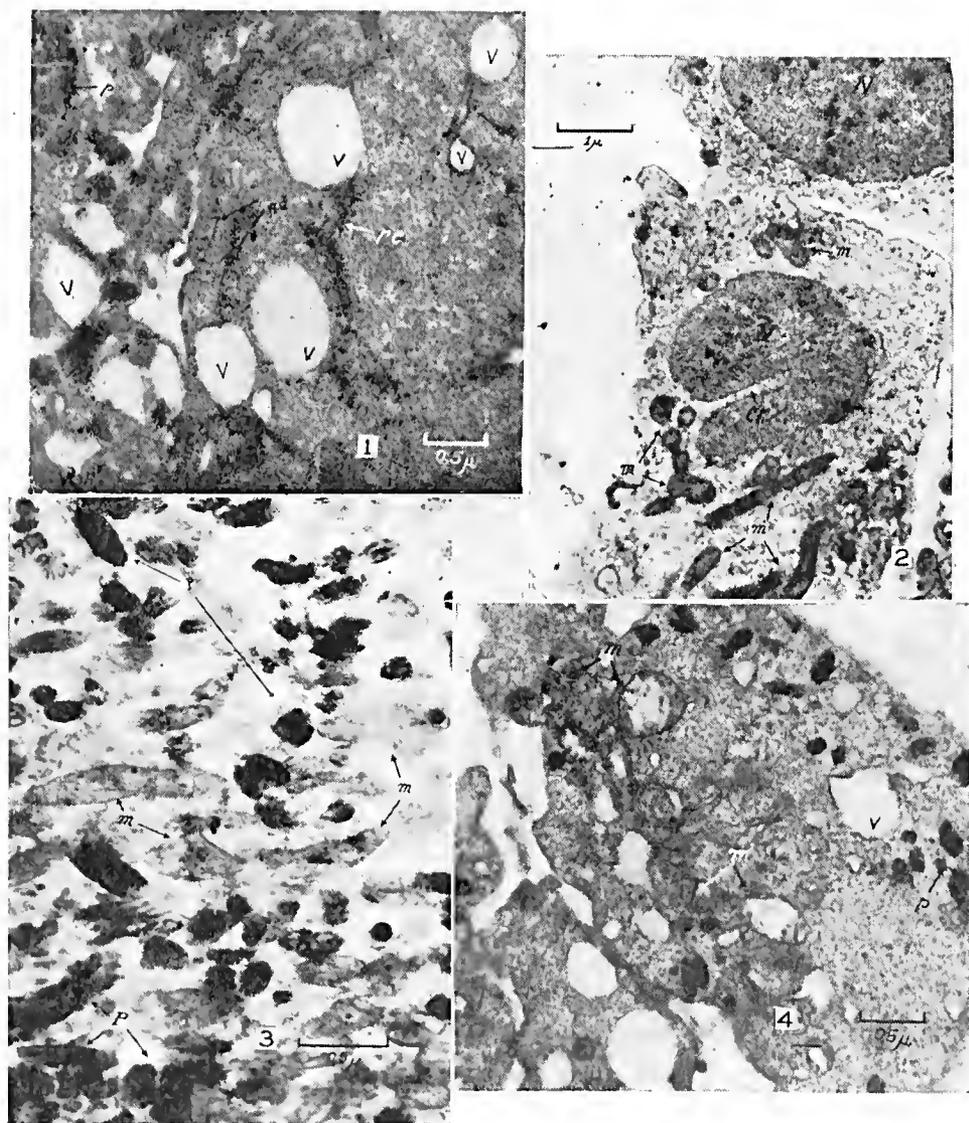


Fig. 1 — Parte do tumor fixado em ácido ósmico a 1%, tamponado em veronal acetato mostrando riqueza em vesículas. V — vesículas; Re — retículo endoplasmático; P — pigmento.

Fig. 2 — Presença de mitocôndrios no mesmo material. m — mitocôndrios; N — núcleo.

Fig. 3 — Porção do citoplasma de célula tumoral. m — mitocôndrios; P — grãos de melanina.

Fig. 4 — Mitocôndrios inebados; m — mitocôndrios.

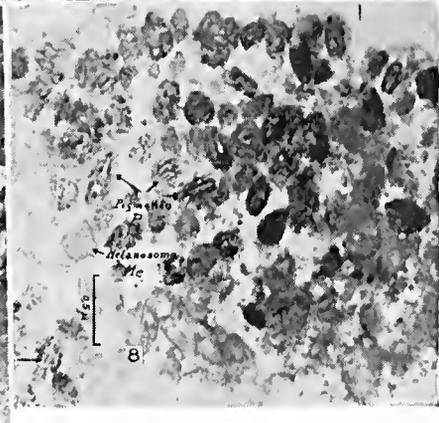
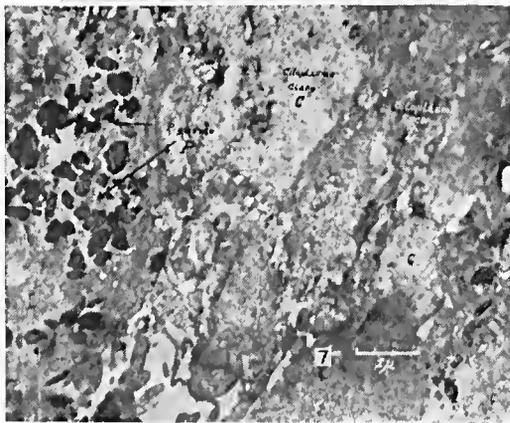
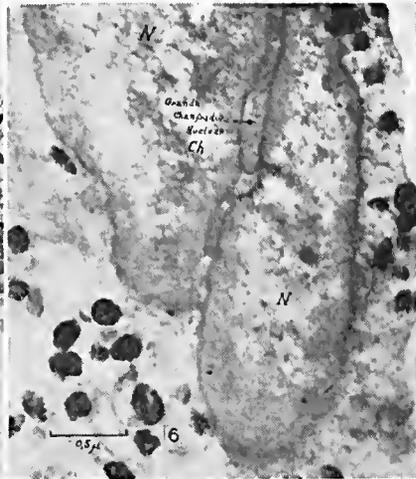
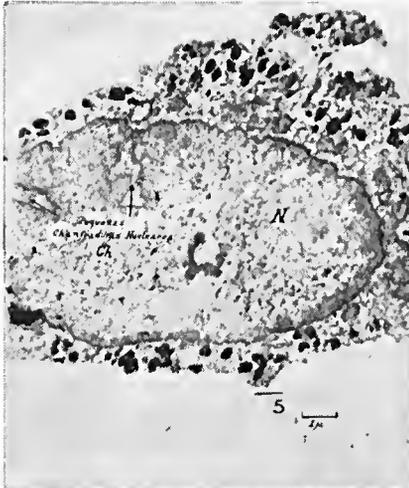


Fig. 5 — Chanfraduras nucleares; Ch — chanfradura.

Fig. 6 — Ch — chanfradura; N — núcleo.

Fig. 7 — Presença de células com citoplasma escuro e com citoplasma claro. C — claras; E — escuras.

Fig. 8 — Escala evolutiva do pigmento em um caso de melanoma maligno de corpo ciliar. Me — melanossoma; P — pigmento em fase de maturação.

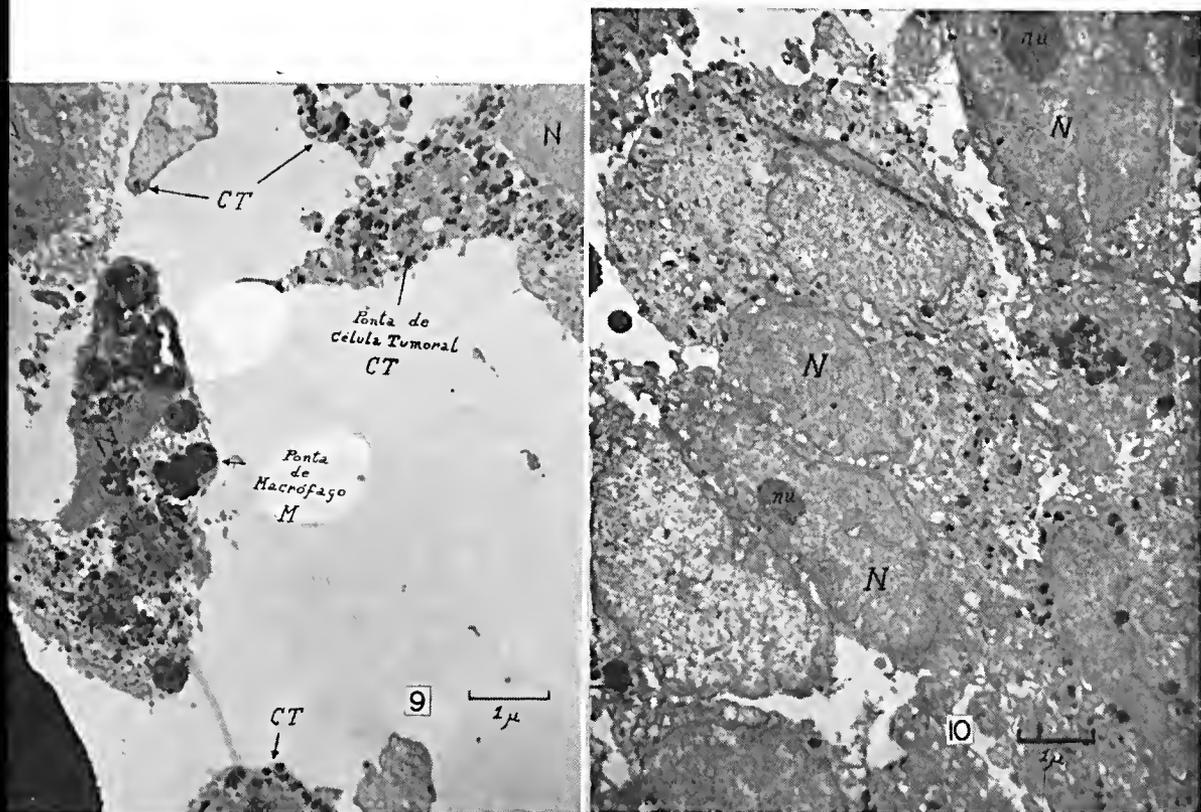


Fig. 9 — CT — células tumorais; M — macrófago.

Fig. 10 — Dois nucléolos bem típicos do tumor. Nu — nucléolos.



## LESÕES RENAIIS INDUZIDAS EXPERIMENTALMENTE NO CÃO PELO VENENO CROTÁLICO

MOACYR DE FREITAS AMORIM \*, RAUL FRANCO DE MELLO e FERES SALIBA

*Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de S. Paulo e Secção de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

Em autopsias humanas de indivíduos intoxicados pela cascavel, *C. d. terrificus*, Amorim e Mello (1952-54) observaram que a morte se dava com um quadro anatomopatológico típico de nefrose hemoglobinúrica, também chamada de nefrose do nefron inferior, ou melhor do nefron intermediário, segundo preferiram denominá-la pelas razões que já expuzeram em suas publicações anteriores.

Naquilo que diz respeito ao envenenamento em geral, não encontramos menção alguma à hemoglobinúria em publicações nacionais, como também nas estrangeiras que foram consultadas por nós. Sabemos apenas que se trata, no caso do veneno crotálico (*C. d. terrificus*) de um tóxico fortemente hemolítico (Fonseca, 1949), ao contrario dos venenos do gênero *Bothrops* que apresentam propriedades fortemente coagulantes, sendo até usados terapêuticamente para tal fim, muito embora possuam, igualmente, uma fração hemorragipara.

Pearce (1909) refere ter produzido a hemoglobinúria e a hematúria, em coelhos tratados com veneno de *Crotalus adamanteus*.

Flavio da Fonseca (1949), em seu livro, relata a existência de hematúria, albuminúria e anúria (pg. 145). Estes fenômenos são descritos, principalmente em relação aos acidentes por veneno botrópico, nos quais o autor descreve hemorragias da mucosa bucal, uterina, intestinal e pelos ouvidos, "vômitos e urina sanguinolentos" (pg. 136). "As hemorragias pelas mucosas são causadas por lesão do endotélio capilar pela histamina libertada", do mesmo modo como "as hemorragias em órgãos importantes da economia" (pg. 145). Fonseca refere-se também, de um modo geral, à ação hemolítica dos venenos ofídicos, isto é, "destruidora dos globulos vermelhos, alterando o sôro sanguíneo, que passa a exercer uma ação dissolvente sobre as hemácias, graças à transformação da lecitina em uma substância altamente hemolítica, a lisolectina". Nesses casos, não se refere nem uma vez à existência ou não da hemoglobinúria, isto é, à presença de hemoglobina livre na urina, sem a coexistência de hematúria.

Schöttler (1951), em seu trabalho de revisão da toxidez dos principais venenos ofídicos do Brasil, acentua com razão que o veneno crotálico quase não causa alterações macroscopicamente visíveis. Não se refere, nenhuma vez sequer,

\* Professor Catedrático de Anatomia e Fisiologia Patológicas da Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de S. Paulo.  
Recebido para publicação em 20 de março de 1968.

às lesões renais ou à ação dos venenos ofídicos, em geral, sobre o rim ou sobre o sangue, nem a uma ação hemolítica e muito menos à hemoglobinúria. Refere-se ao poder proteolítico do veneno, com libertação de histamina e de suas ligações celulares e também, a um princípio hemorrágico, ou hemorragina, que faltaria não de todo ao veneno crotálico. Segundo Sehöttler, a toxidez do veneno crotálico, aliás a maior de todas, seria, principalmente baseada na chamada *neurotoxina*. Não se refere porém à gravidade das lesões renais. Conforme Sehöttler, existiriam diferentes tipos de hemorragina com afinidade especial para certos órgãos. Conclui também que "there exists a marked variation among the individual venoms of the same species" (pg. 498). Somente na página 494 faz referência ao fato de que "macroscopically discernible blood in urine and feces was not infrequently manifest". Trata-se porém como se percebe de uma observação apenas "*macroscópica*" deduzida, provavelmente, da cor da urina. Como o autor não refere, nesse trecho, qual dos venenos se achava em jogo, falando sempre de um modo geral sobre o efeito de vários venenos, indistintamente, sem fazer referência a diferenças no seu mecanismo de ação patogênica, concluímos que na hipótese de haver realmente eritrocitos, microscopicamente, na urina, nesses casos deveria se tratar, provavelmente de outros venenos (botrópico ou outro).

Quanto à produção experimental da nefrose hemoglobinúrica, é sabido como vários autores tem chamado a atenção sobre a dificuldade em conseguí-la. Assim, Yuile, Gold e Hinds (1945) referem justamente que "*the mechanism involved in the production of this type of renal failure has remained a mystery despite the effort of many investigators would appear to be due, at least in part, to the difficulties encountered in attempting to produce a similar lesion in the kidneys of experimental animals*".

Talvez, por esse motivo poucos são ainda os investigadores que trabalharam sobre o assunto, conseguindo reproduzir experimentalmente o quadro da nefrose, pelo menos, com a semelhança dos característicos que ela apresenta no homem, e tornados bem conhecidos sobretudo com as descrições do "*Crush Syndrome*" (Bywaters e Dible, 1942, Ogilvie, 1951), já antes bem descrito, na Alemanha por Minami (1923) sob a designação de "*Versehüttungsnephrose*" e depois por Malloory (1947), como nefrose hemoglobinúrica, estudada por Hamburger (1950), como uma nefrite tubular e também por Lucké (1946) sob a designação de nefrose do nefron inferior, designação essa que Amorim e Mello (1952-54) preferiram substituir pela denominação de Nefrose do Nefron intermediário, repousando principalmente na nomenclatura mais freqüente para designar o setor lesado do nefron.

Yorke e Nauss (1911-12) conseguiram produzir a hemoglobinúria em coelhos, porém somente quando estes eram conservados, previamente, em uma dieta seca, privada de vegetais verdes, antes da injeção de uma solução de hemoglobina.

Baker e Dodds (1925) elaboraram um método para a preparação de soluções concentradas de hemoglobina que injetavam por via endovenosa em coelhos, concluindo que haveria a necessidade de dois fatores para a precipitação de hemoglobina: primeiro, uma reação ácida que converta o pigmento em metahemoglobina e possivelmente "*in turn to acid hematin*"; segundo, a presença de certa porcentagem de sais inorgânicos. Se o pH da urina for acima de 6, a hemoglobina é excretada sob a forma de oxyhemoglobina, tornando-se a urina de cor vermelha, não resultando efeitos maléficis. Se a reação da urina tiver pH abaixo de 6 e houver uma concentração suficiente de cloreto de sódio (eërea de 1%), precipitar-se-á um pigmento marron nos tubulos. A hemoglobina passa através da

cápsula de Bowman, no transudato diluído. Quando êste alcança os tubulos, então a reabsorção e a concentração tomam parte, juntamente com um aumento da acidez da urina. Concluindo, sugerem para o tratamento de tais estados, a produção de uma diurese alcalina.

Yuile, Gold e Hinds (1945), no trabalho já citado acima não conseguiram confirmar os resultados de Baker e Dodds (1925), como também os resultados de Degowin, Osterhagen e Andersch (1937) (injeção de eritrócitos), Bywaters e Stead (1946) (injeção de miohemoglobina), Anderson, Morrison e Williams (1942) (injeção de hematina) e Bing (1943-44) (metahemoglobina) naquilo que diz respeito à obrigatoriedade de acidez da urina na obtenção da hemoglobinúria. Eles concluem que a hemoglobina pura é precipitada com dificuldade, "if at all", no rim normal. Segue-se daí, logicamente que a "*hemoglobinemia per se is in all probability not the basic factor in the production of renal lesion seen in the clinical states under consideration*". Eles referem também de que "as lesões tubulares associadas encontradas nestas lesões foram diversamente atribuídas a efeitos dos pigmentos precipitados, a distúrbios anafiláticos, espasmo de vasos renais, e à ação nefrotóxica de substâncias exógenas e endógenas".

Yuile, Gold e Hinds (1945) injetaram a hemoglobina em coelhos com urina ácida ou alcalina, porém cujos tubulos renais haviam sido, previamente lesados em grau moderado, ou por pinçamento do pedículo renal, durante menos de 1 hora, ou pela administração de um veneno químico específico do túbulo urinífero, o tartrato de sódio. Obtiveram, regularmente a formação de cilindros de hemoglobina, nos animais com urina ácida, assemelhando-se às lesões obtidas com aquelas do "rim de transfusão" ("transfusion kidney"). Concluem que a precipitação, nos túbulos renais não é, primariamente, dependente da acidez ou da alcalinidade da urina, "*nem da quantidade de hemoglobina circulante*", mas de alguma anomalia funcional dos nefrons individuais. Tais alterações não seriam etiológicamente, específicas, como bem o demonstram os resultados finais ("*end results*") semelhantes, obtidos com agentes tão diversos como a isquemia, completa ou transitória, ou um veneno químico tendo uma afinidade particular para os túbulos contornados do rim ("*a chemical poison having a particular affinity for the convoluted tubules of the kidney*"). O veneno químico específico ("*specific chemical poison*") empregado foi o tartrato de sódio.

Extremamente interessantes são, nesse sentido, também as observações de Meessen (1952) sobre a nefrose pelo urânio ("*Uranephrose*") que obteve após a injeção subcutânea em coelhos com 1 ml de solução de urânio a 2%, aplicada duas vezes. 48 horas depois da última injeção, ou 5 dias após o início da experiência, o rim aparece macroscopicamente vermelho e tumefeito. Os glomerulos estão intatos. As alterações mais intensas se encontram, nos canaliculos, ao nível do limite córtico-medular. A parte inicial do segmento principal fica poupada. Porém, notável foi a observação de Meessen de que nas coelhas prenhes, a ação do urânio se fazia sentir até no rim do feto e nesse também, os glomerulos e os canaliculos proximais eram absolutamente intatos. Meessen designou essa nefrose de nefrose necrotizante, porém quando a lesão não é muito grave, pode se dar uma restituição marcante por regeneração. A sua localização, na zona limitante córtico-medular, leva a concluir por uma "*eigenartiger elektiver Schädigung bestimmter Abschnitte des einzelnen Nephrons*", que Meessen relaciona de um lado com a circulação renal, pois no feto só os grandes glomerulos justamedulares são irrigados e em seus túbulos é que foi notada a alteração e de outro lado êle relaciona com a estrutura fina desses segmentos e com a sua função. Afirma

ainda que outros pesquisadores obtiveram com o nitrato de urânio, em oposição às suas observações, uma lesão igualmente dos glomérulos, isto é, uma glomerulonefrose com lesão em foco das alças.

Lalich (1954) obteve, no coelho uma nefrose hemoglobinúrica, por injeção de metahemoglobina combinada com uma dieta alcalina de fosfato de sódio, portanto em animais com alcalinuria. Conclui que "fatores associados podem ser de maior significação na produção da nefrose hemoglobinúrica do que a *hemoglobinemia per se*". Entre esses fatores menciona: lesão tubular antecedente, injeções de histamina ou de arsina, inanição, restrição de água e outros. Porém na sua macrofotografia B, notam-se dois volumosos infartos anêmicos do rim que não são referidos e nem tampouco interpretados no texto.

#### MATERIAL E MÉTODO

O nosso objetivo principal consistiu em reproduzir um quadro de nefrose hemoglobinúrica que representasse o mais de perto possível o quadro da nefrose humana, tal como foi descrito por Amorim e Mello (1952-54). Em pesquisas anteriores, já havíamos observado que nos envenenamentos superagudos com grandes doses de veneno, rapidamente letais, dificilmente se observavam as lesões na autopsia. Procuramos nestas experiências utilizar altas doses de veneno, porém subletais, permitindo assim, uma certa duração dos animais, e reproduzindo, si possível a duração característica dessa síndrome, no homem. Como foi estabelecido por Bywaters e Dible (1942) e por Ogilvie (1951) a duração dos casos humanos era de 3 a 7 dias. Igualmente, Amorim e Mello (1952-54), em casos de picados humanos por cascavel encontraram a mesma sobrevivência de 3 a 7 dias após a picada pela serpente. Assim, em nossas experiências, partimos de uma dose suposta conveniente para conseguir condições semelhantes, no cão.

Por outro lado, como nos casos humanos de envenenamento, em geral, se intervem com o tratamento pelo soro, contendo antiveneno, um grupo de cães recebeu também posteriormente, doses de antiveneno, em quantidade em geral suficiente para neutralizar o veneno inoculado.

Na coleta da urina, não utilizamos sondas para evitar que qualquer ação traumática pudesse provocar o aparecimento de hemácias, na urina. Com o fim de ser conseguida a colheita total da urina eliminada, construímos um tipo de gaiola especial com um fundo móvel, em forma de funil achatado por baixo de um piso de tela. O fundo possuía um orifício central pelo qual a urina caía ou era recolhida em um vaso de vidro, protegido por uma fina tela que impedia a passagem de fezes e de resíduos alimentares. Uma parte da urina era centrifugada, fazendo-se a pesquisa de hemácias, no sedimento. A outra parte era filtrada em papel de filtro comum e utilizada para a pesquisa de hemoglobina pelo método de Lepehne (1919) com benzidina. Quando o exame não era feito logo, a urina era conservada em baixa temperatura.

A *reação de benzidina* era feita segundo a técnica descrita em Hawk, Oser e Summerson (1953), seguindo o teste de confirmação por ser mais delicado e sensível. Tomávamos 10 ml de urina acidulada ligeiramente com ácido acético; depois era feita a extração da hemoglobina livre com 5 ml de éter sulfúrico, em um funil separador após agitação. Como sabemos, o ácido transforma a hemoglobina em globina e em hematina, sendo esta última solúvel em éter. O éter era então colocado em uma cápsula de porcelana e em seguida, evaporado até secar, em banho-maria. Ao resíduo, adicionavam-se algumas gotas de água destilada,

uma gôta de solução saturada de benzidina em ácido acético glacial e uma gôta de água oxigenada a 3%. A reação é positiva quando aparece uma coloração que varia do verde ao azul escuro, conforme a sua intensidade.

Os órgãos, logo depois da autopsia dos cães eram fixados em Bouin, Zenker, Helly, Carnoy e Formol a 10%. Os cortes histológicos eram feitos em congelação e após a inclusão em parafina. Foram os seguintes os métodos empregados para a coloração dos cortes histológicos: Hematoxilina-Eosina, Mallory-Masson, Van Gieson, Weigert para fibras elásticas. A reação de benzidina em cortes histológicos era feita pelo método de Lepelue, segundo a técnica descrita por Roulet (1948) e Romeis (1936). Entre outros corantes, empregamos ainda a hematoxilina férrica de Weigert e o Sudan III. Finalmente, nos casos necessários, para se afastar com mais segurança a possibilidade de alguma dúvida com a glomerulonefrite, foi feita a reação da oxidase em cortes por congelação, segundo o método de Gräff (Roulet, 1948).

Foram constituídos dois grupos de cães; o grupo I foi inoculado só com veneno erotálico e o grupo II, além de ser inoculado com veneno erotálico, foi tratado com antiveneno.

No primeiro grupo, empregamos cães adultos, cujo peso corporal variou de 6 a 14 quilos, sendo 7 machos e 1 fêmea. Foi utilizado veneno seco de cascavel (*C. d. terrificus*), na quantidade de 0,5 a 2,0 mg por quilo de peso corporal. A atividade do veneno erotálico empregado foi de 1 a 2 microgramas, dose mínima mortal para pombos de 250 a 320 grs de peso corporal. O veneno seco uma vez pesado era previamente dissolvido em solução fisiológica na proporção de 0,5 a 1,0 ml por quilo de peso corporal, sendo administrado por injeção subcutânea. Todos os animais receberam uma única injeção subcutânea, com a exceção dos cães n.º 9 e n.º 10 que foram injetados 3 vezes (quadro 1), sendo 2 vezes com 0,5 mg e 1 vez com 1,0 mg de veneno seco por quilo de peso corporal.

No segundo grupo, empregamos 7 cães machos cujo peso corporal variou de 7 a 13 quilos. A quantidade de veneno erotálico seco foi de 0,5 mg a 2,0 mg por quilo de peso corporal. O veneno seco foi antes dissolvido, em solução fisiológica, na proporção de 1 ml a 2 ml por quilo de peso corporal. Foi administrado o veneno por uma única vez por injeção subcutânea com a exceção do cão n.º 14 que recebeu 2 injeções de 1,5 mg de veneno seco por quilo de peso corporal. A capacidade de neutralização do antiveneno variou para 1 ml de soro de 0,5 mg a 2,0 mg de veneno seco de cascavel, *in vitro*. O antiveneno foi administrado de um mínimo de 2 horas (cães n.º 12 e n.º 13) até um máximo de 24 horas e meia (cães n.º 7 e n.º 8) depois da inoculação do veneno.

## RESULTADOS

Os animais dos dois grupos, logo depois da intoxicação apresentaram, ptialismo intenso, incoordenação dos movimentos, apatia, mostrando-se freqüentemente cambaleantes. Havia midríase acentuada e tremores musculares. A prostração, em alguns era marcada, chegando no fim a uma paralisia intensa, não se mantendo mais em pé, ficando sempre em decúbito lateral. No início, a respiração era torácica, depois se tornava mista e finalmente só abdominal, com intensa taquipnéa.

No início da experiência, a urina era de aspecto normal, amarelo citrino, depois passava a vermelho, marron esverdeado ou vermelho-castanho, sendo positiva à reação de benzidina. Tornava-se depois clara quando o animal se recuperava, dando então a prova de benzidina negativa. A tonalidade marron esverdeada da urina, vermelha castanha ou simplesmente vermelha escura, coincidia pois com a presença de hemoglobina livre, havendo somente duas exceções que embora tivessem aspecto normal deram uma reação de benzidina com intensidade fraca. Várias vezes foi observado um aspecto oleoso da urina que correspondia a um conteúdo hemoglobinúrico positivo. As tonalidades da cor da urina acima enumeradas não estão em relação com a presença de hemácias, porquanto a pesquisa destas foi sempre negativa no sedimento urinário e também ao exame histológico, no interior dos tubulos uriníferos, isto é, a pré-urina, tanto glomerular como pré-tubular.

Os resultados do grupo I estão expostos no quadro n.º 1, onde podem ser vistos em detalhe. A duração da observação dos 8 cães injetados com veneno de cascavel foi de um mínimo de 7 horas (cão n.º 3) a um máximo de 9 dias e 4 horas (cão n.º 9). Seis animais morreram pelo envenenamento crotálico e o cão n.º 9 foi sacrificado com éter anestésico. O animal n.º 6 recuperou-se completamente, não tendo sido autopsiado, tendo contudo apresentado uma reação de Lephne positiva. Houve anúria em um caso que foi o cão n.º 5. A oligúria apresentou-se em 3 animais (cães n.ºs 1, 3 e 4). Não houve caso de hematúria, sendo a pesquisa de hemácias sempre negativa, no sedimento urinário. Por outro lado, dos 8 animais do grupo I, injetado com veneno, 7 cães apresentaram ou a hemoglobinúria evidenciada pela reação de Lephne ou a presença de cilindros de hemoglobina ou de seus derivados, no interior dos tubulos uriníferos ao exame histopatológico. A presença de cilindros de hemoglobina, no interior dos tubulos uriníferos, em cortes histológicos de rim, foi positivada em 5 animais (n.ºs 1, 2, 3, 9 e 10). A hemoglobinúria foi positivada pela reação de benzidina, segundo Lephne em 6 cães (n.ºs 1, 2, 4, 6, 9 e 10) de um total de 8 animais do grupo I. É interessante notar que o cão n.º 6, nove horas depois da inoculação de veneno, apresentava uma reação de benzidina positiva que ainda foi positiva 22 horas depois da inoculação. Após o 4.º dia, o cão n.º 6 melhorou consideravelmente, com a sua recuperação completa, tornando-se então negativa a reação de benzidina.

Os resultados do grupo II que foi injetado com veneno de cascavel e depois, tratado com antiveneno crotálico, encontram-se em detalhe no quadro n.º 2. Os cães n.ºs 7, 8 e 13 foram tratados uma vez com antiveneno crotálico e os cães n.ºs 11, 12 e 15 foram tratados 2 vezes. Finalmente o cão n.º 14 recebeu 3 injeções subcutâneas de antiveneno crotálico depois da inoculação do veneno.

A duração da observação dos animais do grupo II foi de um mínimo de 8 horas (cão n.º 11) até um máximo de 8 dias e 7 horas (cão n.º 14) depois da primeira inoculação de veneno. 3 animais morreram pelo envenenamento (11, 13 e 15). Os cães n.ºs 7, 8 e 14 foram sacrificados com éter anestésico. Não foi encontrada anúria nos cães do grupo II. Houve oligúria em dois casos (7 e 11). A hematúria não foi encontrada, nos animais do grupo II, tendo sido sempre negativa a pesquisa de hemácias, no sedimento urinário. Entretanto a reação de benzidina segundo Lephne foi positiva em seis animais de um total de 7 cães do grupo II. Os cães 11 e 13 além da hemoglobinúria, apresentaram cilindros de hemoglobina no interior dos tubulos uriníferos, em cortes histológicos de rim ao exame microscópico. No cão n.º 12, a reação de benzidina foi positiva seis horas depois da injeção de veneno, mostrando-se ainda positiva no 2.º dia

QUADRO SINÓTICO I -- EFEITO DA INJEÇÃO SUBCUTÂNEA DE VENENO DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* NO RIM DO CÃO

Número de ordem	Número do cão	Peso corporal em kg	Duração da observação	Número de injeções	Quantidade de veneno seco mg/kg de peso corporal	Quantidade total de veneno seco em mg	Volume de solução fisiológica em ml	Anúria	Oligúria	Hematuria	Hemoglobinúria	Cilindros de hemoglobina em cortes histológicos	Observações
1	1 ♂	12,5	9 hrs. +	1	2,0	25,0	12,5	—	+	—	++	++	+ Morte pelo envenenamento crotálico
2	2 ♀	6,0	28 hrs. +	1	2,0	12,0	6,0	—	—	—	++	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico
3	3 ♂	12,5	7 hrs. +	1	1,0	12,5	12,5	—	+	—	—	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico
4	4 ♂	13,5	17 hrs. +	1	1,0	13,5	13,5	—	+	—	+	—	+ Morte pelo envenenamento crotálico
5	5 ♂	9,0	11 ½ hrs. +	1	0,5	4,5	4,5	+	—	—	—	—	+ Morte pelo envenenamento crotálico
6	6 ♂	8,0	4 dias *	1	0,5	4,0	4,0	—	—	—	+	*	* Recuperado. Não foi autopsiado.
7	9 ♂	14,0	1.º dia 4.º dia 6.º dia 9.º dia; 4 hrs. +	1 1 1 —	0,5 0,5 1,0 —	7,0 7,0 14,0 —	14,0 14,0 14,0 —	— — — —	— — — —	— — — —	— + + + +	+	+ Sacrificado com eter.
8	10 ♂	10,0	1.º dia 5.º dia 7.º dia 7.º dia; 20 hrs. +	1 1 1 —	0,5 0,5 1,0 —	5,0 5,0 10,0 —	10,0 10,0 10,0 —	— — — —	— — — —	— — — —	++ ++ + +	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico

depois do tratamento com antiveneno. A reação de Lephue permaneceu positiva até o 5.º dia, tornando-se negativa, no 6.º dia. O cão n.º 12, melhorou consideravelmente, não tendo sido autopsiado.

#### A — EXAME MACROSCÓPICO

Foi realizado o estudo anatomopatológico de 13 cães autopsiados, sendo 7 do total de 8 animais do grupo I injetado com veneno e 6 cães de um total de 7 animais do grupo II, tratado com veneno e depois com antiveneno. Apresentamos, ao mesmo tempo, os resultados dos exames anatomopatológicos dos dois grupos pelo fato dos resultados serem análogos.

*Macroscopicamente*, os nossos achados confirmam de modo geral, as observações feitas antes por outros autores, sobre a ausência de alterações dignas de nota nos órgãos em geral, em contraste com as produzidas com veneno botrópico (Schöttler, 1951 e Amorim, Mello e Saliba, 1951). Entretanto, devemos notar que em tôdas as experiências foi notada uma *côr vermelha escura do rim*, excetuando-se no cão n.º 15, no qual se notou uma *côr castanha clara*.

Além disso, em 8 animais foi expressamente marcada uma diferença de coloração vermelha entre a zona cortical e a medular, sendo mais escura na cortical e rosa palida ou vermelha clara na medular em 8 casos (cães n.ºs 1, 2, 3, 4 e 5 do grupo I e 7, 8, 11 do grupo II) em um total de 13 autopsias.

#### B — EXAME HISTOPATOLÓGICO

Faremos adiante uma descrição do conjunto dos casos, salientando apenas aqueles em que certos detalhes ou lesões se apresentam com maior intensidade ou de um modo mais característico.

Na maioria dos casos, houve hiperemia, ora discreta, ora bem intensa (1, 2 e 5 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), para o lado principalmente da zona limitante do rim e também dos glomérulos e capilares da zona labirintica do córtex. Pequenas hemorragias da zona intermediária, foram notadas somente nos cães 1 do grupo I e 13 do grupo II. Na *cavidade da cápsula* de Bowman e no lúmen dos tubulos contornados, havia na maioria dos casos, conteúdo albuminoso simples. Os ductos contornados de 1.ª ordem ou proximais, apresentavam freqüentemente inchaço turva nítida. A degeneração hidrópica desses tubulos a qual Bell (1950) chamou particularmente a atenção foi observada em 3 animais (n.ºs 2, 5 e 9 do grupo I). A degeneração vacuolar foi particularmente intensa no cão n.º 15 do grupo II, onde atingia os aspectos idênticos descritos pelo autor acima mencionado, porém, nesse caso, a degeneração vacuolar existia exclusivamente na zona limitante do rim e nas pirâmides de Ferrein; além disso, não havia hemoglobinúria e nem cilindros de *haeme*, nos cortes histológicos, tendo sido a duração da experiência de 9 horas. Nos cães n.ºs 2 e 9 do grupo I, havia uma degeneração vacuolar evidente, nas partes retas do nefron.

Nos segmentos ascendentes da alça de Henle, notamos freqüentemente a necrose e o desaparecimento das células da parede, com pínose nuclear.

No cão n.º 9 do grupo I, havia além de forte inchaço turva dos tubulos contornados, intensa vacuolização das células, principalmente das partes ascendentes das alças de Henle, com a formação de finos vacuolos, em vários trechos.

NO RIM DO CAO

N.º de ordem	N.º do cão	Clindros de hemoglobina em cortes histológicos	Observações
1	7 ♂	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno sêco, <i>in vitro</i> . + Sacrificado por inalação com eter.
2	8 ♂	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno sêco, <i>in vitro</i> . + Sacrificado por inalação com eter.
3	11 ♂	+++	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno sêco, <i>in vitro</i> . + Morreu pelo envenenamento.
4	12 ♂		1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno sêco, <i>in vitro</i> .  * Recuperou. Não foi autopsiado.
5	13 ♂	+++	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno sêco, <i>in vitro</i> . + Morreu pelo envenenamento.
6	14 ♂	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno sêco, <i>in vitro</i> . + Sacrificado por inalação com eter.
7	15 ♂	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno sêco, <i>in vitro</i> . + Morreu pelo envenenamento.

QUADRO SINÓTICO II — EFEITO DA INJEÇÃO SUBCUTÂNEA DE VENENO E ANTIVENENO DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* NO RIM DO CÃO

N.º de ordem	N.º do cão	Peso corporal em kg	Curso da observação		Número de injeções	Quantidade de veneno seco mg/kg de peso corporal	Quantidade total de veneno seco em mg	Volume de solução fisiol. em ml	Quant. total de antiveneno crotálico em ml	Anúria	Oligúria	Hematuria	Hemoglobi-núria	Cilindros de hemoglobina em cortes his-tológicos	Observações
1	7 ♂	12,0	1.º 2.º 3.º 4.º 8.º	11,½ 12 8 8 10 +	1 1	0,50	6,0	12,0	12,0	— — — — —	— + — — —	— +++ ++ — —	—	1 ml de antiveneno crotálico neu-traliza 0,5 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> .  + Sacrificado por inalação com eter.	
2	8 ♂	9,0	1.º 2.º 3.º 6.º 8.º	11,½ 12 8 9 10 +	1 1	0,50	4,5	9,0	9,0	— — — — —	— — — — —	+++ ++ — — —	—	1 ml de antiveneno crotálico neu-traliza 0,5 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> .  + Sacrificado por inalação com eter.	
3	11 ♂	7,5	1.º 1.º 1.º 1.º	10 15,½ 17 18 +	1 1 1	2,00	15,0	15,0	20,0 10,0	— — — —	+ + — —	+ + — —	+++	1 ml de antiveneno crotálico neu-traliza 0,5 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> .  + Morreu pelo envenenamento.	
4	12 ♂	7,0	1.º 1.º 1.º 2.º 4.º 5.º 6.º	9 11 15 11 13 15 10 *	1 1	2,00	14,0	14,0	10,0 5,0	— — — — — —	— — — — — —	+++ +++ ++ + —	—	1 ml de antiveneno crotálico neu-traliza 0,5 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> .  * Recuperou. Não foi autopsiado.	
5	13 ♂	8,0	1.º 1.º 1.º 2.º 3.º	9 11 21 13 11 +	1 1	1,87	15,0	15,0	10,0	— — — —	— — — —	+++ +++ +++	+++	1 ml de antiveneno crotálico neu-traliza 2,0 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> .  + Morreu pelo envenenamento.	
6	14 ♂	10,0	1.º 1.º 1.º 2.º 3.º 4.º 7.º 8.º	9 12 15 16 21 9 9 16 +	1 1 1 1 1	1,50	15,0	15,0	10,0 10,0 10,0	— — — — — — — —	— — — — — — — —	— + + +++ — —	—	1 ml de antiveneno crotálico neu-traliza 2,0 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> .  + Sacrificado por inalação com eter.	
7	15 ♂	10,5	1.º 1.º 1.º 1.º	9 12 15,½ 18 +	1 1 1	1,57	16,5	16,5	10,0 10,0	— — — —	— — — —	— — — —	—	1 ml de antiveneno crotálico neu-traliza 2,0 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> .  + Morreu pelo envenenamento.	



SciELO

Igualmente no cão n.º 13 do grupo II, nas partes ascendentes das alças de Henle e nos tubulos contornados de 2.ª ordem (nefron intermediário), as células mostravam degeneração vacuolar pela H. E. e gordurosa, nos preparados pelo *Escarlate R*, como se pode vêr na figura n.º 5, em corte transversal da zona limitante do rim. As células apresentavam cariólise e picnose nuclear, estando desaparecidas em vários trechos. Outras células estão fortemente tumefeitas com o núcleo em cariorrexis. Nítida degeneração granulo-hialina, principalmente nos tubos retos da zona limitante e nos tubos contornados de 2.ª ordem, em pleno córtex com vacuolização e desintegração das células, cujos contornos então desaparecem ou por vêzes se fundem com os cilindros granuloses contidos, no interior do lume.

As células da parte ascendente e descendente dos tubulos se mostram tumefeitas e degeneradas ao máximo, na zona limitante "*boundary zone*".

No cão n.º 14 do grupo II, na zona limitante e no início da medular, em certos trechos esparsos, nota-se a luz dos tubulos com intensa descamação celular de mistura com típicas plasmacelulas. As plasmacelulas se vêm também, no tecido intersticial em tórno do tubulo, formando pequenas áreas de inflamação focal peritubular, reacional.

O animal n.º 15 do grupo II, mostrou nítida hiperemia do córtex e da zona intermediária, sendo a mesma discreta nos glomérulos. Havia uma intensa pielite, não se observando focos de nefrite intersticial crônica. Notou-se uma forte degeneração hidrópica, formando ilhotas ou porções disseminadas pela zona limitante e em partes do córtex. A sua localização, às vêzes, é típica, nas pirâmides de Ferrcin. As células, nesses túbulos apresentam-se tumefeitas e fortemente vacuolizadas. Em cortes por congelação e corados pelo *Escarlate R*, nota-se que se trata de típica degeneração gordurosa, atingindo por assim dizer, quase que eletivamente, os túbulos retos da pirâmide de Ferrcin ou *Pars radiata* do córtex e algumas partes da zona limitante ou justamedular do córtex. É notável assinalar que neste caso, os túbulos de primeira ordem apresentavam somente a inchação turva, não havendo nesses túbulos nem a degeneração vacuolar e nem a esteatose. Havia ausência de cilindros de hemoglobina, no interior dos túbulos, apresentando vários deles, um conteúdo albuminoso.

Em relação aos *cilindros de hemoglobina* em cortes histológicos, pudemos precisar a sua presença com a estrutura típica, em quantidade relativamente abundante, facilmente identificável, mormente em 4 cães (1 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II) e menos intensa em 3 casos (2, 3 e 9 do grupo I). Dêsse modo, os cilindros de hemoglobina foram encontrados em cortes histológicos apenas em 7 casos de um total de 13 cães autopsiados, não significando que não tivessem apresentado uma simples hemoglobinúria.

Os cilindros de hemoglobina sempre se encontravam, nas partes retilíneas do nefron ou nos segmentos das alças de Henle e nos tubos contornados de segunda ordem. Em maior número, ou mais fáceis de serem identificados, eram vistos na zona limitante e justamedular do córtex, bem como na zona medular; em menor número e mais difíceis de serem pesquisados, em pleno córtex, na zona labirintica e nas proximidades dos glomérulos.

Entretanto, em um dos animais autopsiados (cão n.º 13 do grupo II), os *cilindros de hemoglobina* eram facilmente visíveis, mesmo em todo o córtex, desde o *Cortex corticis*, sob a cápsula, como hem o demonstram as microfotografias. Isso é visto, especialmente nos cortes histológicos preparados pelo método de

Mallory-Masson, onde os cilindros de hemoglobina atraem a atenção pela sua cor vermelha viva que os distingue da cor pálida ou ligeiramente azulada do simples conteúdo albuminoso, ou dos cilindros hialinos comuns que estão presentes em vários casos.

Pudemos verificar que a hemoglobinúria foi positiva em 12 casos (1, 2, 4, 6, 9 e 10 do grupo I e 7, 8, 11, 12, 13 e 14 do grupo II) de um total de 15 cães. Porém, no momento da autopsia, só 7 animais apresentaram hemoglobinúria (1, 2, 4, 9 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), pois dois cães que estavam com hemoglobinúria, durante a observação, não foram autopsiados por se terem recuperado ao fim da experiência (cão n.º 6 do grupo I e n.º 12 do grupo II).

Em três cães (7, 8 e 14 do grupo II), na ocasião da autopsia, a reação da benidina era negativa, pois esses animais já tinham se recuperado, no fim da experiência. Mas mesmo assim, foram aproveitados para pesquisa, sendo autopsiados após anestesia pelo éter.

No cão n.º 11 do grupo II, houve aparentemente um resultado paradoxal, porquanto, nos cortes histológicos os cilindros de hemoglobina eram muito numerosos, na zona limitante e eram menos numerosos na zona medular, e bem menos frequentes, na zona cortical. Apesar disso, a hemoglobinúria foi muito pouco intensa. Talvez esse fato, nesse particular possa ser explicado pela maior retenção de cilindros de hemoglobina nos túbulos.

Em seis animais (cães n.ºs 1, 2, 3, 9 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), quando havia a presença de cilindros de hemoglobina, nos cortes histológicos ao exame microscópico, também havia hemoglobinúria, com uma única exceção (cão n.º 3 do grupo I).

Não foram encontrados glóbulos vermelhos, na urina ou no interior dos túbulos uriníferos ou na cavidade da cápsula de Bowman. Dêsse modo, não houve hematúria nos animais dos dois grupos investigados por nós, mas somente hemoglobinúria.

### C — RESUMO DAS LESÕES

As lesões histológicas do rim obtidas experimentalmente, nos dois grupos são idênticas e assim podem ser resumidas:

- 1) Ausência de lesões glomerulares, por vezes apenas conteúdo albuminoso, na cavidade da cápsula de Bowman;
- 2) Ausência de isquemia no córtex, havendo por vezes ligeira hiperemia, principalmente da zona labirintica do rim, e mais accentuada nos vasos retos da zona limitante do rim;
- 3) Ausência de lesões importantes dos túbulos contornados principais que mostravam apenas, por vezes, degeneração vacuolar, inchação turva, conteúdo albuminoso no lume;
- 4) Presença de cilindros pigmentados de derivados de hemoglobina, principalmente nos tubos ascendentes da alça de Henle e tubos contornados distais (isto é, em todos os segmentos do nefron, classicamente designados como o *segmento intermediário de Schweigger-Seidel*) e nos tubos coletores da zona

radiada do córtex e da zona medular. Em alguns casos, os cilindros de hemoglobina ou de seus derivados podem ser encontrados desde o *Cortex corticis* sob a cápsula até a papila renal;

- 5) No segmento intermediário do túbulo urinífero, isto é, parte ascendente da alça de Henle e do túbulo contornado distal ou de segunda ordem, as lesões eram mais acentuadas, havendo não só inchaço turva degeneração vacuolar e gordurosa, como também lesões nucleares (picnose e cariorrhexis), terminando com o desaparecimento por necrobiose e descamação das células em largos trechos desses segmentos do nefron. Nesses trechos, os cilindros de hemoglobina se apresentam em contacto com a *Lâmina própria* ou com o estroma conectivo do rim. Este fato foi observado, constantemente, já em pleno córtex no ponto em que o segmento intermediário, voltando das irradiações da medular ou pirâmides de Ferrein se aproxima ou se justapõe aos glomérulos;
- 6) Todavia, as lesões mais intensas e numerosas se verificam na chamada *zona limitante* do rim, na passagem das partes retilíneas do túbulo para a zona medular, como foi assinalado classicamente na síndrome do nefron distal por vários autores, entre os quais Bywaters e Dible (1942), Ogilvie (1951) e por Amorim e Mello (1952-54) no homem afetando portanto, principalmente, as partes ascendentes da alça de Henle, isto é, o chamado segmento intermediário do nefron;
- 7) Em alguns animais, nota-se a presença de pequenos focos inflamatórios reacionais ou secundários, constituídos ora por granulócitos neutrófilos, ora por plasmacélulas, em torno de túbulos cujas células haviam desaparecido, em contato com os cilindros de hemoglobina. Não chegamos a observar, porém, em nossos casos, nenhuma vez, a proliferação histiocitária de aspecto granulomatóide notada no homem por Amorim e Mello (1952-54), nem as lesões de esclerose ou trombozes venosas citadas por Ogilvie (1951), Bywaters e Dible (1942).

#### DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES GERAIS

Flavio da Fonseca (1949) diz em seu livro, embora sem especificar a variedade de envenenamento a que se refere, que a albuminúria e a anúria seriam consecutivas à glomerulonefrites. Tal fato pode ser verdadeiro, nos casos em que se trate de envenenamento botrópico, se nos basearmos, nas observações de Mac Clure (1935-1946). Porém não é o caso, quando se trata de envenenamento crotálico, pois as nossas verificações experimentais demonstram que o mecanismo patogênico da albuminúria e da anúria deve depender com mais probabilidade de fenômenos degenerativos puros do parenquima renal. Na intoxicação por veneno erotálico, não encontramos sinais de glomerulonefrite, tanto no cão, como no homem (Amorim e Mello, 1952-54).

Nunca notamos a presença de cilindros típicos de hemoglobina, nos túbulos contornados de primeira ordem. Em relação à localização típica dos cilindros de hemoglobina, nos túbulos contornados de segunda ordem (segmento intermediário), o caso do cão n.º 13 (grupo II), é particularmente demonstrativo, indicando tal localização e não deixando qualquer dúvida sobre a sua presença no *Cortex corticis*, bem sob a cápsula renal, como é visto nas ilustrações. Não somente a estrutura das células dos túbulos, como também a sua colocação extrema provam de modo irrefutável não se tratar do tubo coletor de Bellini, duvida que poderia

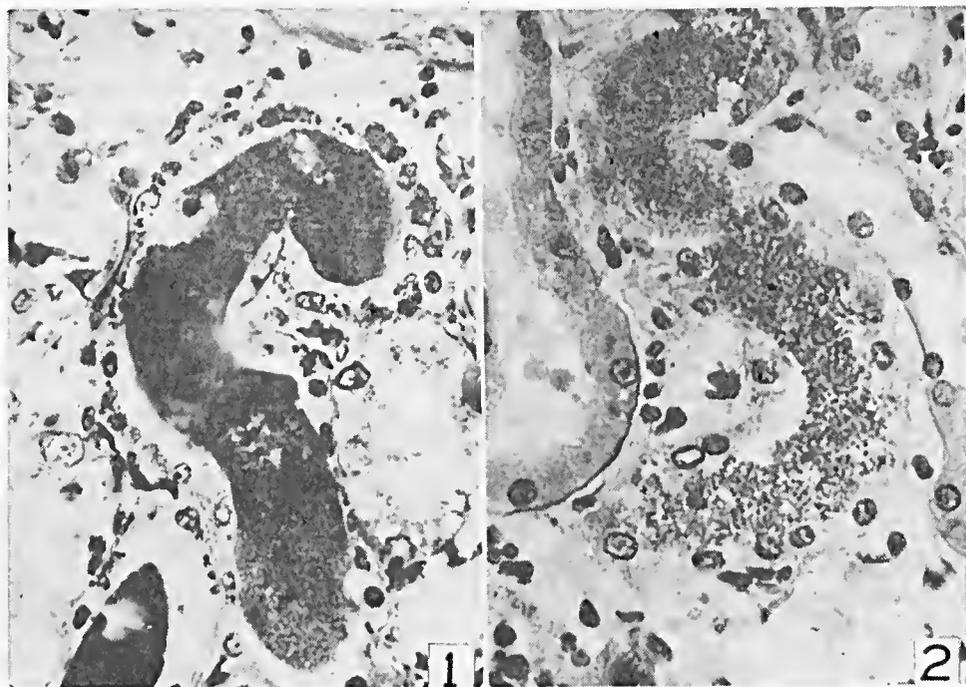


Fig. 1 — Por baixo da cápsula renal, vê-se em grande aumento um cilindro de hemoglobina, metade hialino, metade granuloso com a conhecida estrutura típica dos cilindros de hemoglobina. Nota-se o epitélio de revestimento eubico baixo em quase toda extensão da parede do segmento intermediário que contém o cilindro de hemoglobina em seu interior.

Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo método de Mallory-Masson.  
Microfotografia x 420.

Fig. 2 — Cilindro granuloso de hemoglobina em grande aumento visto no interior de um tubo contornado de segunda ordem, cujas células estão com inchaço turva com alguns núcleos em pínose. Ao lado esquerdo, vê-se um túbulo contornado proximal. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematxilina e Eosina. Microfotografia x 420.

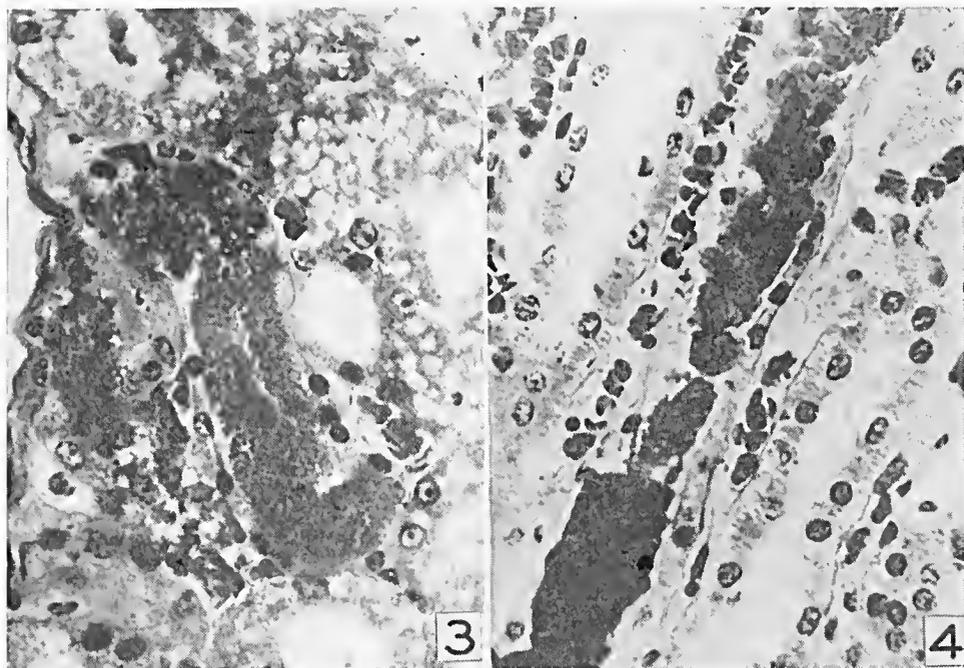


Fig. 3 — Sob a cápsula aparecem dois cilindros de hemoglobina, finamente granulosos, no interior de segmentos contornados de segunda ordem, cujo epitélio de revestimento baixo é visível no túbulo do centro. Túbulos contornados proximais com degeneração hidrópica microvacuolar. Notar a diferença em contraste com os eritrócitos dos capilares vizinhos. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo Mallory-Masson.

Microfotografia x 386.

Fig. 4 — Volumoso cilindro granuloso de hemoglobina em partes da alça de Henle. Corte longitudinal, passando pela zona limitante do rim. O epitélio cúbico baixo da parede do túbulo ainda se encontra relativamente bem conservado. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 420.

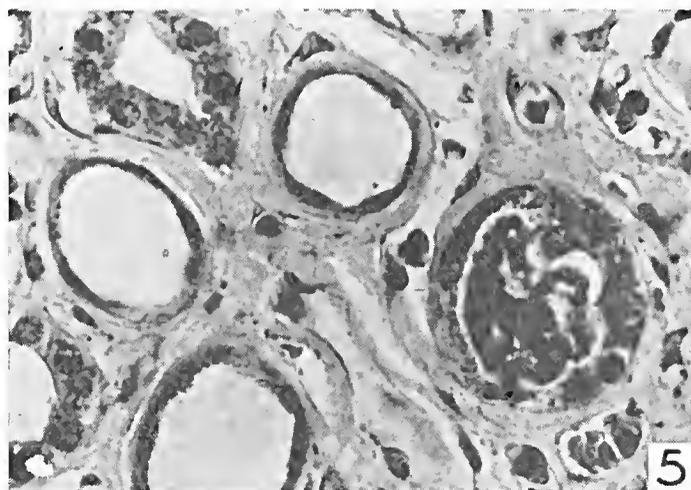


Fig. 5 — Corte transversal da zona limitante do rim, mostrando três cortes da parte ascendente da alça de Henle com os lumes vasos, revestidos por epitélio baixo achatado. Notar as diferenças com alguns capilares sangüíneos menores, irregulares, visíveis na figura. Em cima, um corte da parte ascendente da alça de Henle, contendo em seu interior, partes de um cilindro granuloso de hemoglobina. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo Escarlata R. Microfotografia x 420.

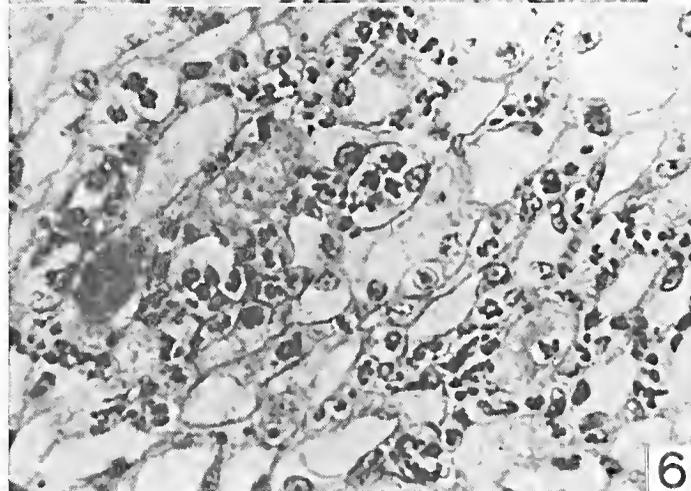


Fig. 6 — Zona medular do rim, mostrando pequenos focos de infiltração inflamatória de caráter exsudativo agudo por granulócitos neutrófilos. Cão n.º 9. Fixação pelo líquido de Bouin. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 380.

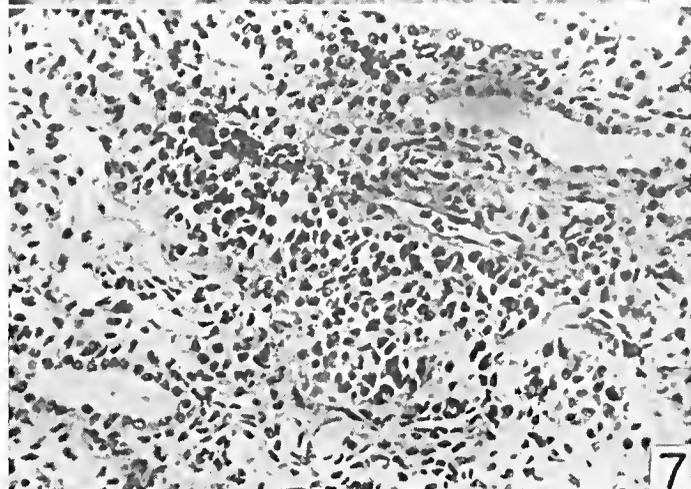


Fig. 7 Zona medular do rim, próxima da zona limitante, mostrando vários focos inflamatórios, constituídos principalmente por linfócitos e plasmacelulas, próximos de alguns túbulos em parte cheios de células descamadas. Cão n.º 14. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 200.

surgir ao interpretar essas lesões na zona limitante do rim ("boundary zone"). Ora, em tal posição extrema do córtex, não se encontram, como é sabido, partes do tubo coletor de Bellini. Esse fato dá maior apoio à interpretação de que as imagens idênticas vistas nos túbulos da zona limitante do córtex sejam realmente referentes à parte ascendente do segmento intermediário, nada tendo que ver com o tubo coletor.

Não constatamos a presença de hemácias no interior de qualquer segmento do nefron. Esse fato viria provar que a reação da benzdina quando positiva é causada pela hemoglobínúria existente e não por uma possível hematúria, objeção que poderia surgir. Em realidade, o que existe é uma hemoglobínúria pura, não havendo indício algum de hematúria, como pode ser visto nos resultados dos exames anatomopatológicos e nos dados dos quadros sinóticos.

Verificamos em nossas experiências um fato de sumo interesse sobre a capacidade de recuperação do tecido renal. Existiria um paralelismo entre a recuperação fisiológica e a recuperação histológica do parenquima renal. Quando há melhora clínica do animal, haveria também uma concordância com a diminuição e o desaparecimento dos cilindros de hemoglobina aos cortes histológicos do rim. Mas quando sucede o contrário, como ocorreu no cão n.º 13 (grupo II) que apresentou uma hemoglobínúria intensíssima, desde o 1.º dia até a morte, os cilindros de hemoglobina se tornam mais numerosos, com um quadro histopatológico de nefrose mais rico em cilindros de hemoglobina nos cortes histológicos. Assim é muito interessante notar que Rosenfeld (1963-68) demonstrou a metahemoglobínúria em casos clínicos de pessoas picadas por cascavel. Observou que a metahemoglobínúria se tornava cada vez mais intensa com o agravamento do estado dos pacientes, aparecendo depois a oligúria e em um grau extremo sobrevivendo a anúria.

Não pudemos observar em nossas experiências, os graves fenômenos de protrusão dos cilindros de hemoglobina para fora dos túbulos uriníferos, como foi tão bem descrito por Ogilvie (1951), quando chegou a lesar a parede das veias proximais, causando trombozes. Entretanto, como bem o demonstram algumas das nossas figuras, vários trechos onde as células de revestimento dos túbulos desapareceram, os cilindros de hemoglobina chegam realmente a aflorar e a entrar em contato com a membrana basal do túbulo urinífero, como foi descrito por Ogilvie.

Hadler e O. Vital Brazil (1966) fizeram o estudo histopatológico do rim de cães tratados com crotoxina, não empregando o veneno crotálico seco, como nós. Referem não ter encontrado as mesmas lesões. Contudo, citam Rodrigues Lima (1966) que em casos humanos de picados por cascavel salienta a presença de lesões degenerativas nos túbulos proximais, mas não deixa de acentuar a existência de *lesões necróticas* muito mais graves no "segmento distal", o que portanto não vem senão confirmar os nossos achados. Esses fatos seriam mais uma demonstração das diferenças de ação da crotoxina e do veneno crotálico.

Em nossas investigações experimentais, não pudemos reproduzir no cão, as lesões renais descritas por Amorim e Mello (1952-54), no homem, no qual encontraram um processo inflamatório reacional, secundário, intenso. Somente dois cães, n.º 9 do grupo I e o n.º 14 do grupo II, apresentaram fenômenos discretos de inflamação reacional, caracterizado, no primeiro por pequenos aglomerados de granulócitos neutrófilos e no segundo, por plasmacélulas, em torno dos túbulos uriníferos da zona limitante. No cão, a ausência de um processo reacional secundário

talvez possa ser explicada pela duração menor da sobrevivência do animal, reforçando desse modo a conclusão sobre a natureza "sintomática" ou reacional, secundária desse processo inflamatório, na realidade *post-nefrótico*. Esse fato constituiria uma demonstração experimental da tese defendida por Amorim e Mello (1952-54), como também do conceito primordial e básico de inflamação sintomática, emitido por Spielmeyer (1922).

#### RESUMO

Foi obtida em cães, com relativa constância uma nefrose do tipo da nefrose hemoglobinúrica (Mallory, 1947) também denominada como, nefrose do nefron intermediário (Amorim e Mello, 1952-54, Raab e Kaiscr, 1966), reproduzindo-se experimentalmente essa síndrome, tanto sob o ponto de vista clínico, como também histopatológico.

No envenenamento crotálico experimental, no cão, existe uma hemoglobinúria relativamente constante. Nunca encontramos hematúria, pelo menos no cão. Não existem hemácias na urina, como também, no interior dos túbulos renais e na cavidade da cápsula de Bowman. Assim, é accentuado o fato da presença de hemoglobina livre, na urina, e a ausência da eritrocitose. A duração da observação variou de 7 horas até 9 dias e quatro horas.

As lesões histopatológicas se superpõem exatamente àquelas, previamente descritas no homem (Amorim e Mello, 1952-54), caracterizadas por lesões degenerativas necrobióticas do chamado segmento "intermediário" do nefron, isto é a parte ascendente da alça de Henle e o túbulo contornado de segunda ordem e também pela presença de cilindros de hemoglobina no lume do mesmo, dando uma *reação de Lepehne positiva*.

O veneno crotálico vem fornecer um meio fácil para induzir a nefrose do nefron intermediário cuja reprodução foi julgada difícil por vários investigadores (Yuile, Gold e Hinds, 1945), sendo necessários sempre dois fatores lesionais coadjuvantes simultâneos.

As pesquisas feitas permitem a conclusão de que o veneno crotálico por si só deve induzir não só a ação hemolítica necessária, como também uma "ação nefrotóxica", preenchendo assim a qualidade de efeito simultâneo reconhecida, como indispensável (Yorke e Nauss, 1911-12, Baker e Dodds, 1925) para a indução da nefrose hemoglobinúrica experimental.

#### SUMMARY

Hemoglobinuric nephrosis (Mallory, 1947) also designated as nephrosis of the intermediate nephron (Amorim and Mello, 1952-54), was obtained in dogs with relative constancy, this syndrome having been reproduced experimentally both from the clinical as well as from the histopathological point of view.

The presence of free hemoglobin in the urine is stressed, which until now has not been described in literature on either human or experimental crotalic poisoning, as well as the absence of erythrocytosis in the urine. The duration of the observation varied from 7 hours to 9 days and 4 hours. The histopathological lesions superpose themselves upon those described in man (Amorim e Mello, 1952-54) characterized by degenerative necrobiotic lesions of the segment of the nephron denominated as "Intermediate" and by the presence of hemoglobin casts in its lumen, producing a *positive Lepehne test*.

Crotalic venom (*C. d. terrificus*) provides an easy way to induce nephrosis of the intermediate nephron whose experimental reproduction was considered difficult by various authors (Yuile, Gold and Hinds, 1945) since there always existed the necessity of two simultaneous lesional factors.

These investigations permit the conclusion that crotalic venom (*C. d. terrificus*), besides inducing a hemolytic action also possesses a "nephrotoxic action" thus fulfilling the condition of duality of effects already to be indispensable (Yorke and Nauss, 1911-12 and Baker and Dodds, 1925) to the induction of experimental hemoglobinuric nephrosis.

*Agradecimentos* — Consignamos, aqui os nossos melhores agradecimentos à Sra. Vera Mondim Weizz, técnica do Instituto Butantan pelo grande auxílio prestado, tanto na parte técnica, como na parte dactilográfica do trabalho; ao Sr. A. Seixas, fotomicrografo do Instituto Butantan pela cópia de filmes e pelas ampliações dos mesmos; a Srta. Dolores Alvarez do Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina pela complementação de técnicas especiais, entre outras, a reação da oxidação.

A Sra. Lucília Maia Amorim pela colaboração contínua e incestimável, na redação e na revisão do texto e à Sra. Charlotte Franco de Mello pelas numerosas traduções e versões feitas.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F. — Envenenamento Botrópico e Crotálico. Contribuição para o estudo experimental comparado das lesões. *Memórias do Instituto Butantan*, 23:63-108, 1951.
2. Amorim, M. F., Mello, R. F. — Nefrose do Nefron Intermediário no Envenenamento Crotálico Humano. Estudo Anatomopatológico. *Memórias do Instituto Butantan*, 24:281-316, 1952.
3. Amorim, M. F., Mello, R. F. — Intermediate Nephron Nephrosis from Snake Poisoning in Man. Histopathological Study. *The American Journal of Pathology*, 30:479-499, 1954.
4. Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F. — Intermediate Nephron Nephrosis experimentally induced with *Crotalus d. terrificus* venom in the dog. *Revista Brasileira de Biologia*, 20:359-364, 1960. Rio de Janeiro.
5. Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F. — Intermediate Nephron Nephrosis induced in the dog with crotalic Venom. Anatomopathological Study. *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*, 75:87-99, 1966.
6. Anderson, W. A. D., Morrison, D. B. and Williams, E. F. — Pathologic Changes following Injections of Ferrihemate (Hematin) in Dogs. *Archives of Pathology*, 33:589-602, 1942.
7. Baker, S. L. and Dodds, E. C. — Obstruction of the Renal Tubules during the Excretion of Haemoglobin. *The British Journal Of Experimental Pathology*, 6:247-260, 1925.
8. Bell, E. T. — Renal Diseases, 2nd edition, 285-287, 1960. Philadelphia, Lea & Febiger.
9. Bing, R. J. — Etiology of Renal Failure following Crush Injuries. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 53:29-30, 1943.
10. Bing, R. J. — The Effect of Haemoglobin and Related Pigments on Renal Functions of the Normal and Acidotic Dog. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*, 74:161-176, 1944.
11. Braus, H. — *Anatomic des Menschen; ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte*, 2:351, 1921-24, Julius Springer, Berlin.
12. Bull, G. M. and Dible, J. H. — Renal Function, In Recent Advances in Pathology, 6th edition, 273-308, 1953. Edited by G. Haddfield, J. & Churchill, A., Ltd., London.

13. *Bywaters, E. G. L. and Dible, J. H.* — The Renal Lesion in Traumatic Anuria. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 54:111-120, 1942.
14. *Bywaters, E. G. L. and Stead, J. K.* — The Production of Renal Failure Following Injections of Solutions Containing Myohaemoglobin. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences*, 33:53-70, 1946.
15. *Costa, A. C. da e Chaves, P. R.* — Tratado Elementar de Histologia e Anatomia Microscópica, 2:298-304, 1944, Livraria Luso-Espanhola Ltda., Lisboa.
16. *DeGowin, E. L., Osterhagen, H. F. and Anderseh, M.* — Renal Insufficiency from Blood Transfusion. I — Relation to Urinary Acidity. *Archives of Internal Medicine*, 59:432-444, 1937.
17. *DeGowin, E. L., Warner, E. D. and Randall, W. L.* — Renal Insufficiency from Blood Transfusion. II — Anatomic Changes in Man compared with those in Dogs with experimental Haemoglobinuria. *Archives of Experimental Medicine*, 61:609-630, 1938.
18. *Discombe, G.* — The Natural History and Management of Haemolytic Transfusion Reactions. *The Lancet*, 2:936-939, 1954.
19. *Fonseca, Flavio da,* — Animais Peçonhentos, 1-376, 1949. Instituto Butantan, São Paulo.
20. *Hadler, W. A. and O. Vital Brazil* — Pharmacology of Crystalline Crotoxin. IV Nephrotoxicity. Simpósio Internacional sobre Venenos Animais, *Memórias do Instituto Butantan*, 33, fasc. 3:1001-1008, 1966.
21. *Hamburger, J.* — Acquisitions Recentes sur les Maladies du Rein en les Acquisitions Medicales Recentes. *Edit. Med. Flammarion*, 1948, Paris.
22. *Hamburger, J.* — Acquisitions Recents sur Les Nephrites aigue Toxiques en les Acquisitions Medicales Recentes. *Edit. Med. Flammarion*, 1950, Paris.
23. *Hawk, P. B., Oser, B. L. and Summerson, W. H.* — Practical Physiological Chemistry, 12th edition, 437-438, 1953. *The Blakiston Company*, New York.
24. *Huth, F. und MaeClure, E.* — Morphologische Veränderungen der Nieren von Kaninchen nach Injektion von Schlangengift (*Bothrops jararaea*). *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*, 74:91-108, 1964.
25. *Kaufmann, E.* — Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, 2:543-550, 1957. W. Gruyter 7 Co. Berlin W 35.
26. *Lalieh, J. J.* — Effect of Inorganic Phosphate on Development of Hemoglobinuric Nephrosis in Rabbits. *Archives of Pathology*, 57:36-43, 1954.
27. *Lephehc, G.* — Zerfall der roten Blutkörperchen beim Ikterus Infectiosus (Weil). Ein Weiterer Beitrag zur Frage des hämatogenen Ikterus des Hämoglobin- und Eisenstoffwechsels. *Beitr. z Path. Anat. u.z. Allg. Path.*, 65:163-226, 1919.
28. *Lueké, B.* — Lower Nephron Nephrosis (the renal lesions of the crush syndrome, of burns, transfusions and other conditions affecting the lower segments of the nephrons). *Mil. Surgeon*, 99:371396, 1946.
29. *MaeClure, E.* — Glomerulonephrite aguda difusa, conseqüente a envenenamento por cobra (*Bothrops jararacaussú*). *Boletim da Scer. Saúde e Assistência*, 1:35, 1935. Rio de Janeiro.
30. *MaeClure, E.* — Glomerulonephrite Aguda Difusa, 1946, Rio de Janeiro.
31. *Meessen, H.* — Experimentelle Histopathologie, 1:104-105, 1952. G. Thieme, Stuttgart.
32. *Mallory, T. B.* — Hemoglobinuric Nephrosis in Traumatic Shock. *American Journal of Clinical Pathology*, 17:427-443, 1947.

33. *Minami, S.* — Über Nierenveränderungen nach Verschüttung. *Virchows Arch. f. path. Anat.*, 245:247-267, 1923.
34. *Ogilvie, R. P.* — Pathological Histology, 4th edition, 303-308, 1951, *Linngstone, E & S., Ltd.*, Edinburgh.
35. *Pearce, R. M.* — An Experimental Glomerular Lesion by Venom (*Crotalus adamanteus*). *Journal of Experimental Medicine*, 11:532-540, 1909.
36. *Raab, W. and Kaiser, E.* — Néphrotoxic Action of Snake Venoms. *Simpósio Internacional Sobre Venenos Animais, Memórias do Instituto Butantan*, 33, fasc. 3:1017-1020, 1966.
37. *Rodrigues Lima, J. P.* — Necrose Tubular Aguda por Mordedura de Animais Peçonhentos. Tese, 1966, São Paulo.
38. *Romeis, B.* — *Guia-Formulário de Técnica Histológica*, 1:320-321, 1936. Editorial Labor S.A. Barcelona.
39. *Rosenfeld, G., Nahas, L. and Kelen, E. M. A.* — Coagulant, Proteolytic and Hemolytic Properties of Some Snake Venoms. In *Venomous Animals and Their Venoms*, 1:217-273, 1968. Edited by W. Bücherl, E. Buckley and V. Deulofeu. *Academic Press*, New York.
40. *Rosenfeld, G.* — Unfälle durch Giftschlangen. *Behring Mitteilungen, begründet von E.v. Behring*, 1:161-202, 1963, *N. G. Elwert Universität — und Verlags — Buchhandlung*. Marburg/Lahn.
41. *Rosenfeld, G.* — Malattie da Veleni Animali. In *Trattato Italiano di Medicina Interna*, diretto dal Prof. Paolo Introzi, Clinico Medico dell'Università de Pavia. Estrato dalla parte XI, 505-522, 1966. *Sadea Sansoni Editori* — Firenze — Roma.
42. *Roulet, F.* — Methoden der Pathologischen Histologie, 1:242-243, 1948. Wien, Springer Verlag.
43. *Schöttler, W. H. A.* — Toxicity of the Principal Snake Venoms of Brazil. *The Journal of Tropical Medicine*, 31:389-499, 1951.
44. *Spielmeyer, W.* — Histopathologie des Nervensystems. Julius Springer, Berlin, 1922.
45. *Yorke, W. and Nauss, R. W.* — The mechanism of the Production of Suppression of Urine in Blackwater Fever. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 5:287-312, 1911.
46. *Yuile, C. L., Gold, M. A. and Hinds, E. G.* — Hemoglobin Precipitation in Renal Tubules. A Study of its Causes and Effects. *The Journal of Experimental Medicine*, 82:361-374, 1945.



SciELO

## INCIDÊNCIA E COMPROMETIMENTO CARDÍACO PELA GÔTA ÚRICA EM CROTALUS D. TERRIFICUS

JESUS CARLOS MACHADO

*Laboratório de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

Ao iniciarmos êste relato julgamos oportuno transcrever as palavras de Appleby e Siller, 1960 (1); "apesar da Gôta Úrica ser familiar aos patologistas que estudam tais animais — no caso os répteis — as publicações sôbre ela são poucas e superficiais".

A Gôta Úrica deve-se à deposição patológica de sais de ácido úrico (biuratos de sódio) em diversos locais do organismo animal. No homem, segundo Willis (11), Gierke (5) e Collins (4) são comprometidos pela ordem: cartilagem articular, membrana sinovial, tecidos peri-articulares, cartilagem da orelha, rim, fígado e pericárdio. No que diz respeito ao miocárdio e endocárdio, encontramos referido no trabalho de Lichtenstein, Scott e Sevin (7) à respeito de 11 necroscopias, que é extremamente raro não sendo mesmo notado em seus casos. Bunin e McEwen (3) descreveram por sua vez, deposição de uratos comprometendo a valva posterior da válvula mitral com prolongamento, pelo endocárdio e miocárdio, atingindo 4 cm de comprimento por 0,5 cm de diâmetro. Pund e colaboradores (8), revendo a literatura, encontraram somente 11 casos de comprometimento cardíaco publicados. No caso publicado, o nódulo gotoso encontrava-se na base da válvula mitral ao longo da artéria coronária circunflexa esquerda.

Nos animais, a Gôta Úrica é também relativamente freqüente, principalmente nas aves e répteis, quando em cativeiro. Appleby e Siller (1), relatam 9 casos de Gôta Úrica em répteis. Siller (9) em extenso e minucioso trabalho descreve-a nas aves, demonstrando, que a deposição dos uratos se processa nos mesmos locais que no homem. Quanto ao coração, relata que o seu diagnóstico pode ser feito mais precocemente, pois a deposição forma inicialmente, delicadas estrias brancas tanto no epicárdio como na gordura da região coronariana. Com o aumento da deposição, os uratos aparecem na parte visceral do pericárdio e comprometem o espaço pericárdico sob a forma de material branco semi-fluído. No miocárdio, a deposição apresenta-se de forma radial sem inflamação secundária ao redor, nada relatando quanto ao endocárdio. Collins (4), analisa as diferenças metabólicas existentes entre as diferentes espécies animais e afirma: os porcos apresentam afecção semelhante à Gôta Úrica, somente que, os depósitos não são de urato, mas, sim, de guanina por não possuírem êstes animais, uma enzima — a guanase.

Belluomini e Hoge (2), isoladamente e, posteriormente com Soerensen e colaboradores (10), relataram, no Instituto Butantan, a presença de Gôta Úrica em

---

Recebido para publicação em 13 de setembro de 1966.

*Crotalus d. terrificus* mantidas em cativeiro. Mostraram que cêrea de 46% das 89 serpentes que morreram nos meses quentes de janeiro, fevereiro e março de 1965, apresentavam sinais dessa afecção e, sugeriram que a alta mortalidade talvez, se devesse à Gôta Úrica. Pessoalmente, H. Belluomini nos informou que em grande percentagem dos casos as deposições encontradas, por si só, não justificariam a morte. Daí, supusemos que deveriam existir outras lesões de verificação macroscópica mais difícil, em órgãos nobres, que pudessem explicar a "causa mortis" de bom número de serpentes. Assim, solicitamos e obtivemos dos Drs. H. Belluomini e R. Franco de Mello corações de *Crotalus d. terrificus* mortas espontaneamente no cativeiro com ou sem sinais evidentes de Gôta Úrica com a finalidade de estudá-las e verificar: existência, incidência e localização de possíveis depósitos de uratos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Nosso material constou de 30 corações de *Crotalus d. terrificus* que morreram espontaneamente nos serpentários do Instituto Butantan, nos meses de janeiro a março de 1965. Depois de serem estudados macroscopicamente, foram os corações cortados ao meio no sentido do maior eixo, fixados em formol e montados em blocos de parafina com a preocupação de colocar na superfície do mesmo, as válvulas cardíacas para serem cortadas e estudadas histologicamente. Esses estudos foram feitos em preparações histológicas coradas pela Hematoxilina e Eosina.

#### RESULTADOS

Macroscopicamente, como era de se esperar, a lesão mais facilmente diagnosticável foi a pericárdica pela perda precoce de transparência quando da deposição dos uratos. Isso ocorreu em 9 dos 30 casos. Em 7 outros, o diagnóstico somente pode ser efetuado pelo exame microscópico devido a pouca intensidade da deposição. Entre esses, havia 3 nos quais somente o endocárdio valvular estava comprometido; 2 outros, nos quais, estavam comprometidos o miocárdio e endocárdio e, finalmente, os 2 restantes, nos quais as lesões endocárdicas eram leves. Os corações em 16 dos 30 casos estavam comprometidos, ou seja, 53,3%.

#### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Observamos que o coração apresentou isoladamente, comprometimento pela Gôta Úrica, superior àquele verificado por B. Soerensen e outros (10) em necropsias completas de serpentes, ou seja, 53,3% para 46%. Tal diferença, a nosso ver, corresponde aos casos nos quais o diagnóstico só é possível através do estudo microscópico dos órgãos. Ainda, é de se assinalar, o alto grau de comprometimento dos endocárdios parietal e valvular em 30% dos casos, ao contrário do observado em outras espécies animais, como por exemplo, o homem e aves.

O elevado comprometimento cardíaco, representado por vezes pela acentuada deposição dos uratos entre os folhetos pericárdicos e por vezes pelas lesões valvulares que acarreta, justifica, a nosso ver, grande número de óbitos.

Queremos também assinalar que o gânglio simpático cardíaco localiza-se no *Crotalus d. terrificus* em lugar onde a deposição dos sais de urato é de modo geral intensa e, que não possuem os mesmos uma cápsula protetora. As células simpá-

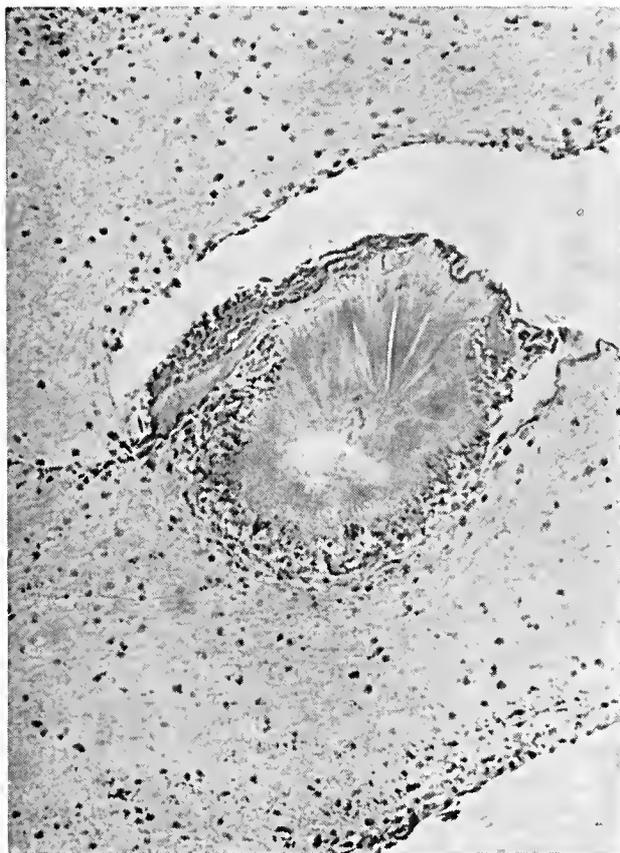


Fig. 1 — Válvula endocárdica de *Crotalus d. terrificus*, apresentando deposição de uratos de sódio — ácido úrico — constituindo verdadeiro Tófo Gotoso intravalvular. Moderada reação redondo celular em derredor e, início de deposição de elementos corpusculares sanguíneos na superfície endotelial.

ticas em íntimo contato com o tecido fibro-adiposo regional, podem sofrer alterações pela deposição compressiva dos uratos, facilitando a ocorrência de bloqueios cardíacos como foi descrito no homem, por Hench e Darnall (6).

TABELA I — INCIDENCIA DE COMPROMETIMENTO CARDIACO EM 30 SERPENTES  
(*CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS*)

	Comprometimento				
	Cardiaco (Geral)	Pericárdio	Miocárdio	Endocárdio valvular e parietal	Sòmente valvular
N.º de casos	16	10	7	9	3
%	53,3	33,3	23,3	30,0	10,0

TABELA II — GRAU DE COMPROMETIMENTO CARDIACO

Pericárdio	(10 Casos)	Miocárdio	(7 Casos)	Endocárdio	(Parietal e valvular) (9 casos)
+	7	+	4	+	5
++	2	++	2	++	1
+++	0	+++	1	+++	2
++++	1	++++	0	++++	1

TABELA III — MODALIDADES DE COMPROMETIMENTO CARDIACO

	Casos
Pericárdio isoladamente .....	4
Miocárdio isoladamente .....	1
Endocárdio isoladamente .....	3
Peric. + Mioc. + Endoc. ....	3
Peric. + Mioc. ....	1
Peric. + Endoc. ....	2
Mioc. + Endoc. ....	2

TABELA IV

Autor	Ano	Animal	Localização
Pagenstecher + (1) ..	1863/64	Alligator-Sclerops	Articulação e músculos
Liebig (1) .....	1849	Alligator-Sclerops	Músculo
Fox (1) .....	1925	Squamate	Membrana serosa
Osman Hilli (1) .....	1954/55	Aves; Répteis	Articulações, rins e vísceras
Hamerton (1) .....	1932/33/39	Teguexin (3) Crocodilo	—
Appleby e Siller (1) ..	1960	Répteis	Articulações, fígado, rim e pericárdio
Soerensen e outros (10)	1962	<i>Crotalus d. terrificus</i>	Rim, fígado, serosas, pericárdio, adventícia grandes vasos.

RESUMO

Foi feito estudo sobre a incidência e localização do comprometimento cardíaco pela Gôta Úrica em *Crotalus d. terrificus* que morreram espontaneamente em serpentes do Instituto Butantan. Essa afeição foi encontrada em 53,3% dos casos (16 em 30 corações), assinalando que o estudo microscópico concerne para o encontro de maior número de casos. É demonstrado que a lesão do endocárdio, é especialmente significativa e superior mesmo do que em outras espécies animais. Conclui-se que as lesões cardíacas, aliadas ao fato de que os gânglios simpáticos cardíacos não são protegidos por verdadeira cápsula facilitando a ocorrência de lesões pela deposição compressiva dos uratos nas suas proximidades podem justificar grande número de mortes nessas serpentes.

BIBLIOGRAFIA

1. Appleby, E. C. and Siller, W. G. — Some cases of gout in reptiles. *J. Path. Bact.* 80:427-430, 1960.
2. Belluomini, H. E. e Hoge, A. R. — II.º Congresso Latino Americano de Zoologia. São Paulo, 18 de julho de 1962.
3. Bunin, J. J. and McEuen, C. — Tophus of the mitral valve in gout. *Arch Path.* 42:557-563, 1946.

4. *Collins, D. H.* — The pathology of articular and spinal diseases. Edward Arnold & Co. London, 1949.
5. *Gierke, E. von, in Aschoff, L.* — Tratado de Anatomia Patológica. Vol. 1.º:399. Edit. Labor S/A., Barcelona, Madrid, 1950.
6. *Hench, P. S. and Darnall, C. M.* — A clinic on acute old-fashioned gout with special reference to its inciting factors. *M. Clin. North American*, 6:1371-1393, 1933.
7. *Lichtenstein, L.; Seott, H. W. and Levin, M. H.* — Pathologic changes in gout. Survey of eleven necropsied cases. *The Am. J. Path.* XXII, 5:871-885, 1956.
8. *Pund, E. E.; Hawley, R.; Mae Gee, H. J. and Blount Jr., S. G.* — Gouty heart. *N. Y. Journal Med.* 263:835-838, 1960.
9. *Siller, W. G.* — Avian Nephritis and Visual Gout. *Lab. Invest.*, 8:1319-1357, 1959.
10. *Soerensen, B., Planet do Amaral, J., Belluomini, H. E., Saliba, A. M., Sampaio Corrêa, H. e Hoge, A. R.* — Gôta Úrica visceral em serpentes. *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti 1768). *Arq. Inst. Biol.* 29:271-275, 1962.
11. *Willis, R. A.* — The principles of pathology. Butterworth & Co. London, 1950.

## COMPROMETIMENTO DOS VASOS NUTRIDORES DA AORTA EM DOIS CASOS DE RUPTURA ESPONTÂNEA DESSA ARTÉRIA EM EQÜINOS SÔRO-PRODUTORES \* \

FERES SALIBA e JESUS CARLOS MACHADO

*Laboratório de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

A ruptura espontânea da aorta, conhecida desde Bostroem (1) 1888, tem sido relatada tanto na espécie humana (10) como em outras espécies animais (7, 9, 11 e 13).

Inicialmente era considerada idiopática, mas os exames dos sucessivos casos humanos descritos permitiram o encontro de lesões degenerativas da parede da aorta (6, 8) ligada a diversos processos patológicos e principalmente a hipertensão do sangue dentro dos vasos, a causas degenerativas e metabólicas e a lesões inflamatórias. Experimentalmente (4), conseguiu-se produzir tais lesões no coelho através de colapso ortostático.

Outros autores (2, 14) buscaram interpretar as lesões da musculatura e das fibras elásticas da aorta, como resultado de deficiências de irrigação, devido a lesões degenerativas ou mesmo acomodativas dos "vasa vasorum". Estas foram atribuídas, ora a processos arterioescleróticos (13), ora a hipertensão arterial primária ou secundária (2, 12) e a lesões renais como a produzida pela nefrite glomerular crônica (4).

Nos animais, os casos descritos são por vêzcs considerados idiopáticos (9) ou resultantes de lesões do aparelho elástico muscular da média aorta (7, 11, 13).

Este trabalho demonstra que, ao lado das lesões da média muscular existem, nos casos aqui relatados — dois eqüinos — alterações dos vasos nutridores da aorta semelhantes àquelas verificadas em processos hipertensivos do homem e que certamente são os responsáveis pela ruptura da referida artéria.

### MATERIAL E MÉTODOS

O primeiro caso diz respeito a eqüino feminino, 20 anos de idade que há dez meses vinha sendo utilizado no trabalho de preparo de sôro anti-erotálieo. Tratava-se de animal indócil que na hora da sangria debateu-se com violência vindo a falecer súbitamente. O exame cadavérico revelou anemia aguda por ruptura linear

\* Trabalho realizado com o auxílio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan. Recebido para publicação em 25 de fevereiro de 1966.

da aorta, perpendicular ao seu grande eixo, com extensão de 6 cm, localizada a 1,5 cm acima das válvulas sigmóides aórticas e acima da saída dos vasos coronarianos. O coração apresentou hipertrofia do miocárdio.

O segundo caso concerne a equino masculino, dez anos de idade, do serviço de produção de sêro anti-diftérico. A aorta revelou ruptura localizada a 1 cm acima das válvulas sigmóides e abaixo da emergência das coronárias.

Tal ruptura apresentava forma de um Y alongado, perpendicular ao grande eixo da aorta, com 5 cm de comprimento no seu braço maior e como no caso anterior, o miocárdio apresentava-se hipertrofiado.

Foi colhido material ao nível das rupturas e feitos cortes histológicos em congelação e parafina, corados pelos métodos de Hematoxilina-cosina, Sudan III, Weigert para fibras elásticas, Van Gieson e Tricrômico de Masson.

### RESULTADOS

O exame histo-patológico revelou na aorta áreas de degeneração das fibras musculares e elásticas, substituídas, ora por zonas edemaciadas de coloração basofílica, ora por zonas densas eosinofílicas hialinas, formando no primeiro aspecto, verdadeiros lagos. No sub-endotélio havia presença discreta de material lipóidico sem contudo assumir aspecto atromatoso.

O estudo microscópico dos vasos nutridores da aorta revelou nas arteríolas (tabela) hiperplasia e hialinização da íntima (figs. 1 a 4), hipertrofia accentuada da média muscular (figs. 5, 7) chegando a obliterar completamente o lume vascular (fig. 6) e elastose (fig. 8) não havendo deposição de lipóides nas arteríolas.

PRESENÇA E INTENSIDADE DOS COMPONENTES LESIONAIS DOS VASOS DA ADVENTICIA E DA PAREDE DA AORTA

N.º caso	Hipertrofia muscular	Hialinização	Hiperplasia	Elastose	Lipoidose
1	++	+	+	+	negativo
2	++	+	+	+	negativo

### DISCUSSÃO

As lesões arteriulares dos vasos nutridores da aorta humana, inicialmente admitidos por Wicsele (14), foram descritas por Tyson (13) como proliferação da íntima associada à trombose e discreto grau inflamatório. Ashworth e Haynes (2) descrevem a hipertrofia da muscular dos mesmos vasos. Amromim, Schlichter e Solway (3) assinalam que ao lado da hipertrofia da média ocorre também a elastose. Pasqualucci (12) relata em uma série de casos, comprovadamente hipertensivos, a presença de lipoidose e necrose, por vezes com granuloma peri-arteriolar de Fahr, assinalando a importância dessas lesões no processo patogenético da ruptura, por isquemia e conseqüente degeneração das camadas muscular e elástica da aorta.

Nos animais, autores como Hirsch (9), não descrevem lesões na parede da aorta, considerando as rupturas como espontâneas, aceitando como explicação, sim-

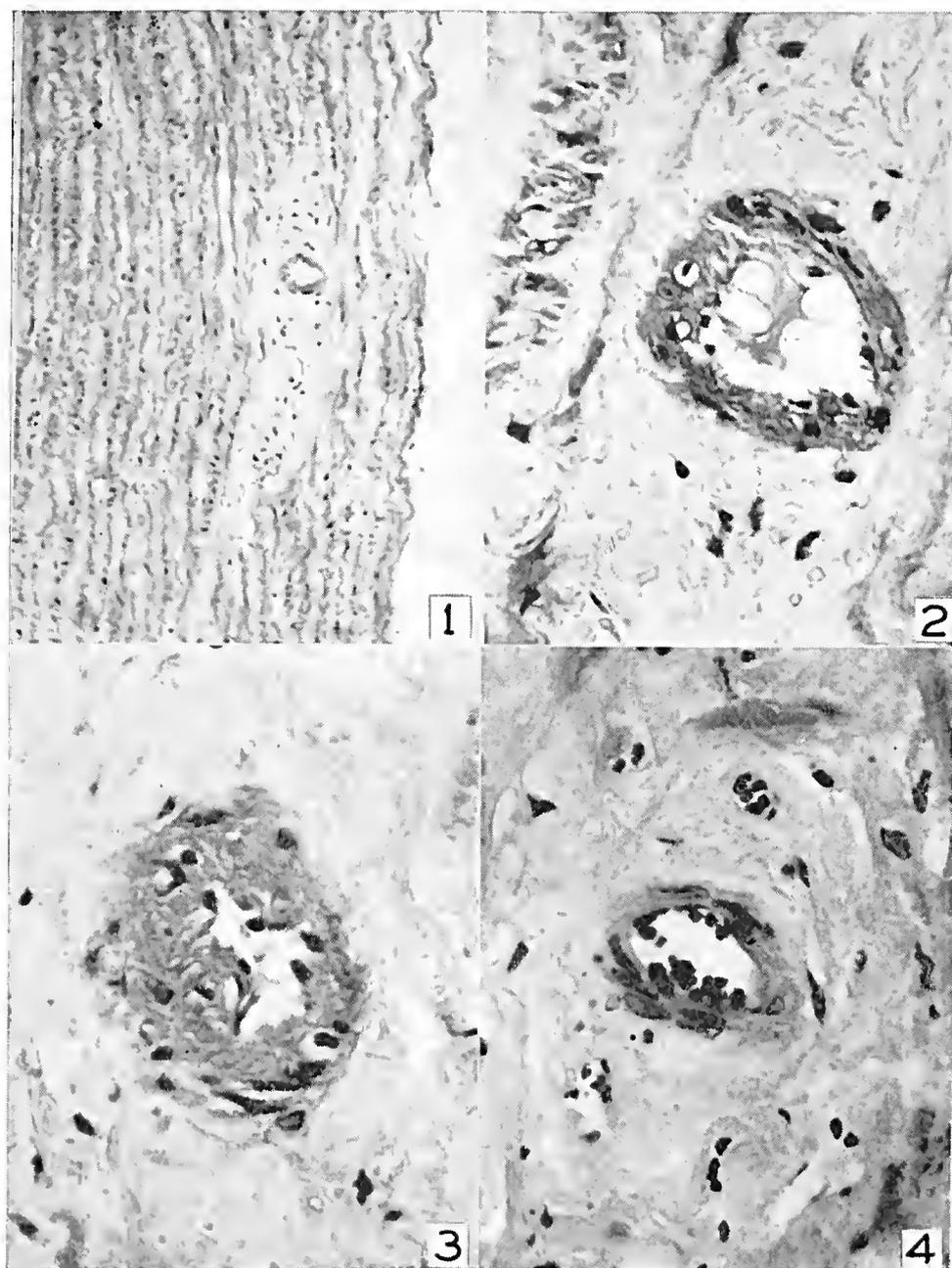


Fig. 1 — Hialinização da parede de uma arteriola próxima à adventícia da aorta. H.E.

Fig. 2 — Hialinização da parede de uma arteriola da adventícia da aorta. H.E.

Fig. 3 — Arteriola da espessura da aorta apresentando necrose da parede por perda de estrutura e diminuição de núcleos, com outros apresentando sinais degenerativos. H.E.

Fig. 4 — Espessamento da íntima por edema do sub-entotélio com diminuição do lume vascular. H.E.

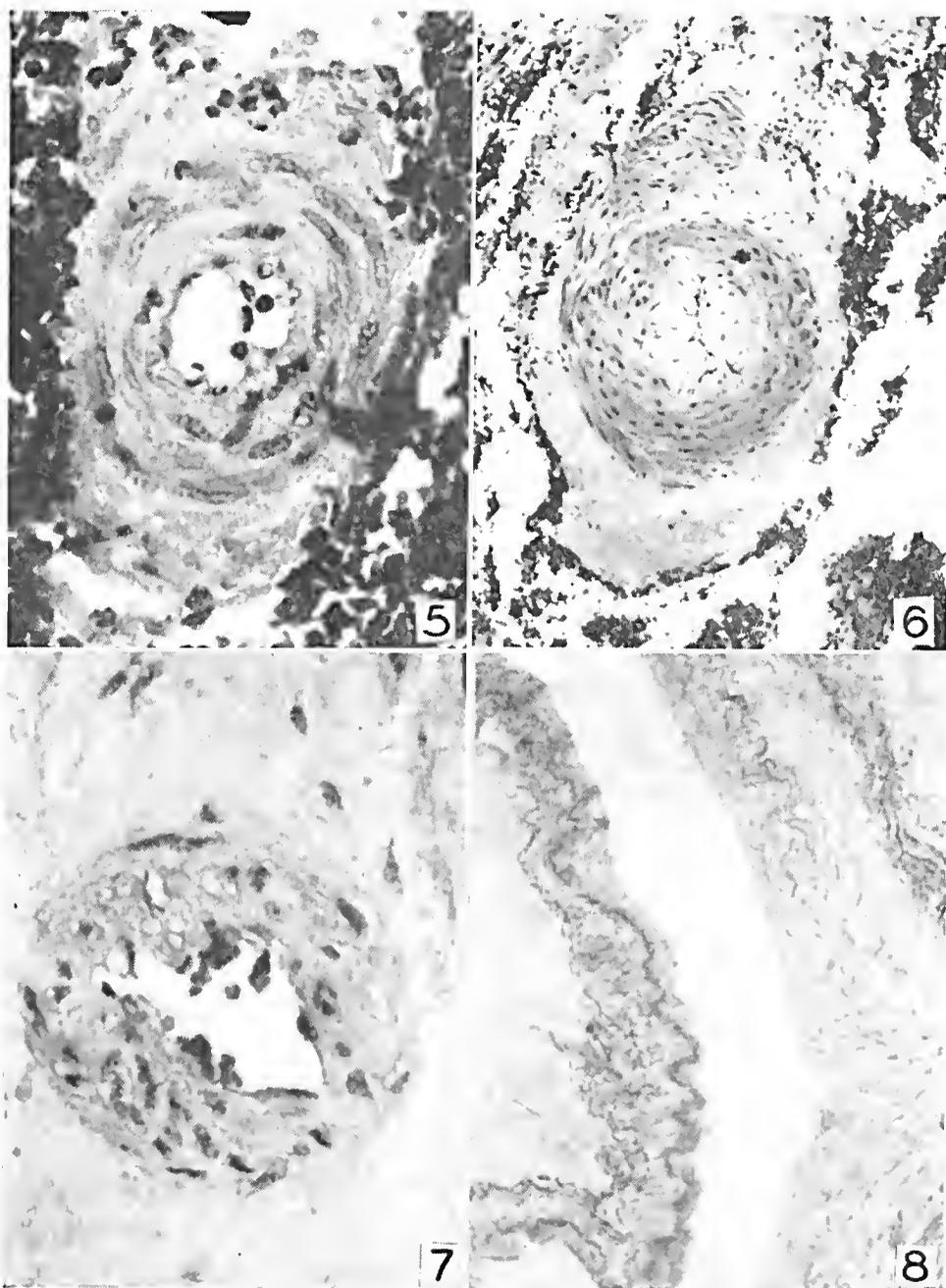


Fig. 5 — Arteriola da adventícia da aorta com espessamento e hialinização das paredes musculares da média. H.E.

Fig. 6 — Espessamento da íntima com quase total obliteração do lume vascular. H.E.

Fig. 7 — Hipertrofia da média de uma arteriola da parede da aorta próxima da adventícia. H.E.

Fig. 8 — Hiperplasia e espessamento das fibras elásticas da íntima. Elastose. Weigert-Van Gieson para fibras elásticas.

ples variações anatômicas dos diversos segmentos da mesma. Siller (13) e Marcato (11), encontraram alterações do sistema músculo-elástico da aorta, assinalando o primeiro que essas são primordiais no processo da ruptura. Guarda (7), ao apresentar um caso de ruptura da aorta em lebre, afirma que as lesões da média lembram a degeneração mucoidecística da aorta humana e associa o caso à periaortite proliferativa que descreveu. Não houve preocupação, por parte desses autores, pelo estudo dos vasos nutridores.

Neste trabalho eles foram estudados a fim de verificar quais as lesões presentes e seu possível papel patogênico.

As lesões acomodativas e degenerativas encontradas indicam que os animais eram hipertensos e justificam a isquemia da parede da aorta e sua conseqüente degeneração e ruptura. Nos dois casos não havia lipidose nessas arteríolas, já que nos mamíferos domésticos ela é muito discreta ou inexistente em tais processos.

A impossibilidade de verificar nos dois eqüinos, lesões arteriolares e parenquimatosas em outros órgãos, tais como os rins, pâncreas, intestino e retina, não permitiram precisar se a hipertensão era primária ou secundária.

O calibre da aorta e de seus vasos nutridores dos eqüinos facilita o estudo das lesões em ambos. Trata-se, portanto, de material inestimável para a elucidação da patogênese desse processo.

#### RESUMO

São descritos dois casos de ruptura espontânea da aorta em dois eqüinos sôroprodutores e estudam-se, com especial atenção, as lesões dos vasos nutridores da aorta, onde ocorre hipertrofia da musculatura, hialinização e elastose da íntima, responsáveis por isquemia e lesões degenerativas da parede aórtica e a conseqüente ruptura do vaso.

#### SUMMARY

Two cases of spontaneous rupture of the aorta are described in two serum-producer horses. The "vasa-vasorum" lesions were carefully studied, where muscle band hypertrophy, hyalinization and intimal elastosis occur, which are responsible for ischemia and degenerative processes in the aortic walls and the consecutive vessel rupture.

#### BIBLIOGRAFIA

1. *Aschoff, L. von* — Tratado de Anatomia Patológica. 2:91, 1950. 2.<sup>a</sup> ed. Edit. Labor S/A. Barcelona.
2. *Ashworth, C. T. & Haymes, D. M.* — Lesions in elastic arteries associated with hypertension. *Am. J. Path.*, 24:195, 1948.
3. *Amromim, G. D., Schlichter, J. G. & Solway, A. J. L.* — Medionecrose of the Aorta. *Arch. Path.*, 46:380, 1948.
4. *Carolis, D. & Dina, M. A.* — Soffio diastolico sintomatico di rottura incompleta dell'aorta ascendente in corso di glomerulo nefrite difusa cronica. *Cuore e Circol.*, 34:294, 1950.
5. *Faria, J. L.* — Medionecrosis Aortae after colapse in rabbits. *Allgem. Path. u. Bakteriolog.*, 21(1):6, 1958.

6. *Furno, A.* — Contributo alla conoscenza clinica e anatomo-patológica delle rotture spontane dell'aorta. *Arch. Path. Clin. Med.*, 3:26, 1924.
7. *Guarda, F.* — Su di un singolare reperto di rottura dell'aorta toracica associata a periaortite nella lepre. *Analli Fac. Med. Vet. Torino*, 9:299, 1959.
8. *Gzcl, O.* — Wandnekrosen der Aorta als selkständige Erkrankung und ihre Beziehung zur Spontanruptur. *Virch. Arch. path. Anat.*, 270:1, 1928.
9. *Hirsch, E. A.* — Rupture of the pulmonary artery leading to sudden death in a thoroughbred foal. *J. Vct. Med. Ass. Of Ireland*, 6(1):565, 1952.
10. *Jores, L.* — Arterien, in *Handbuch der spez. Anat. u. Hist.* F. Henke & O. Lubarsch. 2:672-676, 1924. Verlag von J. Springer. Berlin.
11. *Marcato, A.* — Due nuovi casi di rottura spontanea dell'aorta nel cavallo. *La nuova veterinária*, 14(6):15, 1941.
12. *Pasqualucci, M. E. A.* — Contribuição para o estudo da Patogênese da ruptura espontânea da Aorta. Tese de Docência-Livre. Tip. Edannêe, 1960. São Paulo.
13. *Siller, W. G.* — Two cases of aortic rupture in fowls. *The journal of Path. and Bact.*, 83(1):527, 1962.
14. *Tyson, M. D.* — Dissecting Aneurism. *Am. J. Path.*, 7:581, 1931.

## BLOOD PROTEINIC PICTURE OF THOROUGHBRED HORSES

S. FERRI\*; L. F. MARTINS\*\*; M. C. LEITE RIBEIRO\*\* & T. U. WORSMAN\*

*Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*  
*Department of Histology and Embriology, School of Veterinary Medicine, USP*

Campello and col. (3) have revised the most important bibliographies about the proteinic picture of the blood serum and the several factors which may have influence on the results.

Patrushev (13) verified that even among Thoroughbred horses there are variations according to the lineage. Individual variations have also been demonstrated (11, 17).

The oscilation of the contents of proteinic fractions in the serum of the equine is such that Geinitz (7) advises that the normal mean values for the populational group we are dealing with, should always be established.

Dzialiszynski and Maciejewska (5) investigated the influence of sex. They could not find any difference for the total proteins between geldings and mares but, in the geldings, beta globulin apparently shows higher levels and albumin exists in greater quantity.

Concerning to serum proteins, Campello (2) did not find different results for male and female Thoroughbred horses.

According to Stankiewicz and col. (17), the rate of serum proteins is not influenced by the sex, the same occurring with the gamma globulins, according to Odebrecht and Braneo (12).

There is no objective reference in literature indicating a research work to verify the influence of the proteinic picture of the serum on the performance of the animal.

The present study has been planned in order to analyse the influence of sex on the contents of total serum proteins and the various fractions in Thoroughbred horses, and the influence of the proteinic picture on the competitive capacity of the animal.

### MATERIAL AND METHODS

The material for the present work consisted of blood of 120 Thoroughbred horses, with ages ranging from 3 to 5 hippic years, submitted to regular physical exercises and similar regimen and lodged at the Jockey Club of São Paulo.

The animals were divided into two groups called "winners" and "losers", on the basis of times considered minimum and maximum for 1400 and 1500 meters

\* Department of Histology and Embriology of the School of Veterinary Medicine of the University of São Paulo (Caixa Postal 7064 — São Paulo — Brasil).

\*\* Department of Histology and Embriology of the School of Dentistry at Bauru, University of São Paulo.

Received for publication in october 15, 1968.

racers, light sand; those which reached times inferior to the minimum were called winners, and losers those which went beyond the time established as maximum.

The indexes for classification of the animals as winners or losers were calculated according to the results obtained for 200 animals placed in the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> places and the same number in the two last posts in each of the two races mentioned above.

The data were obtained from the archives of the Commission of Races of the Jockey Club. As only the result of the 1<sup>st</sup> placed is expressed in "time" and that from the others, in "bodies" in relation to the first, we made a transposition from "bodies" to "time", employing the photochart which documents the races.

In order to verify the validity of the adopted criterion, the scores obtained by the firsts and the lasts were statistically analysed as a preliminar care in the design of a proper experiment. The comparison between the values showed a significant difference between the means of the two indexes at the level of 5% making it valid to use them in the selection of the animals.

After the 1400 or 1500 meters races, light sand, the time of the 1<sup>st</sup> placed was determined by a chronometer and that of the others by the photochart, thus selecting the competitors on the basis of pre-established characteristics for the sampling.

The animals rested for 16 — 20 hours after the race and the blood was then collected. The horses which we knew were not successful for adverse reasons, as for example, indocibility at the start, were rejected.

The blood was collected from the jugular vein in the morning, before the animals had received their meals, and anything that could excite them was avoided.

10 to 15 ml of blood were collected in 18x140 mm test tubes without the use of anticoagulant, in order to obtain the serum for a dosage of total proteins and electrophoretical analysis.

*Total proteins* — After coagulation the clot was detached and after retraction the serum was removed and centrifugated at approximately 1000 r.p.m., for 3 minutes, and then kept frozen in a test tube until the analysis could be done.

The Gornall's and col. (9) method was used for this dosage. The results were read through a spectrophotometer using a 540 milimiera wave length.

*Proteinic fractions* — The electrophoretic migration for the separation of proteinic fractions was made on a No. 1 Watmann's filter paper, in a "Elphor" set, using acetate veronal buffer with ionic force = 1 and pH 8,6.

0,7 ml of serum was placed at 9 cm from one end of the paper. The intensity of the current was equal to 2 mA per strip of paper, for 16 hours. The strips were then dried at 70 — 80°C.

They were developed with the use of Schwartz 10 B starch, after Grassman and Hanning's technic, modified by Ferri and col. (6); diaphanization was obtained with Elphor's special oil and an "Intergraph" set was used for reading the results.

*Statistical analysis* — The measures of position and variability were calculated for each group of the experiment.

The comparison between winners and losers, males and females, was accomplished through the Student's test, after Snedecor (16).

For the comparative analysis of the proteinic fractions, the alpha<sub>1</sub> globulin was not taken into consideration, since the values were calculated in percentual



terms and were interdependent, the last value becoming automatically known, and thus being lost one degree of freedom.

The rejection level for these comparisons was 5%.

## RESULTS

The results obtained are given on tables I, II, III and IV.

## DISCUSSION

Before discussing the results obtained we must point out that, although the number of fractions in the equine serum is variable, we have restrained the analysis to the main fractions, according to the authors taken into consideration (1, 3, 4, 7, 10, 15), thus achieving a more accurate dosage.

The proteins did not differ significantly between males and females of both categories, regarding to the total content and also to the fractions.

This confirms some works (2, 12, 17) and contradicts others (5, 14).

There is a significant difference between the two male groups, regarding to total proteins, beta and gamma globulins, which are present at a higher concentration in the losers. Between the female groups the same occurred, but only with the beta fraction.

Data have not been found in literature to make possible a comparative analysis.

The fact of the total proteins being present at a higher concentration in the losers might be accounted for a greater loss of liquid by these animals.

We must still point out that before the blood was collected the animals rested for a period of time considered sufficient for them to return to their resting condition.

The serum proteins are very important, its main function being the maintenance of blood volume, carrying and mobilizing antibodies, nourishment, transportation of lipids and other substances, and also mobilization of secreted hormones (8), being difficult to appraise precisely the real significance of the pointed differences.

The beta globulins are related mainly to the transportation of certain soluble lipids, with carotenoids and strogens; to the beta-globulins is also related a specific protein, the siderophilin, which serves for transporting the iron from the intestinal cells to the liver, spleen and bone marrow. Besides, they are related to a number of proteins which are important for the blood clotting and other activities, for example, the prothrombin, inhibitors of thrombin, plasminogen, serum lipase, vaso-pressor substances, etc. (8).

Further researches should be carried on in order to explain the differences we met with.

Antibodies, as it is well known, are related to the gamma-globulins. Speculating on the possible causes for these being found in a smaller number in the winners, we might presume that this is due to the fact that the winners are less challenged by antigenic elements, probably of infectious nature.

Concerning to the females, it is interesting to point out that only the beta globulin fraction presented a significant difference between winners and losers, but there is no available evidence to substantiate this verification.

TABLE I -- SERUM PROTEINS IN MALE THOROUGHBRED HORSES

Protein	Albumin		Globulins									
	Winner	Looser	Alfa <sub>1</sub>		Alfa <sub>2</sub>		Beta		Gamma			
			Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser		
Mean .....	5.88	6.14	2.96	2.97	0.19	0.18	0.57	0.57	0.86	0.98	1.30	1.45
Standard deviation.	0.22	0.48	0.26	0.20	0.030	0.040	0.08	0.10	0.14	0.20	0.25	0.30
Coeff. of variation	0.04	0.08	0.09	0.07	0.15	0.22	0.14	0.18	0.16	0.20	0.19	0.21
Median .....	5.90	6.20	2.96	2.93	0.17	0.18	0.57	0.54	0.86	0.95	1.29	1.39

TABLE II -- SERUM PROTEINS IN FEMALE THOROUGHBRED HORSES

Protein	Albumin		Globulins									
	Winner	Looser	Alfa <sub>1</sub>		Alfa <sub>2</sub>		Beta		Gamma			
			Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser		
Mean .....	5.97	6.10	3.01	2.97	0.19	0.19	0.61	0.62	0.87	1.00	1.29	1.33
Standard deviation.	0.49	0.41	0.25	0.20	0.045	0.030	0.10	0.14	0.20	0.20	0.26	0.28
Coeff. of variation	0.08	0.07	0.08	0.07	0.24	0.15	0.16	0.23	0.23	0.20	0.20	0.21
Median .....	5.80	6.10	3.02	2.94	0.17	0.19	0.60	0.57	0.83	1.00	1.30	1.31

TABLE III — SERUM PROTEINS IN THOROUGHBRED HORSES

Protein	Albumin						Globulins									
	Winner		Looser		Winner		Looser		Alfa <sub>1</sub>		Alfa <sub>2</sub>		Beta		Gamma	
	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser
Mean .....	5,92	6,12	2,99	2,97	0,19	0,19	0,59	0,59	0,86	0,99	1,29	1,39				
Standard deviation.	0,46	0,45	0,20	0,20	0,045	0,030	0,09	0,14	0,20	0,20	0,28	0,30				
Coeff. of variation	0,08	0,07	0,07	0,07	0,24	0,16	0,15	0,24	0,23	0,20	0,22	0,22				

TABLE IV — SERUM PROTEINS IN THOROUGHBRED HORSES. T VALUES FOR THE DIFFERENT CONTRASTS

Protein	Albumin	Globulins				Critic value of t — at 5%	
		Alfa <sub>1</sub>		Beta			Gamma
		Winner	Looser	Winner	Looser		
MW x ML .....	0,16	—	2,67	2,11	2,00		
FW x FL .....	0,22	0,31	2,50	0,56	2,00		
MW x FW .....	0,25	1,33	0,25	0,14	2,00		
ML x FL .....	—	1,67	0,40	1,60	2,00		
W(M+F) x L(M+F)	0,56	—	3,61	1,89	1,98		

M = male; F = female; W = winner; L = looser

Comparisons were made between winners and losers for total proteins and fractions. The results obtained for males and females were grouped, as no difference was observed between them.

This analysis made it possible to verify that the total proteins and the beta globulins differed significantly in the two groups.

Through this fact we perceive that the differences between the male winners and losers have sufficiently influenced the results, regarding to the total proteins. The same did not occur in regard to the gamma globulins, where the differences observed before were masked.

#### SUMMARY

The rates of total serum proteins and its eletrophoretic fractions were analysed in 120 Thoroughbred horses. The animals were divided into two groups, "winners" and "losers", and comparative studies were made between males and females, winners and losers.

The statistical analysis showed:

- 1 — The male winners have lower rates of total proteins, beta and gamma-globulins, than the losers;
- 2 — The female winners have lower levels of beta globulins than the losers;
- 3 — The male and female winners have lower levels of total proteins and beta globulins than the losers;
- 4 — The levels of total proteins and the other analysed fractions are the same for males and females, in both groups, winners and losers.

#### REFERENCES

1. Ashton, G. C. — Serum proteins variations in horses. *Nature*, 182:1029-30, 1958.
2. Campello, A. P. — Teores de alguns compostos nitrogenados no sangue de cavalos P.S.I. de corrida, sob a influência do exercício muscular e da glicose. Tese. Escola Superior de Agricultura e Veterinária do Paraná, 1958.
3. Campello, A. P.; Cardoso, A. T. & Faria, A. M. — Perfil eletroforético do soro de cavalos P.S.I. de corrida. *An. Fac. Med. Paraná*, 3:3-16, 1960.
4. Deutseh, H. F. & Goodloc, M. B. — An eletrophoretic survey of various animals plasma. *J. biol. Chem.*, 161:1-20, 1945.
5. Działoszynski, L. & Maciejewska, M. — Frakcje białkowe surowicy Krwi Kónskiej. *Méd. Vét.*, Varsovia, 13:173-7, 1957.
6. Ferri, R. G.; Mendes, E.; Cardoso, T. Y. B. & Tutiya, T. — Electrophoresis of serum protein in Asthma. Preliminary Report. *J. Allergy*, 27:494-503, 1956.
7. Geinitz, W. — Uber Serumeiweiße von Tieren, die Häufig als Versuchstiere oder zur Gewinnung von Heilseren Dienen. *Klin. Wschr.*, 32:1108-1111, 1954.
8. Gonçalves, M. J. — Sistemas de proteínas. Alguns estudos. Tese. Faculdade Nacional de Medicina, Rio de Janeiro, 1951.
9. Gornall, A. G.; Baradawill, C. J. & David, M. M. — Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J. biol. Chem.*, 177:751-766, 1949.
10. Hirtz, J. — Étude électrophorétique du sérum de cheveaux infectés expérimentalement d'anémie infectieuse. *Rev. Immunol.*, 16:397-405, 1952.

11. *Kunde, H.* — Die Papierelektrophorese des Blutserums bei verschiedenen Erkrankungen der Pferd. *Wiss. Z. Humboldt Univ.*, **10**:273, 1961.
12. *Odebrecht, S. & Braneo, C. L.* — Determinação dos teores séricos normais de gama globulinas em cavalos P.S.I. de corrida. *An. Fae. Med. Paraná*, **5**:67-72, 1962.
13. *Patrushev, V. I.* — Physiological variation within the English race-horses. *Compt. Rendus Acad. Sci., URSS*, **23**:710-13, 1939.
14. *Patrushev, V. I.* — Physiological variation in horse as connected with age. Breed and Performance. *Compt. Rendus Acad. Sci., URSS*, **23**:718-21, 1939.
15. *Polson, A.* — Variation of serum composition with the age of horse as shown by electrophoresis. *Nature*, **152**:413-414, 1943.
16. *Snedecor, G. W.* — Statistical methods, 5th ed. Ames. Iowa, Iowa States University Press. 1956, p. 116-27.
17. *Stankiewicz, W.; Markiewiczowa, Z. & Malinowski, W.* — Hematologizne badania koni pelnejkrwi i rasy Flording. *Med. vet.*, **16**:594-98, 1960.
18. *Stoekl, W. & Zaekerl, M. K.* — Papierelektrophoretische Untersuchungen des Serums von Rind und Pferd. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.*, **293**:278-83, 1953.





## RELATIONSHIPS AMONG PERFORMANCE, SEX AND ERYTHROGRAM IN THOROUGHBRED HORSES \*

L. F. MARTINS \*\*; L. R. ARATANGY \*\*\* & L. O. MEDEIROS \*\*\*

*Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*

Various factors of physiologic and ecologic order have been studied regarding their influence over the blood picture of the equines and many works have showed that alterations of the latter may be the status of health or, on the other hand, may influence the physical capacity. In spite of these correlations, few investigators were interested in the analysis of the relations between hemogram and the capacity of the animal.

Patrushev (9) seemed to be the first one to verify that the quickest horses had higher concentrations of erythrocytes. Later on, there appeared the works of Brenon (2), Irvine (6) and Steel & Whitlock (14), who attempted to demonstrate that the good racers have a better blood picture. Regarding to the influence of sex over the results of the hematologic tests there are great controversies in the literature. Van Den Berg (16) did not verify significant differences in the hemoglobin value and Vaulont (17) noted them for the erythrocytes. McLeod et al. (8), who analysed the blood picture of the Thoroughbred Horses and of the Arabian Horses under different conditions, established that stallions have the highest value for the erythrocytes while the barren mares the lowest. Hansen et al. (5) did not detect differences between the sexes in the various hematologic tests when comparing weanling animals. Curiously, for Delgado (3) the figures for the erythrocytes, hemoglobins and packed cell volumes of the males exceeded that of the females in the higher zones, the contrary occurring in the lower zones. Differences in the erythrogram for both sexes were found by Areher (1), Stankiewicz et al. (13) and Ferri et al. (4). Santos (11) did not confirm that, verifying otherwise these differences in the leukogram.

Considering the scarcity of data in the literature on the relationships between blood picture and performance, and also the disagreement of the authors on the influence of sex, this paper was planned in order to study both problems through the tests used for the evaluation of the erythrogram in Thoroughbred Horses.

\* This work was supported by grants from Joekey Club de São Paulo and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

\*\* From the Departamento de Histologia e Embriologia, Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo — Bauru, S.P., Brasil.

\*\*\* From the Departamento de Histologia e Embriologia, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo — São Paulo, Brasil.  
Received for publication in October 15, 1968.

## MATERIAL AND METHODS

The material consisted of blood of 120 Thoroughbred Horses with ages ranging between 3 and 5 years, submitted to regular exercises and similar regimen and lodged in Jockey Club of São Paulo. The animals were divided into two groups, which are called "winners" and "losers".

The selection for these groups was based on the times considered minimum and maximum for the 1,400 and 1,500 meters races, light sand; the ones which reached times inferior to the minimum index were called winners and the ones which went beyond the time established as maximum, were called losers.

The indexes for classification of the animals as winners and losers were calculated in function of the results obtained by 200 animals placed in 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> places and by the same number placed in the two last posts in each of the races mentioned above.

The setting of the data was made in the archives of the Jockey Club's Commission of Races.

As only the result of the 1<sup>st</sup> placed is expressed in "time" and the results of the others, in "bodies" in relation to the first, a transposition of "bodies" in "time" was made, using the photochart which documents the races.

In order to verify the validity of the adopted criterion the scores obtained for the firsts and the lasts were previously analysed. The statistical analysis which was made for comparing these values, demonstrated a significant difference between the mean results at a significance level of 5%, making valid its employment in the selection of the animals.

After the 1,400 or 1,500 meters races, light sand, the time of the 1<sup>st</sup> placed was determined by a chronometer and that from the others, by the photochart, thus selecting the competitors with pre-established characteristics for the sampling.

The animals rested for 16-20 hours after the race, and then the blood was collected, skipping on purpose the horses which we knew had not been succeeded for adverse reasons, like, for example, indocility at the start.

The blood was obtained from the jugular vein in special siliconized flasks, containing an ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (E.D.T.A., sequestrene) in a solution of 10% in a proportion of 10 mg of salt to 5 ml of blood according to indications of Rosenfeld (10), in the morning, before the animals had received their meals, and avoiding anything that could excite them.

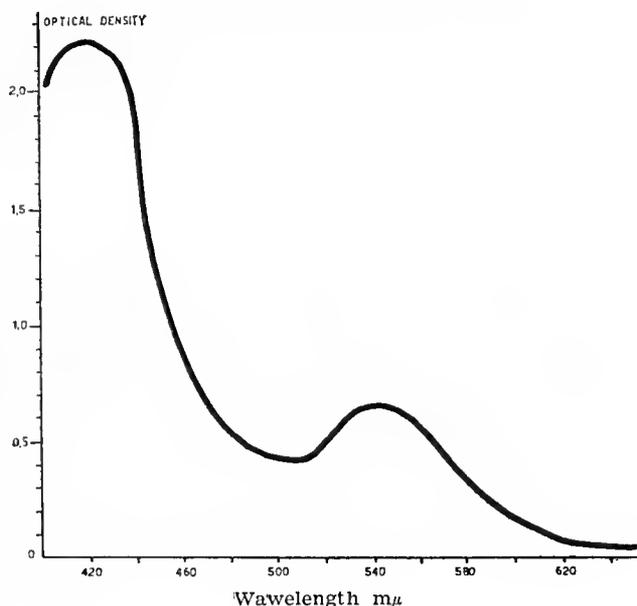
The following tests were carried out: counting of erythrocytes, determination of hemoglobin, packed cell volumes and the mean corpuscular hemoglobin concentration.

*Erythrocyte counting* — The blood was mechanically agitated for 2 minutes and then diluted in the red blood cell pipets, at 1/200 with Hayem's solution. After 2 minutes of mixing with a Clay-Adams agitator about 1/3 of the liquid of the pipet was discarded and the counting was made on a Neubauer counting chamber.

*Hemoglobin* — It was done with a spectrophotometer under the form of cyanomethemoglobin, as indicated by King & Wootton (7).

The spectrum of cyanomethemoglobin absorptions of thoroughbred horses blood was determined from the beginning in order to know the adequate wavelength for the analysis. The results showed that a wavelength of 540 milimiera should be used (Figure 1).

FIGURE 1  
Absorption spectrum of cyanomethemoglobin  
of thoroughbred horse.



*Packed cell volumes* — A Wintrobe tube was used to centrifugate the material for 30 minutes at 3,500 r.p.m.

*Indexes* (M.C.V., M.C.H., M.C.H.C.) were calculated after Wintrobe (13).

*Statistical analysis* — The distributions of all variables studied in each group were calculated.

The comparisons between winners and losers, and between sexes were carried on through the Student's test, after Snedecor (12).

The significance level adopted for all the tests was that of 5% (Table I).

## RESULTS

The results are in the following tables. Figures 2 to 5 illustrate the dispersion of the results obtained for packed cell volumes and erythrocyte or mean corpuscular volume and erythrocytes for the winners and losers for both sexes.

## DISCUSSION

The analysis of the results showed a significant difference in some of the tests between winners and losers. A more accurate examination allowed interesting observations. Thus, it was concluded that in the sample of males, the winners had a higher number of erythrocytes, nevertheless mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin were significantly lower. Regarding the number

TABLE I — ERYTHROGRAM IN MALE THOROUGHBRED HORSES

	Erythrocytes cmm		Hemoglobin g%		P.C.V. %		M.C.V. c.μ		M.C.H. m g		M.C.H.C. %	
	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser
Mean .....	10.6 x 10 <sup>6</sup>	9.7 x 10 <sup>6</sup>	15.92	15.40	50.60	48.80	50.10	15.08	15.86	31.43	31.59	
Standard deviation ...	1.35 x 10 <sup>6</sup>	1.70 x 10 <sup>6</sup>	0.75	1.40	2.75	4.74	3.78	1.40	1.34	1.00	1.59	
Coef. of variation ....	0.13	0.17	0.05	0.09	0.05	0.10	0.08	0.09	0.08	0.03	0.05	
Median .....	10.3 x 10 <sup>6</sup>	9.8 x 10 <sup>6</sup>	16.02	15.56	51.00	49.00	50.00	15.20	15.56	31.61	31.24	

TABLE II — ERYTHROGRAM IN FEMALE THOROUGHBRED HORSES

	Erythrocytes cmm		Hemoglobin g%		P.C.V. %		M.C.V. c.μ		M.C.H. m g		M.C.H.C. %	
	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser
Mean .....	9.24 x 10 <sup>6</sup>	9.7 x 10 <sup>6</sup>	14.79	14.40	45.70	46.20	49.60	16.80	15.78	32.28	31.21	
Standard deviation ...	7.30 x 10 <sup>5</sup>	1.70 x 10 <sup>6</sup>	1.02	1.07	3.03	3.14	4.83	1.57	1.26	1.30	1.68	
Coef. of variation ....	0.08	0.17	0.07	0.07	0.07	0.07	0.10	0.10	0.08	0.04	0.05	
Median .....	9.4 x 10 <sup>6</sup>	9.8 x 10 <sup>6</sup>	15.00	14.53	46.00	47.00	49.50	16.06	15.29	32.05	31.24	

TABLE III — ERYTHROGRAM — t VALUES FOR THE DIFFERENT CONTRASTS

Tests Contrasts	Erythro- cytes	Hemoglobin	P.C.V.	M.C.V.	M.C.H.	M.C.H.C.
MW x ML	2.27	1.79	1.80	2.20	2.20	0.46
FW x FL	0.20	1.44	0.63	0.52	0.89	2.73
MW x FW	4.86	4.91	6.53	1.42	2.64	2.71
ML x FL	0.40	3.11	2.50	0.10	0.24	0.90

Critic value of  $t$ , 5% = 2.00

MW = Male Winners; ML = Male Losers; FW = Female Winners; FL = Female Losers.

of erythrocytes, there was a clear dislocation of higher values favoring the winners, so that the lower number found was that of 9,4 million of erythrocytes per cubic milimeter, ranging till 13,1 while in the losers the range was from 7.2 to 11,7 million.

This fact is illustrated by Figure 2, which shows distribution of the frequency in the animals in relation to the mean corpuscular volume and to the number of erythrocytes.

These observations confirmed the findings of Patrushev (9) and Brenon (2), who noted that the best animals presented a higher number of erythrocytes. Nevertheless, the data obtained by the last author show great variability (in 207 Thoroughbred animals he found values over 10 and under 6,2 million for the groups of the 10 best, and under 6,2 for the group of the 10 worse, the mean result being 6,8). It is possible that the equines from which the material was collected were not similar in conditions to the ones used in this work.

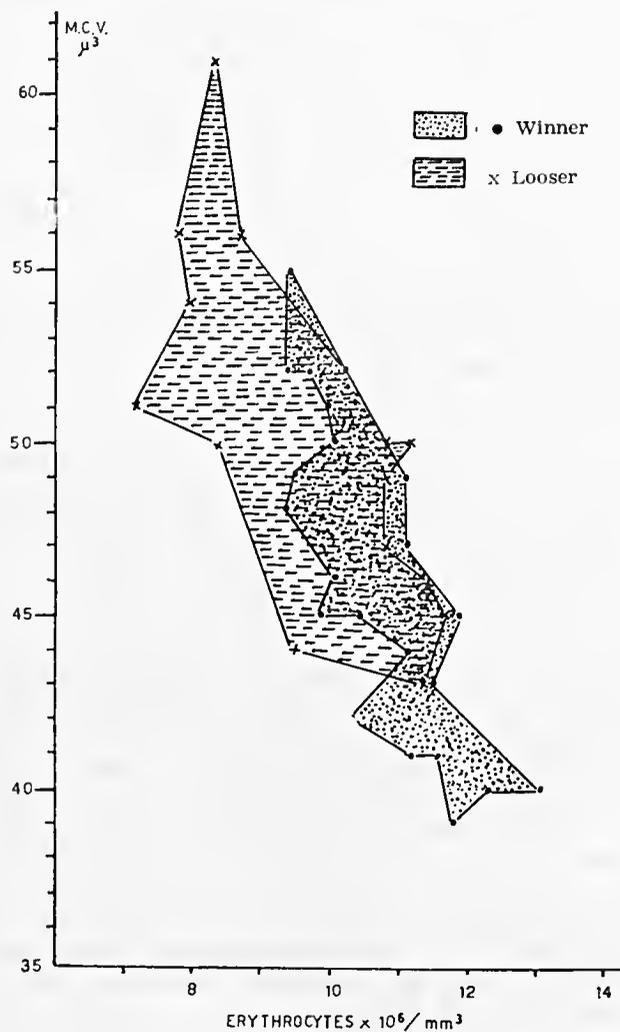
Concerning to hemoglobin, although the difference is not significant between the male winners and losers, it was found that the lowest value for the former were that of 14,06 while for the later it reached 11,62 grams percent. Probably, it was not feasible to detect any significance between the two groups because of the great variability among the losers.

The same considerations can be extended to the packed cell volumes of the two groups mentioned above, which is shown in figure 3.

The mean corpuscular hemoglobin concentration does not show any tendency to deviate in the males, in any category. This fact is in disagreement with the observations of Irvine (6) who without defining the sex, asserted that the best animals presented erythrocytes with higher saturation of hemoglobin. The same author, examining the blood of 30 of the quickest racers among 184 animals, found much smaller values than the ones here marked for hemoglobin and packed cell volumes. Besides, the mean value in these with reference to this sample and to the total group of equine, roughly did not present differences and it must be pointed out that the data obtained were very low, which seems to indicate that his sample is not adequate for this kind of study.

FIGURE 2

Frequency distribution of thoroughbred males, winner and looser, in relation to the mean corpuscular volume (M.C.V.) and the erythrocytes number



Analysing now the results found for the females, in respect to the already commented tests, it was noticed that only the mean corpuscular concentration shows significant difference with a higher value for the winners. No explanation could be suggested for these observations as it did not occur in the males. Concerning the tests in which the results did not differ significantly, the main reason seems to be that they showed a more compact distribution for the winners, as they did not reach very high values, mainly in the number or erythrocytes. Figure 4 and 5 show this aspect for the erythrocytes, packed cell volumes and mean corpuscular volume.

Therefore, in spite of the losers been able to show high blood values, which in a certain way confounds the perception of the differences, the winners, in particular the males, characterize themselves always for results above a minimum relatively high for the majority of the tests, the contrary occurring with the mean corpusecular hemoglobin. The differences are so accentuated for these two last tests and for global counting of erythrocytes in the males, that they differ significantly in both experimental groups. These facts indicate that the animals which have these characteristics are with great probability the fittest. Naturally, the capacity from the hematologic point of view does not necessarily demonstrate that all these animals are always winners, because other factors take part in the final result.

In reference to the results of the research for the evaluation of the sex's influence over the blood picture it was observed that the number of erythrocytes was significantly higher for the males in the category of winners, differences having not been found in the losers.

The study of the tables permits understanding of these facts apparently in disagreement, since, between the losers, the number of erythrocytes showed relatively high frequency of low values, which did not occur with the winners.

FIGURE 3  
Frequency distribution of thoroughbred males, winner and looser, in relation to the hematocrit and the erythrocytes number

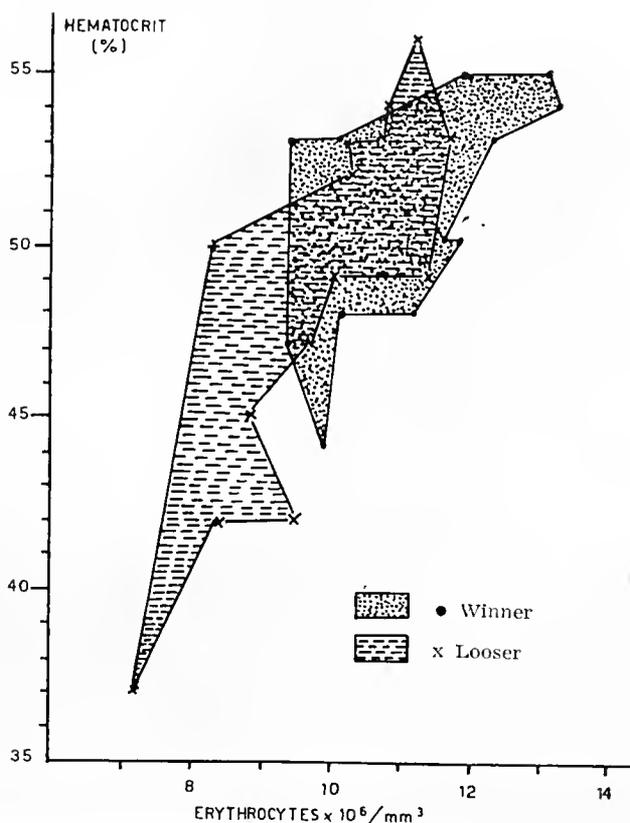


FIGURE 4

Frequency distribution of thoroughbred females, winner and loser, in relation to the mean corpuscular volume (M.C.V.) and the erythrocytes number

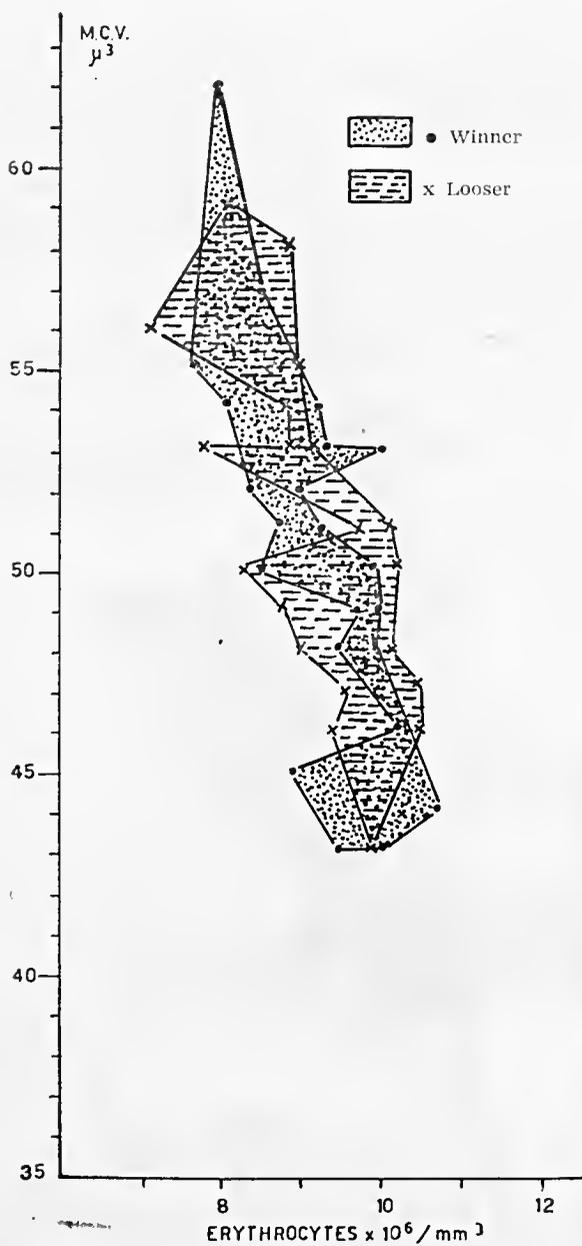
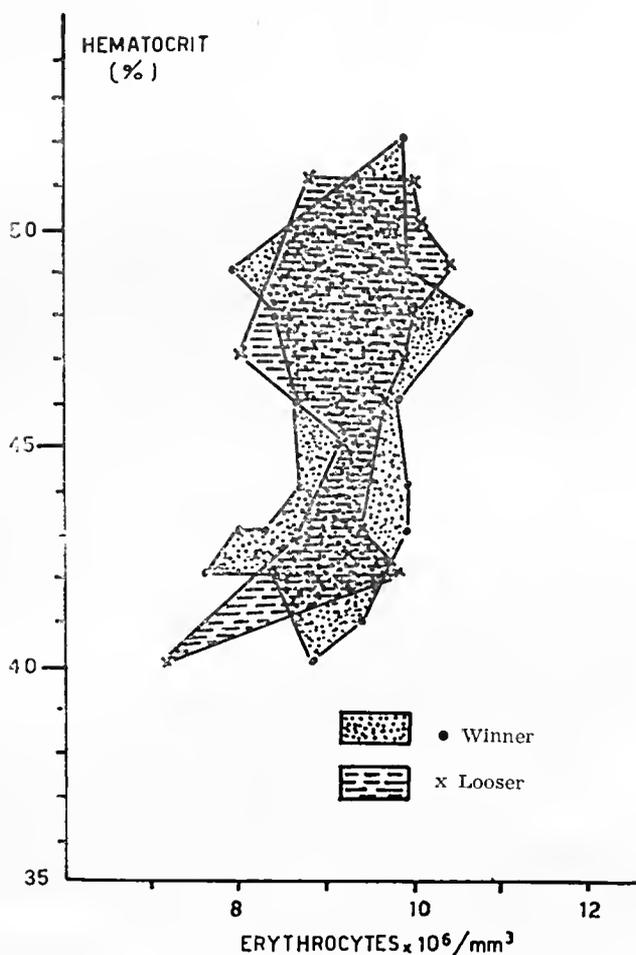


FIGURE 5

Frequency distribution of thoroughbred females, winner and looser, in relation to the hematocrit and the erythrocytes number



Besides, high values are also found among the losers which leads them to a greater variability. As the values of erythrocytes present a lower dispersion for the females in both groups, a significance which can be found when the male and female winners are compared, is not observed when dealing with the losers. Thus, this fact comes to be an evidence of the tendency to higher values presented by the male winners, although an indirect one.

These aspects show a need for homogeneous samples for the hematologic contrasts, between sexes, homogeneity which is much higher in the population of winners, thus permitting to accept as real a difference found in relation to the number of erythrocytes and confirming the findings of other authors (1, 8, 13, 17).

The hemoglobin is seen significantly higher in the males, both winners and losers which is in agreement with Stankiewicz et al. (13) but not with the observation of Archer (1), Santos (11) and Van Den Berg (16).

The packed cell volumes behaved similarly to the hemoglobin, which confirms the findings of Santos (11), while the mean corpuscular volume did not differ between the two categories.

The differences found concerning the mean corpuscular hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration were significant only in relation to the winners, being smaller in the males. As the hemoglobin values and number of erythrocytes are used to calculate the mean corpuscular hemoglobin, and the computation of the mean corpuscular hemoglobin concentration is based upon the hemoglobin and packed cell volumes, their values are not independent and one could anticipate the results for the mean corpuscular hemoglobin as it was shown by Archer (1). Concerning the results of the mean corpuscular hemoglobin concentration however, the fact can only be attributed to a redistribution of the variables with an increase of variability, since the elements used for its calculation differ in sex for both groups.

#### SUMMARY

The main tests which are used for the evaluation of the red series of the blood picture were carried out with 120 Thoroughbred Horses. These equines were divided into two groups considered "winners" and "losers". They were separated according to their sexes and comparisons were made between males and females and between winners and losers.

The statistical analysis showed:

- 1) The male winners have a higher number of erythrocytes, but the mean corpuscular volume and the mean corpuscular hemoglobin are lower than those of the losers.
- 2) The female winners show a higher mean corpuscular hemoglobin concentration than the losers.
- 3) In the group of the winners, the number of erythrocytes, the hemoglobin values and packed cell volumes are higher in the males while the mean corpuscular hemoglobin and the mean corpuscular hemoglobin concentration are lower than in the females.
- 4) The male losers have higher hemoglobin values and packed cell volumes than the females.

#### REFERENCES

1. Archer, R. K. — The normal haemograms and coagulograms of the English Thoroughbred horse. *J. Comp. Path. Ther.*, 69:390-9, 1959.
2. Brenon, H. C. — Erythrocyte and hemoglobin studies in Thoroughbred horses. *J. Amer. vet. med. Ass.*, Chicago, 128:343-5, 1956.
3. Delgado, M. L. V. — II. Valores hemáticos normales y sus variaciones en equinos jóvenes de Venezuela (P.S. de C.). Estudio de los valores sanguíneos y sus variaciones según la zona y el sexo. *Rev. Vet. Venezolana*, 11:145-220, 225-71, 1957.
4. Ferri, S.; Gomes, C. E. S. & Martins, L. F. — Quadro hemático no cavalo Puro Sangue Inglês. (In press).



5. Hansen, M. F.; Todd, A. C.; Cawein, M. & McGee, W. R. — Studies on the hematology of the Thoroughbred horse. II. Weanlings. *Amer. Jour. vet. Res.* **11**:393-6, 1950.
6. Irvine, C. H. G. — The blood picture in the race horse. I. The normal erythrocyte and hemoglobin status. A dinamic concept. *J. Amer. vet. med. Ass.*, **133**:97-101, 1958.
7. King, E. J. & Wootton, S. D. P. — Microanalysis in Medical Biochemistry. 2.<sup>a</sup> ed., New York, Grune Stratton, 1956, p. 36-38.
8. MacLeod, J.; Ponder, E.; Aitken, G. J. Jr. & Brown, R. B. Jr. — The blood picture of the Thoroughbred horse. *Cornell Vet.*, **37**:305-13, 1947.
9. Patrushev, V. I. — Speed and blood value of English race-horses. *Compt Rendus Acad. Sci. URSS*, **23**:714-7, 1939.
10. Rosenfeld, G. — Etilenediamina tetracética dissódica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. *Rev. clin. S. Paulo*, **31**:65-71, 1955.
11. Santos, R. — Determinações hematológicas em cavalos P.S.I. antes e depois do exercício muscular. Tese. Escola Superior de Agricultura e Veterinária, Curitiba, Paraná, 1960.
12. Snedecor, G. W. — Statistical methods, 5th ed. Ames. Iowa States University Press. 1956, p. 166-67.
13. Stankiewicz, W.; Markiewiczowa, Z. & Malinowski, W. — Hematologiczne badania koni pelnej krwi i rasy Fiording. *Med. vet.*, **16**:594-8, 1960.
14. Steel, J. D. & Whitlock, L. E. — Observations on the haematologic of Thoroughbred and Standardbred horses in training and racing. *Australian vet. J.*, **36**:136-42, 1960.
15. Tapernoux, A. & Pagnon, F. — Contribution a l'étude de la sédimentation globulaire du sang de cheval. *C. R. Soc. Biol.*, **115**:64-66, 1933.
16. Van Den Berg, J. H. — Diss. Utrech., 1927. Cit. Trum, B. F. — Normal variances in horse blood due to bred, age, lactation, pregnancy and altitude. *Amer. J. Vet. Res.*, **13**:514-9, 1952.
17. Vaulont, H. — *Z. Biol.*, **96**:241, 1935. Cit. Trum. B. F. — Normal variances in horse blood due to bred, age, lactation, pregnancy and altitude. *Amer. J. vet. Res.*, **13**:514-9, 1952.
18. Wintrobe, M. M. — Clinical Hematology — 5th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1965, p. 402-3.





## O DESENHO MICROSCÓPICO NA DOCUMENTAÇÃO CIENTÍFICA. NORMAS PARA O SEU APRENDIZADO

LUCILIA MAIA AMORIM \*

### IMPORTÂNCIA DO DESENHO MICROSCÓPICO NAS CIÊNCIAS MORFO-BIOLÓGICAS.

#### SUA NECESSIDADE.

Pouco valor se dá ainda, entre nós, ao desenho microscópico como documentação científica para as publicações de livros, atlas, monografias, trabalhos de pesquisas, etc.

Com algumas raras exceções, nem mesmo se começou a reconhecer a necessidade desse gênero tão importante e valioso de documentação científica. Entretanto, as numerosas publicações estrangeiras, tanto antigas como recentes, de vários países de cultura tradicional, ilustradas com desenhos microscópicos coloridos e até em branco e preto, estão sempre a atestar a necessidade e a importância desse gênero de documentação, não obstante o uso atualmente mais generalizado das microfotografias, por serem estas mais fáceis de obter.

Citaremos apenas algumas obras em que o valor do desenho como meio de ilustração se torna evidente. Assim, em anatomia patológica, por exemplo, o grande tratado de Henke e Lubarsch, não só em seus volumes mais antigos, como ainda em seus últimos volumes editados depois de 1955, sobre Sistema Nervoso; o tratado de Anatomia Patológica Geral de Buechner, Roulet e Letterer; o compêndio de *Histopatologia* de Borst tão útil e elucidativo nos casos duvidosos de diagnóstico, quase inteiramente ilustrado com desenhos microscópicos; a *Patologia Morfológica* de Hueck (1944) feita quase exclusivamente com desenhos em branco e preto, freqüentemente esquematizados; o *Atlas du Cancer* em 9 fascículos editado pela Association Française pour l'étude du Cancer, inteiramente ilustrado com desenhos microscópicos coloridos; o *Diagnostic du Cancer Genital Chez la Femme*, Raymond Bourg, Claude Compel, Jean Paul Pundel (1954), o *Atlas of Exfoliative Cytology* de Papanicolau publicado em 1954, reeditado ultimamente em 1962.

Em histologia normal, são numerosos os livros didáticos que empregam preferentemente o desenho microscópico como meio de ilustração. Assim, além do tratado de Moellendorf, os compêndios, desde os clássicos como Rudolf Krause, G. Levi, etc., até os mais recentes de Maximow-Bloom, o de Worth-Han (1958) e Ham e Lesson (1961), e a *Histologia Normal* de Celestino da Costa que inclui

---

\* Desenhista microscopista do Departamento de Patologia, Cátedra de Anatomia e Fisiologia Patológicas da Escola Paulista de Medicina (Prof. M. de Freitas Amorim, ex-chefe da Seção de Anatomia Patológica do Instituto Butantan).  
Recebido para publicação em 17 de julho de 1968.

vários desenhos do próprio autor; a histologia de Schumacher e Marienfrid, em edições atuais, etc. Inúmeras são as obras que deixamos aqui de mencionar para não nos alongarmos demasiadamente.

Em certos casos, é indeseitável a necessidade dos desenhos microscópicos para demonstrar detalhes histológicos, somente possíveis de reproduzir a bico de pena ou a pincel. Uma gota de gordura por exemplo, em cortes corados pelo Escarlate R. pode ser muito melhor reproduzida por uma gota de tinta transparente aplicada com o pincel. A microfotografia só dá nesse caso, uma imagem opaca e empastada.

A estrutura finíssima dos glóbulos sanguíneos, principalmente as pequenas diferenças existentes entre os glóbulos imaturos, podem ser admiravelmente imitadas com o uso de tintas transparentes como o nankin, e a aquarela.

A composição microscópica das estruturas de natureza fibrilar, qualquer que seja a coloração usada nos preparados, o tecido nervoso impregnado pela prata como nos métodos de Cajal para a demonstração das neurofibrilas, a coloração da mielina pelo método de Spielmeyer, a representação da micro e oligodendroglia pelos métodos de Hortega e Penfield, que nas microfotografias aparecem mais grosseiramente, empastadas, podem ser nítidas e perfeitamente imitadas em tôdas as suas complicadas tramas e minúcias pelo pincel e a bico de pena.

A representação dos diferentes planos, tão necessária para evidenciar os prolongamentos nervosos, a direção das fibras, etc. nunca é tão perfeita em uma microfotografia, como em um desenho microscópico. Da mesma forma os detalhes íntimos das células cancerosas, os distúrbios nucleares, mitoses patológicas e normais, a evidenciação até de cromosomas superpostos, etc.

Estes são apenas alguns dos numerosos exemplos que poderíamos aduzir demonstrando a enorme vantagem e a necessidade dos desenhos microscópicos, de tão larga aplicação também em tantos outros ramos da ciência, como à Botânica, Zoologia, Genética, etc.

Um desenho microscópico bem objetivo e perfeito, dá a idéia exata do preparado. Por isso, é extremamente útil e elucidativo, facilitando o reconhecimento do tecido e o diagnóstico durante o aprendizado da histologia e da histopatologia.

Não é esta uma afirmação apaixonada de quem se devotou a este mister. Ouçamos a abalizada opinião dos grandes histologistas: Celestino da Costa e Chaves, que em sua última edição revista e aumentada preceituavam "Como documentação científica, exceptuando a microfotografia, que tem suas indicações especiais, o desenho é a forma de expressão mais completa que possui o micrografo; esta forma de expressão é muito mais objetiva que a verbal ou escrita e muito mais clara e compreensível. Um bom desenho com uma concisa legenda, vale uma longa descrição" (Manual de Técnica Histológica, 3.<sup>a</sup> Edição, 1943).

O *desenho microscópico* chamado didático (vide adiante pág. 196) como auxiliar de aprendizado de histologia e histopatologia, é também preconizado por muitos, pois auxilia a gravar melhor na memória do aluno as imagens microscópicas.

Por isso, em alguns cursos de Histologia Normal e Embriologia e em Anatomia Patológica de nossas Faculdades, a exemplo do que é feito em certas Universidades estrangeiras, o desenho mesmo simplesmente feito a lápis de côr é obrigatório. Assim, M. F. Amorim, na Escola Paulista de Medicina, desde 1943, exige em seus cursos práticos de Histopatologia o desenho de todos os preparados demonstrados e emprestados aos alunos em caixas de 100 ou mais lâminas. Estes

devem apresentar o seu caderno individual, para poderem entrar nos exames práticos e finais. Assim procede esse professor, afirmando: "só desenhando podemos ver e gravar certos detalhes que nos passariam completamente despercebidos ao exame habitual dos preparados a uma simples vista de olhos". O mesmo faz, segundo sabemos, o Prof. Nilceu Marques de Castro na cadeira de Histologia e Embriologia da mesma Escola.

Wolfgang Buecherl ainda ultimamente, em seu ótimo livro de Técnica Histológica, atualizado e reeditado em 1962, afirma: "Desenhar ao microscópio educa o olho do observador para o estudo dos detalhes. Só o que foi desenhado, foi realmente visto". "Um bom desenho de uma estrutura histológica ou de um animal novo para a ciência, esclarece o leitor mais que a descrição".

Evidentemente, dadas as dificuldades que se encontram para se chegar a ser um bom desenhista microscopista, principalmente devido à necessidade do preparo científico prévio, segundo o ramo da ciência em que se venha a trabalhar, poucos são aqueles que, mesmo em países adiantados, se dedicam a esse campo tão difícil, ingrato e de regra mal recompensado.

Todavia, nos grandes centros, um desenhista microscopista, é considerado como um artista extremamente especializado, e recebe da parte dos cientistas um grande estímulo, pela compreensão e respeito ao seu enorme auxílio nas publicações, e o alto nível do seu trabalho.

Julgamos importante, por isso, incentivar também entre nós o cultivo desta arte que vive modestamente escondida na sombra de alguns laboratórios ou fechada nas estantes de livros e visível apenas para uns poucos que entretanto, lhe sabem dar o devido valor.

Realmente, não se deve esperar que esse trabalho, tão altamente especializado, apareça a vista de todos como tarefa de primeira grandeza. O principal é que se consiga coadjuvar, dando uma pequena colaboração à ciência ainda que indireta e modesta, embora fiquem ignorados todos os esforços, o preparo prévio e o idealismo exigidos do desenhista microscopista.

Antes, contudo, de passarmos às técnicas do desenho microscópico vejamos ainda algumas considerações sobre suas vantagens e desvantagens em relação à microfotografia.

#### O DESENHO MICROSCÓPICO EM FACE DA FOTOMICROGRAFIA. IMPORTÂNCIA E LIMITAÇÕES RESPECTIVAS

Por tôdas as dificuldades acima referidas e devido aos progressos da fotomicrografia, passaram alguns cientistas a usar como ilustração somente esta última, o que entretanto, conforme o caso, poderá dificultar ao estudante ou mesmo ao pesquisador o trabalho de identificar uma lesão ou um tecido. Todavia, muitos autores entre os mais esclarecidos, como citamos, continuam, malgrado as dificuldades, usando também os desenhos microscópicos coloridos em seus trabalhos e obras, embora na maioria dos casos de perneio com microfotografias.

Certamente, em numerosos casos, o uso da fotomicrografia colorida e mesmo em branco e preto, presta relevantes serviços e é insubstituível, na documentação científica. Longe de nós pretender diminuir o valor inestimável desse tipo de ilustração.

Todavia, julgamos importante chamar a atenção para a necessidade absoluta do uso mais frequente dos desenhos microscópicos nas publicações científicas, principalmente naquelas que têm finalidade mais acentuadamente didática. Além

disso, achamos útil salientar os perigos da má aplicação das microfotografias quando mal feitas ou mal escolhidas, pois estas não raro reproduzem também os defeitos e artefatos de técnica acaso existentes em preparados tidos até como perfeitos, além de acrescentar-lhes muitas vezes outros, inerentes a própria microfotografia segundo adiante veremos, o que pode levar o estudante a erros de interpretação, etc. Nem por outro motivo Wolfgang Buecherl salienta judiciosamente: "Cuidado com as microfotografias! Para que uma reprodução microfotográfica possa realmente vir a constituir uma documentação detalhada e correta do que se observa de fato sob o microscópio, deveriam ser sanados inúmeros inconvenientes". (Técnica Microscópica, pág. 31, 1962).

A principal desvantagem da microfotografia, tanto em branco e preto como colorida, é que ela reproduz inexoravelmente os defeitos acaso presentes nos preparados microscópicos. Muitas vezes pode acontecer que estes não tenham sido notados ao exame prévio, mas aparecem então na foto de modo a chamar a atenção e a prejudicar a sua interpretação, para não nos referirmos já a sua beleza e perfeição. Outras vezes, eram quase invisíveis ao exame comum e agora chamam a atenção, como manchas, bolhas de ar, grãos de poeiras atmosféricas, precipitados, ou mesmo artefatos de técnica, etc. Nestes casos, quando se é habituado a usar só a microfotografia, pode acontecer que nos vejamos obrigados a pôr de lado um preparado precioso e único, insubstituível, só porque no ponto justamente escolhido para a fotografia, apresenta qualquer dessas imperfeições, mesmo que o seja em planos diferentes do foco desejado, mas que na microfotografia nos irá perturbar por aparecer como uma mancha preta ou um defeito indesejável e impossível de ser afastado. Fatos como esse já ocorreram não raramente neste laboratório e certamente também em outros. Ora, com o descuido podem se aproveitar também tais preparados, quando de reconhecido valor científico, pois o desenhista não será obrigado nem deverá reproduzir o que não faz parte integrante do objeto.

Por outro lado, mesmo independente desses senões, também em muitos outros casos, como é fácil de se constatar ao analisar muitos livros didáticos ou trabalhos de pesquisa atuais, a microfoto nem sempre é o método ideal para o escopo didático, mesmo em se tratando de livros científicos, médicos, etc., pois freqüentemente muitas imagens que se vêm nesses livros, são difíceis de serem "lidas" ou "interpretadas", nada demonstrativas e, portanto, mesmo antididáticas.

Ocorre ainda uma outra desvantagem comumente observada neste laboratório e em inúmeros trabalhos atuais. Muitas vezes aparecem na figura, formando um fundo artificial à mesma, tonalidades ou manchas que o preparado não contém. No caso especial das microfotos coloridas, é comum sobrevir uma coloração de fundo "adicional" que absolutamente não existia no preparado original, não raro prejudicando enormemente a reprodução fiel do mesmo. Assim um defeito conhecido, por exemplo, por todos aqueles que estão habituados com o trabalho de microfotos em cores, é o fundo demasiado amarelo esverdeado ou azulado que constitui um inconveniente de certos filmes, além de ser extremamente anti-estético.

Em conclusão, pois, também a microfotografia tem as suas indicações precisas e deve ser bem escolhida para ser útil. Só as microfotos muito perfeitas claras e nítidas, com rigorosa exposição dos detalhes e de fundo devem ser aproveitadas para publicação, após serem submetidas a rigorosa crítica e seleção artística e técnica. Não é só por ser microfoto que pode ser utilizada, pois, quando má, a ilustração iconográfica de qualquer trabalho, seja ela qual fôr, tanto desenho como fotografia, diminuirá certamente o valor do mesmo, baixando-o a um nível inferior.

Dada a ausência de cursos de desenho científico entre nós, dedicamos longos anos a êsse mister em demorado preparo prévio artístico e científico no Brasil, êste último nos Laboratórios de Anatomia Patológica do Instituto Butantan e Escola Paulista de Medicina (serviço do Prof. M. de Freitas Amorim). Mais tarde na Alemanha continuamos êsse estudo, trabalhando primeiramente no Instituto de Patologia Cerebral de Spielmeyer-Scholtz, em Munich, depois na Universidade de Freiburg in Breisgau, sob a direção do Prof. Bissier e no Instituto de Patologia de Aschoff.

Procuramos resumir adiante alguns conselhos práticos ditados pela nossa experiência, na esperança de que sejam úteis àqueles que tiverem o desejo de se dedicar ao desenho microscópico.

#### PREPARO PRÉVIO PARA O DESENHO MICROSCÓPICO. CONHECIMENTOS ARTÍSTICOS E TÉCNICOS. PREPARO BÁSICO CIENTÍFICO.

Como ainda não existem entre nós cursos apropriados especiais para o desenho científico, onde os alunos possam adquirir ao mesmo tempo tanto os conhecimentos artísticos como o preparo científico, só podemos admitir, evidentemente, que possa abordar a especialização em desenho microscópico, aquele que já tenha um bom preparo cultural biológico e artístico prévios.

A prática em desenho e pintura é necessária, pois a firmeza e a segurança do pincel só se conseguem após longa paciência e treinamento, e sem essa qualidade é inútil tentar o desenho microscópico para ilustrações.

Partindo dêsses princípios, deve-se passar ao preparo científico dentro da especialidade em que se vai trabalhar. É necessário que o aluno além de possuir as bases científicas indispensáveis adquira pelo menos noções gerais sobre o assunto a abordar.

Como porta de entrada, julgamos muito importante as noções gerais de histologia e citologia. Além do aluno adquirir com isto conhecimentos indispensáveis sobre as diversas estruturas de tecidos e órgãos, aprende a penetrar assim na intimidade dos mesmos e a educar a visão no microscópio.

No caso da Anatomia Patológica é indispensável que o desenhista esteja familiarizado também com a imagem microscópica dos diferentes tecidos e órgãos normais e patológicos. Para êsse fim deve êle freqüentar as aulas de projeção de lâminas e estudar, tanto quanto possível, as mesmas ao microscópio, com as respectivas descrições, de modo a "adquirir uma visão, ainda que parcial, de alguns aspectos microscópicos comuns nessa ciência".

No caso dos ramos mais especializados da ciência, havendo já uma base, os conhecimentos necessários de histologia e histopatologia serão mais limitados para o desenhista. Assim se êste vai trabalhar para a patologia do olho por exemplo, bastam-lhe os conhecimentos mais profundos de histologia e histopatologia ocular e o mesmo se dará com outras especialidades.

Esses conhecimentos preparatórios acima citados, podem ser adquiridos durante uma freqüência, como ouvinte, às aulas de Histologia Normal e Patológicas e a aplicação ao microscópio pelo espaço de um ano aproximadamente, enquanto o aluno exercita, em primeiros ensaios, o desenho das imagens microscópicas, procurando objetivá-las bem a lápis de côr ou preto ou mesmo já a nankin ou a aquarela.

O mesmo seria aplicável a outras especialidades, variando, como disse, a extensão desses estudos, segundo a sua necessidade.

Somente após esse preparo, deve o aluno se considerar apto a começar realmente a fazer as primeiras tentativas de realização do desenho microscópico aplicável à ilustração de trabalhos científicos.

### OS DIFERENTES TIPOS DE DESENHOS MICROSCÓPICOS

Existem vários tipos de desenho microscópico, conforme a sua finalidade.

1 — *O desenho microscópico chamado didático* usado no aprendizado de ciências biológicas, médicas, etc. Tem a finalidade de desenvolver as faculdades de observação, da memória visual, auxiliando o estudante a reter os caracteres morfológicos e as suas relações topográficas. Concorre pois com eficiência para o aprendizado científico.

É geralmente semi-esquemático, feito a lápis de côr ou mesmo prêto. Deve reproduzir o mais corretamente possível a estrutura do preparado. Porém, evidentemente não se pode exigir que seja obrigatoriamente perfeito, isto é, representando ora o relevo, ora a profundidade dos diferentes planos, tais como são vistos ao microscópio, o que exigiria já muito mais tempo para a sua execução e especial capacidade artística. Esses desenhos devem apenas demonstrar que o aluno compreendeu, aprendeu e interpretou a estrutura do objeto estudado, reproduzindo-o diretamente da natureza. São geralmente feitos a lápis de côr para maior rapidez.

2 — *Desenho microscópico para documentação de trabalhos científicos*: a finalidade de um desenho microscópico desse gênero é sempre demonstrar um aspecto histológico que possa ser realmente reconhecível. Sua função pode ser ainda aqui também didática ou apenas comprobatória de achados científicos, o que aliás não exclue a possibilidade de ser aproveitável também para o ensino.

Assim sendo, pensamos que só se pode conceber um desenho desta espécie, quando seja a expressão fiel da verdade, o que aqui significa a reprodução exata do preparado.

Ao desenhista microscopista não é permitida nenhuma fantasia. Os seus olhos trabalham como uma objetiva fotográfica, facultando-lhe porém, maiores recursos técnicos, que lhe permitem, como dissemos no início deste trabalho, reproduzir aspectos e detalhes que, ao contrário do que se pensa comumente, muitas vezes não podem ser atingidos pela própria microfotografia.

O pesquisador exige pois, do seu desenhista, uma grande honestidade científica, não permitindo nunca ao seu pincel, nenhum ligeiro desvio ou interpretação fantasiosa.

Este é não somente o nosso modo pessoal de interpretar e executar os desenhos microscópicos para ilustração, como também o de vários outros desenhistas, como muitos principalmente da escola alemã (vide Freitag na Histologia Patológica de Borst, no Tratado de Henke e Lubasch P. Schwartz, L. R. Müller, Hermann e vários outros, tanto antigos como modernos).

Existem porém, outros desenhistas como por exemplo Constantin, no Atlas du Cancer que não copiam exatamente o preparado. Facilitam a sua tarefa representando primeiramente a topografia das estruturas principais do mesmo, esquemati-

zando apenas ligeiramente as estruturas mais finas. Não desenham todos os diferentes planos e não procuram representar todos os pormenores do preparado, senão somente aqueles que fazem parte essencial da estrutura a representar. Esta é uma técnica também muito usada que preenche de um modo geral a sua finalidade. Mas, a nosso ver tais desenhos não são perfeitamente elucidativos quando se trata de bem interpretá-los, sobretudo para os mais inexperientes no assunto desenhado. Para estes, julgamos muitíssimo mais útil ou mesmo indispensável que encontre no desenho a expressão a mais fiel possível do preparado, para que possam facilmente identificá-lo depois quando do exame microscópico.

3 — *O desenho microscópico realmente esquemático*: É útil, de mais fácil execução e deve ser usado somente quando indicado, para finalidades didáticas, a fim de chamar a atenção sobre determinados caracteres histológicos.

É geralmente representado por traços a nanquin ou mesmo feito a aguada, com pineel. Tem em vista reproduzir apenas formas e poucos detalhes sempre esquematicamente e não tem nem a finalidade e nem a propriedade de demonstrar verdadeiramente as estruturas finas do objeto (vide como exemplo *Diagnostique Cytologique du Cancer Genital Chez la Femme* — Raymond Burg, Claude Combet, Jean Punder — Atlas — 1954). Também em outros ramos o mesmo se aplica. Assim na Bacteriologia, o professor Otto Bier em sua *Microbiologia* — 1961 afirma ter preferido no que concerne às ilustrações, esquemas e desenhos semi-esquemáticos, geralmente mais demonstrativos do que fotografias, uma vez que em se tratando de um livro didático, não houve preocupação de documentar o texto, mas tão somente de facilitar-lhes a compreensão.

Não deixam entretanto, estes desenhos, de ser uma “forma de expressão da verdade” a única aliás, concebível em um desenho de ordem puramente científica.

#### REGRAS E NORMAS GERAIS PARA O DESENHO MICROSCÓPICO

Antes de abordarmos ainda a execução propriamente do desenho, desejamos abrir um parêntesis para salientar um princípio muito importante do qual não poderemos nos separar durante toda a execução do mesmo, isto é: *A representação dos diferentes planos no desenho microscópico a noção do relevo ou profundidade.*

Quando examinamos um preparado ao microscópio, movendo o micrométrico, percebemos diferentes planos que mudam de aspecto conforme o movimento que imprimimos ao mesmo. Quando porém, focalizamos um determinado ponto ou plano e conservamos o micrométrico parado, vemos então, não somente este primeiro plano focalizado, mas podemos observar também que ele se superpõe a outros planos mais profundos, dos quais alguns aparecem mais próximos, ainda com os seus contornos ligeiramente nítidos, e outros ainda mais profundos e pouco perceptíveis. A representação desses diferentes planos é muito importante e mesmo indispensável à realização de um desenho realmente objetivo, pois só assim podemos dar a noção do relevo e da profundidade.

#### O CONHECIMENTO EXATO DO PREPARADO

Ao começarmos um desenho microscópico, antes de mais nada devemos estudar muito bem o assunto a reproduzir, conhecer a sua estrutura e procurar saber exatamente qual a sua finalidade, isto é, o que há de mais importante a ressaltar,



pois embora se trate de um desenho mais objetivo, conforme já salientamos, não se deve trabalhar só mecânicamente. Os nossos olhos devem trabalhar como uma objetiva fotográfica, tal a exatidão que devemos observar, porém, sincronizada com o nosso raciocínio.

O campo escolhido deve ser bem estudado sob diversos aumentos a fim de sabermos qual deles evidencia melhor a nossa finalidade. Depois estuda-se a topografia que melhor se adapta à forma geral de conjunto que desejamos dar ao nosso desenho. Esta pode ser um círculo, um retângulo, um quadrado, etc. ou mesmo ter uma forma irregular, conforme a nossa necessidade ou desejo.

É muito importante escolher o tamanho do desenho de acordo com o aumento usado. Notar que um desenho panorâmico, por exemplo, dificilmente se enquadra em um campo muito pequeno, pois o nosso pincel não tem o mesmo alcance de uma objetiva de pequeno aumento.

#### MATERIAL

*Mesa.*

*Lâmpada:* um abat-jour cuja luz possa ser projetada sobre a prancheta.

*Microscópio:* sobre o qual falaremos adiante.

*Prancheta:* do tamanho aproximado de 40 x 30 cms.

*Papel:* o mais indicado é liso, mais opaco do que brilhante e de ótima qualidade. As marcas "Bristol" e "Cavalinho" são as mais recomendáveis para o desenho microscópico destinado a ilustração e podem também ser usados para os desenhos a lápis.

Os lápis pretos devem ser marca Faber n.º 1, 2 e 3.

Usam-se para os desenhos a lápis de cor às melhores marcas, e tanto os duros com ponta bem fina para os detalhes, como os moles para os fundos e traços mais grossos. É recomendável ter o maior número possível de nuances.

*Tintas:* as melhores para se obter uma boa transparência são os nankins de côres e para os preparados corados pela hematoxilina e eosina, os próprios corantes, quando novos e bons.

As aquarelas transparentes também são usadas. Estas quando acondicionadas em tubos, oferecem a vantagem de conterem tintas puras e livres de mistura de outras côres. Quando novas e moles, são preferíveis aos tijolos, pois estes ficam muitas vezes impregnados de outra cor levada pelo pincel, o que é quase inevitável quando se misturam as tintas; todavia, pela sua duração, são muito usados.

*Pinceis:* devem ser de pêlo de marta legítimos, mais geralmente de forma arredondada e ponta fina, de acordo com o fim a que se destina. Os de forma achatada são raramente usados, devendo ser reservados somente para os fundos, quando necessários.

*Penas:* podem ser desde as mais finas até as de ponta comum de escrever, também aplicáveis em determinados casos.

*Borrachas:* bem moles e de boa qualidade.

*Esfuminhos:* de diversos tamanhos.

*Palheta* de porcelana.

*Godets:* com várias divisões para serem usados com as tintas líquidas.

*Câmara clara:* existem várias e boas e de simples manejo, como por exemplo a Nacher (francesa) a Zeiss (alemã) e outras.

*Microscópio:* para o desenho se devem usar os microscópios mais aperfeiçoados, pois estes auxiliam mais a evidenciar os detalhes. Para o iníeio, um microscópio binocular de padrão regular, já presta bons serviços. O aluno deve se familiarizar bem com o mesmo, procurando adquirir prática em maneja-lo, mesmo nas suas operações mais simples, como trocar as oculares e objetivas, a abrir e fechar o diafragma, levantar e abaixar o condensador, acertar a focalização e iluminação, usar o macro e o micrométrico, etc.

A prática no manuseio do microscópio, pôde, a nosso vêr, ser adquirida pelo uso diário desse aparelho, uma vez que sejam observadas as devidas precauções recomendadas em todos os laboratórios.

Com relação pròpriamente ao seu conhecimento mais detalhado, este é um assunto que não cabe neste pequeno trabalho, por isso enviamos o leitor acaso interessado, às muitas descrições dos diferentes tipos e marcas de microscópios existentes tanto em livros científicos, como em quase todos os manuais de técnica microscópica para uso dos laboratórios.

#### TÉCNICA DO DESENHO MICROSCÓPICO EM CÔRES PARA DOCUMENTAÇÃO

O desenho microscópico em côres para documentação pròpriamente dita é na realidade um mixto de desenho e pintura, como adiante veremos, e talvez mais ainda pintura, tais os problemas verdadeiramente pictóricos com que nêlc depa-ramos.

Pode-se iniciar o seu aprendizado como uma fase preparatória, com os desenhos a lápis de côr. Todavia, o aluno deverá observar rigorosamente tôdas as recomendações que se seguem, apenas substituindo o pincel, a pena e a tinta, pelos lápis que devem ser de boa qualidade, uns mais moles para os fundos e outros mais duros para os detalhes. Usa-se o menos possível a borracha para não ferir o papel. Estes desenhos, porém, nunca devem ter o mesmo caráter dos chamados didáticos, isto é. semi-esquemáticos, pois isso disvirtuaria e viciaria aquêlc que se propusesse justamente a reproduzir um preparado. Conforme atrás assinalamos, o desenho didático é utíllissimo apenas para o aprendizado de histologia, das ciências biológicas, médicas, etc.

Nós, pessoalmente, aconselhamos iniciar o aprendizado do desenho microscópico para ilustração já com tinta, pincel e pena.

Em uma mesa estável, coloca-se o microscópio, tendo a prancheta à direita e um abat-jour cuja luz possa ser projetada sôbre a mesma.

Coloca-se na prancheta, preso por taxas, um pedaço de papel de desenho do tamanho apropriado. Marca-se ao lado da zona a ser desenhada, o n.º e indicações do preparado, da ocular, objetiva e a marea do microscópio. Assinala-se sôbre a lamínula, com tinta de eserever e pena bem fina, o campo escolhido, fixando-se a lâmina ao microscópio.

Tomaremos para começar um campo inteiro do microscópio, ao contrário de iniciarmos o aprendizado com uma área mais restrita ou mesmo com uma só célula como poderia à primeira vista parecer mais fácil e indicado; se por um lado reproduzir um campo inteiro parece mais complicado, por outro lado essa técnica nos oferece certas facilidades, como por exemplo, a sua limitação natural e a possibilidade de encaixá-lo dentro de um círculo igual no papel e dividi-lo em

diferentes partes, o que nos impede os erros de proporção etc., facilitando também a localização da conformação das figuras principais.

Para o principiante é muito difícil, entre os vaevem dos olhos, do microscópio para o papel, localizar, sem um limite préestabelecido um determinado trecho dentro de um campo grande. Só com a prática se consegue este objetivo.

Antes de iniciarmos o esboço, devemos estudar o campo escolhido em seus diferentes planos, preferindo aquele que mais evidencia aquilo que é mais importante salientar. Uma vez escolhido o plano que vai ser desenhado, não mais se toca no micrométrico durante o trabalho que se segue para não mudar o plano. Somente se usará o micrométrico, quando necessário, no decorrer do desenho, para tirar qualquer dúvida sobre sombras vistas em planos mais profundos que podem tanto ser artefatos de técnica que neste caso não devem ser reproduzidos, como também células ou outros detalhes que se encontram em vários planos. Estes deverão ser representados, porém, somente como são vistos no plano escolhido; é necessário, pois, sempre que se mover o micrométrico, tomar o cuidado de reencontrar o plano que está sendo desenhado. Esta observação é muito importante, pois, um bom desenho jamais poderá ser executado, como já dissemos, focalizando-se diferentes planos ao mesmo tempo, o que daria uma imagem confusa e inexacta do preparado. É portanto, necessário estar sempre vigilante durante a execução do desenho, para que o micrométrico não se desloque com qualquer trepidação, levando o desenhista menos experiente a reproduzir insensivelmente um plano diferente do primeiro escolhido, ou, pior ainda, reproduzir ora um ora outro.

#### *As 4 etapas do desenho microscópico*

Geralmente executa-se o desenho em quatro etapas, conforme exemplificamos na fig. 1.

A nossa experiência também nos convenceu da vantagem desse método, porém com pequenas variações. Assim, em muitos casos, adotamos as técnicas de divisão em 4 etapas, mas do modo que procuramos representar em nosso desenho da fig. 2.

Para o primeiro modelo, desenha-se primeiramente levemente um círculo de tamanho escolhido que se divide com um leve traço a lápis preto n.º 3, em 4 partes iguais. Procura-se fazer o mesmo com linhas imaginárias (não esquecer nunca estas linhas no decorrer do trabalho) no campo do microscópio. Esta operação já por vários autores usada, auxilia bastante a fim de serem conservadas as mesmas proporções, quando se deseja reproduzir o campo inteiro como é o caso que tomamos por modelo.

Para começar, tomamos como exemplo um tecido glandular normal (glândulas gástricas da região pilórica), corado pela hematoxilina e eosina, visto sob forte aumento (objetiva 40, ocular 10) (Fig. 1). O fundo é constituído por tecido conectivo intersticial que se vê corado em róseo pela eosina, variando em nuances, destacando-se os núcleos em azul, corados pela hematoxilina.

Destacam-se os ácinos glandulares como motivo principal, formados pelo epitélio glandular constituído por células altas, cilíndricas ou cúbicas, cujo citoplasma é corado em róseo, ligeiramente basófilo, perebendo-se levemente as granulações citoplasmáticas. Os núcleos são de um azul arroxeadado e aparecem contornados por um halo mais escuro, deixando ver em sua estrutura, pequenas granulações de cromatina.

Antes ainda de começar o esbôço, procura-se objetivar bem a sua topografia em relação ao círculo.

1.<sup>a</sup> etapa: com lápis faber n.º 3 de ponta bem fina, marca-se esquematicamente, encaixando dentro das respectivas divisões de círculo, a configuração principal do campo escolhido. Verifica-se depois a sua exatidão, tirando-se o aspecto mais esquemático, pelo acréscimo de alguns poucos detalhes (vide 1.<sup>a</sup> etapa, fig. 1).

2.<sup>a</sup> etapa: observam-se então muito bem ao microscópio as diferenças de côres e a escala de valores de intensidade das mesmas. É indicado neste caso, fazer primeiramente o fundo róseo (com eosina bem diluída em água ou tinta nankin carmin) do conectivo com suas nuances, respeitando os claros em tórno das glândulas e deixando para fazer os núcleos das células em azul. Notar que se deve sempre partir do mais claro para o mais escuro, somente em certos casos, os desenhistas mais arrojados fazem o contrário. Nunca se usa de uma vez a intensidade exata. Procura-se sim a côr exata, porém, sempre mais clara do que aquela que se vê ao microscópio. É importante aqui não confundir intensidade da côr com diferença da côr.

Repete-se a operação e se não se consegue a intensidade desejada, usa-se tinta um pouco mais forte.

Os claros devem ser rigorosamente respeitados.

3.<sup>a</sup> etapa: passa-se agora a trabalhar nas figuras mais salientes, isto é no caso da nossa lâmina, glândulas, usando-se ainda a mesma técnica do fundo, porém, com a côr rósea ligeiramente misturada com a azul (a própria hematoxilina ou o azul ultramarino do nankin) para fazer sobressair o citoplasma das células do epitélio glandular, podendo-se já, com um pincel bem fino ou pena, assinalar ligeiramente, se necessário, a sua junção, limites e algumas nuances mais delicadas.

Deve-se fazer aqui uma pequena pausa a fim de descansar a vista e prepará-la para uma revisão da parte do trabalho já executado.

Concentra-se a atenção na avaliação da intensidade dos tons róseos e seus contrastes, em confronto com o original, fazendo-se os retoques necessários.

Nesta altura, deve-se começar a assinalar os núcleos dos planos mais profundos, primeiro levemente, com pena bem fina, fazendo-se os contornos e enchendo-os com as côres de fundo dos mesmos, ora mais escuros, ora mais claros. Observa-se, com cuidado a tonalidade relativa entre fundo dos núcleos feitos a pincel e as granulações à pena, isto é, notando que os núcleos mais claros, vistos em planos mais profundos, têm também contornos mais claros, quando estes são visíveis.

4.<sup>a</sup> e última etapa: finalmente, após um exame acurado feito comparativamente entre o preparado e o desenho, apura-se a avaliação de intensidade dos roxos, seus grandes e pequenos contrastes e as leves sombras correspondentes aos planos mais profundos.

Desenham-se então os núcleos do primeiro plano.

Por último, tomando-se uma pena finíssima, chega-se aos últimos detalhes, reavivando traços, etc. e assinalando as granulações da cromatina nuclear, etc.

A fig. 2, como dissemos, mostra-nos um exemplo de uma das variações, por nós adotada em determinados casos, da técnica do desenho em um campo restrito, porém, sempre em 4 etapas.

Trata-se de um trecho de epitélio respiratório colorido pela hematoxilinaeosina.

Na 1.<sup>a</sup> etapa vemos o esbôço a lápis. Na 2.<sup>a</sup> o mesmo esbôço, já feito fracamente a nanquin. Apagam-se então bem, com borracha mole, os restos visíveis do esbôço a lápis.

Na 3.<sup>a</sup> etapa pintam-se a pincel, levemente, os fundos, isto é, os citoplasmas e o tecido conetivo com os sombreados correspondentes. Finalmente na 4.<sup>a</sup> etapa fazem-se todos os detalhes, tanto dos planos mais profundos, como do primeiro plano.

Esta é pois apenas uma pequena variação de um desenho mais ou menos do tipo da fig. 1.

Entretanto, a diversidade dos motivos que se nos apresentam, obrigam-nos a vários métodos adequados para obter determinados efeitos, conforme a estrutura dos tecidos que devemos reproduzir. Vide legenda das figs. 3, 4 e 5.

#### *Desenho Panorâmico com fraco aumento*

É recomendável só abordar êsse tipo de desenho, após muita prática. Para abreviar a sua execução, muitos preferem usar para o esbôço a câmara clara.

Após a primeira etapa, de esbôço, pode-se, para facilitar, fazer cada secção isoladamente até as suas últimas etapas, mas sempre obedecendo a mesma ordem e a mesma técnica, atrás referidas.

#### *Técnica do desenho em branco e preto*

Se o trabalho é em branco e preto, temos de um lado a facilidade de tratar com uma só tinta, mas de outro a dificuldade, já por nós mencionada, de necessitar distinguir bem o valor da intensidade dos tons, não confundindo êste caráter com as diferenças de côres.

Quando nos propomos a reproduzir um preparado microscópico em branco e preto, devemos pois, nos abstrair das diferenças das côres, levando em conta somente os claro-escuros, isto é, aquilo que se compreende por diversa intensidade nos tons.

Vencida esta dificuldade, adota-se a mesma técnica do desenho a côres.

#### RESUMO

É inicialmente salientada a importância do desenho microscópico como meio de documentação nas ciências morfológicas, chamando a atenção sobre a necessidade da sua aplicação mais freqüente entre nós.

Salienta o uso dêsse tipo de documentação comum em muitos países da Europa e na América do Norte e tanto na literatura antiga, como em obras as mais recentes, conforme exemplifica.

Sem menosprezar o valioso auxílio da fotomicrografia, chama a atenção entretanto, para as desvantagens desta em muitos casos, de um lado devido a defeitos intrínsecos aos próprios films atualmente usados, e, de outro devido a defeitos nos próprios preparados, os quais são reproduzidos automaticamente, o que limita a sua aplicação.

Ressalta a vantagem do desenho microscópico em muitos casos, demonstrando com exemplos, como êste se torna frequentemente indispensável.

Descreve os diferentes tipos de desenhos microscópicos e as suas indicações.

Exalta a necessidade do preparo prévio tanto técnico como científico geral para aqueles que pretendem se dedicar a êsse tipo de desenho.

Dada a ausência de cursos dêsse gênero de desenhos em nosso país, a autora reúne nesta pequena monografia a sua experiência sôbre o assunto, procurando expôr minuciosamente a técnica do aprendizado do desenho microscópico aplicado á documentação científica. Chama a atenção para certas regras e normas que julga serem indispensáveis á boa execução de um desenho dessa espécie, tais como: 1) *a representação dos diferentes planos no desenho microscópico levando á noção do relevo ou profundidade.* 2) *Necessidade do estudo prévio e conhecimento exato do preparado.*

Tendo em vista essas finalidades, utiliza no decorrer do trabalho, figuras demonstrativas não só sôbre as diferentes fases da execução do desenho microscópico, como sôbre as diversas técnicas aplicáveis nos mesmos, seguindo o objeto a ser reproduzido.

#### BIBLIOGRAFIA

- Borst, M.* — Histologia Patológica. Trad. 3.<sup>ª</sup> Ed. Alemã...Edit. Labor, S.A., Barcelona. 1945.
- Buecherl, W.* — Técnica Histológica. 2.<sup>ª</sup> Ed., Edit. Polígono Ltda., S. Paulo, 1962.
- Costa, C. & Chaves, P. R.* — Manual de Técnica Histológica. 3.<sup>ª</sup> Ed., Lisboa, 1943.
- Costa, A. C. da* — Tratado Elementar de Histologia e Anatomia Microscópica. 2 v. 214. 2.<sup>ª</sup> ed., Lisboa, 1949.
- Ham, A. W.* — Tratado de Histologia. 3.<sup>ª</sup> ed. hesp. Ed. Interamerie. S.A., México, 1958.
- Hueek, W.* — Patologia Morfológica. Edit. Labor, S.A., Barcelona, 1944.
- Krause, R.* — Kursus der Normalen Histologie. Ed. Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien, 1911.
- Lubarek, O., Henke, F. & Roessle, R.* — Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie. Vol. 13 *Nervensystem von Scholz, W. Parte A.*, Springer, Verlag, Berlin, 1956.
- Mc Larty, M. C.* — Illustrating Medicine and Surgery. Livingstone Ltd., Edinburgh, 1960.
- Maximow, A. A. & Bloom, W.* — A Text Book of Histology. 7th ed. Saunders Co., London, 1957.
- Schumacher, M.* — Compendio de Histologia Humana. 3.<sup>ª</sup> ed. Espanhola Edt. Labor, S.A., Barcelona, 1948.
- Spietmeyer, W.* — Histopathologie des Nervensystems. 1.<sup>º</sup> vol. Springer, Berlin, 1922.

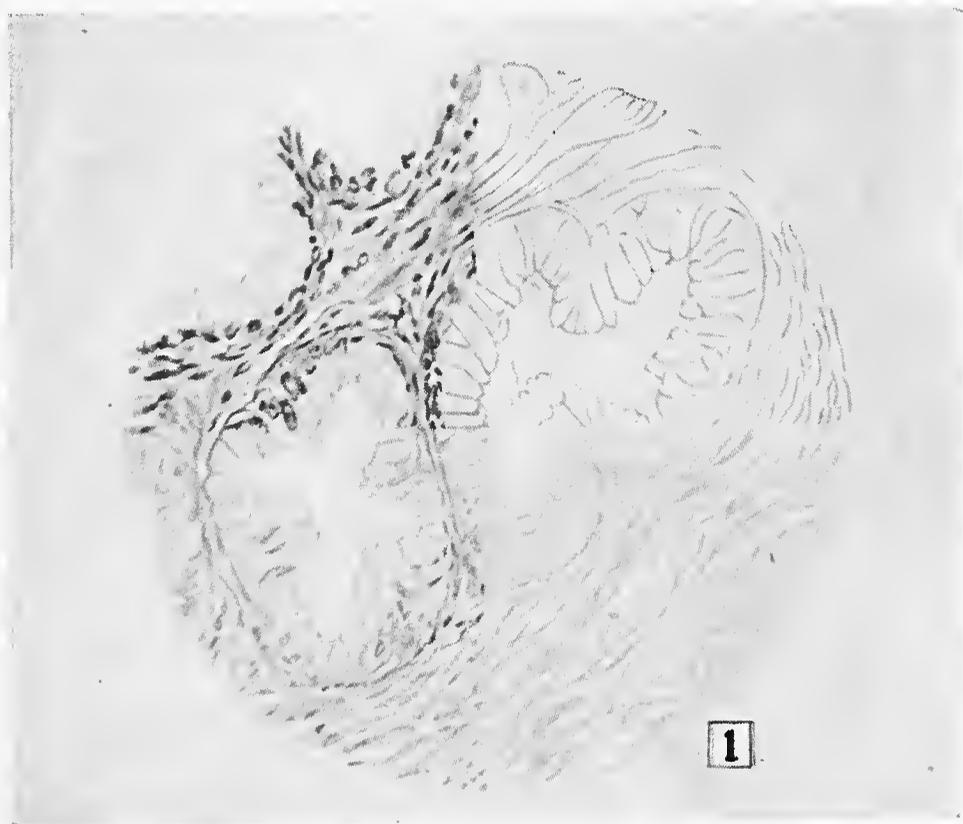


Fig. 1 — Tecido glandular normal (estômago). Col. H.E. — Microsc. Zeiss — Ocul. 10 — Obj. 40. As 4 etapas do desenho microscópico (descrição no texto, página     ).

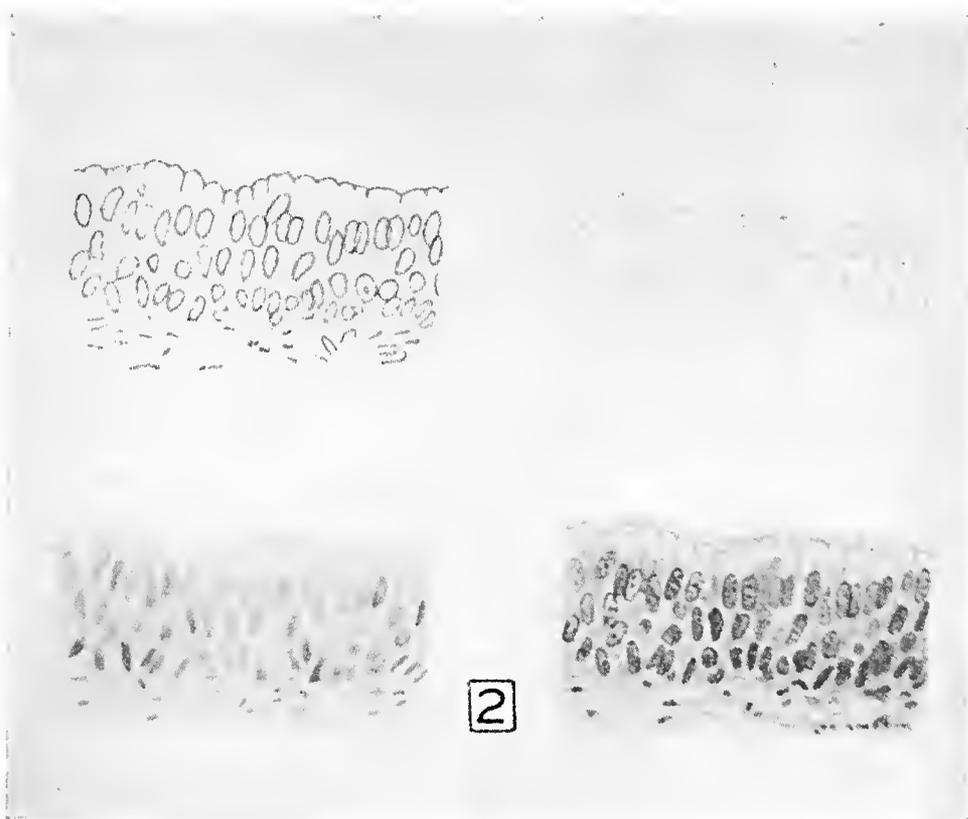


Fig. 2 — Epitélio cilíndrico estratificado ciliado. Col. H.E. — Microsc. Zeiss — Ocul. 10 — Obs. 40. Outra modalidade do desenho microscópico também em 4 etapas (descrição no texto, página ).

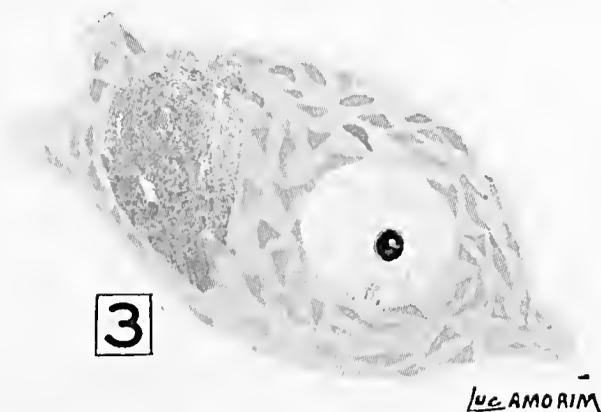


Fig. 3 — Célula nervosa: Coloração pelo método de Nissl. Notar no citoplasma os pigmentos de lipofuscina feitos a bico de pena, bem como a levíssima e delicada estrutura nuclear vista por êsse método. Microsc. Zeiss — Ocul. 10 — Obj. 40.

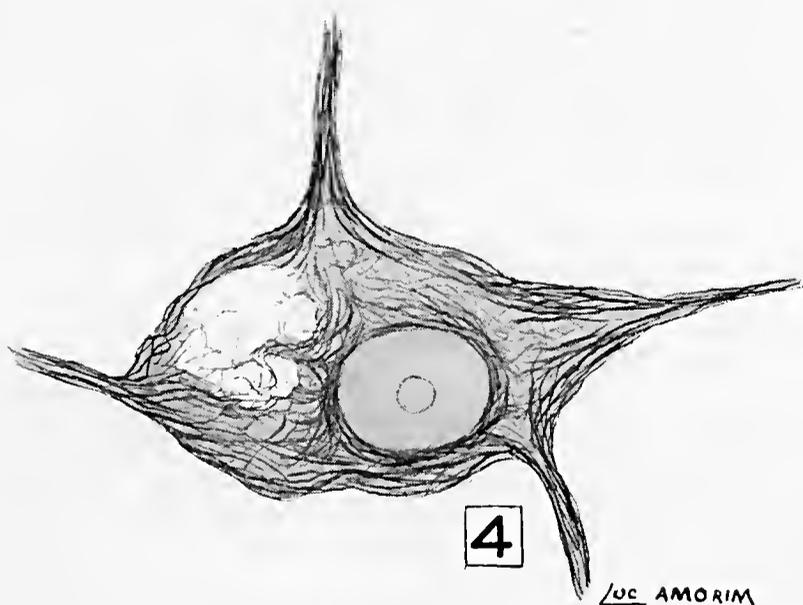
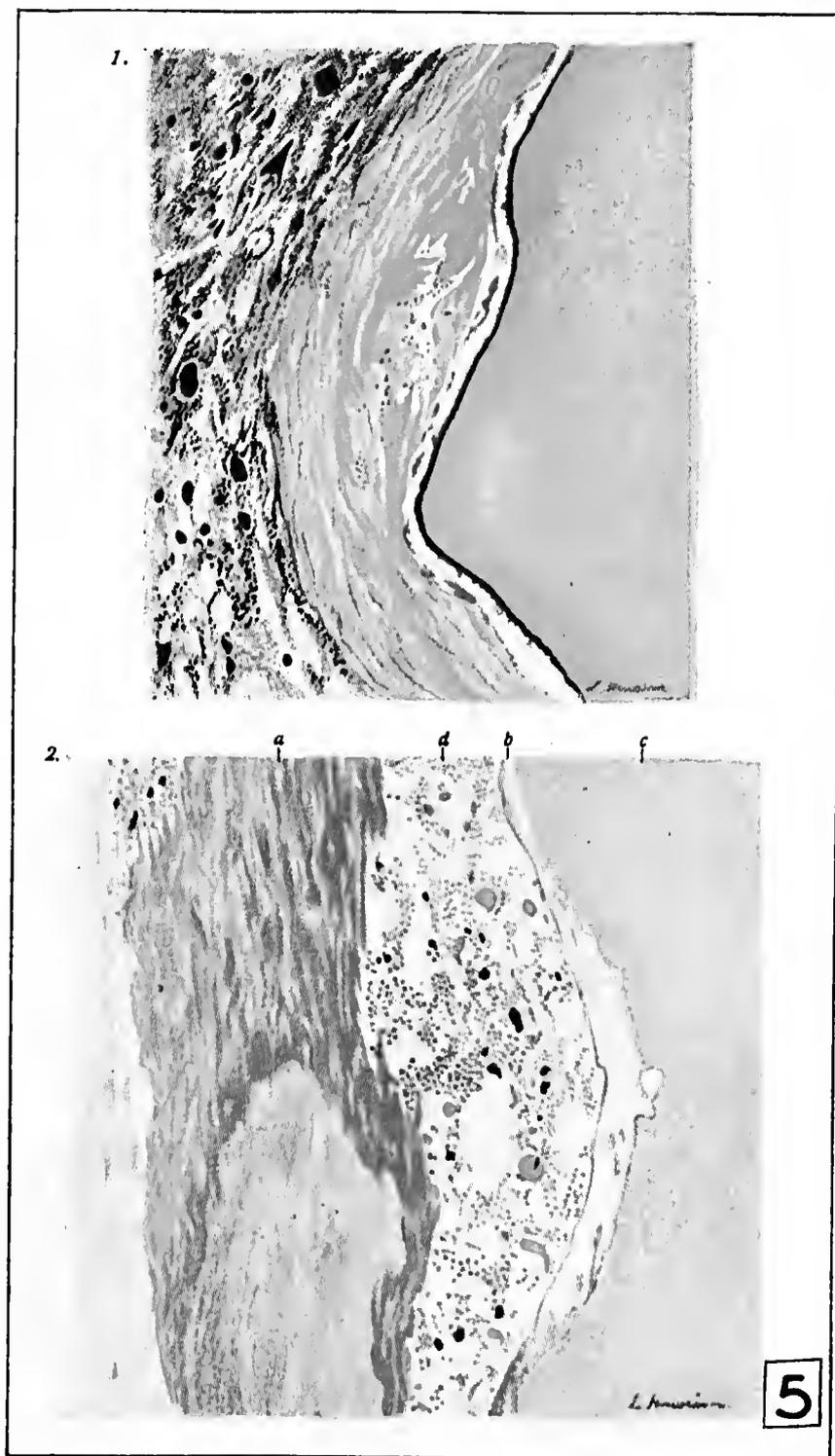


Fig. 4 — Célula nervosa: Impregnação pela prata pelo método de Bielschowski. Notar no citoplasma bem como nos prolongamentos, as fibrilas reproduzidas em seus diferentes planos. Microsc. Zeiss — Ocul. 10 — Obj. 40.

Fig. 5 — Dois desenhos publicados na Alemanha em um trabalho de M. de Freitas Amorim sobre *Beitrag zur Histopathologie der fortgeschrittenen Stadien der phthisischen Primärkomplexe* (Beitr. Pathol. Anat. 95:349-381, 1935) os quais reproduzem a estrutura de nódulos do complexo primário tuberculoso, caseificados e encapsulados, corados pelo Escarlata R, em cortes obtidos por congelação. A fim de reproduzir o aspecto finamente granuloso das áreas de necrose de caseificação, coloridas pela Escarlata R, e da mesma forma na cápsula fibrosa-hialina dos nódulos de C.P.T., tivemos que adotar a técnica de pontilhado finíssimo feito a bico de pena. Conforme se percebe, o pincel só foi usado para dar uma leve coloração de fundo, sobre a qual trabalhamos com a pena. As gôtas grandes de gordura reproduzindo as próprias células adiposas do tecido mielo-símile do N.R.C.P., foram feitas com pequenas gôtas de Nankin apenas depositadas pelo pincel.



Amorim, Phthisischer Primärkomplex.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA.



REMISSIVE LIST OF PAPERS PUBLISHED IN  
"MEMORIAS DO INSTITUTO BUTANTAN"

VOLUMES 1 TO 33 (1918-1966)

The "Memorias do Instituto Butantan" are being published since 1918, and up to the present date 33 volumes with 725 papers were printed.

The purpose of this list is to indicate an easy reference for the published papers, for most of them constitute fundamental basic scientific acquisition. However, the fact those publications being edited by a São Paulo State governmental Institution, has diffculted sometimes the regular scientific work reference distribution through International organs, the more so, because the "Memorias" publish articles on experimental works as well as on systematics in many scientific investigation fields.

Index consultation in each volume would be a tiresome and difficult task, and we had the opportunity to prove that topics still discussed on certain classical notions do not take into account investigations and elucidating work already done and published in "Memórias do Instituto Butantan".

In order to make the search for references casier, the articles were grouped in chapters, assembling general subjects, since a simple author index or a chronological order would not be suitable. This grouping sometimes had to be rather arbitrary, and from now on, we accept as justified any criticism which may be done by whoever will make use of this list.

*The Editorial Committee*

OFÍDIOS

SISTEMÁTICA

1. *Amaral, A. do* — Estudos sobre ophídios neotrópicos, XVII. Valor systemático de várias formas de ophídios neotrópicos. *Mem. Inst. Butantan*, 4:3, 1929.
2. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophídios do Brazil. IV. Lista remissiva dos ophídios do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 4:69, 1929.
3. *Amaral, A. do* — Estudos sobre ophídios neotrópicos. XVIII. Lista remissiva dos ophídios da região neotrópica, *Mem. Inst. Butantan*, 4:127, 1929.
4. *Amaral, A. do* — Estudos sobre ophídios neotrópicos. XIX. Revisão do gênero *Spilotes* Wagler, 1830, *Mem. Inst. Butantan*, 4:273, 1929.
5. *Amaral, A. do* — Estudos sobre ophídios neotrópicos. XX. Revisão do gênero *Phrynonax* Cope, 1862, *Mem. Inst. Butantan*, 4:299, 1929.
6. *Amaral, A. do* — Estudos sobre ophídios neotrópicos. XXI. Revisão do gênero *Drymarchon* Fitzinger, *Mem. Inst. Butantan*, 4:321, 1929.

7. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXII. Sôbre a espécie *Coluber dichrous* (Peters) Boulenger, 1894, *Mem. Inst. Butantan*, 4:331, 1929.
8. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXVIII. Comentários a propósito de alguns boideos, *Mem. Inst. Butantan*, 6:173, 1931.
9. *Amaral, A. do* — Studies of neotropical ophidia. XXVIII. Remarks on some boid snakes, *Mem. Inst. Butantan*, 6:183, 1931.
10. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre Lacertílios neotrópicos. I. Novos gêneros e espécies de lagartos do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 7:51, 1932.
11. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. V. Uma nova raça de *Bothrops neuwiedii*. *Mem. Inst. Butantan*, 7:95, 1932.
12. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. VI. Uma nova raça de *Bothrops neuwiedii*, *Mem. Inst. Butantan*, 7:95, 1932. 1830, *Mem. Inst. Butantan*, 7:99, 1932.
13. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXIX. Novas notas sôbre espécies da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 7:103, 1932.
14. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXX. Novo gênero e espécie de Colubrídeo na fauna da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 8:157, 1933-34.
15. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotropicos. XXXI. Sôbre a espécie *Bothrops alternata* D. & B., 1854 (Crotalidae). Variações. Redescrição, *Mem. Inst. Butantan*, 8:161, 1933-34.
16. *Amaral, A. do* — Collecta herpetologica no nordeste do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 8:183, 1933-34.
17. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXXII. Apontamentos sôbre a fauna da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 9:209, 1935.
18. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotropicos. XXXIII. Novas espécies de ophidios da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 9:219, 1935.
19. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. VII. Novos gêneros e espécies de Colubrídeos ophisthophyphos, *Mem. Inst. Butantan*, 9:203, 1935.
20. *Amaral, A. do* — Collecta herpetologica no nordeste do Brasil (Contribuição II), *Mem. Inst. Butantan*, 9:225, 1935.
21. *Amaral, A. do* — Collecta herpetologica no centro do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 9:233, 1935.
22. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre Lacertílios neotrópicos. II. Nôvo gênero e espécie de lagarto do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 9:249, 1935.
23. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre Lacertílios neotrópicos. III. Um nôvo gênero e duas novas espécies de Geckonídeos e uma nova raça de Amphisbenídeo, procedentes do Brasil Central, *Mem. Inst. Butantan*, 9:253, 1935.
24. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. VIII. Lista remissiva dos ophidios do Brasil (2.<sup>a</sup> edição), *Mem. Inst. Butantan*, 10:87, 1935-36.
25. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre Lacertílios neotrópicos. IV. Lista remissiva dos Lacertílios do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 11:167, 1937.

26. *Amaral, A. do* — Contribuição aos conhecimentos dos ophidios do Brasil. IX. Nova espécie de Colubrideo opisthoglypho confundível com *Philodryas serra* (Schlegel 1837), *Mem. Inst. Butantan*, 11:205, 1937.
27. *Amaral, A. do* — Contribuição aos conhecimentos dos ophidios do Brasil. X. Redescrição de *Philodryas serra* (Shlegel, 1837), *Mem. Inst. Butantan*, 11: 213, 1937.
28. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. II. Synopse das *Crotalideas* do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 11:217, 1937.
29. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos, XXXIV. Novas notas sôbre a fauna da Colômbia e descrição de uma espécie nova de Colubrideo aglypho, *Mem. Inst. Butantan*, 11:231, 1937.
30. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofidios do Brasil. XII. Notas a respeito de *Helminthophis ternetzii* Boulenger, 1896, *Mem. Inst. Butantan*, 26:191, 1954.
31. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofidios neotrópicos. XXXVII. Subespécies de *Epicrates cenchria* (Lineu, 1758), *Mem. Inst. Butantan*, 26:227, 1954.
32. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofidios do Brasil. XIII. Observações a propósito de "cobra-cegas" (fam. Typhlopidae e fam. Leptotyphlopidae), *Mem. Inst. Butantan*, 26:197, 1954.
33. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofidios do Brasil. XIV. Descrição de duas espécies novas de Cobra "cega" (fam. Leptotyphlopidae), *Mem. Inst. Butantan*, 26:203, 1954.
34. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofidios do Brasil. XV. Situação taxonômica de algumas formas de *Crotalidae Lachesinae* recentemente descritas, *Mem. Inst. Butantan*, 26:215, 1954.
35. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofidios neotrópicos. XXXV. A propósito da revalidação de *Coluber lanceolatus* Lacepede, 1789, *Mem. Inst. Butantan*, 26:207, 1954.
36. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofidios neotrópicos. XXXVI. Redescrição da espécie *Bothrops hyoprora* Amaral, 1935, *Mem. Inst. Butantan*, 26:221,1954.
37. *Belluomini, H. E. & Hoge, A. R.* — Uma nova espécie de *Bothrops* do Brasil. (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan*, 28:195, 1957-58.
38. *Brongersma, L. D.* — Poisonous snakes of Surinam, *Mem. Inst. Butantan*, 33 (1):73, 1966.
39. *Gomes, F. J.* — Contribuição para o conhecimento dos ofidios do Brasil, III. *Mem. Inst. Butantan*, 1:57, 1918.
40. *Hoge, A. R.* — Um nôvo lagarto da Ilha da Queimada Grande, *Mem. Inst. Butantan*, 19:241-248, 1946.
41. *Hoge, A.* — Notas erpetologicas. 3. Uma nova espécie de *Trimeresurus*, *Mem. Inst. Butantan*, 20:193-202, 1947.
42. *Hoge, A. R.* — Notas erpetologicas. 7. Fauna erpetologica da Ilha da Queimada Grande, *Mem. Inst. Butantan*, 22:151-172, 1949.
43. *Hoge, A. R.* — Snakes from the Uapés region, *Mem. Inst. Butantan*, 24:(2), 225, 1952.

44. Hoge, A. R. — Notas erpetológicas. 1.<sup>a</sup> Contribuição ao conhecimento dos Ofídios do Brasil Central, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):179, 1952.
45. Hoge, A. R. — Notas erpetológicas. 2.<sup>a</sup> Contribuição ao conhecimento dos ofídios do Brasil Central, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):215, 1952.
46. Hoge, A. R. — Notas erpetológicas. Revalidação de *Thamnodynastes strigatus* (Günther, 1858), *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):157, 1952.
47. Hoge, A. R. — Notas erpetológicas. Contribuição ao conhecimento dos Testudinata do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):173, 1952.
48. Hoge, A. R. — Notas erpetológicas. Revalidação de *Bothrops lanceolata* (Lancepede), *Mem. Inst. Butantan*, 24(2): 231, 1952.
49. Hoge, A. R. — Notas erpetológicas. Anomalia na lepidose e pigmentação das escamas dorsais em *B. jararaca* e *B. alternata*, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):237, 1952.
50. Hoge, A. R. — Notas erpetológicas. Uma nova subspécie de *Leimadophis reginae*, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):241, 1952.
51. Hoge, A. R. — Notes on *Lygophis* Fitzinger. Revalidation of two subspecies, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):245, 1952.
52. Hoge, A. R. — A new *Bothrops* from Brasil. *Bothrops Brazili*, sp. nov., *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):15, 1953.
53. Hoge, A. R. — A new genus and species of *Boinae* from Brazil. *Xenoboa cropanij*, gen. nov. sp. nov., *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):27, 1953.
54. Hoge, A. R. — Uma nova espécie de *Micrurus* (Serp. Elap.) do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 27:67, 1955-56.
55. Hoge, A. R. — Notes sur la position systematique de *Opisthophis degener* Peters 1882 et *Leimadophis regina macrosoma* Amaral 1935 (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan*, 28:67, 1957-58.
56. Hoge, A. R. — Étude sur *Apostolepis coronata* (Sauvage 1877) et *Apostolepis quinquelineata* Boulenger 1896 (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan*, 28:73, 1957-58.
57. Hoge, A. R. — Étude sur *Uromacerina ricardinii* (Paracca) (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan*, 28:77, 1957-58.
58. Hoge, A. R. — Note sur la position systematique de *Trigonocephalus (Bothrops) pubescens* Cope 1869, *Mem. Inst. Butantan*, 28:83, 1957-58.
59. Hoge, A. R. — Sur la position systematique de *Coluber quinquelineatus* Radii, 1820, *Mem. Inst. Butantan*, 28:267, 1957-58.
60. Hoge, A. R. — Posição sistemática de *Natrix sexcarinatus* Wagler 1824 Serpentes, *Mem. Inst. Butantan*, 30:27, 1966-61-62.
61. Hoge, A. R. — Notas sobre *Xenopeltis unicolor* (Reinwardt) 1827, *Mem. Inst. Butantan*, 30:31, 1960-61-62.
62. Hoge, A. R. — Sur la position systematique de quelques serpents du genre *Siphophis* Fitzinger 1843. W. Serpentes, *Mem. Inst. Butantan*, 30:35, 1960-1961-1962.
63. Hoge, A. R. — Serpentes da Fundação "Surinam Museum", *Mem. Inst. Butantan*, 30:51, 1960-61-62.
64. Hoge, A. R. — Notes sur *Xenodon schottii* Schlegel, *Mem. Inst. Butantan*, 30:65, 1960-61-62.

65. Hoge, A. R. — Preliminary account on neotropical Crotalinae (Serpentes Viperidae), *Mem. Inst. Butantan*, 32:109, 1965.
66. Hoge, A. R. & Belluomini, H. E. — Serpentes coletadas em Jacareacanga, Estado do Pará, Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 29:15, 1959.
67. Hoge, A. R. & Belluomini, H. E. — Notas sôbre Bothrops fonsecai Hoge e Belluomini, Bothrops alternatus Dumeril, Bibron et Bothrops cotiara Gomes, *Mem. Inst. Butantan*, 30:97, 1960-61-62.
68. Hoge, A. R. & Garcia, A. — Notas erpetológicas. 5. Notas sôbre Elapomorphus nasutus Gomes, 1915, *Mem. Inst. Butantan*, 21:67-76, 1948.
69. Hoge, A. R. & Lancini, A. R. — Notas sôbre Micrurus surinamensis nattereri Schmidt, *Mem. Inst. Butantan*, 29:9, 1959.
70. Hoge, A. R. & Nina, A. C. M. — Serpentes coletadas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia, *Mem. Inst. Butantan*, 30:71, 1960-61-62.
71. Hoge, A. R. & Romano, S. A. R. W. D. L. — Leptomicrurus in Brasil (Serpentes — Elapidae), *Mem. Inst. Butantan*, 32:1, 1965.
72. Lancini, V., A. R. — Notas sôbre as diferenças existentes entre as sub-espécies venezuelanas de Coluber (Masticophis) mentovarius (Dum. Bibr. et Dum. 1854), *Mem. Inst. Butantan*, 32:9, 1965.
73. Latifi, M., Hoge, A. R. and Eliazan, M. — The poisonous snakes of Iran, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):735, 1966.
74. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 1. Sôbre as serpentes do grupo Bothrops lansbergii, com a descrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan*, 12:1, 1938-39.
75. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 2. Observações sôbre os ofidios da fauna amazônica, com a descrição de um nôvo gênero e espécie, *Mem. Inst. Butantan*, 13:1, 1939.
76. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 4. Cinco espécies novas de serpentes colombianas do gênero Atractus Wagler, *Mem. Inst. Butantan*, 13:15, 1939.
77. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 5. Observações sôbre serpentes da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 14:1, 1940.
78. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 6. Uma nova espécie de Colubrideo aglifo da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 14:13, 1940.
79. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 7. Sôbre a determinação de Elapomorphus Boulenger e afins, *Mem. Inst. Butantan*, 14:19, 1940.
80. Prado, A. — Nota Ofiológicas. 8. Dois novos Atractus da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 14:25, 1940.
81. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 10. Outras serpentes da Colômbia, com a descrição de uma nova espécie de Boídeo, *Mem. Inst. Butantan*, 14:35, 1940.
82. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 11. Sôbre uma raça de serpente neotrópica, *Mem. Inst. Butantan*, 15:373, 1941.
83. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 12. Considerações em torno de dois Atractus da Colômbia com a descrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan*, 15:377, 1941.
84. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 13. Redescrição de duas serpentes colombianas, *Mem. Inst. Butantan*, 16:1, 1942.

85. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 14. Comentários acêrca de algumas serpentes opistoglifas, do gênero *Apostolepis*, com a descrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan*, 16:7, 1942.
86. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 15. Serpentes do gênero *Dryophylax*, com a redescrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan*, 17:1, 1943.
87. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 17. A posição do gênero *Rhadinaea* em sistemática, com a descrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan*, 17:11, 1943.
88. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 18. A posição do gênero *Rhadinaea* em sistemática (Continuação), *Mem. Inst. Butantan*, 18:105-108, 1944-45.
89. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 19. *Atractus* da Colômbia, com a redescrição de três novas espécies, *Mem. Inst. Butantan*, 18:109-114, 1944-45.
90. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 20. Descrição do alotipo de *Dryophylax rutilus* Prado, 1942, *Mem. Inst. Butantan*, 20:189-192, 1947.
91. *Prado, A. & Hoge, A. R.* — Notas Ofiológicas. 21. Observações sôbre serpentes do Peru, *Mem. Inst. Butantan*, 20:283-296, 1947.
92. *Stanic, M.* — Die Sandotter, *Vipera ammodytes ammodytes* Linnaeus, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):745, 1966.
93. *Lancini, V. A. R.* — *Crotalus vegrandis* Klauber, redescrípción y distribución, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):725, 1966.

## OFÍDIOS

## BIOLOGIA

94. *Amaral, A. do* — Notas sôbre chromatismo de ophídios. I. Primeiro caso de erythrismo em serpentes observado no Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 7:75, 1932.
95. *Amaral, A. do* — Notas sôbre chromatismo de ophídios. II. Casos de variação de colorido de certas serpentes, *Mem. Inst. Butantan*, 7:81, 1932.
96. *Amaral, A. do* — Contribuição à biologia dos ophídios do Brasil. III. Hábitos curiosos da espécie *Tachymenis brasiliensis* Gomes (Colubridae, Boi-ginae), *Mem. Inst. Butantan*, 7:89, 1932.
97. *Amaral, A. do* — Contribuição à biologia dos ophídios do Brasil. IV. Sôbre um caso de necrophilia heterologa na jararaca (*Bothrops jararaca*), *Mem. Inst. Butantan*, 7:93, 1932.
98. *Amaral, A. do* — Notas sôbre chromatismo de ophídios. III. Um caso de xanthismo e um nôvo de albinismo, observados no Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 8:149, 1933-34.
99. *Amaral, A. do e Klobusitzky, D. von* — Hemagglutininas naturais no sangue de serpentes e de outros animais pecilotermicos, *Mem. Inst. Butantan*, 7:179, 1932.
100. *Bailey, J. R.* — Modes of evolution in New World opisthglyph snakes, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):67, 1966.
101. *Belluomini, H. E.* — Bicefalia em *Xenodon merremii*, (Wagler 1824) (Descrição de um Teratódimio derodimo) (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan*, 28:85, 1957-58.
102. *Belluomini, H. E.* — Venon production of snakes in captivity, *Mem. Inst. Butantan*, 32:79, 1965.

103. *Belluomini, H. E. & Hoge, A. R.* — Um caso de cópula heteróloga entre *Bothrops* e *Crotalus* (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan*, 28:91, 1957-58.
104. *Belluomini, H. E. & Hoge, A. R.* — Operação cesariana realizada em *Eunectes murinus* (Linnaeus 1758) (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan*, 28:187, 1957-58.
105. *Belluomini, H. E. & Hoge, A. R.* — Observações sobre hábitos alimentares de "Sucuris" em cativeiro. Contribuição à biologia de *Eunectes murinus* (Linnaeus 1758) (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan*, 28:207, 1957-58.
106. *Belluomini, H. E. & Lancini, A. R.* — Bicefalia em *Leptodeira annulata ashmeadii* (Hallowell) 1845 (Serpentes) Descrição de um teratódimo deródimo, *Mem. Inst. Butantan*, 29:175, 1959.
107. *Belluomini, H. E., Nina, A. F. M. & Hoge, A. R.* — Contribuição à biologia do gênero *Eunectes* Wagler, 1830 (Serp. Boidae). Estudo de seis ninhadas de "sucuris", *Mem. Inst. Butantan*, 29:165, 1959.
108. *Darevsky, I. S.* — Ecology of rock-viper (*Vipera xanthina raddei* Boettger) in the natural surroundings of Armenia, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):81, 1966.
109. *Dourado, L.* — Contribuição aos processos de fixação do colorido vermelho e verde das serpentes brasileiras, *Mem. Inst. Butantan*, 21:137-144, 1948.
110. *Erhart, M. B.* — Atérias coronarias cardiacas dos ophidios, *Mem. Inst. Butantan*, 9:319, 1935.
111. *Erhart, M. B.* — The coronary cardiac arteries of snakes, *Mem. Inst. Butantan*, 9:335, 1935.
112. *Hoge, A.* — Notas erpetológicas. 2. Dimorfismo sexual nos Boídeos. *Mem. Inst. Butantan*, 20:181-188, 1947.
113. *Hoge, A. R.* — Herpetologische Notizen. Farbenaberrationen bei Brasilianischen Schlangen, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):269, 1952.
114. *Hoge, A. R. & Belluomini, H. E.* — Aberrações cromáticas em serpentes brasileiras, *Mem. Inst. Butantan*, 28:95, 1957-58.
115. *Hoge, A. R. & Garcia, A.* — Notas erpetológicas. 4. Sobre caracteres sexuais secundários nas serpentes, *Mem. Inst. Butantan*, 21:55-66, 1948.
116. *Klemmer, K.* — Observations on the biology of sea-snakes (Hidrophiiidae) with remarks on their systematics, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):101, 1966.
117. *Leal Prado, J.* — A glicemia normal nos ofídios, *Mem. Inst. Butantan*, 19:59-68, 1946.
118. *Mertens, R.* — Unterlagen zur Ökologie, Ethologie und Evolution der Baumschlangen, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):85, 1966.
119. *Penteado, D. C. de* — Estudos histológicos das glândulas da cabeça dos ofídios brasileiros, *Mem. Inst. Butantan*, 1:27, 1918.
120. *Picado, C.* — Serpentes venenosas ocorrentes em Costa Rica. I. Sobre a espécie *Bothrops lansbergii* e formas affins. Seu veneno e microornamentos epidérmicos, *Mem. Inst. Butantan*, 8:389, 1933-34.
121. *Picado, C.* — Serpentes venenosas ocorrentes em Costa Rica. II. Sobre a espécie *Bothrops godmanni*. Seu veneno e microornamentos epidérmicos, *Mem. Inst. Butantan*, 8:395, 1933-34.
122. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 3. Mais um caso de albinismo em serpente, *Mem. Inst. Butantan*, 13:9, 1939.

123. Prado, A. — Notas Ofiológicas. 16. Um nôvo caso de bicefalia em serpente, *Mem. Inst. Butantan*, 17:7, 1943.
124. Prado, A. & Barros, F. P. de — Notas Ofiológicas. 9. Duas cascavéis albinas do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 14:31, 1940.
125. Shulov, A. — Biology and ecology of venomous animals in Israel, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):93, 1966.
126. Vanzolini, P. E. & Ferreira Brandão, J. H. — Notas sôbre algumas diferenças sexuais na folidose de *Bothrops alternata* D. & B., 1854, e sua variação geográfica, *Mem. Inst. Butantan*, 18:251-258, 1944-45.

ARACNÍDEOS E ARTROPODOS  
SISTEMÁTICA

127. Bücherl, W. — Os Quilópodos do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 13:49, 1939.
128. Bücherl, W. — Quilópodos novos da coleção miriapodológica do Museu Nacional do Rio de Janeiro, *Mem. Inst. Butantan*, 15:119, 1941.
129. Bücherl, W. — Estudos morfo-anatômicos sôbre Geofilomorfos neotrópicos, *Mem. Inst. Butantan*, 15:159, 1941.
130. Bücherl, W. — Catálogo dos Quilópodos da zona meotrópica, *Mem. Inst. Butantan*, 15:251, 1941.
131. Bücherl, W. — Estudo comparado dos órgãos sexuais externos dos Quilópodos do Brasil, baseado nos gêneros *Scolopendra* L. 1758, *Otostigmus* PORAT, 1876, *Rhysida* WOOD, 1862, *Cryptops* LEACH, 1815 *Scolopocryptops* NEW PORT, 1844, e *Otocryptops*, HAUSE, 1887, *Mem. Inst. Butantan*, 16:13, 1942.
132. Bücherl, W. — Contribuição ao estudo dos órgãos sexuais externos das espécies do gênero *Scolopendra* LINNE, mais freqüentes no Brasil. Um nôvo método morfo-comparado para a sua sistematização, *Mem. Inst. Butantan*, 16:37, 1942.
133. Bücherl, W. — Descrição de uma nova subespécie do gênero *Otostigmus* Porat, subgênero *Coxopleurostigmus* Bücherl (*Scolopendromorpha*, *Scolopendridae*), *Mem. Inst. Butantan*, 16:85, 1942.
134. Bücherl, W. — Revisão das chaves sistemáticas de Chamberlin e Attems sôbre as espécies neotrópicas do gênero *Otostigmus* POR., 1876 (subfam. *Otostigminae* KRPLN; 1903), *Mem. Inst. Butantan*, 16:69, 1942.
135. Bücherl, W. — Quilópodos do Peru, *Mem. Inst. Butantan*, 17:19, 1943.
136. Bücherl, W. — Quilópodos do Museu Paranaense de Curitiba, *Mem. Inst. Butantan*, 19:1-10, 1946.
137. Bücherl, W. — Novidades sistemáticas na ordem *Scolopendromorpha*, *Mem. Inst. Butantan*, 19:135-158, 1946.
138. Bücherl, W. — Estudo comparativo das espécies brasileiras do gênero *Pamphobeteus* Pocock, 1901 (*Mygalomorphae*), *Mem. Inst. Butantan*, 20:233-282, 1947.
139. Bücherl, W. — Duas novas espécies do gênero *Eupalaestrus* Pocock, 1901, *Mem. Inst. Butantan*, 20:297-314, 1947.
140. Bücherl, W. — Chilopoda das Ilhas da Queimada Grande e Pequena, *Mem. Inst. Butantan*, 21:1-8, 1948.

141. *Bücherl, W.* — Estudos sobre Escutigeromorfos brasileiros, *Mem. Inst. Butantan*, 21:9-54, 1948.
142. *Bücherl, W.* — Estudos sobre o gênero *Magulla* Simon, 1892 (Theraphosidae, Ischnocolinae), *Mem. Inst. Butantan*, 21:261-274, 1948.
143. *Bücherl, W.* — Em torno das três espécies insulares e praianas do gênero *Pamphobeteus* Pocock, 1901 (Mygalomorphae), *Mem. Inst. Butantan*, 21:117-136, 1948.
144. *Bücherl, W.* — Descrição do macho de *Magulla symmetrica* Bücherl, 1949, *Mem. Inst. Butantan*, 22:1-10, 1949.
145. *Bücherl, W.* — Quilópodos da Venezuela. I, *Mem. Inst. Butantan*, 22:187-198, 1949.
146. *Bücherl, W.* — Quilópodos do Perú. II. *Mem. Inst. Butantan*, 22:173-186, 1949.
147. *Bücherl, W.* — Revisão das espécies do gênero *Enoploctenus* Simon, 1897, *Mem. Inst. Butantan*, 23:1, 1950-51.
148. *Bücherl, W.* — Aranhas do Rio Grande do Sul, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2): 127, 1952.
149. *Bücherl, W.* — Quilópodos, Aranhas e Escorpiões enviados ao Instituto Butantan para determinação, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):109, 1953.
150. *Bücherl, W.* — *Otostigmus latipes* sp. n. (Scolopendridae, Otostigminae). *Mem. Inst. Butantan*, 26:1, 1954.
151. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil. VI. Sinonimia de *Bothriurus melloleitãoi* Prado 1934 da fêmea de *Bothriurus sigatus* Pocock 1893 com *Bothriurus bonariensis asper* (Pocock) 1893 e de *Bothriurus semiellipticus* Prado 1934 com *Bothriurus b. bonariensis* (Koch) 1842, *Mem. Inst. Butantan*, 28:1, 1957-58.
152. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil, VIII. Sinonimia de *Bothriurus fragilis* M. L. 1934 e *B. zeugma* M. L. 1945 com *B. rochai* M. L. 1932, com o nome definitivo de *Bothriurus coriaceus rochai* (Mello-Leitão) 1932, *Mem. Inst. Butantan*, 28:11, 1957-58.
153. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil, VIII. Revisão das espécies do gênero *Bothriurus* descritas da Argentina, *Mem. Inst. Butantan*, 28: 19, 1957-58.
154. *Bücherl, W.* — Chilopoden von Venezuela, *Mem. Inst. Butantan*, 29:233, 1959.
155. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil, IX. Combate ao escorpião, *Tityus serrulatus* (Buthidae, Titynae), nos terrenos da General Motors do Brasil, em S. José dos Campos, Est. de S. Paulo, *Mem. Inst. Butanta*, 29:243, 1959.
156. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil X. Catálogo da coleção escorpiônica do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 29:255, 1959.
157. *Bücherl, W.* — Aranhas do gênero *Loxosceles* e "loxoscelismo" na América do Sul. I. Introdução, comentários bibliográficos, caracterização da subfamília *Loxoscelinae*, do gênero *Loxosceles* e enumeração das espécies da América do Sul, *Mem. Inst. Butantan*, 30:167, 1960-61-62.
158. *Bücherl, W.* — Revisão dos Botrurídeos da coleção escorpiônica do Museu Nacional do Rio de Janeiro, *Mem. Inst. Butantan*, 30:187, 1960-61-62.
159. *Bücherl, W.* — *Loxosceles* e Loxoscelismo na América do Sul. V. As espécies sul-americanas do gênero *Loxosceles* Heineken e Lowe 1832, *Mem. Inst. Butantan*, 31:15, 1964.

160. *Bücherl, W., Lucas, S. & Dessimoni, V.* — Aranhas da família Ctenidae, sub-família Cteninae. I. Redescrição dos gêneros *Ctenus* Walckenacr 1805 e *Phoneutria* Perty 1833, *Mem. Inst. Butantan*, 31:95, 1964.
161. *Bücherl, W.; Martin, P. R. S.; Cunha, M. F. da; Matthiescn, F. A.; Zimber, S. e Bücherl, I.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. XII. Revisão sistemática e crítica dos escorpiões de gênero *Bothriurus* Peters 1861, *Mem. Inst. Butantan*, 30:207, 1960-61-62.
162. *Bücherl, W. & Navas, J.* — Descrição dos machos das espécies de *Tityus* Lutz Giltay, 1928 e *Tityus Costatus* (Karsch, 1879) Gênero *Tityus* C. L. Koch, 1836; subfam. *Isometrinae* Birula, 1917; fam. *Buthidae*, (Simon, 1879), *Mem. Inst. Butantan*, 22:11-24, 1949.
163. *Gerschman de Pikelin, B. y Schiapelli, R. D.* — Contribución al conocimiento de *Theraphosa lebloni* (Latreille) 1804 (Aranea: Theraphosidae), *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):667, 1966.
164. *Lucas, S.* — Sôbre a posição sistemática de algumas espécies de aranhas verdadeiras do gênero *Cupiennius*, Simon, 1891, da família *Pisauridae*, *Mem. Inst. Butantan*, 31:127, 1964.
165. *Mello-Leitão, C. de* — Três aranhas novas nas collecções do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 8:399, 1933-34.
166. *Mello-Leitão, C. de* — Novas *Gonyleptidae* nas collecções do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 8:409, 1933-34.
167. *Mello-Leitão, C. de* — Três novas aranhas tetrapneumones nas collecções do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 9:353, 1935.
168. *Mello-Leitão, C. de* — Dois gêneros raros de aranhas nas collecções do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 9:361, 1935.
169. *Mello-Leitão, C. de* — A propósito de alguns opiliões novos, *Mem. Inst. Butantan*, 9:367, 1935.
170. *Mello-Leitão, C. de* — Notas sôbre opiliões do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 10:289, 1935-36.
171. *Mello-Leitão, C. de* — Sôbre o gênero *Trichodamon* M. L., *Mem. Inst. Butantan*, 10:297, 1935-36.
172. *Mello-Leitão, C. de* — Alguns opiliões da collecção do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 11:275, 1937.
173. *Mello-Leitão, C. de* — Um gênero e sete espécies novas de aranhas, *Mem. Inst. Butantan*, 11:311, 1937.
174. *Mello-Leitão, C. de* — Algumas aranhas de S. Paulo e Santa Catarina, *Mem. Inst. Butantan*, 12:523, 1938-39.
175. *Prado, A.* — Uma nova espécie de escorpião do gênero *Bothriurus* Peters, *Mem. Inst. Butantan*, 8:145, 1933-34.
176. *Prado, A.* — Notas sôbre o *Rhopalurus dorsomaculatus* Prado, *Mem. Inst. Butantan*, 12:5, 1938-39.
177. *Prado, A.* — Contribuição ao conhecimento dos escorpiões sul-americanos. Sinopse das espécies de *Rhopalurus*, *Mem. Inst. Butantan*, 13:25, 1939.
178. *Prado, A. & Rio-Patiño, J. L.* — Contribución al estudio de los escorpiones de Colombia, *Mem. Inst. Butantan*, 13:41, 1939.

179. *Schiapelli, R. D. y Gerschman de Pikelin, B. S.* — Estudio comparativo de Phoneutria fera Perty 1833 y Phoneutria nigriventer (Keyserling) 1891 (Aranea Ctenidae), *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):675, 1966.
180. *Schubart, O.* — Os Diplopoda de algumas ilhas do litoral paulista, *Mem. Inst. Butantan*, 21:203-254, 1948.
181. *Vellard, J.* — Um novo gênero e duas espécies novas de aranha do estado de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 2:79, 1925.
182. *Vellard, J.* — Contribution à l'étude des araignées. Nouvelles espèces d'Argiopidae, *Mem. Inst. Butantan*, 3:327, 1926.

## ARACNÍDEOS E ARTROPODOS

### BIOLOGIA

183. *Arvy, L.* — Données histochimiques sur la glande à venin (glande chélicérienne) des araignées dipneumones, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):711, 1966.
184. *Bücherl, W.* — Sobre a musculatura da Scolopendra viridicornis Newp. Uma contribuição para o estudo comparativo da musculatura dos quilopodos e insetos, *Mem. Inst. Butantan*, 14:65, 1940.
185. *Bücherl, W.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. 1. Manutenção de escorpiões em viveiros e extração do veneno, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):53, 1953.
186. *Bücherl, W.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. IV. Considerações em torno de substâncias escorpionicidas e outras medidas de combate aos escorpiões, *Mem. Inst. Butantan*, 27:107, 1955-56.
187. *Bücherl, W.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. V. Observações sobre o aparelho reprodutor masculino e o acasalamento de Tityus trivittatus e Tityus bahiensis, *Mem. Inst. Butantan*, 27:121, 1955-56.
188. *Bücherl, W.* — Fauna aracnológica e alguns aspectos ecológicos da Ilha de Trindade, *Mem. Inst. Butantan*, 29:277, 1959.
189. *Bücherl, W.* — Distribuição geográfica dos aracnóides peçonhentos temíveis (classe Aracnomorpha, subclasse Arachnoidea, ordens Scorpiones e Araneida, *Mem. Inst. Butantan*, 31:55, 1964.
190. *Bücherl, W.* — Mecanismo da picada das aranhas peçonhentas perigosas, *Mem. Inst. Butantan*, 31:67, 1964.
191. *Bücherl, W.* — Histologia das glândulas de veneno de algumas aranhas e escorpiões, *Mem. Inst. Butantan*, 31:77, 1964.
192. *Bücherl, W.* — Biologia de artrópodos peçonhentos, *Mem. Inst. Butantan*, 31:85, 1964.
193. *Bücherl, W.* — Latrodectus e latrodectismo na América do Sul, *Mem. Inst. Butantan*, 32:95, 1965.
194. *Delgado, A.* — Investigación ecologica sobre Loxosceles rufipes (Lucas) 1834 en la region costera del Perú, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):683, 1966.
195. *Landim, C. C. e Kitajima, E. W.* — Ultraestrutura do aparelho venenífero de Apis (Hymenoptera, Apidae), *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):701, 1966.
196. *Lucas, S.* — Estudos sobre aranhas da família Lycosidae. 2. Sobre o colorido de algumas espécies da subfamília Lycosinae, *Mem. Inst. Butantan*, 31:115, 1964.

197. *Lucas, S. & Bücherl, W.* — Importância dos órgãos sexuais na sistemática de aranhas. I. Variação interpopulacional dos receptáculos seminais em *Actinopus crassipes* (Keyserling) 1891, Actinopodidae sul-americanas, *Mem. Inst. Butantan*, 32:89, 1965.
198. *Lucas, S., Eichstedt, V. D. von & Bücherl, W.* — Sobre o sistema nervoso de *Tityus serrulatus* — Titynae — Buthidae — Scorpiones, *Mcm. Inst. Butantan*, 32:15, 1965.
199. *Recd, C. F.* — Spider Webs and Psychotropics, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2): 645, 1966.
200. *Vellard, J.* — La fonction venimeuse chez les araignées, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):35, 1966.

## BATRÁQUIOS

201. *Leão, A. T.* — Sobre dois batráquios da Ilha dos Alcatrazes, *Mem. Ins. Butantan*, 22:63-74, 1949.
202. *Leão, A. T.* — Sobre dois batráquios da Ilha da Queimada Grande, *Mem. Inst. Butantan*, 22:139-150, 1949.
203. *Leão, A. T. & Cochran, D. M.* — Revalidation and re-description of *Bufo ocellatus* Gunther, 1858 (Anura: Bufonidae), *Mem. Inst. Butantan*, 24(2),271, 1952.
204. *Vital Brazil, O. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo dos batrachios, *Mem. Inst. Butantan*, 3:7, 1926.

## BOTÂNICA MÉDICA

205. *Barros, F. P. de* — Contribuição à matéria médica vegetal do Brasil. 8. Complemento ao estudo farmacognóstico e terapêutico das várias espécies do gênero *Jacaranda* (Bignoniaceae), *Mem. Inst. Butantan*, 16:357, 1942.
206. *Hoehne, F. C. Kühlmann, J. G.* — Utriculárias do Rio de Janeiro e seus arredores, *Mem. Inst. Butantan*, 1:1, 1918.
207. *Peckolt, W.* — Contribuições à matéria médica vegetal do Brasil. I. Estudo farmacognóstico da Cucurbita máxima Duch e Cucurbita pepe L. (Cucurbitaceae), *Mem. Inst. Butantan*, 8:357, 1933-34.
208. *Peckolt, W.* — Contribuições à matéria médica vegetal do Brasil. II. Estudo farmacognóstico de *Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume (Loranthaceae). Um novo princípio da planta, *Mem. Inst. Butantan*, 8:371, 1933-34.
209. *Peckolt, W.* — Contribuições à matéria médica vegetal do Brasil. III. Estudo farmacognóstico do *Chondrodendron platyphylum* (St. Hil) Mier (Meninpermeaceae), *Mem. Inst. Butantan*, 8:379, 1933-34.
210. *Peckolt, W.* — Contribuição à matéria médica vegetal do Brasil. V. Estudo farmacognóstico do *Carica papaya* L. (Caricaceae), *Mem. Inst. Butantan*, 9: 277, 1935.
211. *Peckolt, W.* — Contribuição a matéria médica vegetal do Brasil. 7. Estudo farmacognóstico de *Heckeria umbellata* (L.) Kunth. Piperaceae, *Mem. Inst. Butantan*, 15:59, 1941.
212. *Peckolt, W. & Prado, A.* — Contribuição á matéria vegetal do Brasil. VI. Estudo farmacognóstico e terapêutico da jacaranda decurrens Cham. (Bignoniaceae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:301, 1935.

ANATOMIA PATOLÓGICA

213. *Machado, J. C.* — Alterações espontâneas da base de implantação e da túnica média muscular da aorta de cobaias. Aspectos morfológicos sugestivos do seu desenvolvimento e estudo da frequência, *Mem. Inst. Butantan*, 31:153, 1964.
214. *Machado, J. C.* — Oclusão trombótica da artéria pulmonar de cobaias com tuberculose, *Mem. Inst. Butantan*, 32:33, 1965.
215. *Machado, J. C.* — Formações cartilaginosas em miocárdio de *Crotalus d. terrificus*, *Mem. Inst. Butantan*, 32:27, 1965.

PARASITOLOGIA

216. *Amaral, A.* — Filariose de Bancroft, *Mem. Inst. Butantan*, 1:89, 1918-19.
217. *Aragão, H. de B.* — Classificação dos Hemosporídios, *Mem. Inst. Butantan*, 1:167, 1918-19.
218. *Arantes, J. B.* — Estudos parasitológicos. I. Do comportamento do *Trypanosoma cruzi* no *Silenus rhesus*, *Mem. Inst. Butantan*, 6:231, 1931.
219. *Arantes, J. B.* — Estudos parasitológicos. II. Haemogregarina butantaneasis sp.n., parasita da boipeva, *Ophis merremii* Wagler, 1824, *Mem. Inst. Butantan*, 6:237, 1931.
220. *Arantes, J. B. e Fonseca, F. da* — Pesquisas sobre trypanosomas. I. *Trypanosoma butantaneense*, sp.n., parasita da serpente *Ophis merremii* Wagler, 1824, *Mem. Inst. Butantan*, 6:215, 1931.
221. *Arantes, J. B. e Fonseca, F. da* — Pesquisas sobre trypanosomas. II. *Trypanosoma manguinhense*, sp. n., parasita do bugio *Alauatta caraya* (Humboldt, 1809), *Mem. Inst. Butantan*, 6:223, 1931.
222. *Arantes, J. B. e Fonseca, F. da* — Pesquisas sobre Trypanosomas. III. *Trypanosoma merremii*, sp. n., parasita da serpente *Ophis merremii* Wagler, 1824, *Mem. Inst. Butantan*, 6:227, 1931.
223. *Arantes, J. B. & Fonseca, F. da* — Sobre a possível synonymia de *Trypanosoma manguinhense* Arantes et Fonseca, 1931 e *Trypanosoma Florestali* Romaña, 1931, *Mem. Inst. Butantan*, 10:63, 1935-36.
224. *Araujo, P.* — *Aspiculuris (Aspiculuris) artigasi*, n. sp., (Nematoda: oxyuroidea) em *Mus musculus*, *Mem. Inst. Butantan*, 32:101, 1965.
225. *Artigas, P. de T.* — Montagem de helmintos e pequenos arthropodos. Novo methodo, simples e eficiente, *Mem. Inst. Butantan*, 10:65, 1935-36.
226. *Artigas, P. de T.* — Mounting of helminthus and small arthropods. A new, simple and efficient method, *Mem. Inst. Butantan*, 10:71, 1935-36.
227. *Artigas, P. de T.* — Estudos helminthologicos. I. *Paraoxyuronema brachytelesi*, g. n., sp. n.; parasita de *Brachyteles arachnoides* (Geoffr. 1806): *Oxyuronemidae*, fam. n. (Nematoda), *Mem. Inst. Butantan*, 10:77, 1935-36.
228. *Artigas, P. de T. & Perez, M. D.* — Considerações sobre *Opisthorchis Pricei*, Foster, 1939, *O. Guayaquilensis* Rodrigues, Gomez, et Montalvan, 1949 e *O. pseudofelineus* Ward, 1901. Descrição de *Amphimerus pseudofelineus* Minutus, n. sub. sp., *Mem. Inst. Butantan*, 30:157, 1960-61-62.
229. *Artigas, P. de T. & Perez, M. D.* — *Catadiscus eldoradiensis* n. sp., Trematoda, Paramphistomata de *Leptodactylus ocellatus*, *Mem. Inst. Butantan*, 31:5, 1964.

230. *Artigas, P. de T., Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Trematóides de Ofídios. *Liophistrema pulmonalis*, n. g., n. sp., *Liophistreminae*, n. subfam., *Westella sulina*, n. g., n. sp. (*Plagiorehiidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 16:157, 1942.
231. *Artigas, P. de T.; Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Algumas notas sobre o gênero *Opisthognimus* Luhe, 1900. Descrição de *Opisthognimus serpentis*, sp. n., Trematoide de ofídeo, *Mem. Inst. Butantan*, 17:47, 1943.
232. *Brazil, V.* — A defeza eontra a mosea, *Mem. Inst. Butantan*, 3:189, 1926.
233. *D'Andreta Jr., C. & Gonzalez B., D.* — Três novas espécies brasileiras de *Simuliidae* (*Diptera Nematocera*), *Mem. Int. Butantan*, 30:103, 1960-61-62.
234. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anaeardie acid (*Opentadeeadienyl-salicylic acid*) and related compounds. IV. The vermidal, antiprotozoie, antieetoparasitie and larvieidal aetion of anaeardates, *Mem. Inst. Butantan*, 19:119-126, 1946.
235. *Eichaum, F. W.* — Poteneiação da ação vermieida do hexylresoreinol por detergentes. Experiências in vitro eom *Ascaris* de porco, *Mem. Inst. Butantan*, 20:203-218, 1947.
236. *Fain, A.* — Pentastomida of snakes. Their parasitologieal role in man and animals, *Mem. Inst. Butantan*, 33:167, (1), 1966.
237. *Fonseca, F. da* — Notas de aeareologia. I. Papel dos aearianos do gênero *Trombieula* na transmissão das *Riekettsias* pathogenieas e applieação dessa hypothese à *Riekettsia brasiliensis*, Monteiro, 1931, *Mcm. Inst. Butantan*, 7:125, 1932.
238. *Fonseca, F. da* — Notas de aeareologia. II. *Iehoronyssus butantanensis*, sp. n., (*Aearina*, *Dermanyssidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 7:135, 1932.
239. *Fonseca, F. da* — Notas de aeareologia. III. Parasitismo do homem e de *Cavia aperea* por *Liponissus baeoti* (*Hirst*, 1913) (*Acarina*, *Dermanyssidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 7:139, 1932.
240. *Fonseca, F. da* — Notas de aeareologia. IV. Presença de *Ophionyssus serpentium* (*Hirst*, 1915) (*Aearina*, *Dermanyssidae*) no serpentario do *Inst. Butantan*, *Mem. Inst. Butantan*, 7:145, 1932.
241. *Fonseca, F. da* — Notas de aeareologia. V. *Trombieula butantanensis*, sp. n., (*Aearina*, *Trombidiida*), *Mem. Inst. Butantan*, 7:147, 1932.
242. *Fonseca, F. da* — Notas de aeareologia. V. Duas novas espécies de larvas do gênero *Trombieula*: *Trombieula ophidiea*, sp. n., e *Trombicula ewingi*, sp. n., (*Aearina Trombidiidae*); nota sobre *Trombieula butantanensis* Fl. da *Fonseca*, 1932 e sobre a inexisteneia da *T. akamushi* (*Brumpt*, 1910) entre nós, *Mem. Inst. Butantan*, 7:151, 1932.
243. *Fonseca, F. da* — *Eimeria pintoensis*, sp. n., parasita do eoelho sylvestre (*Sylvilagus minensis*), *Mem. Inst. Butantan*, 7:173, 1932.
244. *Fonseca, F. da* — Notas de Aeareologia. X. Oeorrêneia, em S. Paulo, e aearianos transmissores de várias modalidades de febre exanthematica e suas possíveis relações eom a *Riekettsiose neotropica paulista*, *Mcm. Inst. Butantan*, 9:27, 1935.
245. *Fonseca, F. da* — Notas de Aeareologia. XI. Validade de espécie e eyelo evolutivo de *Amblyomma striatum* *Koeh*, 1844, (*Acarina*, *Ixodidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 9:43, 1935.
246. *Fonseca, F. da* — Notes d'Aeareologie. XI. Validité de l'espèce et eycle evolutif de l'*Amblyomma striatum* *Koeh*, 1844 (*Acarina*, *Ixodidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 9:53, 1935.

247. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XII. *Eulaelaps vitzthumi*, sp. n., (Acarina, Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:59, 1935.
248. *Fonsecca, F. da* — Acareologische Notizen. XII. *Eulaelaps vitzthumi*, sp. n., (Acarina, Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:65, 1935.
249. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XIII. Novas espécies sul-americanas de parasitos do gênero *Liponissus* Kolenati, 1858, (Acarina, Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:69, 1935.
250. *Fonsecca, F. da* — Acareological Notes. XIII. New South American species of the genus *Liponissus* Kolenati, 1858, (Acarina, Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:99, 1935.
251. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XIV. *Ceratomyssus joaquimi*, sp. n., (Acarina, Liponissidae) parasita de *Glossophaga soricina* (Pallas), de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 9:115, 1935.
252. *Fonsecca, F. da* — Acareologische Notizen. XIV. *Ceratomyssus joaquimi*, sp. n., (Acarina, Liponissidae) ein Parasit der *Fledermaus Glossophaga soricina* (Pallas) aus dem Staate S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 9:125, 1935.
253. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XV. Ocorrência de sub-espécie de *Ixodes ricinus* (L., 1758) no Estado de S. Paulo (Acarina, Ixodidae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:131, 1935.
254. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XVI. *Ixodes amarali*, sp. n., (Acarina, Ixodidae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:137, 1935.
255. *Fonsecca, F. da* — Acareological Notes. XVI. *Ixodes amarali*, sp. n. (Acarina, ixodidae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:141, 1935.
256. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XVIII. Localização, frequência, distribuição geográfica e hospedadores de *Spelaeorhynchus latus* Banks, 1917 (Acarina, Spelaeorhynchidae), *Mem. Inst. Butantan*, 9:145, 1935.
257. *Fonsecca, F. da* — Trypanosomas de peixes brasileiros. Descrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan*, 9:149, 1935.
258. *Fonsecca, F. da* — Ocorrência de formas anômalas na *Leishmania brasiliensis*, *Mem. Inst. Butantan*, 9:185, 1935.
259. *Fonsecca, F. da* — Trypanosoma *matto grossense*, sp. n., *Mem. Inst. Butantan*, 9:189, 1935.
260. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XVIII. Gêneros e espécies de acarianos parasitas de ratos (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan*, 10:17, 1935-36.
261. *Fonsecca, F. da* — Notas da Acareologia. XIX. Gêneros e espécies de acarianos parasitas de mamíferos (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan*, 10:25, 1935-36.
262. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XX. Espécies de acarianos do gênero *Laelaps*, parasitas de ratos do Brasil (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan*, 10:33, 1935-36.
263. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XXI. *Gymnandromorphismo* em *Amblyomma cajennense* (Fabr., 1787), *Mem. Inst. Butantan*, 10:39, 1935-36.
264. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XXII. *Liponissus haematophagus*, sp. n., (Acari. Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan*, 10:43, 1935-36.
265. *Fonsecca, F. da* — Notas de Acareologia. XXIII. Novas espécies de Trombiculinae dos gêneros *Trombicula*, *Hannemania* e *Neoschongastia*, *Mem. Inst. Butantan*, 10:47, 1935-36.

266. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXIV. a) Representante brasileiro do gênero *Dermanyssus* Dugês, 1834 (Acari. *Dermanyssidae*) B) Nota sobre o nome genérico *Paralaelaps*, *Mem. Inst. Butantan*, 10:51, 1935-36.
267. *Fonseca, F. da* — Nota sobre uma espécie de *Flebotomus* do Brasil (Diptera. *Psychodidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 10:61, 1935-36.
268. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXV. Os *Laelaptidae* gigantes, parasitas de roedores sul-americanos; gênero e espécies novos (Acari), *Mem. Inst. Butantan*, 12:7, 1938-39.
269. *Fonseca, F. da* — *Acareological Notes*. XXV. The giant *Laelaptidae*, parasites of South American rodents; new genus and species (Acari.), *Mem. Inst. Butantan*, 12:55, 1938-39.
270. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXVI. Novos estudos sobre o gênero *Laelaps*, Koch, 1836 (Acari. *Laelaptidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:103, 1938-39.
271. *Fonseca, F. da* — *Acareological Notes*. XXVI. New studies on the genus *Laelaps* Koch, 1836 (Acari. *Laelaptidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:125, 1938-39.
272. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXVII. *Liponissus brasiliensis*, sp. n., parasita habitual de roedores e acidental do homem, *Mem. Inst. Butantan*, 12:147, 1938-39.
273. *Fonseca, F. da* — *Acareological Notes*. XXVII. *Liponissus brasiliensis*, sp. n., usual parasite of rodents and accidental of man, *Mem. Inst. Butantan*, 12:155, 1938-39.
274. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXVIII. Ocorrência de *Dermanyssus gallinae* (Degeer, 1778) no Brasil (Acari. *Dermanyssidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:161, 1938-39.
275. *Fonseca, F. da* — *Acareological Notes*. XXVIII. Occurrence of *Dermanyssus gallinae* (Degeer, 1778) in Brazil (Acari. *Dermanyssidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:163, 1938-39.
276. *Fonseca, F. da* — Protozoários parasitas. I. Ciliado gigante, *Muniziella cunhai*, gen. n. sp. n., parasita de *Hidrochoerus capybara* (Holotricha. *Pycnothrichidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:165, 1938-39.
277. *Fonseca, F. da* — Parasitische Protozoen. I. Ein Riesiges Infusor, *Muniziella cunhai* gen. n. sp. n., Parasit von *Hydrochoerus capybara* (Holotricha, *Pycnothrichidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:173, 1938-39.
278. *Fonseca, F. da* — Descrição no macho de *Flebotomus arthuri* Fonseca, 1936, (Diptera. *Psychodidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:181, 1938-39.
279. *Fonseca, F. da* — Observações sobre o ciclo evolutivo de *Porocephalus clavatus*, especialmente sobre o seu orquidotropismo em cobaias, *Mem. Inst. Butantan*, 12:185, 1938-39.
280. *Fonseca, F. da* — Espécies de *Amblyopinus* parasitas de Murídeos e Didelídeos em S. Paulo (Coleoptera. *Staphylinidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:191, 1938-39.
281. *Fonseca, F. da* — Observação de uma fase do ciclo evolutivo de *Cuterebra apicalis* Guerin (Diptera. *Oestridae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:195, 1938-39.
282. *Fonseca, F. da* — *Brachylaemus fleuryi* Fons., 1939 (Fascioloidea. *Brachylaemidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:197, 1938-39.
283. *Fonseca, F. da* — *Brachylaemus fleuryi* Fons., 1939, (Fascioloidea. *Brachylaemidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 12:203, 1938-39.

284. *Fonseca, F. da* — Protozoários parasitas. IV. Protozoários novos de tapídeos, *Mem. Inst. Butantan*, 14:43, 1940.
285. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXX. Famílias, gênero e espécie novos de acarídeos parasitas do pulmão de serpentes (Acari. Pheumopnyonysidae, n. fam. e Entonyssidae, n. fam.), *Mem. Inst. Butantan*, 14:53, 1940.
286. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXXI. *Bolivilaelaps tricholabiatu*s, gen. n., sp. n. (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan*, 14:59, 1940.
287. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXXII. Novas espécies brasileiras do gênero *Liponissus Kolenati* (Acari. Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan*, 15:103, 1941.
288. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXXIV. Posição do gênero *Liponissus Kolenati* em face das espécies tropicais; seu desdobramento em novos gêneros (Acari. Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan*, 16:149, 1942.
289. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXXVIII. Sarcóptiformes da preguiça; *Lobalges trouessarti*, gen. n. sp. n., (Acari. Epidermoptidae), *Mem. Inst. Butantan*, 26:85, 1954.
290. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXXIX. Sistemática e filogênese de *Psoralgidae* Oudemans, *Sarcóptiformes* parafagistas de mamíferos com morfologia de Acari plúmicos, *Mem. Inst. Butantan*, 26:93, 1954.
291. *Fonseca, F. da* — Notes d'Acarologie. XLI. *Haemolaelaps Berlese* versus *Atricholaelaps Ewing* et *Ischnolaelaps Fonseca*: *Ornithonyssus Sambon* versus *Bdellonyssus Fonseca*, *Mem. Inst. Butantan*, 28:45, 1957-58.
292. *Fonseca, F. da* — Acarologische Notizen. XLII. Geruchsorgane und Entwicklungsgeschichte der Mesostigmata und Spelaeorhynchidae (Acari), *Mem. Inst. Butantan*, 28:55, 1957-58.
293. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia, XLIII. Fauna acarológica de roedores em Ouro Preto, *Mem. Inst. Butantan*, 28:59, 1957-58.
294. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XLIV. Inquérito sobre a fauna acarológica de parasitas no nordeste do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 28:99, 1957-58.
295. *Fonseca, F.* — Notas de Acareologia. XLVI. Acarofauna zooparasita na Bolívia, *Mem. Inst. Butantan*, 29:89, 1959.
296. *Fonseca, F. da* — *Atricholaelaps (Ischnolaelaps) marioi*, sp. n., *Mem. Inst. Butantan*, 31:111, 1964.
297. *Fonseca, F. da* & *Corrêa, R. R.* — Infecção experimental de *Anopheles (Kerteszia) cruzi* pelo *Plasmodium vivax*, *Mem. Inst. Butantan*, 15:91, 1941.
298. *Fonseca, F. da* & *Ramos, A. S. da* — Nôvo subgenero e novas espécies de anofelinas neotrópicas (Diptera. Culicidae). (Nota prévia), *Mem. Inst. Butantan*, 13:383, 1939.
299. *Fonseca, J. A. B. da* & *Fonseca, F. da* — *Leptomonas anophelini*, sp. n., parasita do *Anopheles eiseni*, *Mem. Inst. Butantan*, 15:101, 1941.
300. *Fonseca, J. A. B. da* & *Fonseca, F. da* — Transmissão da malária humana por anofelinos da série *tarsimaculatus*, *Mem. Inst. Butantan*, 16:93, 1942.
301. *Leão, A. T.* — Discussão em torno dos gêneros *Ochetósoma* Braun, 1901, e *Renifer* Pratt, 1902 (Trematoda), *Mem. Inst. Butantan*, 18:67, 1944-45.
302. *Leão, A. T.* — Sobre um nôvo gênero de *Liophistrematinae* Artigas, Ruiz & Leão, 1942, (Trematoda, Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan*, 19:33, 1946.

303. *Leão, A. T. & Eichbaum, F. W.* — Ação vermícida do óleo de cajú (*Anacardium occidentale*) e derivados. Experiências em cães, *Mem. Inst. Butantan*, 20:13, 1947.
304. *Pessoa, S. B. e Corrêa, O.* — Notas sobre os *Oxyurus* parasitos das baratas domésticas, com a descrição de uma nova espécie: *Oxyurus australasiae*, sp. nov., *Mem. Inst. Butantan*, 3:71, 1926.
305. *Prado, A.* — Contribuições ao conhecimento dos culicídeos de São Paulo. I. Notas sobre *Mansonia albifera* Prado e sobre o maco de *M. albicosta* (Chagas), *Mem. Inst. Butantan*, 6:191, 1931.
306. *Prado, A.* — Contribuições ao conhecimento dos culicídeos de São Paulo. II. Notas sobre as espécies encontradas nos arredores da capital e sobre a determinação de *Aedes crinifer* (Theob), *Mem. Inst. Butantan*, 6:199, 1931.
307. *Prado, A.* — Contribuições ao conhecimento dos culicídeos de São Paulo. III. Notas sobre *Psorophora* (*Janthinosoma*) *discrucians* (Walker) e descrição do exemplar macho, *Mem. Inst. Butantan*, 6:205, 1931.
308. *Prado, A.* — Contribuição ao conhecimento dos culicídeos de São Paulo. IV. Uma nova espécie de *Uranotaenia*, *Mem. Inst. Butantan*, 6:209, 1931.
309. *Prado, A.* — Contribuição ao conhecimento dos culicídeos de S. Paulo. V. Synopse das espécies de *Mansonia*, *Mem. Inst. Butantan*, 8:1, 1933-34.
310. *Prado, A.* — Contribuições ao conhecimento dos culicídeos de S. Paulo. VI. Notas sobre os mosquitos originários das taquaras: *Sabethoides intermedius* (Lutz) e *Megarhinus bambusicola* Lutz & Neiva, *Mem. Inst. Butantan*, 9:193, 1935.
311. *Prado, A. e Fonseca, F. da* — Um gênero novo e algumas espécies de sarcophagas (Diptera, *Stephanostomatidae*) da Cidade de São Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 7:159, 1932.
312. *Ruiz, J. M.* — *Catadiscus Freitaslenti*, sp. n., (Trematoda: Paramphistomoidae), parasito de ofídeo neotrópico; observação sobre a presença de dois canais eferentes no gênero *Catadiscus* Cohn, 1904, *Mem. Inst. Butantan*, 17:29, 1943.
313. *Ruiz, J. M.* — *Neoctanguim travassosi*, gen. n. sp. n., (Trematoda: Paramphistomoidae), parasito de quelônio marinho. Chave dos gêneros da família *Microscaphidiidae* Travassos, 1922, *Mem. Inst. Butantan*, 17:35, 1943.
314. *Ruiz, J. M.* — *Pronocephalidae* (Trematoda). Estudos das espécies brasileiras e revisão da família, *Mem. Inst. Butantan*, 19:249, 1946.
315. *Ruiz, J. M.* — Estudo do sistema excretor de *Leptophyllum stenocotyle* Cohn, 1902 (Trematoda: *Plagiorchidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 23:45, 1950-51.
316. *Ruiz, J. M.* — Sobre a distinção genérica dos *Crotalidae* (Ophidia: *Crotaloidea*) baseada em alguns caracteres osteológicos, *Mem. Inst. Butantan*, 23:109, 1950-51.
317. *Ruiz, J. M.* — Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 2. Fauna de Santos, Est. de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 24(1):17, 1952.
318. *Ruiz, J. M.* — Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 3. Fauna de Belo Horizonte Jaboticatubas, Est. de Minas Gerais, *Mem. Inst. Butantan*, 24(1):45, 1952.
319. *Ruiz, J. M.* — Sobre um novo *Gnathostoma* assinalado no Brasil (Nematoda: *Gnathostomatidae*), *Mem. Inst. Butantan*, 24(1):37, 1952.

320. *Ruiz, J. M.* — Índices cercários específicos do *Schistosoma mansoni* verificados em Neves e Mariana, Est. de Minas Gerais, *Mem. Inst. Butantan*, 24(1): 63, 1952.
321. *Ruiz, J. M.* — Técnica de perfusão para a coleta de *Schistosoma mansoni* em animais de laboratório, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):101, 1952.
322. *Ruiz, J. M.* — Schistosomose experimental. I. Receptividade de *Procyon cancrivorus* à infestação pelo *Schistosoma mansoni*, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2), 111, 1952.
323. *Ruiz, J. M.* — Esquistossomose experimental. 3. *Cuniculus pacca* e *Grison furax*, novos animais reptíveis à infestação pelo *Schistosoma mansoni*, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):23, 1953.
324. *Ruiz, J. M.* — Preparo do antígeno para intradermo-reação na esquistossomose, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):5, 1953.
325. *Ruiz, J. M.* — Esquistossomose experimental. 4. *Nausa narica* e *Didelphis paraguayensis*, animais sensíveis à infestação experimental pelo *Schistosoma mansoni*, *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):23, 1953.
326. *Ruiz, J. M.* — Processo rápido de perfusão do sistema porta de mamíferos para coleta de esquistossomatídeos, aplicável aos trabalhos de campo, *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):29, 1953.
327. *Ruiz, J. M.* — Contribuição ao conhecimento das formas larvárias de trematóides brasileiros. 4. Nota sobre o sistema excretor da cercária de *Schistosoma mansoni*, *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):45, 1953.
328. *Ruiz, J. M.* Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 5. Descrição de três furcocercárias que ocorrem em planorbídeos hospedeiros do *Schistosoma mansoni*, *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):77, 1953.
329. *Ruiz, J. M. & Carvalho, J. M.* — *Australorbis immunis* (Lutz, 1918) hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni* na cidade de Santos, Est. de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):175, 1953.
330. *Ruiz, J. M. & Coelho, E.* — Schistosomose experimental. 2. Hermafroditismo do *Schistosoma mansoni* verificado na cobaia, *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):115, 1952.
331. *Ruiz, J. M. & Coelho, E.* — Nematóides (Oxyuroidea) parasitos de diplópodos da Ilha da Queimada Grande, S. Paulo, Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 27:51, 1955-56.
332. *Ruiz, J. M. & Leão, T. A.* — Notas Helmintológicas. I. Três novas espécies de *Opisthognimus* parasitas de ofídios brasileiros (Trematoda: Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan*, 16:171, 1942.
333. *Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Notas Helmintológicas. 2. Algumas considerações em torno do gênero *Leptophyllum* Cohn, 1902 (Trematoda: Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan*, 16:187, 1942.
334. *Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Notas Helmintológicas. 3. Nova espécie de trematóide do gênero *Infidum* Travassos, 1916, (Dicrocoeliidae), parasita de ofídio brasileiro, *Mem. Inst. Butantan*, 16:203, 1942.
335. *Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Notas Helmintológicas. 4. *Choledocystus vesicalis*, n. sp. parasita da vesícula biliar de *Bufo marinus* (L.) (Trematoda: Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan*, 16:209, 1942.
336. *Ruiz, J. M. & Rangel, J. M.* — Estrigeidas de répteis brasileiros (Trematoda: Strigeata), *Mem. Inst. Butantan*, 26:257, 1954.
337. *Silva, P. da* — Contribuição à micologia parasitária do Brasil (Duas novas espécies de fungos produtores de maduromicose), *Mem. Inst. Butantan*, 1:187, 1918-19.

## ENDOCRINOLOGIA

338. *Belluomini, H. E., Mello, R. F., Penha, A. M. e Schreiber, G.* — Estudo citológico e ponderal do testículo de *Crotalus durissus terrificus* durante o ciclo reprodutivo anual, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):761, 1966.
339. *Betz, T. W.* — The ovarian cycle of *Natrix rhombifera* — an apparently generalized cycle of snakes of temperate latitudes, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1): 115, 1966.
340. *Brandi, C. M. W., Cabib, E. & Prado, J. L.* — Identificação cromatográfica de adrenalina e arterenol na adrenal de ofídios, *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):35, 1953.
341. *Brandi, C. M. W.; Cabib, E. & Prado, J. L.* — Chromatographic identification of adrenaline and arterenol in snake adrenals, *Mem. Inst. Butantan*, 25(2): 39, 1953.
342. *Décourt, L. & Lobo, J. I.* — Efeito da progesterona nas amenorréias, *Mem. Inst. Butantan*, 17:99, 1943.
343. *Dreyfus, A.* — Hermaphroditismo alternante proterogynico em *Rhabdias fülleborni*, Trav., *Mem. Inst. Butantan*, 11:289, 1937.
344. *Dreyfus, A.* — Sôbre a evolução de ovocytos contidos no testículo do sapo, *Mem. Inst. Butantan*, 11:299, 1937.
345. *Fraenkcl, L. & Martins, T.* — Estudos sôbre a fisiologia sexual das serpentes, *Mem. Inst. Butantan*, 13:393, 1939.
346. *Henriques, O. B. & Henriques, S. B.* — Sôbre a determinação dos 17-cetosteróides na urina humana, *Mem. Inst. Butantan*, 19:11-22, 1946.
347. *Hoge, A. R.; Belluomini, H. E.; Schreiber, G. & Penha, A. M.* — Sexual abnormalities in *Bothrops insularis* (Amaral) 1921, *Mem. Inst. Butantan*, 29: 17, 1959.
348. *Lobo, J. I. & Décourt, L.* — O tratamento do diabete insipido, *Mem. Inst. Butantan*, 15:37, 1941.
349. *Lobo, J. I. & Décourt, L.* — Alguns aspectos da evolução de cretinismo e do mongolismo, *Mem. Inst. Butantan*, 16:243, 1942.
350. *Lobo, J. I. & Décourt, L.* — Novas observações sôbre o diabete insipido, *Mem. Inst. Butantan*, 16:275, 1942.
351. *Marcondes Silva, A.* — Contribuição ao estudo de exoftalmo, *Mem. Inst. Butantan*, 17:105, 1943.
352. *Marcondes Silva, A.* — Citologia vaginal e seu emprêgo em ginecologia endócrina, *Mem. Inst. Butantan*, 18:75-100, 1944-45.
353. *Martins, T.* — Estudos sôbre gonadas e hypophyse. I. Desenvolvimento precoce dos caracteres sexuais em gallinaceos tratados com substâncias gonadostimulantes do sôro gravídico equino, *Mem. Inst. Butantan*, 8:347, 1933-34.
354. *Martins, T.* — Pesquisas endocrinológicas. 51. Alterações histológicas e funcionamento da hypophyse enxertada em ratos, *Mem. Inst. Butantan*, 10:261, 1935-36.
355. *Martins, T.* — Pesquisas endocrinológicas. 52. Acção das altas doses de estrina sôbre a hypophyse in situ ou enxertada na câmara anterior do olho do rato, *Mem. Inst. Butantan*, 10:267, 1935-36.

356. *Martins, T. & Mello, R. F. de* — Estudos sôbre gonadas e hypophyse. II. Sôbre os resultados da parabiose de ratos fêmeas com ratos castrados e hypophysectomizados, *Mem. Inst. Butantan*, 8:353, 1933-34.
357. *Martins, T. & Valle, J. R.* — Excitação do hipogástrico e ação da adrenalina e da pitocina sôbre a musculatura lisa genital masculina de gatos e cobaios em diversas condições hormonais, *Mem. Inst. Butantan*, 14:109, 1940.
358. *Martins, T.; Porto, A. & Valle, J. R.* — Contratilidade "in vitro" de canais deferentes, vesículas seminais e prostatas de ratos castrados e injetados simultâneamente com propionato de testosterona e benzoato de estradiol, *Mem. Inst. Butantan*, 14:151, 1940.
359. *Martins, T., Valle, J. R. & Porto, A.* — Estudo in vitro da musculatura lisa genital masculina de ratos em diversas condições hormonais, *Mem. Inst. Butantan*, 14:119, 1940.
360. *Martins, T.; Valle, J. R. & Porto, A.* — Sôbre a duração do tratamento necessário para que os hormônios sexuais influam sôbre a contratilidade "in vitro", dos canais deferentes e vesículas seminais de ratos castrados, *Mem. Inst. Butantan*, 14:129, 1940.
361. *Martins, T.; Valle, J. R. & Porto, A.* — Estudo morfológico e funcional de enxêrto de órgãos genitais acessórios de ratos e cobaios em diversas condições hormonais, *Mem. Inst. Butantan*, 14:139, 1940.
362. *Martins, T.; Valle, J. R. & Porto, A.* — Efeitos do tratamento prolongado de cadelas com o propionato de testosterona, *Mem. Inst. Butantan*, 16:237, 1942.
363. *Mello, R. F. de* — A acção synergica dos hormônios sexuaes, *Mem. Inst. Butantan*, 10:275, 1935-36.
364. *Miller de Paiva, L.* — Efeitos de um extrato pré-hipofásico sôbre as adrenais e o timo de camundongos infantis, *Mem. Inst. Butantan*, 18:101-104, 1944-45.
365. *Miller de Paiva, L.* — Ovário e adrenal. Suas relações com a alimentação e com o benzoato de estradiol, *Mem. Inst. Butantan*, 20:219-226, 1947.
366. *Porto, A.* — Sôbre a presença de Progesterona no corpo amarelo de serpentes ovovivíparas, *Mem. Inst. Butantan*, 15:27, 1941.
367. *Porto, A.* — Farmacologia comparada do canal deferente do coelho normal e castrado, *Mem. Inst. Butantan*, 17:75, 1943.
368. *Porto, A.* — Sôbre a passagem de substâncias androgênicas nas parabioses de ratos castrados com ratos normais, *Mem. Inst. Butantan*, 16:219, 1942.
369. *Porto, A. & Ferraz, M.* — Presença de hormônio antidiurético na hipófise de serpentes do gênero *Philodryas*, *Mem. Inst. Butantan*, 16:219, 1942.
370. *Porto, A. & Seavone, R.* — Efeitos da implantação de estilboestrol sôbre o aparelho reprodutor da canária (*Sicalis flaveola holti* Muller), *Mem. Inst. Butantan*, 15:31, 1941.
371. *Saint, H.* — Le cycle sexuel des serpents venimeux, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1): 105, 1966.
372. *Salvatore, C. A. & Schreiber, G.* — Pesquisas cariométricas no ciclo estral e gravídico. Pesquisas de citologia quantitativa: IV., *Mem. Inst. Butantan*, 20: 39-78, 1947.
373. *Salvatore, C. A. & Schreiber, G.* — Pesquisas de citologia quantitativa. V. Estudo cariométrico das células foliculares e luteínicas., *Mem. Inst. Butantan*, 20:335-352, 1947.



374. *Sehreiber, G.* — O crescimento interfásico do núcleo. Pesquisas cariométricas sobre a espermatogênese dos ofídios, *Mem. Inst. Butantan*, 20:113-180, 1947.
375. *Slotta, C. H.* — Sobre a química dos hormônios sexuais. 1. Estado actual da questão, *Mem. Inst. Butantan*, 11:1, 1937.
376. *Slotta, C. H. & Forster, W.* — Sobre a química dos hormônios sexuais. 3. Constituição das substâncias estrogênicas obtidas com o anol, *Mem. Inst. Butantan*, 11:31, 1937.
377. *Slotta, C. H.; Szyszka, G. & Blanke, E.* — Sobre a química dos hormônios sexuais. 2. Obtenção da estrona da urina de eguas prenhes, *Mem. Inst. Butantan*, 11:17, 1937.
378. *Ubiseh, G. von* — Estudo sobre fêmeas, machos e formas sexuais aberrantes em *Antennaria dioica* (L.), Gaertn., *Mem. Inst. Butantan*, 10:163, 1935-36.
379. *Valle, J. R.* — Estudos sobre a fisiologia da lactação. I. O emprego da fistula do papo no pombo na identificação da Prolactina, *Mem. Inst. Butantan*, 10:283, 1935-36.
380. *Valle, J. R.* — Padronisation biologique de la Prolactine, *Mem. Inst. Butantan*, 15:9, 1941.
381. *Valle, J. R.* — Sobrevida da Parelheira (*Philodryas*, L. sp.) depois da adrenalectomia, *Mem. Inst. Butantan*, 18:237-240, 1944-45.
382. *Valle, J. R. & Porto, A.* — Novos resultados do estudo "in vitro" da musculatura lisa genital masculina do cobaio. Influência do estilboestrol, *Mem. Inst. Butantan*, 15:1, 1941.
383. *Valle, J. R. & Porto, A.* — Teor em acetilcolina da genitália de ratos em diferentes condições hormonais, *Mem. Inst. Butantan*, 17:65, 1943.
384. *Valle, J. R. & Porto, A.* — A note on the adrenin content of the adrenals of snakes, *Mem. Inst. Butantan*, 18:247-250, 1944-45.
385. *Valle, J. R. & Valle, L. A. R.* — Substâncias androgênicas nas gômadãs de serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, *Mem. Inst. Butantan*, 16:225, 1942.
386. *Valle, J. R. & Valle, L. A. R.* — Teneur en prolactine de l'hypophyse humaine selon le sexe, *Mem. Inst. Butantan*, 16:231, 1942.
387. *Valle, J. R. & Valle, L. A. R.* — Substâncias estrogênicas nos ovários das *Crotalideas*, *Mem. Inst. Butantan*, 17:61, 1943.

## GENÉTICA-ANIMAL

388. *Beçak, W.* — Constituição cromossômica e mecanismo de determinação do sexo em ofídios sul-americanos. I. Aspectos cariotípicos, *Mem. Inst. Butantan*, 32:37, 1965.
389. *Beçak, W.* — Constituição cromossômica e mecanismo de determinação do sexo em ofídios sul-americanos. II. Cromossomos sexuais e evolução do cariótipo, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):775, 1966.
390. *Beçak, W., Beçak, M. L. & Nazareth, H.* — Evolution and sex chromosomes in Serpentes, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):151, 1966.
391. *Diaz, M. O. & Saez, F. A.* — Karyotypes of South-American Araneida, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):153, 1966.
392. *Ohno, S.* — Evolution of vertebrates genomes, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):155, 1966.

393. *Schreiber, G., Mclucci, N. B., Gerken, S. E., Sant'Ana, Y. X., Fallieri, L. A. & Amorim, F. O.* — Pesquisas de citologia quantitativa. XIX. DNA e volume nuclear nos tecidos somáticos dos vertebrados, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):135, 1966.

### QUÍMICA

394. *Berti, F. A. & Ziti, L. M.* — The preparation of 2,6-Dinitroaniline, *Mem. Inst. Butantan*, 24:(1), 9, 1952.
395. *Berti, F. A., Reickmann, B., Perego, C. & Rzeppa, H. W.* — A produção em larga escala de 4,4'-diaminodifenilsulfona e derivados para a campanha anti-leprotica no Est. de S. Paulo, Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 21:107, 1948.
396. *Höxter, G. & Mungiole, R.* — Estudos electroforéticos. I. Métodos e técnica, *Mem. Inst. Butantan*, 22:75-126, 1949.
397. *Klobusitzky, D. von* — Um electro-ultrafiltro modificado, *Mem. Inst. Butantan*, 6:295, 1931.
398. *Klobusitzky, D. von* — Contribuição ao exame dos vidros para empolas, *Mem. Inst. Butantan*, 7:17, 1932.
399. *Klobusitzky, D. von* — Apparelo simples para produzir hydrogênio ou oxygênio por elecrolise, *Mem. Inst. Butantan*, 7:27, 1932.
400. *Klobusitzky, D. von* — Um micro-methodo para pesquisa de vários saes de estrychnina, *Mem. Inst. Butantan*, 8:105, 1933-34.
401. *Klobusitzky, D. von* — Estudos physico-chimicos sôbre proteínas em presença de alcool. I. Sôbre a coagulação pelo calor das soroproteínas em presença do alcool, *Mem. Inst. Butantan*, 8:111, 1933-34.
402. *Klobusitzky, D. von e Magyary, C. von* — Sôbre a viscosidade dos corpos albuminosos bicarbonatados, *Mem. Inst. Butantan*, 7:5, 1932.
403. *Rieckmann, B.* — Some symmetric a-aminoacetyl derivatives of 4,4'-diaminodiphenylsulfone, *Mem. Inst. Butantan*, 24:(2)77, 1952.
404. *Slotta, C. H. & Neisser, C.* — O café sob o ponto de vista chimico. 1. Determinação do extracto e da cafeina, *Mem. Inst. Butantan*, 11:39, 1937.
405. *Slotta, C. H. & Neisser, C.* — O café sob o ponto de vista chimico. 2. Alcaloides do café, *Mem. Inst. Butantan*, 11:49, 1937.
406. *Slotta, C. H. & Neisser, C.* — O Café sob o ponto de vista chimico. 5. Três novas substâncias do café, *Mem. Inst. Butantan*, 11:71, 1937.
407. *Slotta, K. & Prinosh, J.* — A new method of quantitative paper chromatography, *Mem. Inst. Butantan*, 24:(2)85, 1952.
408. *Slotta, C. & Szyszka, G.* — O café sob o ponto de vista chimico. 3. Uso do café no preparo de sabão ou óleo comestível, *Mem. Inst. Butantan*, 11:55, 1937.
409. *Slatta, C. H., Neisser, C. & Cardeal, A.* — O café sob o ponto de vista chimico. 4. Determinação e extracção do acido chlorogênico do café, *Mem. Inst. Butantan*, 11:61, 1937.
410. *Slatta, C. H., Neisser, C. & Cardeal, A.* — O café sob o ponto de vista químico. 6. Nôvo método para a determinação do ácido chlorogenico no café, *Mem. Inst. Butantan*, 12:487, 1938-39.
411. *Slatta, C. H., Neisser, C. & Cardeal, A.* — O café sob o ponto de vista químico. 7. Nôvo método para a determinação da trigonelina, *Mem. Inst. Butantan*, 12:497, 1938-39.

412. *Taborda, A.* — Electrodo de vidro. Generalidades. Teoria. Tipos. Aplicações, *Mem. Inst. Butantan*, 13:447, 1939.
413. *Taborda, A. & Navarro, J. S.* — Nova câmara para diálise, *Mem. Inst. Butantan*, 14:199, 1940.

## BACTERIOLOGIA

414. *Amaral, J. P. do & Andrade, M. C. de* — Portadores do bacilo de Loeffler entre os escolares de São Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 18:1-3, 1944-45.
415. *Amaral, J. P. do & Aguiar, A. A.* — Reações da precipitina em alguns Culicidas, *Mem. Inst. Butantan*, 22:205-212, 1949.
416. *Amaral, J. P. do & Brandi, R.* — Da conservação da atividade da tuberculina diluída em líquido de Gottschall & Bunney, *Mem. Inst. Butantan*, 21:179-186, 1948.
417. *Amaral, J. P. do & Esteves, M. B.* — Antigenos de Salmonela em bacilo Flexner II, *Mem. Inst. Butantan*, 22:199-204, 1949.
418. *Amaral, J. P. do & Laerda, Jr. M. G. de* — Estudos sôbre a vacinação antitífica. I. Vacinação pelo método de Felix, *Mem. Inst. Butantan*, 20:227-232, 1947.
419. *Amaral, J. P., Bioeea, E., Bier, O. & Esteves, M. B.* — Estudos sôbre as salmoneloses em S. Paulo. III. Ocorrência de um bacilo paracoli com antigenos de salmonela (VI, XIII, XXV, VI) em casos de diarréia infantil, *Mem. Inst. Butantan*, 19:221-228, 1946.
420. *Amaral, J. P. do & Souza e Silva, O. R. de* — Imunidade antidiftérica na mãe e no recém-nascido. Suas relações com o Schick test, *Mem. Inst. Butantan*, 18:9-20, 1944-45.
421. *Assumpção, L. de* — Contribuição ao estudo dos typos de meningococos encontrados no Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 3:143, 1926.
422. *Assumpção, L. de & Ribas, J. C.* — Incidência de bacterias do gênero Salmonella em ratos da cidade de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 17:127, 1943.
423. *Bioeea, E. & Amaral, J. P.* — Estudos sôbre o tratamento da infecção tífica experimental do camundongo. I. Comportamento "in vitro" e "in vivo" de várias substâncias, *Mem. Inst. Butantan*, 19:41-48, 1946.
424. *Bioeea, E. & Amaral, J. P.* — Estudos sôbre o tratamento da infecção tífica experimental do camundongo. II. Sinergismo entre medicamentos químicos sintéticos e medicamentos de origem biológica, *Mem. Inst. Butantan*, 19:49-58, 1946.
425. *Bioeea, E., Amaral, J. P. do & Bier, O. G.* — Estudos sôbre a quimioterapia da infecção meningocócica experimental do camundongo; derivados aminados da difenilsufona e substâncias antibióticas de origem microbiana (penicilina e piocianina), *Mem. Inst. Butantan*, 18:37-44, 1944-45.
426. *Büller Souto, A. & Lima, C.* — Ação da vitamina C (ácido l-ascorbico) sôbre as toxinas da gangrena gasosa, *Mem. Inst. Butantan*, 12:265, 1938-39.
427. *Büller Souto, A. & Lima, C.* — Action de la vitamine C (acide l-ascorbique) sur la toxine du Bacillus perfringens, *Mem. Inst. Butantan*, 12:297, 1938-39.
428. *Calazans, S. C. de e Pestana, B. R.* — Emprêgo do ácido rosolico no isolamento e identificação dos bacillos do grupo coli-typhico-dysenterico em meios solidos, *Mem. Inst. Butantan*, 7:283, 1932.

429. *Carrijo, L. N., Pires, C. D. A. & Brandão, C.* — Vacinação T. A. B. Formação de aglutinina "O" no homem pelo emprêgo de vacina formolada, *Mem. Inst. Butantan*, 18:45-54, 1944-45.
430. *Leme, J. S. de M. & Carrijo, L. N.* — Vacinação T. A. B. I. Formação de aglutininas no homem resultante do emprêgo de vacina formolada, *Mem. Inst. Butantan*, 17:111, 1943.
431. *Leme, J. S. de M. & Carrijo, L. N.* — Vacinação T. A. B. 2. Vacina formolada pela via intradérmica, *Mem. Inst. Butantái*, 17:117, 1943.
432. *Leme J. S. de M. & Carrijo, L. N.* — Nível médio de aglutininas tíficas em S. Paulo. Contribuição para o seu conhecimento, *Mem. Inst. Butantan*, 17:121, 1943.
433. *Lemos Monteiro, J.* — As diferentes phases da autolysis do "Bacilus anthracis", *Mem. Inst. Butantan*, 2:95, 1925.
434. *Lemos Monteiro, J.* — Presença do bacteriophago na água dos rios de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 3:187, 1926.
435. *Lemos Monteiro, J.* — Sôbre o phenomemo de d'Hérelle. O bacteriophago nas polpas vaccinicas glicerinadas. Considerações sôbre a natureza do phenomemo, *Mem. Inst. Butantan*, 5:25, 1930.
436. *Lemos Monteiro, J. e Godinho, R.* — Do emprego do soro vaccinico no tratamento da coqueluche, *Mem. Inst. Butantan*, 7:311, 1932.
437. *Lemos Monteiro, J. e Travassos, J.* — Estudos experimentaes sôbre o bacillo de Friedmann, *Mem. Inst. Butantan*, 7:195, 1932.
438. *Mello, J. de T.* — Sôbre a prova de leite nas pesquisas bacteriológicas, *Mem. Inst. Butantan*, 15:423, 1941.
439. *Mello, J. de T.* — Sôbre um Proteus imóvel, *Mem. Inst. Butantan*, 15:429, 1941.
440. *Mourão, B. M.* — O papel do estreptococo no pênfigo foliaceo (fogo selvagem). Estudo clínico-bacteriológico, *Mem. Instituto Butantan*, 17:141, 1943.
441. *Pelluffo, C. A., Bier, O., Amaral, J. P. & Biocca, E.* — Estudos sôbre as salmoneloses em S. Paulo. I. Incidência dos diferentes tipos em diarréias infantis, *Mem. Inst. Butantan*, 19:211-216, 1946.
442. *Pelluffo, C. A., Bier, O., Amaral, J. P. & Biocca, E.* — Estudos sôbre as salmoneloses em S. Paulo. II. Um nôvo tipo de salmonela patogênica para o homem. S. Butantan (III-X-XXVI-b-1,5...), *Mem. Inst. Butantan*, 19:217-220, 1946.
443. *Pestana, B. R., Amaral, J. P. do & Barreto Neto, L. P.* — Tipos de C. diphteriae em S. Paulo. Reações culturais, virulencia, toxigenicidade e suas relações com os casos clinicos, *Mem. Inst. Butantan*, 13:407, 1939.
444. *Prado Jr., F., Taborda, A. & Taborda, L. C.* — Ensaio terapêuticos com a penicilina preparada no Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 18:115-128, 1944-45.
445. *Ribas, J. C.* — Caracterização sorológica dos meningococos, *Mem. Inst. Butantan*, 16:315, 1942.
446. *Rodrigues, P. M.* — Tipos de bacilo de Koch na tuberculose pulmonar humana, *Mem. Inst. Butantan*, 16:329, 1942.
447. *Rodrigues, P. M.* — Contrôle de esterilidade de produtos biológicos e químicos. Técnica adotada no Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 15:391, 1941.
448. *Santos, P. S., Vallejo-Freire, A., Furlaneto, R. S. and Andrade, M. C.* — Correlation between the adsorption of diphtheria toxoid and of alizarin by aluminum oxide hydrate gels, *Mem. Inst. Butantan*, 28:221, 1957-58.

449. Santos, P. S., Freire, A. V., Furlanetto, R. S. e Andrade, M. C. — Studies on the adsorption of diptheria toxoid by aluminum oxide hydrate gels, *Mem. Inst. Butantan*, 29:197, 1959.
450. Travassos, J. — Estudo experimental sôbre toxina estaphylococcica, *Mem. Inst. Butantan*, 8:233, 1933-34.

## VIROLOGIA

## RIQUETSIA

451. Amaral, A. do e Lemos Monteiro, J. — Ensaio de classificação das Rickettsioses à luz dos nossos actuaes conhecimentos, *Mem. Instituto Butantan*, 7:343, 1932.
452. Lemos Monteiro, J. — Estudos sôbre o typho exanthematico de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 6:3, 1931.
453. Lemos Monteiro, J. — Vacina contra o "typho exanthematico" de S. Paulo. Novas correlações entre esta infecção e a febre maculosa das Montanhas Rochosas, *Mem. Inst. Butantan*, 8:9, 1933-34.
454. Lemos Monteiro, J. — Comportamento experimental do virus do "typho exanthematico" de S. Paulo após passagem pelo carrapato (*Amblyomma cajennense*), *Mem. Inst. Butantan*, 8:21, 1933-34.
455. Lemos Monteiro, J. — Comportamento experimental do coelho aos virus do "typho exanthematico" de S. Paulo e da febre maculosa das Montanhas Rochosas, *Mem. Inst. Butantan*, 8:39, 1933-34.
456. Lemos Monteiro, J. — Tentativas de transmissão experimental do "typho exanthematico" de S. Paulo por percevejos (*Cimex lectularius*), *Mem. Inst. Butantan*, 9:1, 1935.
457. Lemos Monteiro, J. — A vacinação preventiva como base da prophylaxia do "typho exanthematico" de S. Paulo (Rickettsiose Neotropica), *Mem. Inst. Butantan*, 10:1, 1935-36.
458. Lemos Monteiro, J. e Fonseca, F. da — Typho exanthematico de S. Paulo. XI. Novas experiências sôbre a transmissão experimental por carrapatos (*Boophilus* e *Amblyomma cajennense*), *Mem. Inst. Butantan*, 7:33, 1932.
459. Lemos Monteiro, J. — Typho exanthematico de S. Paulo. XII. Sôbre um virus isolado de ratos da zona urbana da cidade e suas relações com o do typho de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 7:41, 1932.
460. Lemos Monteiro, J. e Fonseca, F. da — Localização da Rickettsia brasiliensis nas cellulas dos diverticulos intestinaes do *Amblyomma cajennense*, *Mem. Inst. Butantan*, 8:47, 1933-34.
461. Lemos Monteiro, J., Fonseca, F. da & Prado, A. — Pesquisas epidemiológicas sôbre o typho exanthematico de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, 6:137, 1931.
462. Travassos, J. e Lemos Monteiro, J. — Contribuição ao estudo da reacção de Weil-Felix na infecção experimental pelos virus do "typho exanthematico" de S. Paulo e a febre maculosa das Montanhas Rochosas, *Mem. Inst. Butantan*, 8:57, 1933-34.
463. Travassos, J. & Vallejo, A. — Comportamento de alguns cavideos (*Cavia aperea* e *Hydrochoerus capybara*) às inoculações experimentais do virus da febre maculosa. Possibilidade desses cavideos representarem o papel de depositários transitórios do virus na natureza, *Mem. Inst. Butantan*, 15:73, 1941.
464. Travassos, J. & Vallejo, A. — Possibilidade de *Amblyomma cajennense* se infetar em *Hydrochoerus capybara* experimentalmente inoculado com o virus da febre maculosa, *Mem. Inst. Butantan*, 15:87, 1941.

465. *Travassos, J. & Vallejo-Freire, A.* — Sôro anti-rickettsia na febre maculosa experimental, *Mem. Inst. Butantan*, 16:285, 1942.
466. *Travassos, J. & Vallejo-Freire, A.* — Criação artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo da vacina contra a febre maculosa, *Mem. Inst. Butantan*, 18:145, 1944-45.
467. *Travassos, J., Rodrigues, P. M. & Carrijo, L. N.* — Tifo murino em S. Paulo. Identificação da *Rickettsia mooseri* isolada de um caso humano, *Mem. Inst. Butantan*, 21:77, 1948.
468. *Vallejo-Freire, A.* — Spotted fever in México, Immunological relationship between the virus of the rickettsiosis observed in sonora and sinalvoa, México, and other spotted fever viruses, *Mem. Inst. Butantan*, 19: 159, 1946.
469. *Vallejo-Freire, A.* — Febre maculosa no México. Cultivo de Riquétsias, *Mem. Inst. Butantan*, 20:1, 1947.
470. *Vallejo-Freire, A.* — Transmissão do vírus da febre maculosa mexicana por *Amblyomma striatum* Koch, 1844, *Mem. Inst. Butantan*, 20:107, 1947.
471. *Vallejo-Freire, A. & Brunner Jr. A.* — Rickettsicmia experimental da febre maculosa do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 31:201, 1964.
472. *Lemos Monteiro, J.* — Contribuição ao estudo das relações imunológicas entre o "typho exanthemático" de S. Paulo e demais febres exanthemáticas que ocorram na América do Sul, *Mem. Inst. Butantan*, 8:195, 1933-34.
473. *Lemos Monteiro, J.* — O "typho exanthemático" de S. Paulo e suas relações com a febre maculosa das Montanhas Rochosas, à luz das provas de imunidade cruzada, *Mem. Inst. Butantan*, 8:207, 1933-34.

#### VIROLOGIA

##### VÍRUS

474. *Beçak, W. & Baixeiras, A.* — Produção de anti-corpos anti-rabicos em camundongos submetidos a radiações Beta-Gama, *Mem. Inst. Butantan*, 29:227, 1959.
475. *Calazans, S. C. de, e Godinho, R.* — Possibilidade de contaminação da lympha vaccinica pelo virus da febre aphtosa, *Mem. Inst. Butantan*, 7:269, 1932.
476. *Fonseca, F. da* — Conservação da vitalidade do virus amarellico inoculado no testiculo de cobaias, *Mem. Inst. Butantan*, 12:209, 1938-39.
477. *Fonseca, F. da* — Persistence de la vitalité du virus amarel inoculé dans les testicules du cobaye, *Mem. Inst. Butantan*, 12:213, 1938-39.
478. *Fonseca, F. da* — Hipersensibilidade de um roedor brasileiro ao virus amarellico neurotrópico, *Mem. Inst. Butantan*, 12:217, 1938-39.
479. *Fonseca, F. da* — L'hypersensibilité d'un rongeur Brésilien au virus amarel neurotrope, *Mem. Inst. Butantan*, 12:221, 1938-39.
480. *Fonseca, F. da* — Comportamento do bugio *Alouatta fusca* Humboldt inoculado com virus amarellico Asibi, *Mem. Inst. Butantan*, 13:363, 1939.
481. *Fonseca, F. da* — On the behaviour of the monkey *Alouatta fusca* Humboldt inoculated with Asibi strain of yellow fever virus, *Mem. Inst. Butantan*, 13: 367, 1939.
482. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Sensibilidade do gato doméstico ao virus amarellico neurotrópico, *Mem. Inst. Butantan*, 12:225, 1938-39.

483. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Sensibilité du chat au virus amaril neurotrope, *Mem. Inst. Butantan*, 12:229, 1938-39.
484. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Pesquisas sôbre o comportamento de animais silvestres inoculados com virus amarello, *Mem. Inst. Butantan*, 12:233, 1938-39.
485. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Recherches sur la sensibilité d'animaux sauvages au virus amaril, *Mem. Inst. Butantan*, 12:249, 1938-39.
486. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Inquerito sôbre a sensibilidade de Cebus cirrifer ao virus amarello, *Mem. Inst. Butantan*, 13:373, 1939.
487. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Investigations on the sensibility of Cebus cirrifer to the yellow fever virus, *Mem. Inst. Butantan*, 13:377, 1939.
488. *Godinho, R.* — Resistencia de diferentes germes pathogenicos experimentalmente associados ao virus vaccinico, *Mem. Inst. Butantan*, 8:81, 1933-34.
489. *Godinho, R.* — Immunização com o virus vaccinico cultivado na allantoide do embrião de gallinha, *Mem. Inst. Butantan*, 8:131, 1933-34.
490. *Godinho, R.* — Immunização anti-variolica por inoculação sub-dérmica de virus vaccinico filtrado, *Mem. Inst. Butantan*, 10:191, 1935-36.
491. *Godinho, R. e Klobusitzky, D. von* — Influência do pH sôbre a actividade do virus vaccinico, *Mem. Inst. Butantan*, 8:95, 1933-34.
492. *Lemos Monteiro, J.* — Estudos sôbre a febre amarella. Modernos conhecimentos sôbre a infecção experimental, *Mem. Inst. Butantan*, 5:49, 1930.
493. *Lemos Monteiro, J. e Godinho, R.* — Do preparo da lymphá vaccinica, *Mem. Inst. Butantan*, 5:3, 1930.
494. *Lemos Monteiro, J. e Travassos, J.* — Diagnóstico sorologico da febre amarella. Sôbre a reacção de fixação do complemento, *Mem. Inst. Butantan*, 5:171, 1930.
495. *Lemos Monteiro, J. e Travassos, J.* — Sôbre a duração de actividade do antígeno para a reacção de fixação do complemento na febre amarella, *Mem. Inst. Butantan*, 7:237, 1932.
496. *Lemos Monteiro, J. e Travassos, J.* — A reacção de fixação do complemento na determinação de focos e no diagnóstico retrospectivo da febre amarella, *Mem. Inst. Butantan*, 8:221, 1933-34.
497. *Macedo, J. J. e Vellini, L. L.* — O uso da novocaina intravenosa como analgésico na colheita da linfa vacinica, *Mem. Inst. Butantan*, 22:127, 1949.
498. *Vallejo-Freire, A., Brunner Jr., A. and Beçak, W.* — Vaccinia virus multiplication in rabbit-kidney cell cultures. Aspects of the evolution cycle, *Mem. Inst. Butantan*, 28:275, 1957-58.
499. *Vellini, L. L.* — O uso da penicilina na purificação da linfa vacinica, *Mem. Inst. Butantan*, 21:145, 1948.

## VIRULOGIA

## MICROSCOPIA ELETRÔNICA

500. *Brunner Jr., A.* — A estrutura intrareticulocitária, *Mem. Inst. Butantan*, 30:15, 1960-61-62.
501. *Brunner Jr., A. & Vallejo-Freire, A.* — Estruturas em reticulócitos, *Mem. Inst. Butantan*, 31:9, 1964.

502. *Edwards, G. A., Santos, P. de S., Santos, H. L. de S., Hoge, A. R., Sawaya, P. & Vallejo-Freire, A.* — Estudos eletrono-microscópicos de músculos estriados de répteis, *Mem. Inst. Butantan*, 26:169, 1954.
503. *Edwards, G. A.; Santos, P. S.; Santos, H. L. de S.; Hoge, A. R.; Sawaya, P. & Vallejo-Freire, A.* — Electron microscope studies of reptilian striated muscles, *Mem. Inst. Butantan*, 26:177, 1954.
504. *Santos, P. S.; Santos, H. S.; Edwards, G. A.; Hoge, A. R. & Sawaya, P.* — Uma contribuição ao conhecimento da estrutura ultra-fina e das propriedades químicas de fibrilas do tecido conjuntivo animal, *Mem. Inst. Butantan*, 27:1, 1955-56.
505. *Santos, P. S.; Santos, H. S.; Edwards, G. A.; Hoge, A. R. & Sawaya, P.* — A contribution to the knowledge of the fine structure and chemical properties of animal connective tissue fibrils, *Mem. Inst. Butantan*, 27:27, 1955-56.
506. *Vallejo-Freire, A. & Brunner Jr., A.* — Eritrocitos na reticulocitose do saturnismo experimental. Estrutura mitocondrial, *Mem. Inst. Butantan*, 28:245, 1957-58.

#### IMMUNOLOGIA

##### SOROS

507. *Amaral, A.* — Venom and antivenin specificity: modern concept, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):293, 1966.
508. *Amaral, A. do; Arantes, J. B. e Fonseca, F. da* — Sobre a duração da atividade das antitoxinas e antivenenos, *Mem. Inst. Butantan*, 7:321, 1932.
509. *Arantes, J. B. & Brandão, C. H.* — Antígenos e anticorpos botrópicos. I. Contribuição ao estudo da dosagem dos soros antibotrópicos polivalentes, *Mem. Inst. Butantan*, 21:153-178, 1948.
510. *Arantes, J. B. & Brandão, C. H.* — Antígenos e anticorpos botrópicos. II. Contribuição ao estudo da produção de soros antibotrópicos monovalentes (Nota prévia), *Mem. Inst. Butantan*, 21:255-260, 1948.
511. *Arantes, J. B.; Karman, G. & Bier, O. G.* — Emprêgo da reação de floculação específica na dosagem do antiveneno crotálico, *Mem. Inst. Butantan*, 18:21-26, 1944-45.
512. *Barrio, A.* — Diferencias inmunológicas entre entidades simpátridas de arañas del género *Latrodectus* Walckenaer, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):865, 1966.
513. *Barrio, A. & Miranda, M. E.* — Estudio comparativo morfológico e inmunológico entre las diferentes entidades del género *Micrurus* Wagler (Ophidia, Elapidae) de la Argentina, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):869, 1966.
514. *Barrio, A. & Miranda, M. E.* — Las diferentes poblaciones de *Bothrops alternata* Dumeril y *Bibron* (Ophidia, Crotalidae) de la Argentina, consideradas desde el punto de vista morfológico y antigénico, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):887, 1966.
515. *Bier, O. G.* — Estudo quantitativo da reação de floculação entre o veneno e o antiveneno crotálico, *Mem. Inst. Butantan*, 18:27-32, 1944-45.
516. *Bier, O. G.* — Estudo quantitativo da reação de floculação entre o antiveneno crotálico e uma fração purificada do veneno de cascavel neotropical (Crotalus t. terrificus), *Mem. Inst. Butantan*, 20:31-38, 1947.
517. *Vital Brazil, O.* — Soro antiescorpionico, *Mem. Inst. Butantan*, 1:47, 1918.

518. *Christensen, P. A.* — The preparation and purification of antivenoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):245, 1966.
519. *Christensen, P. A.* — Venom and antivenom potency estimation, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):305, 1966.
520. *Cohen, P.* — In vivo neutralization of Coral snake venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):881, 1966.
521. *Cohen, P. and Seligmann Jr., E. B.* — Immunologic studies of Coral snake venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):339, 1966.
522. *Höxter, G. & Decoussau, D.* — Concentração, purificação e controle físico-químico dos soros antitóxicos e antipeçonhentos, *Mem. Inst. Butantan*, 21:187-202, 1948.
523. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Sobre a fixação da substância coagulante do veneno de *Bothrops jararaca* pelo soro antiophidico, *Mem. Inst. Butantan*, 10:245, 1935-36.
524. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Sobre a fixação específica da *Bothropo*-toxina. I. Fixação por diversos antivenenos, *Mem. Inst. Butantan*, 10:205, 1935-36.
525. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Sobre a fixação específica da *Bothropo*-toxina. II. Fixação pelo antiveneno lachetico, *Mem. Inst. Butantan*, 10:217, 1935-36.
526. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Novos estudos imunológicos sobre a substância coagulante do veneno de *Bothrops jararaca*, *Mem. Inst. Butantan*, 11:149, 1937.
527. *Krag, P. & Bentzon, M. W.* — Antivenin testing at different venom levels, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):251, 1966.
528. *Latifi, M. and Manhourri, H.* — Antivenin production, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):893, 1966.
529. *Ohsaka, A., Kondo, H., Kondo, S., Kurokawa, M. and Murata, R.* — Problems in determination of antihemorrhagic potency of Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) antivenin in the presence of multiple hemorrhagic principles and their antibodies, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1): 331, 1966.
530. *Puranananda, C., Lauhatirananda, P. & Ganthavorn, S.* — Cross immunological reaction in snake venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):327, 1966.
531. *Schöttler, W. H. A.* — Aspectos metodológicos da titulação de soros antipeçonhentos, *Mem. Inst. Butantan*, 26:249, 1954.
532. *Schöttler, W. H. A.* — Miscellaneous observations on snake venoms and antivenins, *Mem. Inst. Butantan*, 27:85, 1955-56.
533. *Schöttler, W. H. A.* — Observações miscelâneas sobre peçonhas ofídicas e antivenenos, *Mem. Inst. Butantan*, 27:73, 1955-56.
534. *Zwisler, O.* — The role of enzymes in the processes responsible for the toxicity of snake venoms (an immunological study), *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):281, 1966.

## IMMUNOLOGIA

535. *Amaral, J. P. do* — Técnica do preparo da toxina e antitoxina diftérica no Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 12:253, 1938-39.

536. *Amaral, J. P. do* — O emprêgo da lanolina na imunização de cavalos para produção de antitoxina diftérica, *Mem. Inst. Butantan*, 12:259, 1938-39.
537. *Amaral, J. P. do* — Observações em torno da imunidade antidiftérica, *Mem. Inst. Butantan*, 15:383, 1941.
538. *Ashcar, H.* — Ensaio sôbre imunidade antiestafilocócica, *Mem. Inst. Butantan*, 15:399, 1941.
539. *Assumpção, L. de* — O Sôro diagnóstico da syphilis pelo methodo actualmente usado no Instituto Pasteur de Paris, com soros activos, em confronto com a recção de Wassermann, *Mem. Inst. Butantan*, 3:205, 1926.
540. *Bier, O. G. & Amaral, J. P. do* — Desencadeamento do fenómeno de Schwartzman em coelhos mediante a injeção venosa de glicogênio puro, *Mem. Inst. Butantan*, 18:33-36, 1944-45.
541. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 1. Preparación del suero antiperfringens, *Mem. Inst. Butantan*, 12:393, 1938-39.
542. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 2. Preparación red suero antioedematis-maligni, *Mem. Inst. Butantan*, 12:435, 1938-39.
543. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 3. Preparación del suero antioedematiens, *Mem. Inst. Butantan*, 12:453, 1938-39.
544. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 4. Preparación del suero antihistolyticum, *Mem. Inst. Butantan*, 12:465, 1938-39.
545. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 5. Estandarización del suero antigangrenoso, *Mem. Inst. Butantan*, 12:477, 1938-39.
546. *Büller Souto, A. & Ubisch, G. von* — Comportamento da cobaia (*Cavia porcellus* L.) e do preá (*Cavia rufescens* Lund) em relação aos antígenos tetânicos, *Mem. Inst. Butantan*, 12:313, 1938-39.
547. *Büller Souto, A. & Ubisch, G. von* — Comportement du cobaye (*Cavia porcellus* L.) et du préa (*Cavia rufescens* Lund) vis-a-vis des antigènes tétaniques, *Mem. Inst. Butantan*, 12:349, 1938-39.
548. *Fonseca, F. da* — Modernas technicas de preparo da antitoxina tetanica,, *Mem. Inst. Butantan*, 7:303, 1932.
549. *Godinho, R. e Travassos, J.* — Observações em torno do phenomeno de Duran-Reynals, *Mem. Inst. Butantan*, 7:243, 1932.
550. *Klobusitzky, D. von* — Estudos sôbre a unidade das fracções albuminosas do sôro, *Mem. Inst. Butantan*, 6:275, 1931.
551. *Klobusitzky, D. von* — Concentração da antitoxina tetanica por meio de adsorção, *Mem. Inst. Butantan*, 11:163, 1937.
552. *Lemos Monteiro, J.* — Imunização anti-tetanica pelo methodo toxoide-toxina, *Mem. Inst. Butantan*, 2:85, 1925.
553. *Lemos Monteiro, J.* — Sensibilidade e imunidade a diphteria. Schick-Test e Kellogg-Test, *Mem. Inst. Butantan*, 3:137, 1926.
554. *Lemos Monteiro, J.* — Anatoxina diphterica e seu valor práctico. Preparo, poder antigenico, emprego na produção de antitoxina e na prophylaxia da diphteria, *Mem. Inst. Butantan*, 3:96, 1926.

555. *Lemos Monteiro, J. e Fonseca, F. da* — Modernas técnicas de preparo da antitoxina tetânica, *Mem. Inst. Butantan*, 6:267, 1931.
556. *Marrey, P. e Vaz, E.* — Immunização "Per os". Estudo sobre as diferenças de poder pathogenico e immunizante de 4 amostras de *B. Shiga*, *Mcm. Inst. Butantan*, 3:77, 1926.
557. *Travassos, J. e Godinho, R.* — Influência dos estaphylococcus sobre a actividade do virus vaccinico, *Mem. Inst. Butantan*, 7:261, 1932.
558. *Ubisch, G. von & Amaral, J. P. do* — Diferença da capacidade de immunização da cobaia (*Cavia porcellus* L.) e do preá (*Cavia rufescens* Lund) contra a anatoxina diphterica, *Mem. Inst. Butantan*, 10:179, 1935-36.
559. *Vaz, E.* — Imunização per os contra o B. de Shiga. Contribuição ao estudo da natureza da immunidade, *Mem. Inst. Butantan*, 2:99, 1925.
560. *Vaz, E.* — Sobre o preparo da vaccina anti-dysenterica "per os", *Mem. Inst. Butantan*, 3:84, 1926.
561. *Vaz, E. & Araujo, P.* — Da sangria de animais de imunização, *Mem. Inst. Butantan*, 21:275-298, 1948.
562. *Veiga, O.* — Soro hemostático, *Mem. Inst. Butantan*, 1:53, 1918.

## FARMACOLOGIA

563. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. I. General discussion. Bactericidal action, *Mem. Inst. Butantan*, 19:71-96, 1946.
564. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. II. Anti-enzymatic and antitoxic action of anacardic acid and derivatives, *Mem. Inst. Butantan*, 19:97-112, 1946.
565. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. III. Antifebrile action of anacardic acid related compounds, *Mem. Inst. Butantan*, 19:113-118, 1946.
566. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. Toxicology of anacardic acid and related compounds. Clinical outlook, *Mem. Inst. Butantan*, 19:127-134, 1946.
567. *Henriques, S. B., Henriques, O. B. & Nahas, L.* — On the epinephrine-induced fall of blood eosinophils. Action of diethylstilbestrol and the adrenolytics: 2-benzylimidazoline hydrochloride (Priscol), yohimbine and piperidin-methyloenzodioxane (933F), *Mcm. Inst. Butantan*, 23:115, 1950-51.
568. *Prado Junior, F. & Arantes, J. B.* — Poder anagotico das águas de São Pedro sobre alguns venenos ofidicos, *Mem. Inst. Butantan*, 14:157, 1940.
569. *Rosenfeld, G. & Langlada, F. G. de* — Difference between lethal doses of toxic substances injected intravenously and intraarterially, *Mem. Inst. Butantan*, 31:185, 1964.
570. *Valle, J. R.* — Sensibilidade à acetilcolina da sanguessuga *Diplobdella brasiliensis* (Pinto, 1920), *Mem. Inst. Butantan*, 15:17, 1941.

## FISIOLOGIA

571. *Schenberg, S.* — A simple electric drop recorder, *Mem. Inst. Butantan*, 24(1):13, 1952.

572. *Sehenberg, S.* — O oxigênio na perfusão cardíaca de sapos brasileiros, *Mem. Inst. Butantan*, 28:217, 1957-58.
573. *Valle, J. R.* — Efeitos do chlorogenato de potássio e chlorogenato de potássio e cafeína sobre o coração do sapo, *Bufo marinus*, *Mem. Inst. Butantan*, 11:83, 1937.
574. *Valle, J. R. & Leal Prado, J.* — Sobre a anemia dos cães pelo benzoato de estradiol, *Mem. Inst. Butantan*, 19:199-210, 1946.

### HEMATOLOGIA

575. *Azevedo, M. P.* — Mecanismo de ação anticoagulante do látex de *Ficus glabrata* H. B. K., *Mem. Inst. Butantan*, 22:25-30, 1949.
576. *Cavenaghi, T. M. C. M. & Rosenfeld, G.* — Preservation of bone marrow cells of dog with heparin and EDTA, *Mem. Inst. Butantan*, 31:103, 1964.
577. *Hoehne, L. & Rosenfeld, G.* — Studies of comparative hematology. II. Hematological data of *Cercocyon thous azarae* (Wied, 1826) (Cachorro do mato), *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):59, 1953.
578. *Hoehne, L. & Rosenfeld, G.* — Estudos de hematologia comparada. II. Dados hematológicos do cachorro do mato *Cercocyon thous azarae*. (Wied, 1826), *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):55, 1953.
579. *Hoehne, L. & Rosenfeld, G.* — Estudos de hematologia comparada. IV. Dados hematológicos de *Bradypus tridactylus*, L., 1758, (Preguiça), *Mem. Inst. Butantan*, 26:75, 1954.
580. *Leal Prado, J.* — Hemoglobina dos ofídios. Valores normais e presença de uma forma inativa no sangue da *Bothrops jararaca*, *Mem. Inst. Butantan*, 18:55-66, 1944-45.
581. *Leal Prado, J.* — Hemoglobina inativa (não combinável ao oxigênio) no sangue do cão e do homem, *Mem. Inst. Butantan*, 19:23-32, 1946.
582. *Martins, L. F.* — Contribution to the studies of coagulogram, in thoroughbred horses, *Mem. Inst. Butantan*, 31:143, 1964.
583. *Martins, L. F.; Greechi, R. & Rosenfeld, G.* — Thromboplastin generation test in normal horses and horses injected with tetanic toxin, *Mem. Inst. Butantan*, 31:163, 1964.
584. *Nahas, L. & Rosenfeld, G.* — Regeneração de hemácias, hemoglobina, e proteínas em cavalos após sangria. Influência do ferro e da soja, *Mem. Inst. Butantan*, 24(1):1, 1952.
585. *Rosenfeld, G.* — Observações sobre dez casos de eliptocitose (ovalocitose), *Mem. Inst. Butantan*, 18:129-144, 1944-45.
586. *Rosenfeld, G.* — Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores, *Mem. Inst. Butantan*, 20:315-328, 1947.
587. *Rosenfeld, G.* — Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido, *Mem. Inst. Butantan*, 20:329-334, 1947.
588. *Rosenfeld, G. & Hoehne, L.* — Studies on comparative hematology. I. Hematologic data of *Myrmecophaga t. tridactyla* L., 1758 (Tamanduá-bandeira) and *Tamandua t. tetractyla* L., 1758 (Tamanduá Mirim), *Mem. Inst. Butantan*, 25:(1)41, 1953.

589. *Rosenfeld, G. & Hoehne, L.* — Studies of comparative hematology. III. Hematimetric data of the domestic dog. *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):69, 1953.
590. *Rosenfeld, G. & Hoehne, L.* — Estudos de hematologia comparada. III. Dados hematimétricos do cão doméstico, *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):67, 1953.
591. *Rosenfeld, G., Nahas, L., Schenberg, S., and Beraldo, W. T.* — Absorption of fluid by red blood cells and hemolysis in shock induced by tourniquet, *Mem. Inst. Butantan*, 28:229, 1957-58.
592. *Rosenfeld, G.; Rzeppa, H. W.; Nahas, L. & Schenberg, S.* — Hemolysis and blood concentration of sulfones "in vivo", *Mem. Inst. Butantan*, 24(2):69, 1952.
593. *Rosenfeld, G.; Schenberg, S. and Nahas, L.* — Fluid absorption by red blood cells and hemolysis in experimental venous stasis, *Mem. Inst. Butantan*, 28:237, 1957-58.
594. *Valle, J. R. & Leal Prado, J.* — Nota sobre a hematologia dos ofídios. Índices de Wintrobe da *Bothrops jararaca*, *Mem. Inst. Butantan*, 18:241-246, 1944-45.

## VENENOS OFÍDICOS

595. *Amaral, A.* — Campanhas anti-ophidicas, *Mem. Inst. Butantan*, 5:193, 1930.
596. *Amaral, A. do* — Pontos de vista básicos na terapêutica do ophidismo, *Mem. Inst. Butantan*, 6:241, 1931.
597. *Amaral, A. do* — O soro seco como cicatrizante das úlceras produzidas pelo veneno bothropico, *Mem. Inst. Butantan*, 6:251, 1931.
598. *Amorim, M. de F., Mello, R. F. de & Saliba, F.* — Envenenamento botrópico e erotálico. Contribuição para o estudo experimental comparado das lesões, *Mem. Inst. Butantan*, 23:63, 1950-51.
599. *Araujo, P. e Belluomini, H. E.* — Toxicidade de venenos ofídicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório, *Mem. Inst. Butantan*, 30:143, 1960-61-62.
600. *Azevedo, M. P. & Martirani, I.* — Ação proteolítica do veneno da *Bothrops jararaca* (Wied). I. Ação sobre hemoglobina e caseína, *Mem. Inst. Butantan*, 22:31-46, 1949.
601. *Bicher, H. I.* — Specific sites of action of snake venoms in the central nervous system, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):523, 1966.
602. *Boquet, P., Izard, Y; Jouannet, M. et Meaume, J.* — Enzymes et toxines des venins de serpents. Recherches biochimiques et immunologiques sur le venin de *Naja nigricollis*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):371, 1966.
603. *Vital Brazil, O e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo de veneno das glândulas das serpentes Aglyphas, *Mem. Inst. Butantan*, 3:301, 1926.
604. *Chapman, D. S.* — The clinico-pathology and treatment of snakebite in Southern and Central Africa, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):213, 1966.
605. *Cheymol, J., Bourillet, F. and Roch, M.* — Action neuromusculaire des venins de quelques Crotalidae, Elapidae, et Hydrophiidae, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):541, 1966.
606. *Deoras, P. J.* — Probable significance of venom yield record studies, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):767, 1966.

607. *Devi, A. and Sarkar, N. K.* — Cardiotoxic and cardiostimulating factors in cobra venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):573, 1966.
608. *Devi, A., Ashgar, S. S. and Sarkar, N. K.* — 5'Nucleotidase Activity in Snake Venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):943, 1966.
609. *Efrati, P.* — Clinical manifestations of snake bite by *Vipera xanthina palestinae* (Werner) and their pathophysiological basis, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):189, 1966.
610. *Eichbaum, F. W.* — Hemaglutininas nos venenos de serpentes sul-americanas, *Mem. Inst. Butantan*, 19:229-240, 1946.
611. *Eichbaum, F. W.* — Ação dermatotóxica de venenos ofídicos e sua neutralização pelos antivenenos, *Mem. Inst. Butantan*, 20:79-94, 1947.
612. *Eichbaum, F. W.* — O fator de difusão ("Spreading factor") dos venenos de *Bothrops jararaca* e de *Crotalus terrificus terrificus*, *Mem. Inst. Butantan*, 20:95-106, 1947.
613. *Elliott, W. B., Augustyn, J. M. and Gams, C.* — Some actions of snake venom on mitochondria, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):411, 1966.
614. *Gennaro, J. G. & McCollough, N. C.* — Further observations on coral snake bites in the United States: symptoms and therapy, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):855, 1966.
615. *Gillo, L.* — Les venins de serpents, source d'enzymes anticancereux. I. Aspects biochimiques fondamentaux du probleme, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):933, 1966.
616. *Hadler, W. A. and Vital Brazil, O.* — Pharmacology of crystalline crotoxin. IV. Nephrotoxicity. *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):1001, 1966.
617. *Henriques, O. B., Fichman, M., Henriques, S. B. & Oliveira, M. C. F.* — Fractionation of the venom of *Bothrops jararaca* by ammonium sulphate. Purification of some of the fractions obtained, *Mem. Inst. Butantan*, 29:181, 1959.
618. *Janszky, B. & Helle, J.* — Decreased clotting time of rabbit blood induced by snake venom injection, *Mem. Inst. Butantan*, 25:1, (1), 1953.
619. *Kelen, E. M. A., Rosenfeld, G. & Nudel, F.* — Hemolytic activity of animal venoms. II. Variation in relation to erythrocyte species, *Mem. Inst. Butantan*, 30:133, 1960-61-62.
620. *Klobusitzky, D. von* — Estudos bioquímicos sobre os venenos das serpentes do gênero *Bothrops*. I. Ação coagulante e purificação da secreção da glândula venenosa da *Bothrops jararaca*, *Mem. Inst. Butantan*, 9:259, 1935.
621. *Klobusitzky, D. von* — Estudos bioquímicos sobre os venenos das serpentes do gênero *Bothrops*. II. Methodo aperfeiçoado para o preparo da Bothropotoxina, *Mem. Inst. Butantan*, 10:201, 1935-36.
622. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Estudos bioquímicos sobre os venenos das serpentes do gênero *Bothrops*. III. Separação do princípio coagulante dentre a Bothropotoxina e outras substâncias contidas na secreção natural, *Mem. Inst. Butantan*, 10:223, 1935-36.
623. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Estudos bioquímicos sobre os venenos das serpentes do gênero *Bothrops*. IV. Ação da substância coagulante in vivo, *Mem. Inst. Butantan*, 10:237, 1935-36.
624. *Kornalik, F.* — The influence of snake venom on fibrinogen conversion and fibrinolysis, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):179, 1966.

625. Lee, C. Y. and Chang, C. C. — Modes of action of purified toxins from Elapid venoms on neuromuscular transmission, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):555, 1966.
626. Lee, C. Y., Chang, C. C., Chiu, T. H., Tseng, T. C. and Lee, S. Y. — Pharmacological properties of cardiotoxin isolated from the venom of *Naja naja atra*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):1009, 1966.
627. Lieske, H. — Poisonous snake bites in Germany, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):227, 1966.
628. Lomba, M. C., Kieffer, J., Waisbich, E. & Vital Brazil, O. — Preparation and properties of <sup>125</sup>I-labelled Crotoxin, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):921, 1966.
629. Mandelbaum, F. R. and Henriques, S. B. — Proteolytic enzymes of *Bothrops* venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):359, 1966.
630. Markwardt, F. E. — The release of biogenic amines from blood platelets under the influence of *Crotalus d. terrificus* venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):851, 1966.
631. Martirani, I. & Azevedo, M. P. — Acção protcolitica do veneno da *Bothrops jararaca* (Wied). II. Acção sobre a gelatina, *Mem. Inst. Butantan*, 22:47-62, 1949.
632. Masek, K. & Raskova, H. — The action of Staphylococcal alpha toxin and the venom from *Bitis gabonica* on rat stomach strip, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):1011, 1966.
633. McCollough, N. C. — The diagnosis, symptoms, treatment and sequella of envenomation by *Crotalus adamanteus* and genus *Agkistrodon*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):175, 1966.
634. Meaume, J., Jouannet, M., Izard, Y. et Boquet, P. — Action du venin de *Naja nigricollis* sur la coagulation sanguine, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):929, 1966.
635. Ohsaka, A., Omori-Satoh, T., Kondo, H., Kondo, S. & Murata, R. — Biochemical and pathological aspects of hemorrhagic principles in snake venoms with special reference to Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):193, 1966.
636. Porath, J. — Some separation methods on molecular size and charge and their application to purification of polypeptides and proteins in snake venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):379, 1966.
637. Raab, W. & Kaiser, E. — Nephrotoxin action of snake venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):1017, 1966.
638. Rosenfeld, C. — Pathology of envenomation and prevention of accidents. Comments of the moderator, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):241, 1966.
639. Rosenfeld, C. & Langlada, F. C. de — Corticosteroid and ACTH in experimental poisoning with animal venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 31:171, 1964.
640. Rosenfeld, C., Hampe, O. G. & Kelen, E. M. A. — Coagulant and fibrinolytic activity of animal venoms; Determination of coagulant and fibrinolytic index of different species, *Mem. Inst. Butantan*, 29:143, 1959.
641. Rosenfeld, G., Kelen, E. M. A. & Nudel, F. — Hemolytic activity of animal venoms. I. Classification in different types and activities, *Mem. Inst. Butantan* 30:117, 1960-61-62.
642. Russell, F. E. — Cardiovascular responses to snake venoms and their fractions, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):583, 1966.



643. *Russell, F. E.* — Metronidazole in snake venom poisoning, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):845, 1966.
644. *Saliba, F.* — Estudo anátomo-patológico da evolução da necrose produzida experimentalmente por veneno de *Bothrops jararaca*. Influência de substância organo-heparinóide, *Mem. Inst. Butantan*, 31:191, 1964.
645. *Schenberg, S.* — Análise da crotamina no veneno individual de cascaveis recebidas pelo Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan*, 29:213, 1959.
646. *Slotta, K. & Ballester, A.* — Determinação colorimétrica da hialuronidase dos venenos ofídicos, *Mem. Inst. Butantan*, 26:311, 1954.
647. *Slotta, K. & Borchert, P.* — Sobre o fator hemolítico dos venenos ofídicos, *Mem. Inst. Butantan*, 26:297, 1954.
648. *Slotta, C. H. & Forster, W.* — Estudos químicos sobre os venenos ofídicos. 5. Determinação quantitativa dos componentes que contém enxofre, *Mem. Inst. Butantan*, 12:513, 1938-39.
649. *Slotta, C. H. & Fraenkel-Conrat, H. L.* — Estudos químicos sobre os venenos ophídicos. 2. Sobre a forma de ligação do enxofre, *Mem. Inst. Butantan*, 11:121, 1937.
650. *Slotta, C. H. & Fraenkel-Conrat, H. L.* — Estudo químico sobre os venenos ofídicos. 4. Purificação e cristalização do veneno da cobra Cascavel, *Mem. Inst. Butantan*, 12:505, 1938-39.
651. *Slotta, K. & Primosigh, J.* — Estudos químicos sobre os venenos ofídicos. 6. Composição da Crotoxina, *Mem. Inst. Butantan*, 23:51, 1950-51.
652. *Slotta, C. H. & Szyszka, G.* — Estudos químicos sobre os venenos ophídicos. I. Determinação de sua toxicidade em camundongos, *Mem. Inst. Butantan*, 11:109, 1937.
653. *Slotta, C. H., Szyszka, G. & Fraenkel-Conrat, H. L.* — Estudos químicos sobre venenos ophídicos. 3. Teor da coagulação e da lecithinase, *Mem. Inst. Butantan*, 11:133, 1937.
654. *Suzuki, T.* — Pharmacologically and biochemically active components of japanese ophidian venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):519, 1966.
655. *Taborda, A.* — Contribuição ao estudo da coagulação do sangue. I. Falhas nos métodos de coagulação do sangue pelos venenos de cobra, *Mem. Inst. Butantan*, 13:431, 1939.
656. *Taborda, A. & Taborda, L. C.* — Protase do veneno da *Bothrops jararaca*, *Mem. Inst. Butantan*, 14:181, 1940.
657. *Taborda, A. R. & Taborda, L. C.* — Da relação entre o corante dos venenos de cobra e sua fluorescência. I. Flavina no veneno da *Bothrops jararaca*, *Mem. Inst. Butantan*, 15:47, 1941.
658. *Taborda, L. C.* — A influência da temperatura sobre os princípios tóxico, coagulante e proteolítico do veneno da *Bothrops jararaca*, *Mem. Inst. Butantan*, 14:169, 1940.
659. *Trethewie, E. R. & Rawlinson, P.* — Diagnosis of snake bite, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):235, 1966.
660. *Velasco J. M.* — Inyección in situ de antisuero en el tratamiento de la intoxicación por mordedura de serpiente, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):857, 1966.
661. *Vidal, J. C., Badano, B. N., Stoppani, A. O. M. and Boveris, A.* — Inhibition of electron transport chain by purified phospholipase A from *Bothrops neuwiedi* venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):913, 1966.

662. *Vital Brazil, O., Franceschi, J. P. and Waisbich, E.* — Pharmacology of crystalline erotoxin. I. Toxicity, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):973, 1966.
663. *Vital Brazil, O.* — Pharmacology of crystalline crotoxin. II. Neuromuscular blocking action, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):981, 1966.
664. *Vital Brazil, O., Fariña, R., Yoshida, L. & Oliveira, V. A.* — Pharmacology of crystalline erotoxin. III. Cardiovascular and respiratory effects of erotoxin and *Crotalus durissus terrificus* venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):993, 1966.
665. *Welsh, J. H.* — Serotonin and related tryptamine derivatives in snake venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):509, 1966.
666. *Wirthcimer, C. et Gillo, L.* — Les venins de serpents, source d'enzymes anticanereux. II. Etude experimentale, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):937, 1966.
667. *Zeller, E. A.* — Enzymes of snake venoms as tools in biochemical research, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):349, 1966.
668. *Barrio, A. y Grasso, A. I.* — Casos de loxoscelismo grave ocurridos en la ciudad de Buenos Aires y alrededores en los ultimos años, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):809, 1966.

## VENENOS — ARANHAS

669. *Vital Brazil, O. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, *Mem. Inst. Butantan*, 2:5, 1925.
670. *Vital Brazil, O. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, 2.<sup>a</sup> Memória, *Mem. Inst. Butantan*, 3:243, 1926.
671. *Bücherl, W.* — Dosagem comparada da atividade dos extratos glandulares e do veneno puro de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling) 1891, *Mem. Inst. Butantan*, 25(2):1, 1953.
672. *Bücherl, W.* — Novo processo de obtenção de veneno seco, puro, de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling, 1891) e titulação da LD<sub>50</sub> em camundongos, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):153, 1953.
673. *Espiñoza, N. C.* — Acción del veneno de *Hapalopus limensis*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):799, 1966.
674. *Gajardo-Tobar, R.* — El araneismo en el mundo tropical y subtropical, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):45, 1966.
675. *Gajardo-Tobar, R.* — Mi experiencia sobre Loxoscelismo, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):689, 1966.
676. *Kaiser, E.* — The enzymatic activity of spider venom. On the influence of sulfonated polysaccharides on the proteolytic and hyaluronic acid splitting activity of spider venom, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):35, 1953.
677. *Rathmayer, W.* — The effect of the poison of spider and diggerwasps on their prey (HYMENOPTERA: Pompilidae, Sphecidae), *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):651, 1966.
678. *Schenberg, S. and Lima, F. A. P.* — Pharmacology of the polypeptides from the venom of the spider *Phoneutria fera*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):627, 1966.
679. *Schenone, H.* — Latrodeetismo y loxoscelismo en Chile. Incidência, características clínicas, pronóstico tratamiento y prevención, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):207, 1966.
680. *Vellard, J.* — El araneismo en Bolivia, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):699, 1966.

VENENO — ESCORPIÕES

681. *Adam, K. R. and Weiss, Ch.* — Some aspects of the pharmacology of the venoms of african scorpions, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):603, 1966.
682. *Bücherl, W.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. II. Atividade das peçonhas de *Tityus serrulatus* e *T. bahiensis* sobre camundongos, *Mem. Inst. Butantan*, 25(1):83, 1953.
683. *Bücherl, W. & Pucca, N.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. III. Titulação, por meio de camundongos, das peçonhas de *Tityus costatus* (Karch), *Tityus trivittatus* Kraepelin, 1898 e *Bothriurus bonariensis* (Koch), 1842, *Mem. Inst. Butantan*, 27:41, 1955-56.
684. *Corrado, A. P., Antonio, A. and Diniz, C. R.* — Recent advances on the mechanism of action of Brazilian scorpion venom — *T. serrulatus*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):957, 1966.
685. *Diniz, C. R., Gomez, M. V., Antonio, A. & Corrado, A. P.* — Chemical properties and biological activity of *Tityus* venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):453, 1966.
686. *Gomez, M. V. and Diniz, C. R.* — Separation of toxin components from the Brazilian scorpion *Tityus serrulatus* venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):899, 1966.
687. *Pozo, E. C. del* — Pharmacology of the venoms of mexican *Centruroides*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):615, 1966.
688. *Pozo, E. C. del, Salas, M. and Pacheco, P.* — Effects of scorpion venom at neuromuscular junction, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):961, 1966.
689. *Rochat, C., Rochat, H., Miranda, F. et Lissitzky, S.* — Purification des neurotoxines du scorpion *Androctonus australis*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):447, 1966.

VENENOS — ANFIBIOS

690. *Bachmayer, H. and Michl, H.* — On the toxin of *Triturus marmoratus* Latr., *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):903, 1966.
691. *Cochran, D. M.* — Taxonomy and distribution of arrow-poison frogs in Colombia, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):61, 1966.
692. *Daly, J. W. and Witkop, B.* — The Venoms of Amphibians, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):425, 1966.
693. *Lutz, B.* — Biological significance of cutaneous secretions in toads and frogs, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):55, 1966.
694. *Meyer, K.* — Cardiotoxin steroids from toads, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):433, 1966.
695. *Okada, M.* — Pharmacology of the components of toad venom and allied substances, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):589, 1966.
696. *Pereira, J. R.* — Sobre a ação fisiológica do veneno de sapo. II. Veneno do Sapo (*Bufo marinus*) e secreção urinária, *Mem. Inst. Butantan*, 3:171, 1926.
697. *Pereira, J. R.* — Sobre a ação fisiológica do veneno de Sapo. III. Veneno do Sapo (*Bufo marinus*) e musculo liso, *Mem. Inst. Butantan*, 3:177, 1926.
698. *Slotta, C. H. & Neisser, C.* — Estudos sobre venenos de sapos brasileiros. 1. Composição do veneno de *Bufo marinus*, *Mem. Inst. Butantan*, 11:89, 1937.

699. *Slotta, C. H., Valle, J. R. & Neisser, C.* — Estudos sôbre os venenos de sapos brasileiros. 2. Sôbre a adrenalina do veneno de *Bufo marinus*, *Mem. Inst. Butantan*, 11:101, 1937.
700. *Suga, T.* — On the action of bufogenins and allied compounds on the intestine and other smooth muscle organs, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):965, 1966.

## VENENOS — DIVERSOS

701. *Bücherl, W.* — Ação do veneno dos escelopendromorfos do Brasil sôbre alguns animais de laboratórios, *Mem. Inst. Butantan*, 19:181-198, 1946.
702. *Corrêa, D. D.* — Taxonomia de ANTHOZOA (Coelenterata) brasileiros: distribuição e freqüência em águas brasileiras, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):27, 1966.
703. *Fain, A.* — Toxic action of rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae), *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):835, 1966.
704. *Halstead, B. W.* — *Venomous marine animals of Brazil*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):1, 1966.
705. *Kaiser, E. and Raab, W.* — Liberation of pharmacologically active substances from mast cells by animal venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):461, 1966.
706. *Lande, I. S. de la & Lewis, J. C.* — Constituents of the venom of the Australian bull ant, *Myrmecia pyriformis*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):951, 1966.
707. *Lello, E.* — Bee venom: glands, intoxications, accidents, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):821, 1966.
708. *Mebis, D. and Raudonat, H. W.* — Biochemical investigation on *Heloderma* venom, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):907, 1966.
709. *Pesce, H. y Delgado, A.* — Lepidopterismo y erueismo. Epidemiologia y aspectos clínicos en el Perú, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):829, 1966.
710. *Picado, T. C.* — Estudo experimental sôbre o veneno de *Lethocerus del-pontei* (De Carlo) (Hemiptero. Belastomidae), *Mem. Inst. Butantan*, 10:303, 1935-36.
711. *Pisano, J. J.* — Wasp kinin, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):441, 1966.
712. *Roeha e Silva, M.* — Pharmacology of venoms. Introductory remarks, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):457, 1966.
713. *Rosenberg, P.* — Use of venoms in studies on nerve excitation, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):477, 1966.
714. *Rothschild, A. M.* — Mechanism of histamine release by animal venoms, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):467, 1966.
715. *Sawaya, P.* — Toxic marine invertebrates. Venomous and noxious fishes of fresh water, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):31, 1966.
716. *Schildknecht, H.* — Vertebrate hormones as defence substances in Dytiseides, *Mem. Inst. Butantan*, 33(1):121, 1966.
717. *Slotta, K. & Borehert, P.* — Histamina e toxinas protéicas no veneno de abelha, *Mem. Inst. Butantan*, 26:279, 1954.
718. *Suzuki, T.* — Separation methods of animal venoms constituents, *Mem. Inst. Butantan*, 33(2):389, 1966.

719. *Travassos, J. & Biocca, E.* — Ação de prata eletrolisada sôbre certas toxinas, venenos, protozoários, rickettsias, vírus filtráveis e bacteriófagos (Nota prévia), *Mem. Inst. Butantan*, 16:309, 1942.
720. *Trethewie, E. R.* — Pharmacological effects of the venom of *Hapalochlaena maculosa*, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):861, 1966.
721. *Vannucci, M.* — Venomous Coelenterates, *Mem. Inst. Butantan*, 33(3):659, 1966.

DIVERSOS

722. *Amaral, A. do* — Regras internacionais de nomenclatura zoológica, *Mem. Inst. Butantan*, 5:233, 1930.
723. *Amaral, A. do* — Regras internacionaes de nomenclatura zoológica (2.ª edição), *Mem. Inst. Butantan*, 11:241, 1937.
724. Editorial — Dr. Emílio Ribas, *Mem. Inst. Butantan*, 3:3, 1926.
725. *Schöttler, W. H. A.* — Lista suplementar de bibliografia sôbre venenos animais publicada nos anos de 1863 até 1946, *Mem. Inst. Butantan*, 26:7, 1954.





Este trabalho foi composto e impresso  
nas oficinas gráficas da



TIPOGRAFIA EDANEE S. A.

à Rua do Bosque n.º 1.426 - São Paulo



TIPOGRAFIA EDANEE S. A.  
IMPRIMU . SÃO PAULO

