

PUBLICACIONES

del

MUSEO DE HISTORIA NATURAL "JAVIER PRADO"

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Serie A. Zoología

Lima, Enero de 1949

Año I. N.º 2

INVESTIGACIONES SOBRE INMUNIDAD NATURAL CONTRA LOS VENENOS DE SERPIENTES

Por J. VELLARD

S O M M A I R E

RECHERCHES SUR L'IMMUNITÉ NATURELLE CONTRE LE VENIN DES SERPENTS, par J. VELLARD.—Étude du comportement de divers mammifères et oiseaux sud-américains vis. a vis du venin des serpents. Les *Didelphis* et *Conepatus* étudiés ont tous montré une très grande résistance aux effets généraux et locaux des venins de *Crotalinae*, associée à un pouvoir anti-toxique élevé du sérum; ils sont cependant très sensibles à l'action hémolytique de ces venins; leurs lipoides ne présentent pas de pouvoir fixateur spécial.

Des diverses hypothèses examinées, celle d'une immunité naturelle spécifique acquise, transmise par hérédité et progressivement renforcée est la seule retenue. C'est une immunité de groupe, s'étendant aux diverses espèces de *Crotalinae* américaines et à des *Viperinae* asiatiques; elle est à peu près nulle en relation aux *Colubridae* protéglyphes, d'importance très réduite en Amérique. Quelques renards possèdent une très légère résistance au venin de certaines espèces locales de serpents. Les tatous et 2 oiseaux, *Chunga burmeisteri* et *Cariacus cristata*, bien que chasseurs de serpents, sont très sensibles au venin.

Nuestros conocimientos sobre la sensibilidad de los mamíferos y de las aves a los venenos de serpientes se reducen a las especies más corrientes de laboratorio y son casi nulos en lo que se refieren a otros animales.



Algunas especies de mamíferos y aves tienen la fama de ser poco sensibles al veneno de las serpientes. La naturaleza exacta y el valor de esta resistencia necesitan ser averiguados.

El chancho es por lo general considerado como poco sensible a los venenos. Para algunos autores se trata de una verdadera inmunidad natural; para otros, su resistencia provendría de la presencia de una espesa capa de grasa que dificulta la absorción del veneno y facilita la aparición de una inmunidad adquirida (Calmette); para otros autores, existiría un poder antitóxico no específico, debido talvez a la riqueza del plasma del chancho en lípidos (V. Brazil y J. Vellard).

La resistencia de la mangosta (*Mungo mungo*) está mejor comprobada y permite a este animal atacar serpientes *Naja*, sin peligro, al contrario de la opinión de R. Kipling en una novela muy conocida. Esta resistencia es más elevada en relación con los venenos de *Colubridae* asiáticas, *Naja* y *Bungarus*, especies venenosas las más frecuentes en la India. Lo contrario se observa, como veremos, en Sud América: las especies americanas de mamíferos resistentes a los venenos de serpientes poseen una inmunidad elevada contra los venenos de *Crotalinae*, grupo que domina en esta parte del mundo, y son muy sensibles al veneno de las *Colubridae proteroglifas*, de escasa importancia en América. La dosis mínima mortal de veneno de *Naja naja* para la mangosta equivale a 804 veces la dosis mínima mortal para el conejo; con el veneno de *Bungarus semicinctus* es todavía 231 veces más elevada para la mangosta que para el conejo. Pero, la resistencia de la mangosta al veneno de *Trimeresurus gramineus* (*Crotalinae*) es solamente 3,4 veces más alta que la del conejo; esta relación cae a 2,9 con el veneno del *Tr. mucrosquamatus* y 1,8 con el veneno de *Ancistrodon acutus*.

El icneumon o rata de los faraones (*Herpetes ichneumon*) soporta sin accidentes la inyección de 8 dosis mortales para el conejo de veneno de *Naja naja*. Con doce dosis mortales se observan síntomas de intoxicación, re-

poniéndose el animal. Una inyección equivalente a 16 dosis mortales para el conejo es necesaria para matarlo (Calmette).

El erizo común de Europa (*Erinaceus europaeus*) caza y come las víboras, siendo 13,7 veces menos sensible que el conejo a su veneno (M. Phisalix).

R. Kraus estudió la sensibilidad de algunos mamíferos sud-americanos a los venenos de *Crotalinae*; pero, sus métodos pecan, con frecuencia, por su falta de precisión. Haciendo morder repetidas veces los animales de experiencia por serpientes de una misma especie o de diferentes especies, es imposible conocer la cantidad de veneno que puede inyectar cada una de ellas; y, por otra parte, las mordeduras repetidas pueden producir fenómenos de protección muy rápidos. Kraus verificó que la zarigüeya, *Didelphis aurita*, posee una resistencia elevada al veneno de los *Bothrops* y menos acusada al veneno de la cascabel, *Crotalus terrificus*. Una mofeta, *Conepatus amazonicus* (llamada de modo erróneo *C. chilensis* por Kraus) se mostró muy resistente, confirmando las observaciones inéditas de Piraja Da Silva y de F. Iglesias que señaló la especie a Kraus. Sus resultados, en lo que se refiere a estas dos especies, han sido confirmados por los trabajos posteriores (V. Brazil; J. Vellard). Pero, la inmunidad, no muy fuerte, atribuida por Kraus a un zorro, *Canis vetulus*, y a un pequeño carnívoro, *Eyra barbara*, corre por cuenta de su técnica imperfecta; no hemos podido confirmarla. El *Coendu villosus*, el falso puerco espino americano, es muy sensible a los venenos (R. Kraus) pero sus espinas le protegen contra las picaduras.

El mecanismo de la resistencia de estos animales no ha podido ser explicado de modo satisfactorio. El suero de la mangosta y del icneumon neutraliza el veneno de las *Colubridae* asiáticas; el suero del erizo europeo posee una acción neutralizadora sobre el veneno de las víboras y el suero de *Didelphis* neutraliza el veneno de las *Crotalinae* americanas.

El suero de chancho, como el suero de mangosta, se muestra incapaz, hasta con dosis altas 7 a 8 cc., de pro-

teger completamente a los animales contra una inyección de veneno (Calmette). Sin embargo, M. Phisalix ha podido proteger al conejo contra una dosis mínima mortal del veneno de *Vipera aspis* utilizando 8cc. de suero de erizo.

V. Brazil y J. Vellard han indicado el poder neutralizante de los sueros de *Didelphis aurita* y de chanco contra algunos venenos de *Crotalinae*.

La resistencia del erizo ha sido explicada por la presencia en el suero de una sustancia especial, la *echidno-toxina*, termo-resistente, que ha podido ser aislada (M. Phisalix). V. Brazil y J. Vellard atribuyeron a los lípides sanguíneos, muy abundantes en el plasma de chanco, la resistencia de este animal.

En dos notas anteriores hemos indicado el resultado de nuestras últimas investigaciones sobre *Didelphis azarae*, explicando su resistencia por la presencia de verdaderos anticuerpos naturales.

PARTE EXPERIMENTAL

Nuestras investigaciones actuales han sido realizadas con las siguientes especies de mamíferos y de aves sudamericanos:

3 zari güeyas: *Didelphis azarae*, *D. aurita* y *D. virginiana*.

1 mofeta: *Conepatus castaneus*.

2 zorros: *Cercocyon thous* y *Pseudalopex gracilis*.

1 armadillo: *Tolypeutes mataco*.

2 aves: *Cariama cristata* y *Chunga burmeisteri*.

Como venenos hemos utilizado: *Crotalus durissus terrificus*, *Bothrops jararaca*, *B. neuwiedii meridionalis*, *B. alternata*, *Lachesis muta* (*Crotalinae*), *Vipera russellii* (*Viperinae*), *Naja naja*, *Micrurus macgravii* (*Colubridae*).

Técnica. Nuestras investigaciones se dividen en dos grupos:

I. Determinación de la dosis mínima mortal con diferentes venenos para cada especie estudiada; acción

sobre la presión arterial y la respiración; acción sobre la coagulación sanguínea; acción sobre los glóbulos sanguíneos y la hemólisis.

II. Determinación del poder neutralizante del suero; investigación de anticuerpos y de precipitinas; estudio del poder antitóxico de los lípidos.

Con diversas especies animales ha sido necesario, además, hacer un estudio previo del poder coagulante del suero y de la coagulabilidad normal del plasma, de la resistencia globular a las acciones mecánicas y a las soluciones hipotónicas y de establecer su fórmula sanguínea y su fórmula leucocitaria.

LAS ZARIGÜEYAS, DIDELPHIS

Las zarigüeyas, *Didelphis*, pertenecen a la familia *Didelphidae*, representante en América de los Marsupiales polyprotodontos. Son conocidas en el Perú con los nombres de *muca* y *guayguash*; en Argentina son las *comadrejas*; *gamba* y *zorra* en el Brasil; *Mbicuré* en los países de habla guaraníe; son las *sarrigues* de los autores franceses y las *Beutelratten* de los alemanes; los *opposum* y *skung* de Norte América.

Animales nocturnos y omnívoros, atacan a menudo a las aves y a los gallineros. Su distribución geográfica se extiende desde los Estados Unidos de América del Norte hasta el centro de Argentina. En el Perú se encuentran desde las regiones bajas, tanto del lado de la costa como del lado amazónico, hasta alturas de 3,000 m. Tres especies han sido estudiadas: *Didelphis azarae*, especialmente ejemplares de Tucumán; *D. aurita*, de Río de Janeiro y São Paulo; *D. virginiana*, del norte del Brasil. Algunas verificaciones han sido realizadas con ejemplares de esta última especie, proveniente de Honduras (Tegucigalpa).

I

a) RESISTENCIA A LA INYECCION DE VENENO

Las tres especies de *Didelphis* estudiadas han demostrado una resistencia idéntica y muy elevada a diversos venenos de *Crotalinae*, *Crotalus durissus terrificus*,

C. d. durissus, *Lachesis muta*, *Bothrops jararaca*, *B. newiedii meridionalis*. En relación al veneno de *Naja naja* su sensibilidad es, al contrario, poco diferente de la del conejo.

La resistencia de los *Didelphis* se observa no sólo en relación a la acción neurotóxica, sino también a la acción necrosante, generalmente muy intensa, de los venenos de *Crotalinae*.

Numerosas investigaciones han sido realizadas con animales de los dos sexos y de edad y peso muy variable. Escogeremos algunos resultados, suficientes para ilustrar el comportamiento de las zarigüeyas a los venenos.

D.I.—D. azaræ, ♀, 1.200 gr. Inyección intramuscular de 100 mgr. veneno *B. alternata*. Ninguna reacción local; ningún síntoma general.

D.VI.—D. azaræ, ♀, 1.500 gr. Inyección intramuscular en el muslo de 50 mgr. veneno *B.n. meridionalis* en 2 cc. solución fisiológica NaCl. Ninguna reacción local; ningún síntoma general.

D.II.—D. azaræ, ♀, 1.500 gr. Inyección intramuscular en el muslo, 50 mgr. veneno *Crotalus durissus terrificus* (Argentina), en 2 cc. solución fisiológica de NaCl. Ningún síntoma.

D.X.—D. virginiana, ♀ adulta, de Tegucigalpa (Honduras). Inyección en el muslo de 50 mgr. veneno *Crotalus durissus durissus*. Ningún síntoma local ni general.

Con el veneno de *B.n. meridionalis*, ha sido necesario elevar la dosis hasta 40 mgr. por 100 gr. de peso para conseguir una muerte lenta.

D.VII.—D. azaræ, ♂ joven, 80 gr., nacido en el laboratorio; 7 XII: inyección intramuscular de 30 mgr. de veneno en el muslo a las 12.50 hrs; a las 20 hrs. ningún síntoma. 8 XII: pequeño edema local; animal poco activo; 9 XII: muerte durante la noche, 36 a 40 hrs. después de la inyección. Autopsia: edema hemorrágico local moderado, sangre coagulada; ninguna otra lesión microscópica.

Este resultado permite establecer las dosis mortales por vía intramuscular con el veneno de *B.n. meridionalis* en cerca de 400 mgr. por Kgr. La dosis mínima mortal para el conejo es de 5 mgr. por Kgr.

La resistencia de los *Didelphis* se extiende al veneno de *Vipera russellii* unica especie de *Viperinae* estudiada.

D.V.—D. azaræ, ♂, 1.120 gr. Inyección intramuscular de 50 mgr. de veneno de *V. russellii* en el muslo. Ningún síntoma local ni general.

D.IV.—D. azaræ, ♂ joven, 500 gr. Inyección intramuscular en el muslo de 50 mgr. de veneno de *V. russellii*. Ningún síntoma local ni general.

Al contrario, la sensibilidad de los *Didelphis* al veneno de *Naja naja*, unico veneno de *Colubridae* estudiado, es poco diferente del conejo.

D.VIII.—D. azaræ, ♂, 1.600 gr. Inyección intramuscular en el muslo de 25 mgr. de veneno de *Naja naja*. Parético en 12 minutos; paralitico en 20 minutos; muerte en 38 minutos.

D.X.—D. azaræ, ♀, 720 gr. Inyección intramuscular en el muslo de 6 mgr. de veneno *N. naja*. Muerte en 150 minutos.

D.IX.—D. azaræ, ♀, 980 gr. Inyección intramuscular en el muslo de 5 mgr. veneno *N. naja*. Paresia ligera. Restablecido.

Según estas investigaciones la dosis mínima mortal por Kgr. para *D.azaræ* con los diversos venenos estudiados, puede ser establecida del modo siguiente:

<i>B. alternata</i>	400 mgr.
<i>B.n. meridionalis</i>	400 „
<i>C. durissus terrificus</i>	superior a 100 mgr.
<i>V. russellii</i>	„ a 100 „
<i>N. naja</i>	5 mgr.

Por vía intramuscular las dosis mínimas mortales por Kgr. con las muestras de venenos estudiadas, han sido las siguientes para el perro y el conejo:

VENENO	CONEJO	PERRO
<i>B. alternata</i>	8 mgr.	3 a 4 mgr.
<i>B.n. meridionalis</i>	5 „	2 „
<i>C.d. terrificus</i> (Argentina) ..	1 „	1,5 „
<i>V. russellii</i>	1 „	4 „
<i>N. naja</i>	1,9 „	4 „

Los *Didelphis* se muestran 60 a 200 veces más resistentes que el conejo a los venenos de *Crotalinae* y *Viperinae*, y solamente 2 a 3 veces más resistentes en relación al veneno de *N. naja*.

Las cantidades medias de veneno que poseen las *Crotalinae* sud-americanas pueden ser calculadas en 40 a 50 mgr. para el *C. d. terrificus* de Argentina; 50 mgr. para el *B. n. meridionalis*; 50 a 100 mgr. para el *B. alternata*. Los *Didelphis* pueden resistir fácilmente a la mordedura de cualquier *Crotalinae* sud-americana con excepción, tal vez, de algunos ejemplares muy desarrollados de *Bothrops atrox* o de *Lachesis muta*.

Es interesante subrayar que se trata de una inmunidad de grupo que se extiende a las diversas especies de *Crotalinae*, familia predominante de Sud-América, y a sus parientes cercanos las *Viperinae*. Pero, su resistencia es más débil en relación al veneno de las *Colubridae*, representadas en Sud-América apenas por las *Micrurus*, sin importancia práctica y poco agresivas.

b) ACCION SOBRE LA PRESION ARTERIAL Y LA RESPIRACION

Las modificaciones de la presión arterial y de la respiración observadas en los *Didelphis* después de las inyecciones intravenosas de un veneno de *Crotalinae*, son análogas a las registradas en el perro o en el conejo, pero mucho menos intensa. Es necesario utilizar dosis 10 a 50 veces más elevadas para conseguir un efecto análogo.

La dosis de 0,1 mgr. por Kgr. de veneno de *C. d. terrificus* o de *B. n. meridionalis* produce en el perro y en el conejo alteraciones profundas, y con frecuencia rápidamente mortales, de la respiración y de la presión arterial con shock intenso y caída acentuada de la P.A. (Perro XXIX, Fig. 10). Con una dosis 10 veces superior, 1 mgr. por Kgr., *D. azarae* solamente muestra una alteración poco intensa del ritmo respiratorio y una caída muy poco marcada de la P.A. (D.XIII, Fig. 11; D.XI, Fig. 13). Una dosis 50 veces más elevada (D.VII, Fig. 12; D.VIII, Fig.

15) permite observar un efecto apreciable, pero el animal resiste todavía a la inyección endovenosa de 100 unidades - conejo, 10 mgr. de veneno de *C.d. terrificus* o de *B.n. meridionalis* (D. II, Fig. 14).

Cualquiera que sea el veneno empleado, *B.n. meridionalis* o *C.d. terrificus*, se observa un efecto hipotensor inicial de intensidad variable, de acuerdo con la dosis y el tipo del veneno.

Con el veneno de *B.n. meridionalis* las inyecciones de 1 a 2 mgr. producen una caída lenta y poco marcada de la P.A., que vuelve rápidamente a su valor primitivo. (D. XIII, Fig. 11; D. XI, Fig. 13). La inyección inicial de 5 mgr. provoca una caída inmediata y brusca de la P. A. (D. VII, Fig. 12) análoga a la observada en el perro (P. XXIX, Fig. 10) y la presión demora en volver a su valor primitivo. La respiración muestra un corto período de aceleración del ritmo y aumento de la amplitud, seguida de bradipnea con disminución transitoria, seguida de aumento progresivo de la amplitud, cuya duración es proporcional a la dosis de veneno utilizada.

Con el veneno argentino de *C. terrificus* una dosis inicial del 5 mgr. es necesaria para conseguir un efecto apreciable, inferior, sin embargo, al observado con el veneno de *B.n. meridionalis*; pero, la curva de la P. A. es análoga (D. VIII, Fig. 15). La inyección inicial de 10 mgr. produce una caída inmediata, en dos tiempos, de la P. A. alcanzando 25 mm. (D. II, Fig. 14), volviendo la curva a su valor primitivo.

Con los *Didelphis* se observa también el efecto de protección rápida y específica producido por las primeras inyecciones de veneno contra las inyecciones posteriores de un veneno homólogo.

D.VIII.— ♂, 1.080 gr. Una primera inyección (1) de 5 mgr. de veneno de *C.d. terrificus* de Argentina, protege contra una segunda inyección (2) de la misma dosis de veneno; pero, protege de un modo incompleto contra una tercera inyección de 5 mgr. de veneno de *B.n. meridionalis* (Fig. 15). Anestesia cloral-morfina; cánula traqueal y cánula en la carótida; manómetro de membrana.

El veneno de *B. n. meridionalis* produce una protección mucho más completa contra el veneno de *C. terrificus*. El poder hipotensor muy débil del veneno de *C. terrificus* para los *Didelphis* contribuye para hacer más aparente todavía ese efecto protector. Esta protección se extiende en grado menor al veneno asiático de *Trimeresurus flavo-viridis*.

D.VII.— ♀, 900 gr. La primera inyección de 5 mgr. de veneno de *B.n. meridionalis* (1) protege contra la inyección de una segunda dosis igual (2) del mismo veneno y contra una dosis idéntica de veneno de *C. terrificus* (3); la protección conferida por estas tres inyecciones es incompleta en relación al veneno de *Trimeresurus flavo-viridis* (4) y nula contra el veneno de *N. naja* (5) (Fig. 12).

D.XI.— ♂, 2,550 gr. Una primera inyección (1) de 5 mgr. de veneno de *B.n. meridionalis* protege completamente contra los efectos de una dosis igual del mismo veneno (2) y de modo casi completo contra una tercera inyección de 5 mgr. de *C. terrificus* (3) y contra una cuarta inyección de 2 mgr. (4) de *Tr. flavo-viridis*; pero, ésta sin acción contra las dos últimas inyecciones de 5, 0 y 2,0 mgr. *N. naja* (5 y 6) (Fig. 13).

El efecto protector de las pequeñas dosis es menos acusado. Con el perro, el gato y el conejo se observa un resultado idéntico.

D.XIII.— ♀, 1,300 gr. Una primera inyección de 1 mgr. de veneno de *B.n. meridionalis* (1) no protege contra una segunda inyección (2) de 2 mgr. del mismo veneno; el animal reaccionó todavía a una tercera inyección (3) de 5 mgr.; pero, una cuarta inyección de 5 mgr. de *C. terrificus* (4) no produce efecto apreciable; el animal muere rápidamente después de dos últimas inyecciones (5 y 6) de veneno *N. naja*. (Fig. 11).

Los *Didelphis* son muy sensibles al veneno de *N. naja* cuya acción es muy diferente de los venenos de *Crotalinae*. Su sensibilidad a los efectos vasopresores de este veneno es comparable a la del conejo y a la del perro.

D.V.— ♀, 1,130 gr. Una primera inyección (1) de 5 mgr. de veneno *N. naja* produce una elevación intensa seguida de caída poco marcada de la P.A. con ligero aumento inicial seguida de una disminución considerable de la amplitud y del ritmo respiratorio; una se-

gunda inyección (2) de 2 mgr. del mismo veneno produce la paralización rápida de la respiración con grandes oscilaciones asfícticas de la respiración antes de la muerte (Fig. 16).

DVL.— ♀, 1.130 gr. Una inyección inicial de 3 mgr. de veneno de *N. naja* produce una elevación primaria de la P.A. con alteración profunda de la respiración, seguida de una parálisis respiratoria progresiva acelerada por una segunda inyección (2) de 1 mgr. de veneno. La muerte por asfixia está precedida por grandes oscilaciones de la P.A. (Fig. 17).

c) ACCION SOBRE LA COAGULACION

El plasma de los *Didelphis* es normalmente poco coagulable: índice de coagulabilidad por un suero padrón de caballo 1,5 cc. El suero es regularmente coagulable: índice coagulante para un plasma padrón de caballo 0,85 cc., muy vecino del índice del suero humano (variaciones extremas 0,75 — 1,3 cc.) El tiempo de coagulación ha variado entre 90" y 120" en cuatro ejemplares de *D. aurita* y dos de *D. azarae* (técnica de gotas sobre portaobjetos).

El suero de *D. virginiana* (norte del Brasil) es un poco menos coagulante (índice 0,95 con variaciones extremas entre 0,80 y 1,5 cc.)

El cuadro siguiente y la figura 6 permiten comparar los índices coagulantes del suero y de la coagulabilidad del plasma de *Didelphis* con los de caballo, buey, perro y hombre.

	Poder coagulante del suero	Coagulabilidad del plasma
Caballo	0,32	0,32
Buey	0,55	0,30
Hombre	0,85	0,10
Perro	1,05	0,13
<i>D. azarae</i>	0,85	1,5
<i>D. virginiana</i>	0,95	1,8

Técnica. 1 cc. de plasma fluorado 3 % + dosis crecientes de suero. Volumen total 2,0 cc. Bañomaria 37°C. 60' Lectura. El índice de coagulabilidad es indicado por la dosis menor de suero produciendo en 1 hr. un inicio de coagulación.

El plasma fluorado de *Didelphis* no sólo coagula con dificultad con el propio suero (índice de coagulación 1,5 — 2,0 cc.) sino también posee un poder inhibitor marcado (presencia de antitrombina) sobre la coagulación del plasma de caballo o de cualquier otro plasma normal, por un suero coagulante. La adición de plasma de *Didelphis* retrasa de modo considerable la coagulación normal.

Plasma de <i>D. aurita</i>	Plasma de caballo	Suero de caballo	Resultados			
			15'	30'	45'	60'
0,1 cc.	1,0 cc.	1,0 cc.	++	+++	++++	++++
0,2 "	1,0 "	1,0 "	++	+++	++++	++++
0,4 "	1,0 "	1,0 "	+	+++	++++	++++
0,6 "	1,0 "	1,0 "	+	++	+++	++++
0,8 "	1,0 "	1,0 "	+	++	+++	++++
1,0 "	1,0 "	1,0 "	—	+	++	+++
—	1,0 "	1,0 "	++	+++	++++	++++
1,0 "	—	1,0 "	—	—	—	—
1,0 "	—	2,0 "	+	++	+++	++++

Técnica. 1,0 cc. de suero de caballo y 1,0 cc. plasma fluorado 3 ‰ de caballo + dosis crecientes de plasma fluorado de *Didelphis*. Volumen total 3 cc., bañomaria 37°C.

El plasma de *Didelphis* es también muy poco sensible al efecto coagulante de los venenos ofídicos. Su índice de coagulabilidad con el veneno de *B. n. meridionalis* es de 0,5 mgr.; 1,0 mgr. con el veneno de *L. muta*; 2,0 mgr. con el veneno de *B. jararaca* y 2,5 mgr. con *C. d. terrificus*.

El índice coagulante del plasma de *Didelphis* por los venenos corresponde casi exactamente al poder neutralizante *in vitro* del suero de estos animales para los mismos venenos. Es posible, sin embargo, que la coagulabilidad natural débil del plasma contribuya a este resultado, dejando tiempo a los anticuerpos para obrar y neutralizar más completamente el veneno.

Así se explica la diferencia observada entre el índice de coagulabilidad por los venenos del plasma de *Didelphis* y del plasma de *Conepatus*, que estudiaremos más adelante. A pesar de ser casi tan resistentes que los *Didelphis* a los venenos y de mostrar un poder neutralizante del suero casi idéntico, el plasma de *Conepatus* es mucho más sensible al poder coagulante de los venenos. (Fig. 7).

El cuadro siguiente permite comparar la coagulabilidad por los venenos del plasma de *Didelphis* y de otras especies animales.

	<i>B. n. meridionalis</i>	<i>B. jararaca</i>	<i>L. muta</i>	<i>C. d. terrificus</i>
<i>D. azarae</i>	0,5 mgr.	2,0 mgr.	1,0 mgr.	2,5 mgr.
<i>D. virginiana</i>	—	2,5 "	1,5 "	—
<i>Conepatus castaneus</i>	0,005 "	—	—	0,20 "
Perro	0,00020 "	0,00017 "	0,00025 "	0,00026 "
Caballo	0,00030 "	0,00020 "	0,00075 "	0,00080 "

d) HEMOLISIS

En contraste con su resistencia elevada a la acción tóxica general y a la acción coagulante de los venenos de *Crotalinae*, los *Didelphis* son muy sensibles a la acción hemolítica de todos los venenos estudiados, cualquiera que sea su tipo: *Crotalinae* o *Colubridae*.

1. *Sensibilidad globular.* La sensibilidad globular de los glóbulos de *Didelphis* al efecto hemolítico de los venenos no depende de ninguna fragilidad globular especial. En suspensión, en una solución hipotónica de NaCl, los glóbulos de *Didelphis* muestran, al contrario, una resistencia mucho más alta que los glóbulos de perro. En 1 hr. al baño María a 37° C, la hemólisis solamente se manifiesta con título inferior a 3,0 % de NaCl.

Título solución de NaCl	<i>D. azarae</i>	<i>D. virginiana</i>	Perro
1,0 ‰	—	—	—
1,4 ..	+	—	—
1,8 ..	++	—	—
2,2 ..	++	+	—
2,6 ..	+++	++	—
3,0 ..	++++	++++	—
3,2 ..	++++	++++	++
3,6 ..	++++	++++	++++

(Glóbulos lavados en suspensión en soluciones de título variable de NaCl; 0,2 cc. glóbulos no diluidos en cada tubo).

Los glóbulos de *Didelphis* muestran igualmente una resistencia elevada a la acción de los sueros heterólogos.

Un suero normal de caballo con dosis de 0,01 hasta 1,0 cc. no produce ningún vestigio de hemólisis con una suspensión de glóbulos lavados de *Didelphis* al 5% (bañomaría 37° C. 60'). En las mismas condiciones, los glóbulos de *Didelphis* se muestran un poco más sensibles al suero de perro.

Suero de perro	Glóbulos <i>D. azarae</i> 5%	Bañomaría 37°C. 60'
0,2 cc.	0,2 cc.	—
0,2 ..	0,4 ..	+
0,2 ..	0,6 ..	+++
0,2 ..	0,8 ..	+++

En presencia de un veneno, los glóbulos de *Didelphis* muestran una sensibilidad muy superior a la mayoría de las otras especies animales. Pertenecen al grupo poco numeroso de las especies cuyos glóbulos lavados hemolisan en presencia de un veneno puro (*B. n. meridionalis*, *C. d. terrificus*) en ausencia de suero normal o de lecitina.

Glóbulos lavados <i>D. azarae</i> 5 %	Veneno <i>B. n.</i> <i>meridionalis</i> 1 %	Resultados		
		30'	60'	90'
0,5 cc.	0,005 cc.	++++	++	—
0,5 "	0,01 "	++++	++	—
0,5 "	0,02 "	++++	++	—
0,5 "	0,04 "	++++	++	—
0,5 "	0,06 "	++++	—	—
0,5 "	0,08 "	+++	—	—
0,5 "	0,10 "	++	—	—
0,5 "	0,15 "	+	—	—
0,5 "	0,20 "	+	—	—
0,5 "	—	++++	++++	++++

(Todos los tubos completados hasta 2,0 cc. con solución fisiológica NaCl a 3 %).

Resultados idénticos han sido obtenidos con el veneno de *C. d. terrificus* de Argentina.

Sólo conocemos otro mamífero sud-americano cuyos glóbulos hemolisan también en presencia de veneno puro y es el *Conepatus*, animal igualmente muy resistente a la acción general de los venenos. Es muy interesante subrayar que las dos especies de mamíferos sud-americanos más resistentes a los venenos ofídicos son al mismo tiempo aquellas cuyos glóbulos son más sensibles a su acción hemolítica. Esta sensibilidad está ligada a los fosfátidos endoglobulares y muestra una cierta relación entre resistencia general a los venenos y riqueza de fosfátidos, no solamente de sus glóbulos, sino también, de su suero, punto sobre el cual insistiremos más adelante.

La adición de un suero normal de caballo a la mezcla veneno y glóbulos de *Didelphis*, acelera, al principio, la acción hemolítica; una incubación prolongada entre suero y veneno paraliza la hemólisis por formación secundaria de sustancias antihemolíticas a expensas de los fosfátidos del suero por un mecanismo bien conocido, en el cual no intervienen directamente los glóbulos de *Didelphis*.

Veneno de <i>B. n. meridionalis</i> 1 ‰	Suero normal de caballo	Glóbulos lavados <i>D. azarae</i> 5 ‰	Sin incubación	60' incubación	300' incubación
0,005 mgr.	0,1 cc.	0,5 cc.	++	++++	++++
0,01 "	0,1 "	0,5 "	++	++++	++++
0,05 "	0,1 "	0,5 "	-	++++	++++
0,10 "	0,1 "	0,5 "	-	++	++++
0,15 "	0,1 "	0,5 "	-	+	++++
0,20 "	0,1 "	0,5 "	-	-	++++
-	0,1 "	0,5 "	++++	++++	++++

(Incubación variable entre suero de caballo y veneno. Lectura 30' después de adicionados los glóbulos).

Comparando este cuadro con el anterior, primera columna (lectura 30' después de la adición de los glóbulos), resalta inmediatamente la activación de la hemólisis cuando se añade un suero normal de caballo, por aumento de las hemolisinas formadas. La incubación entre suero y veneno demora o paraliza la hemólisis.

Comparándolos a los glóbulos de perro, los glóbulos de *Didelphis* muestran una sensibilidad superior a las

Suero de caballo	Veneno de <i>L. muta</i> 1 ‰	Glóbulos lavados <i>D. azarae</i> 5 ‰	Resultados	
			Glóbulos de <i>D. azarae</i>	Glóbulos de perro
0,2 cc.	0,1 cc.	0,2 cc.	-	-
0,2 "	0,1 "	0,3 "	-	+
0,2 "	0,1 "	0,4 "	-	++
0,2 "	0,1 "	0,6 "	+	+++
0,2 "	0,1 "	0,8 "	++	++++
0,2 "	0,1 "	1,0 "	+++	++++
0,2 "	0,1 "	1,5 "	+++	++++
0,2 "	-	0,5 "	++++	++++

hemolisinas venenosas formadas al poner en contacto suero de caballo y veneno (Fig. 8). El suero de perro no puede ser utilizado debido a su pequeña acción hemolítica sobre los glóbulos de *Didelphis*. El suero de caballo sin hemolisinas naturales para los glóbulos de *Didelphis* y muy poco hemolítico para los de perro, permite una comparación exacta.

2. *Poder hemolítico del suero.* El suero ha sido siempre centrifugado después de coagulación natural de la sangre y separación espontánea del coágulo. En dos ejemplares de *D. aurita*, el volumen del suero ha sido de 53 y 61% del volumen total de la sangre.

El P. H. del suero ha variado entre 7,6 y 7,5 para estos dos ejemplares.

Hemolisinas naturales. El suero de *Didelphis* carece casi siempre de hemolisinas naturales para los glóbulos de caballo, perro y carnero. En más de 12 ejemplares hemos encontrado una sola excepción: un ejemplar hembra de *D. virginiana* de Pernambuco, que hemolizaba debilmente los glóbulos de carnero: 0.1 cc. de suero y 0,2 cc. glóbulos rojos de carnero en suspensión al 5%, hemólisis total en 60'.

Todas nuestras otras investigaciones con *D. virginiana*, *D. aurita* y *D. azarae* han sido negativas con todos los glóbulos estudiados.

Poder complementario. El suero de *D. virginiana*, el único estudiado bajo ese aspecto, ha mostrado un poder complementario mediano. La unidad complementaria con suero diluído a 1: 10 y 5 unidades hemolíticas de suero inactivado conejo anticarnero + 0,2 cc. glóbulos de carnero al 5% ha variado entre 0,6 y 1,0 cc. en cuatro ejemplares estudiados.

Formación de hemolisinas venenosas. En presencia de un veneno de *Crotalinae* (*L.muta*, *B.n.meridionalis* o *C.d. terrificus*), el suero de las tres especies de *Didelphis* estudiadas forma hemolisinas muy activas, tanto para los propios glóbulos como para cualesquiera otros glóbulos heterólogos sensibles a las hemolisinas venenosas. Esta fase positiva, al contrario de lo que se observa

en la mayor parte de los otros sueros activos, no está seguida por una fase negativa secundaria con formación de antihemolisinas o de sustancias anticomplementarias.

Después de una incubación previa entre veneno y suero de *Didelphis*, se observa que la hemólisis no se produce pero sin formación de sustancias impeditas. Esta supresión de la hemólisis está debida a la neutralización del veneno por las sustancias neutralizadoras específicas del veneno y no por una destrucción de las hemolisinas formadas en la primera fase. Esta neutralización del veneno puede ser controlada por la inyección de la mezcla a animales sensibles (paloma, por ejemplo) y se observa siempre con proporciones bien definidas de suero y veneno.

Suero de <i>D. azarae</i>	Veneno de <i>B. n. meridionalis</i> 1%	Glóbulos lavados de <i>D. azarae</i> 5%	Resultados	
			60' incub. suero + veneno	300' incub. suero + veneno
0,1 cc.	0,005 cc.	0,5 cc.	—	—
0,1 "	0,01 "	0,5 "	—	—
0,1 "	0,02 "	0,5 "	—	—
0,1 "	0,04 "	0,5 "	—	—
0,1 "	0,06 "	0,5 "	—	—
0,1 "	0,08 "	0,5 "	—	—
—	0,06 "	0,5 "	++++	++++
0,05 "	0,1 "	0,5 "	—	—
0,10 "	0,1 "	0,5 "	—	—
0,20 "	0,1 "	0,5 "	—	++++
0,40 "	0,1 "	0,5 "	+++	++++
0,60 "	0,1 "	0,5 "	++++	++++
—	0,1 "	0,5 "	+++	++++

(Incubación entre suero y veneno de 60' y 300' Bafiomaría 37°C. Adición de 0,5 de cc. suspensión de glóbulos de *D. azarae* lavados. Lectura en 30', bafiomaría 37°C.).

El límite de neutralización ha sido observado con una proporción del veneno por el suero de 1:4 en 1 hr. y de 1:2 en 5 hrs.

Los resultados son más nítidos todavía cuando se utiliza en lugar de glóbulos de *Didelphis*, hemolizando espontáneamente con el veneno, glóbulos de perro no sensibles a la acción hemolítica del veneno puro ni tampoco a la acción del suero puro de *Didelphis*.

Haciendo variar el volumen de los glóbulos es posible utilizar dosis muy pequeñas de suero de *Didelphis* incapaces de neutralizar las dosis de veneno utilizadas.

Glóbulos de perro 5 %	Solución veneno 1 ‰	Suero de <i>Didelphis</i>	Resultados 30' bañomaria 37°C.		
			<i>B.n. meri- dionalis</i>	<i>C. d. terrificus</i>	<i>L. muta</i>
0,1 cc.	0,1 cc.	0,1 cc.	—	—	—
0,2 „	0,1 „	0,1 „	—	—	+
0,4 „	0,1 „	0,1 „	—	—	+++
0,8 „	0,1 „	0,1 „	—	+	++++
1,0 „	0,1 „	0,1 „	—	++	++++
1,5 „	0,1 „	0,1 „	++	+++	++++
2,0 „	0,1 „	0,1 „	+++	++++	++++
0,1 „	—	0,1 „	++++	++++	++++
0,1 „	0,1 „	—	++++	++++	++++

(Bañomaria 37°C. Incubación 60' entre veneno y suero. Adición de glóbulos. Lectura 30').

Nota. Las investigaciones con *B.n. meridionalis* y *C.d. terrificus* han sido realizadas con suero de *D. azarae*; las investigaciones con *L. muta*, con suero de *D. virginiana* de Pernambuco.

Es interesante subrayar las grandes variaciones de actividad de los tres venenos estudiados. La actividad relativa de estos tres venenos en relación al suero de *Didelphis*, guarda la misma proporción que presenta en relación a los sueros de perro y de caballo.

La actividad hemolítica del suero de *D. azarae* en presencia de un veneno se ha revelada siempre superior a la del suero de perro, como muestra la figura 9 y el cuadro siguiente:

Glóbulos de perro 5%	Veneno de <i>B. n.</i> <i>meridionalis</i> 1‰	Suero fresco	Resultados 30' bañomaria 37°C.	
			Suero de <i>D. azarae</i>	Suero de perro
0,6 cc.	0,1 cc.	0,1 cc.	—	—
0,8 „	0,1 „	0,1 „	—	+
1,0 „	0,1 „	0,1 „	—	++
1,2 „	0,1 „	0,1 „	—	++
1,4 „	0,1 „	0,1 „	++	+++
2,0 „	0,1 „	0,1 „	+++	+++

Bañomaria 37°C, 60' de incubación entre suero y veneno. Adición de los glóbulos; lectura 30'.

Todos estos resultados muestran la sensibilidad muy elevada del suero y de los glóbulos de *Didelphis* a los efectos hemolíticos de los venenos de *Crotalinae*.

3. *Nota sobre los glóbulos sanguíneos de Didelphis.* Dos ejemplares hembras de *D. virginiana* de Pernambuco han sido estudiados.

El número de glóbulos rojos ha sido casi idéntico en los dos ejemplares: ejemplar "A" 5,240,000 y ejemplar "B" 5,160,000 (cámara Zeiss-Thomas).

Los dos ejemplares muestran algunos hematíes nucleados y una anisocitosis marcada. Hemoglobina total: 14,4 gr. (ejemplar "A") y 15,2 gr. (ejemplar "B") (Microcomparador de Hellige).

La cifra leucocitaria es muy alta:

	Ejemplar "A"	Ejemplar "B"
Número total de leucocitos . . .	32,900	42,500
Linfocitos	23 %	37 %
Monocitos grandes	6 „	4 „
Monocitos medianos	43 „	40 „
Polinucleares neutrofilos . . .	23 „	12 „
Polinucleares acidófilos	3 „	2 „
Polinucleares basófilos	1 „	1 „
Mielocitos	1 „	4 „

Un estudio especial sería necesario para establecer una clasificación más exacta de las formas de leucocitos de *Didelphis*.

II

INVESTIGACIONES SOBRE LA NATURALEZA. DE LA RESISTENCIA DE LOS DIDELPHIS

Tres hipótesis pueden ser formuladas para explicar la resistencia elevada de los *Didelphis* a los venenos ofídicos: a) una falta de sensibilidad no específica con ausencia de todo poder neutralizador del suero; b) la presencia de sustancias neutralizando los efectos del veneno, sin especificidad verdadera; c) la existencia de una verdadera inmunidad natural con anticuerpos específicos.

La primera hipótesis no merece consideración. Los *Didelphis* poseen una sensibilidad normal en relación a un cierto número de venenos animales como los de *Naja*, de *Bufo*, de *Phyllomedusa* (D. xiv, Fig. 18), etc. Su resistencia limitada a los venenos de *Crotalinae* y talvez a los de *Viperinae* (un solo veneno de este grupo ha sido estudiado) siempre está acompañada por un poder neutralizante de su suero.

Es más difícil escoger entre las dos últimas hipótesis, presencia de una sustancia no específica neutralizando el veneno o existencia de verdaderos anticuerpos específicos. A fin de elucidar la naturaleza de esta resistencia, hemos realizado una nueva serie de investigaciones, para establecer: a) el poder antitóxico del suero de *Didelphis*; b) la trasmisión hereditaria de su resistencia; c) la existencia de precipitinas específicas; d) el papel protector de los lípidos sanguíneos y hepáticos de los *Didelphis*.

a) Poder neutralizante del suero

El poder neutralizante del suero ha sido medido según la técnica brasileña de V. Brazil para la titulación de los sueros antiofídicos: incubación de 1 hr. en la estufa a

37° C entre el suero y el veneno, seguida de inyección intravenosa a la paloma.

El poder protector puede ser valorado sencillamente, inyectando una mezcla de suero + veneno por vía intravenosa a la paloma, sin incubación previa.

La primera técnica corresponde a la titulación de las antitoxinas y paraantitoxinas de R. Kraus (Neben-antitoxinen) y la segunda a la titulación de las antitoxinas verdaderas del mismo autor.

La mayor parte de nuestras investigaciones han sido realizadas con *D. azarae* del Norte de Argentina y confirmadas con *D. aurita* de Río de Janeiro y *D. virginiana* de Pernambuco.

Los resultados han sido muy uniformes. El suero de los tres *Didelphis* neutraliza en grado elevado los venenos de *B. jararaca* y de *B. n. meridionalis* y en grado menor al veneno de *C. d. terrificus*. En relación al veneno de *V. russellii* su acción es casi tan elevada como en relación a los venenos de *Bothrops*. El veneno de *N. naja* no solamente no ha sido neutralizado, sino que se verificó, al contrario, una activación muy marcada del veneno.

Existen diferencias de actividad bastantes acusadas entre el suero de diversos ejemplares de *Didelphis* de la misma especie y provenientes de la misma región, sin que sea posible establecer una relación directa entre estas variaciones y la edad o el sexo de los animales; pero, todo suero se muestra activo en relación a los venenos de *Crotalinae* y *Viperinae*.

El grado de neutralización de diferentes venenos por un suero de *Didelphis* no guarda una proporción fija: una de nuestras muestras neutralizaba por cc. 10 dosis mínimas mortales para paloma de *B. n. meridionalis* y 1,5 a 2 dosis mínimas mortales de veneno de *C. d. terrificus*. En cuanto que otros ejemplares neutralizaban, en las mismas condiciones, solamente 4 dosis del veneno de *B. n. meridionalis* y 3 dosis de *C. d. terrificus*.

D. azarae

Veneno de B.n. meridionalis de Tucumán.

Primera Serie:

1 cc. suero + 0,2 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,4 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,5 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,6 mgr. veneno:	muerte entre 6 y 8 hs.
1 cc. suero + 1,0 mgr. veneno:	muerte en 3'

Segunda Serie:

1 cc. suero + 0,1 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,2 mgr. veneno:	muerte en 43'

Control:

Paloma, 0,04 mgr:	muerte en 25'
Paloma 0,05 mgr.:	muerte en 5'
Paloma 0,10 mgr.:	muerte en 3'

Dosis mínima mortal para la paloma: 0,04 mgr.

Veneno de C.d. terrificus.

Primera Serie:

1 cc. suero + 0,002 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,003 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,005 mgr. veneno:	muerte en 3 hrs. 55'

Segunda Serie:

1 cc. suero + 0,003 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,004 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,005 mgr. veneno:	paralítico en 12 hrs. Restablecido en 4 días.

Control:

0,001 mgr.:	muerte entre 30 y 40 hrs.
0,002 mgr.:	muerte en 12 hrs.

Dosis mínima mortal para la paloma: 0,001 mgr.

Veneno de V. russellii:

1 cc. suero + 0,05 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,06 mgr. veneno:	muerte en 3'

Control:

0,01 mgr.:	0 síntoma
0,02 mgr.:	muerte en 20'
0,05 mgr.:	muerte en 5'

Dosis mínima mortal para la paloma: 0.02 mgr.

Veneno de N. naja:

Primera Serie:

1 cc. suero + 0,3 mgr. veneno: muerte en 60'

Segunda Serie:

1 cc. suero + 0,3 mgr. veneno: muerte en 35'

Tercera Serie:

1 cc. suero + 0,3 mgr. veneno: muerte en 55'

Control:

0,20 mgr.:	síntomas ligeros; restablece.
0,30 mgr.:	paralítico en 1 hr.; restablece.
0,30 mgr.:	síntomas ligeros; restablece.

Dosis mínima mortal para la paloma: 0,35 mgr.

D. aurita

Veneno de B. jararaca:

1 cc. suero + 0,10 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,20 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,30 mgr. veneno:	muerte en 10'

Control:

0,10 mgr.:	muerte en 2'
0,05 mgr.:	muerte en 20'

Dosis mínima mortal: 0,05 mgr.



Veneno de C.d. terrificus. (Pernambuco).

1 cc.suero + 0,001 mgr. veneno: 0 síntoma
1 cc.suero + 0,002 mgr. veneno: muerte en 47 hrs.

Dosis mínima mortal: 0,001 mg., muerte en o 40 hrs.

El siguiente cuadro permite resumir los resultados obtenidos:

1 cc. de suero de **D. azarae** neutraliza:

0,10 hasta 0,60 mgr. sea 2,5 hasta 12 dosis mínimas mortales de veneno de **B.n. meridionalis**.

0,002 hasta 0,005 mgr. o sea 2 hasta 5 dosis mínimas mortales de **C.d. terrificus**.

0,05 mgr. sea 2,5 dosis mínimas mortales de **V. russellii**.

Activa el veneno de **N. naja**.

1 cc. de suero de **D. aurita** neutraliza:

0,10 hasta 0,20 mgr. sea 5 a 10 dosis mortales de veneno de **B. jararaca**.

0,001 hasta 0,002 mgr., sea 1 a 1,5 dosis mortales de **C.d. terrificus**.

Sin incubación previa entre el veneno y el suero, el poder protector es bastante más débil:

B.n. meridionalis.

Primera Serie:

Después de 1 hora de contacto, 1 cc. de veneno neutraliza 0,5 mgr. veneno.

Sin incubación, 1 cc. de suero + 0,4 mgr. de veneno: muerte en 6'.

1 cc. de suero + 0,3 mgr. de veneno: 0 síntoma.

Segunda Serie:

Con 1 hora de incubación, 1 cc. de suero neutraliza 0,10 mgr. de veneno.

Sin incubación, 1 cc. de suero + 0,10 mgr. de veneno: síntomas, restableciéndose el animal.

1 cc. de suero + 0,05 mgr. de veneno: 0 síntoma.

Tres observaciones importantes resaltan en estas investigaciones: el grado elevado de neutralización del veneno de *Crotalinae*, especialmente de *Bothrops*, por el suero de *Didelphis*; la neutralización elevada de un veneno asiático (*V. russellii*) perteneciente a una sub-familia distinta; la ausencia de neutralización del veneno de *N. naja*.

El poder neutralizante de un suero terapéutico antibothrópico varia, en los casos más favorables, entre 1 y 2 mgr. de veneno por cc.; algunos sueros de *Didelphis* alcanzan la mitad o la tercera parte de esta actividad: 0,6 mgr. por cc. para algunos ejemplares, actividad muy elevada.

Otro punto interesante es la acción muy marcada del suero de *Didelphis* sobre un veneno asiático de *Viperinae* (*V. russellii*). Por sus propiedades, este veneno se acerca a los venenos de *Crotalinae* y los sueros terapéuticos anticrotalinae sud-americanos poseen una acción paraespecífica notable sobre el veneno de *Daboia*. Esta acción es tan fuerte que R. Kraus y otros autores han propuesto utilizar los sueros antibothrópicos americanos en el tratamiento de los accidentes producidos por las víboras europeas. En otros trabajos nos hemos ocupado de este problema (An. Inst. Pasteur, París 1930, XLIV, 148).

Utilizando un suero antiofídico polivalente del Instituto "Carlos Malbran" de Buenos Aires, preparado especialmente con veneno de *B.n. meridionalis*, *B. alternata* y *C. d. terrificus*, hemos verificado que neutralizaba por cc. 0,9 mgr. de veneno de *B. n. meridionalis*. En relación al veneno de *V. russellii* ha dado los resultados siguientes:

1 cc. suero + 0,06 mgr. veneno:	0 síntoma
1 cc. suero + 0,07 mgr. veneno:	síntomas; restablecido.
1 cc. suero + 0,08 mgr. veneno:	muerte en 2'

El poder neutralizante del suero de *Didelphis* sobre el veneno de *Daboia* (0,05 mgr. por cc.) es pues, comparable a la acción paraespecífica de los sueros terapéuticos antibothrópicos polivalentes (0,07 mgr. por cc.).

La pequeña sensibilización de la paloma para el veneno de *N. naja* producida por el suero de *Didelphis*, solamente puede explicarse por una activación de los fosfátidos sanguíneos cuya existencia esta demostrada también por el estudio de los efectos hemolíticos. La carencia total de poder protector contra un veneno de *Colubridae proteroglifa*, grupo representado en Sud-América por algunas especies poco agresivas y que raras veces muerden (*Micrurus, vboras de coral*) apoya la hipótesis de la existencia para los *Didelphis* de una verdadera inmunidad natural adquirida, transmitida por herencia y reforzada por mordeduras ocasionales en relación a las especies venenosas más importantes del Continente, los *Crotalus* y *Bothrops*.

b) *Trasmisión hereditaria de la resistencia*

Para verificar la transmisión hereditaria de esta inmunidad natural, hemos realizado una serie de investigaciones con animales nacidos y criados en el laboratorio, observando en todos ellos una resistencia tan elevada como en los adultos:

D.VII.— ♂ joven 80 gr., nacido en el laboratorio. Inyección intramuscular de 30 mgr. de veneno de *B.n. meridionalis* correspondiente a 400 mgr. por 1 kgr. de peso. Muerte entre 36 y 40 hrs. La dosis sería suficiente para matar 40 Kgr. de perro o 180 palomas, por vía intramuscular.

D.III.—D. *azaræ*, ♂ joven nacido en el laboratorio, 500 gr. Inyección intramuscular de 50 mg. de veneno de *C.d. terrificus*. Ningún síntoma.

D.IV.—D. *azaræ*, ♂ joven, 500 gr., nacido en el laboratorio. Inyección intramuscular de 50 mgr. de veneno de *V. russellii*. Ningún síntoma.

c) *Precipitinas*

El poder protector del suero está acompañado por un poder precipitante igualmente específico en relación a los venenos de *Crotalinae* y al de *V. russellii*; los resultados han sido completamente negativos con *N. naja*.

El título de precipitación es bastante inferior al título de un suero antiofídico polivalente (suero antiofídico del Instituto "Carlos Malbran" de Buenos Aires, utilizado en las experiencias anteriores). La actividad del suero varía bastante de un ejemplar de *Didelphis* a otro.

De las cuatro muestras de suero de *Didelphis* estudiadas, una sola ha precipitado fuertemente el veneno de *B. n. meridionalis* y de *C. d. terrificus* a 1:50. Los otros sueros han precipitado entre 1:25 y 1:10.

El suero polivalente antiofídico ha precipitado fuertemente a un título 1:100 los dos venenos estudiados.

Esta diferencia entre el poder precipitante del suero de *Didelphis* y el de un suero polivalente antiofídico guarda una relación con la intensidad de su poder neutralizador.

Técnica. Dilución creciente del suero: 1:10, 1:25, 1:50, 1:100 y 1:200. Dosis fija de veneno, 0,1 mgr. Volumen total 2 cc. en cada tubo. Bañomaría 37°C. Lectura en 2, 6 y 24 hrs.

d) *Lipoideos*

El poder fijador y neutralizante de los lipoideos para los venenos ofídicos y diversas toxinas, está bien establecido (formación de criptotoxinas). Era interesante investigar si el poder antitóxico del suero de *Didelphis* y la resistencia de estos animales a los venenos, no eran debido a una fracción lipóidica particularmente activa de su plasma.

Nuestras investigaciones en ese sentido no mostraron ninguna actividad especial de los lipoideos sanguíneos o hepáticos en relación a los venenos estudiados.

Hemos utilizado el método descrito en nuestros trabajos anteriores con V. Brazil: 150 gr. de hígado de *Didelphis* (o 100 cc. de plasma) han sido triturados y tratados por 1,500 cc. de una mezcla, en partes iguales, de alcohol etílico y éter sulfúrico. Después de filtración, evaporación del filtrado a bañomaría, el residuo de la evaporación está retomado por la acetona. Después de filtrado, la parte insoluble en la acetona ha sido de 778 mgr. y la parte soluble de 1,500 mgr. para 150 gr. de hígado.

Las dos fracciones han sido estudiadas separadamente. 20 mgr. de cada una emulsionados en 1 cc. de solución fisiológica de NaCl, han sido dejados durante 5 hrs. en una estufa a 37° C en contacto con dosis crecientes de veneno. Inyección intravenosa a la paloma.

Veneno de *B.n. meridionalis*:

20 mgr. lipoideos + 0,10 mgr. veneno: muerte en 5'
20 mgr. lipoideos + 0,06 mgr. veneno: 0 sintoma

Veneno de *C.d. terrificus*:

20 mgr. lipoideos + 0,005 mgr. veneno: 0 sintoma
20 mgr. lipoideos + 0,01 mgr. veneno: muerte en 12 hrs.

Las dosis máximas neutralizadas por 20 mgr. de lipoideos en 5 hrs. han sido 0,08 mgr., sea 2 dosis mínimas mortales con el veneno de *B. n. meridionalis* y 0,008 mgr. sea 6 a 8 dosis mínimas mortales con el veneno de *C. d. terrificus*.

Estos resultados, muy diferentes de la neutralización de los venenos por el suero de *Didelphis*, más activo para el veneno de *B. n. meridionalis* que para el de *C. d. terrificus*, son, al contrario, de acuerdo con la acción fijadora no específica de los lipoideos, siempre más enérgica y más rápida para el veneno de *C. d. terrificus* (V. Brazil y J. Vellard: "Sur le rôle des lipoides en immunologie", São Paulo, 1930). El grado de neutralización observada con los lipoideos de *Didelphis* es idéntico al observado con los lipoideos de cualquier otra especie animal sensible a los venenos, y preparados por la misma técnica.

La fracción soluble en el alcohol-éter y en la acetona, posee un poder neutralizante menos activo: 1 dosis mínima mortal con el veneno de *B. n. meridionalis* y 2 a 3 dosis mínimas mortales con el veneno de *C. d. terrificus*.

CONCLUSION

Estas investigaciones muestran en las tres especies de *Didelphis* estudiadas (*D. azarae*, *D. aurita* y *D. virginiana*), una resistencia muy elevada a los venenos de Cro-

talinae que les permite resistir a una dosis de más de 100 mgr. de veneno por Kgr. sin presentar síntomas de intoxicación general ni reacción local.

Esta resistencia se explica por la presencia de un poder neutralizante y de un poder protector elevado en el suero de estos animales, acompañados por precipitinas específicas.

La resistencia de los *Didelphis* se extiende al único veneno de *Viperinae* estudiado (*V. russellii*) pero no a los venenos de *Colubridae* proteroglifas (*Naja naja*).

Los *Didelphis* son igualmente resistentes a todos los efectos tóxicos y proteásicos de los venenos, pero son muy sensibles a sus efectos hemolíticos.

La resistencia a los venenos se transmite por herencia y los jóvenes nacidos en el laboratorio se muestran tan resistentes como los adultos recién capturados.

La resistencia de los *Didelphis* presenta todos los caracteres de una inmunidad natural específica para los venenos de *Crotalinae* sud-americanos, con una acción paraespecífica sobre los venenos de *Viperinae*. Esta acción paraespecífica es semejante a la que se observa con un suero terapéutico anti-*Crotalinae* preparado con los venenos de *Crotalus* y *Bothrops* sud-americanos.

La sensibilidad de los *Didelphis* a la acción hemolítica de los venenos está relacionada con los fosfátidos de los glóbulos y del plasma, mostrando que se trata de una acción química no específica.

Sería interesante de confirmar con el estudio de *Didelphis* provenientes de regiones en las cuales no existen serpientes venenosas, la hipótesis de una inmunidad adquirida por mordedura de serpientes, transmitida por herencia y reforzada por mordeduras accidentales que deben ser bastante frecuentes en animales nocturnos que atacan a menudo a las serpientes para alimentarse.

Sería igualmente interesante estudiar otros géneros de *Didelphidae* sud-americanos, a fin de averiguar si se trata de inmunidad propia a todo el grupo o limitada a las mayores especies, que deben ser las únicas capaces de atacar a las serpientes venenosas.

LOS CONEPATUS

Los *Conepatus* son muy conocidos por el líquido de olor desagradable elaborado por sus glándulas anales y utilizado para su defensa.

En el Perú llevan el nombre de *zorrillo* y *añash*, en las regiones de habla quechua; *zorra* en el Ecuador; *mapurite* en Venezuela y Colombia; *dakana* en Patagonia; *chingüe* en Chile; *zorrino* o *zorrillo* en Argentina; *maritataca* o *jaritataca* en el Norte del Brasil y *cangambá* en el Sur.

A pesar de sus medios de defensa malolientes son muy buscados por su cuero utilizado en peletería; es el *skung* de los peleteros y en Norte América existen importantes criaderos. En Sud-América es difícil conseguir ejemplares vivos y más aún, manejarlos en el laboratorio.

Los *Conepatus*, junto con la *Mustela*, los *Galictis* y *Lyncodon*, representan en Sud-América la sub-familia de los *Mustelinae*. Son animales carnívoros y nocturnos, alimentándose de pequeños animales, mamíferos, aves y atacando con frecuencia a los reptiles. Unos viven en las regiones cálidas del Continente, otros en las regiones frías y una especie, el *C. rex*, vive en la puna del Perú y Bolivia, entre 4000 y 4500 m. sobre el nivel del mar.

Las primeras referencias de su resistencia a los venenos parecen ser informaciones inéditas de Piraja Da Silva en Bahía (Brasil) y la primera publicación, un pequeño trabajo de F. Iglesias en São Paulo, que facilitó ejemplares vivos a R. Kraus y V. Brazil. Kraus publicó algunos datos sobre su resistencia a las mordeduras de serpientes y V. Brazil se ocupó de su aparato defensivo (Bol. Inst. V. Brazil, I, 1927).

En una nota preliminar enviada en 1948 a la Academia de Ciencias de París, he indicado la similitud que existe entre la resistencia de los *Conepatus* y la resistencia de los *Didelphis* a los venenos.

Mis investigaciones han sido casi todas realizadas con una pequeña especie, *C. castaneus*, que no pasa de 30 a 35 cm. de largo, de la Sierra de Córdoba (Argentina). Todos los ejemplares fueron cazados en sitios elevados, cerca de 2000 m.

En la región no existe *Crotalus* y la única especie de serpiente peligrosa, *B. n. meridionalis*, es bastante escasa.

Sería muy interesante realizar nuevas investigaciones con especie serranas como *C. rex*, de la puna central del Perú, en la cual no existe ninguna especie de serpiente venenosa.

PARTE EXPERIMENTAL.—Hemos utilizado un lote de 5 *C. castaneus* y, además, hemos realizado algunas observaciones con *C. amazonicus* del Norte del Brasil.

No han sido estudiadas las variaciones de la P. A. y de la respiración por falta de número suficiente de animales.

a) Resistencia al veneno

Dos ejemplares de 600 y 650 gr. respectivamente, no han mostrado ningún síntoma general ni local después de la inyección intramuscular de 50 mgr. de veneno de *B. n. meridionalis* o de *C. d. terrificus*.

Un ejemplar adulto de *C. amazonicus*, después de mordido por dos grandes ejemplares de *B. jararacussu*, mostró síntomas de intoxicación: decaimiento, paresia, estado de shock moderado, restableciéndose en dos horas.

Otro ejemplar de la misma especie, criado en el laboratorio y acostumbrado a ser mordido con frecuencia por *Crotalinae*, murió en menos de 1 hr. después de una mordedura de *Micrurus lemniscatus* (vibora de coral).

Como los *Didelphis*, los *Conepatus* son muy resistentes a los venenos de *Crotalinae* y muy sensibles al veneno de las *Colubridae*.

b) *Poder neutralizante del suero*

El suero posee un poder neutralizante comparable al observado en los *Didelphis*.

Veneno de *B.n. meridionalis*.

0,5 cc. suero + 0,1 mgr. veneno:	0 sintoma
1,0 cc. suero + 0,2 mgr. veneno:	0 sintoma
1,0 cc. suero + 0,3 mgr. veneno:	muerte en 26'
1,0 cc. suero + 0,4 mgr. veneno:	muerte en 4'

Dosis mínima mortal para paloma, por vía intravenosa
0,05 mgr.

Veneno de *C.d. terrificus*.

1,0 cc. suero + 0,003 mgr. veneno:	0 sintoma
1,0 cc. suero + 0,004 mgr. veneno:	0 sintoma
1,0 cc. suero + 0,005 mgr. veneno:	paralítico en 5 hrs. Muerto en 22 hrs.

Dosis mínima mortal para paloma, por vía intravenosa
0,0015 mgr.

(Veneno más suero dejados en contacto 60' en bañomaría 37° C antes de inyectar).

1 cc. de suero de *C. castaneus* neutraliza completamente 0,25 mgr. de *B.n. meridionalis*, sea 5 dosis mínimas mortales y 0,004 mgr. de veneno de *C.d. terrificus*, sea 3 dosis mínimas mortales.

c) *Coagulabilidad del plasma*

Solamente hemos podido estudiar la coagulación del plasma por los venenos de *B. n. meridionalis* y de *C. terrificus*, sin poder estudiar el poder coagulante del suero.

La sensibilidad del plasma de *C. castaneus* a la acción coagulante de los venenos de *B. n. meridionalis* y de *C. d. terrificus* es respectivamente 30 y 500 veces menor que la del plasma de perro.

B. n. meridionalis: inicio de coagulación 0,005 mgr.; coagulación total 0,08 mgr.

C. d. terrificus: inicio de coagulación 0,20 mgr.; coagulación total 0,40 mgr.

d) *Hemólisis*

C. castaneus, como los *Didelphis*, muestra una sensibilidad muy grande a la acción hemolítica de los venenos.

Los glóbulos lavados hemolisan en presencia de venenos puros sin adición de suero normal o de lecitina.

Veneno de <i>B. n.</i> <i>meridionalis</i>	Glóbulos rojos lavados al 5%	Resultados	
		Bañomaria 37°C.	
		60'	240'
0,005 mgr.	0,5 cc.	+++	±
0,01 "	0,5 "	+++	—
0,02 "	0,5 "	+++	—
0,04 "	0,5 "	+++	—
0,06 "	0,5 "	++	—
0,08 "	0,5 "	+	—
0,10 "	0,5 "	—	—
0,20 "	0,5 "	—	—
—	0,5 "	++++	++++

La adición de suero activa al principio el efecto hemolítico; pero, una incubación prolongada entre el suero y el veneno produce un pequeño efecto impediendo que se traduzca por una hemólisis demorada e incompleta.

Esta acción impediendo no debe ser atribuida a un efecto neutralizador del veneno, dadas las proporciones relativamente pequeñas de suero en relación al veneno utilizado (0,1 cc. x 0,1 mgr. de veneno; parece tratarse más bien de la formación de una verdadera antihemolisina.

Veneno de <i>B. n. meridionalis</i>	Suero <i>Conepatus</i>	Glóbulos lavados 5%	Resultados		
			60' después de adición glóbulos		
			0 incub. veneno + suero	60' incub. veneno + suero	260' incub. veneno + suero
0,005 mgr.	0,1 cc.	0,5 cc.	++	+++	+
0,01 "	0,1 "	0,5 "	+	+++	+
0,02 "	0,1 "	0,5 "	+	++	++
0,04 "	0,1 "	0,5 "	—	+	++
0,06 "	0,1 "	0,5 "	—	±	++
0,08 "	0,1 "	0,5 "	—	—	++
0,10 "	0,1 "	0,5 "	—	—	++
0,20 "	0,1 "	0,5 "	—	—	++++
—	0,1 "	0,5 "	++++	++++	++++
—	—	0,5 "	++++	++++	++++

e) *Resistencia globular a las soluciones hipotónicas*

Contrastando con su sensibilidad elevada a las hemolisinas venenosas, los glóbulos de *Conepatus* han mostrado una gran resistencia al efecto de las soluciones hipotónicas de NaCl, muy superior a la de los glóbulos de perro.

Titulo de la solución NaCl	Glóbulos de <i>Conepatus</i> , no diluidos	Resultado
		Bañomaria 37°C. 60'
6,0 ‰	0,2 cc.	++++
5,6 "	0,2 "	++++
5,2 "	0,2 "	++++
4,8 "	0,2 "	+++
4,4 "	0,2 "	+++
4,0 "	0,2 "	+++
3,6 "	0,2 "	++
3,2 "	0,2 "	—

CONCLUSION

Los *Conepatus* se han comportado, en todas nuestras investigaciones, de modo muy semejante a los *Didelphis*.

Resistencia muy elevada a la acción general y local de los venenos de *Crotalinae*, siendo la dosis mínima mortal superior a 100 mgr. por Kgr.; sensibilidad a los venenos de *Colubridae*; poder neutralizante elevado del suero para el veneno de *B. n.meridionalis* y también para el de *C. d.terrificus*, serpiente que no existe en la región de donde provienen nuestros ejemplares; sensibilidad muy grande de los glóbulos lavados a la acción hemolítica de los venenos en ausencia de suero normal o de lecitina; capacidad del suero para formar hemolisinas en presencia de un veneno con dosis baja y acción antihemolítica, prologando la incubación entre suero y veneno.

El origen de esta resistencia parece ser una verdadera inmunidad natural con anticuerpos específicos, análoga a la observada con los *Didelphis*, desarrollada en animales nocturnos y carnívoros expuestos a frecuentes encuentros con serpientes venenosas que sirven accidentalmente para su alimentación, y reforzada por mordeduras ocasionales.

LOS ZORROS

R. Kraus ha indicado que una especie brasileña de zorro, *Pseudalopex vetulus*, posee una resistencia notable al veneno de ciertas *Crotalinae*, *Bothrops jararaca*, *B. jararacussu* y *B. alternata*; pero, no contra el veneno de otras especies como *B. atrox* y *C. d. terrificus*. Sus experiencias realizadas haciendo morder directamente a los zorros por serpientes cuyo estado de repleción de las glándulas es imposible conocer, carecen de rigor.

En nuestras investigaciones hemos utilizado, especialmente, dos especies de zorro, *Cerdocyon thous* de la región de Tucumán y Santiago del Estero (Argentina) y *Pseudalopex gracilis* de la región andina; algunas verificaciones sobre la coagulabilidad sanguínea han sido hechas con *Ps. vetulus* de São Paulo (Brasil).

Nuestros resultados confirman solamente en parte a los de R. Kraus.

Ps. gracilis se mostró siempre tan sensible como el perro a todos los efectos de los diversos venenos utilizados (*Crotalus*, *Bothrops*, *Naja naja*).

C. thous, tan sensible como el perro a los venenos de *Bothrops* estudiados, (*B. n. meridionalis* y *B. alternata*) y al veneno de *Naja naja*, se reveló, de modo irregular, menos sensible al veneno de *C. d. terrificus*, necesitando a menudo una dosis 3 a 5 veces más elevada que el perro (0,5 mgr. en lugar de 0,1 mgr. por Kgr.) para conseguir un efecto apreciable sobre la P. A. y la respiración. El suero de los mismos animales neutralizaba parcialmente por cc. 1 o 1,5 dosis mínima mortal de veneno para la paloma. Esta resistencia y el poder neutra-

lizante han sido irregulares, variables, según los ejemplares y muy inferiores a lo que se observa con los *Didelphis* y *Conepatus*. La coagulabilidad del plasma, los fenómenos hemolíticos y la resistencia globular, han dado resultados idénticos a los del perro.

a) *Resistencia al veneno*

Las variaciones individuales, edad, sexo, no permiten establecer, con la precisión suficiente, las diferencias de sensibilidad a los venenos, cuando se debe trabajar con dosis bastante altas, de orden de 4 o 5 mgr. o más por animal. Con el perro mismo, variaciones de sensibilidad del orden de 0,1 mgr., y más todavía, por Kgr., son normales.

Para apreciar con más exactitud la sensibilidad de los zorros, hemos utilizado dos métodos mucho más sensibles: registro de las variaciones de la P.A. y de la respiración y determinación del poder neutralizante del suero.

a) *Variaciones de la P. A. y de la respiración*

El *C. thous* y el *Ps. gracilis* han sido estudiados comparativamente.

C. thous.

La inyección por vía venosa de 0.25 mgr. por Kgr. del veneno de *B. n. meridionalis*, produce una caída inmediata y acusada de la P. A. y el aumento del ritmo y de la amplitud respiratoria, análogo a lo que se observa con el perro. La protección conferida por una primera inyección es muy rápida y elevada.

R.I.— ♀, 3.700 gr. Anestesia cloral-morfina. Inyección intravenosa de 1 mgr. de veneno de *B.n. meridionalis* (1); 30' después, segunda inyección de 1 mgr. del mismo veneno (2). (Fig. N° 19).

Con el veneno de *C. d. terrificus* se necesita utilizar dosis relativamente elevadas, 1 mg. por Kgr., para conseguir un efecto apreciable.

R.IV.— ♂ adulto, 4.000 gr. Anestesia cloral-morfina. Inyección intravenosa de 2 mgr. de veneno de *C.d. terrificus* argentino; ninguna variación apreciable de la P.A.; pequeño aumento de la frecuencia y de la amplitud respiratoria y de la coagulabilidad sanguínea.

R.V.— ♀, 2.500 gr. Anestesia cloral-morfina. Inyección intravenosa de 1,0 mgr. de veneno de *C.d. terrificus* argentino; ninguna variación de la P.A. ni de la respiración. 2' después de la primera, nueva inyección de 2 mgr. del mismo veneno; caída rápida de la P. A.; muerte en 3'.

El *Ps. gracilis* se mostró, al contrario, siempre muy sensible, tanto al veneno de *Crotalus* como al veneno de *Bothrops*.

R.VI.— ♂ adulto, 3.000 gr. Anestesia cloral-morfina. Inyección intramuscular de 1 mgr. veneno de *C.d. terrificus* (1). La P.A. cae bruscamente de 30 m. m. a 15 m. m. de Hg, no levantándose más. Una segunda inyección (2) de 1 mgr. del mismo veneno, 10' después de la primera, y una tercera (3) de 2 mgr., no producen sino variaciones poco marcadas de la P.A. y de la respiración. (Fenómeno de protección) (Fig. 20).

Ambas especies son igualmente sensibles al veneno de *N. naja*, que produce una parálisis rápida de la respiración y grandes oscilaciones de la respiración de origen asfíctico.

R.II.—C. thous. ♂ adulto, 3.000 gr. Anestesia cloral-morfina. Inyección intravenosa de 5 mgr. *N. naja*. Muerte en 9'.

b) Poder neutralizante del suero

C. thous

Veneno de *B.n. meridionalis*:

1 cc. suero + 0,06 mgr. veneno: muerte en 5'
1 cc. suero + 0,05 mgr. veneno: muerte en 20'

Control:

0,05 mgr. veneno: muerte en 25' (dosis mínima mortal)
0,06 mgr. veneno: muerte en 3'

Veneno de *C.d. terrificus*:

- 1 cc. suero + 0,003 mgr. veneno: 0 síntoma
1 cc. suero + 0,004 mgr. veneno: parético en 24 hrs.; res-
tablecido en 3 días.
1 cc. suero + 0,005 mgr. veneno: paralítico en 12 horas;
muerto al 4º día.

Control:

- 0,002 mgr. veneno: muerte en 4 días (dosis
mínima mortal).
0,003 mgr. veneno: muerte en 18 hrs.

Esta acción del suero, neutralizando 1 a 2 dosis seguramente mortales de veneno, confirma los resultados obtenidos por el estudio de las variaciones de la P. A. y de la respiración en *C. thous*, mostrando un pequeño grado de resistencia natural en este animal.

El suero de *Ps. gracilis* no mostró ningún poder protector contra los venenos estudiados.

c) *Coagulación sanguínea*

C. thous

El plasma de *C. thous* es muy sensible, tanto a la acción coagulante del propio suero como a la de los venenos de *Crotalinae*, comportándose de modo casi idéntico al plasma de perro.

Coagulabilidad por el propio suero.—(1 cc. de plasma fluorado + dosis variables de suero; 60', bañomaria 37°C.).

0,2 cc. de suero —; 0,3 cc. de suero +; 0,4 cc. de suero +++;
0,5 cc. de suero ++++.

Coagulabilidad por el veneno de *C.d. terrificus* (argentino).

0,0004 mgr. +; 0,0006 mgr. +++; 0,0008 ++++.

Coagulabilidad por el veneno de *B.n. meridionalis*.

0,0003 mgr. +; 0,0004 ++; 0,0006 +++; 0,0007 ++++; 0,08, inicio de proteólisis +++; 0,10 hasta 2,0 fuerte acción proteolítica ++.

Coagulabilidad del plasma fluorado por los venenos, en función del tiempo.—(Determinación de las dosis de venenos necesaria para conseguir la coagulación total de 1 cc. de plasma en 30", 15', 30', 45' y 60').

Tiempo	C.d. terrificus	B.n. meridionalis
30"	2,0 mgr.	2,0 mgr.
15'	0,10 "	0,08 "
30'	0,004 "	0,008 "
45'	0,001 "	0,004 "
60'	0,0008 "	0,0001 "

Acción proteolítica del veneno sobre el suero.—(1 cc. de veneno + 1 cc. de suero de zorro dejados en contacto durante 1 hr. bañomaria 37°C; adición de 1 cc. de plasma fluorado del mismo zorro. Lectura 15', 60', 180' bañomaria 37°C).

Veneno B. n. meridionalis	15'	60'	180'
0,5 mgr.	++++	++++	++
1,0 "	++++	++	+
1,5 "	++++	+	+
2,0 "	++++	+	—
—	++++	++++	++++

El veneno de *C. d. terrificus* de Argentina carece de acción proteolítica. Con *Ps. gracilis* los resultados para estas diversas pruebas de coagulabilidad son casi idénticos.

d) Acción hemolítica

Resistencia globular

La resistencia de los glóbulos de *C. thous*, de *Ps. gracilis* y de perro a las soluciones hipotónicas, difiere poco. La adición de veneno de *C. d. terrificus* y de *B. n. meridionalis* a las soluciones hipotónicas (0,2 mgr.) disminuye esta resistencia.

Titulo de la solución NaCl	Glóbulos no diluidos C. th.	Resultados		
		60' bañomaria 37°C.		
		Sin veneno	0,2 mgr. C. d. terrificus	0,2 mgr. B. n. meridionalis
6,8 ‰	0,2 cc.	++++	++++	++++
6,4 „	0,2 „	++++	+++	++++
6,0 „	0,2 „	++++	++	+++
5,6 „	0,2 „	++++	+	++
5,2 „	0,2 „	+++	±	+
4,8 „	0,2 „	++	—	±
4,4 „	0,2 „	+	—	—
4,0 „	0,2 „	+	—	—
3,6 „	0,2 „	—	—	—

Formación de hemolisinas

En presencia de un veneno, el suero de los dos zorros estudiados se ha comportado como el suero de perro: formación rápida de propiedades hemolíticas intensas (fase

Suero C. thous	Soluc. de veneno 1 ‰	Glóbulos lavados C. th. 5 ‰	Resultados			
			B. n. meridionalis		C. d. terrificus	
			0 incub.	5 horas incub.	0 incub.	5 horas incub.
0,05 cc.	0,1 mgr.	0,5 cc.	—	—	—	—
0,10 „	0,1 „	0,5 „	—	+	—	—
0,20 „	0,1 „	0,5 „	—	++	—	— 15'
0,30 „	0,1 „	0,5 „	—	++++	—	— 25'
0,10 „	—	0,5 „	++++	++++	++++	++++
—	0,1 „	0,5 „	++++	++++	++++	++++

Incubación variable entre el suero y el veneno en bañomaria 37°C; adición de glóbulos lavados del mismo animal. Lectura en 30'.

positiva), seguida con el veneno de *B. n. meridionalis*, de una disminución marcada de la acción hemolítica (fase negativa). Con el veneno de *C. d. terrificus* de Argentina, esta fase secundaria es poco marcada, tanto en el suero de zorro como en el suero de perro, y se traduce apenas por una pequeña demora de la hemólisis:

Una incubación prolongada entre los glóbulos rojos y una solución de veneno antes de la adición de suero, aumenta ligeramente la resistencia de los glóbulos a la acción de las hemolisinas del complejo suero + veneno. Esta acción es más nítida con el veneno de *C. d. terrificus* que con el veneno de *B. n. meridionalis*.

Glóbulos <i>C. th.</i> 5 %	Veneno <i>C. d.</i> <i>terrificus</i> 1 ‰	Suero <i>C. th.</i>	Resultados			
			0 incub.	60' incub.	120' incub.	180' incub.
0,2 cc.	0,1 cc.	0,1 cc.	—	—	—	+
0,4 „	0,1 „	0,1 „	—	—	+	++
0,6 „	0,1 „	0,1 „	—	—	+	++
0,8 „	0,1 „	0,1 „	—	+	++	++
1,0 „	0,1 „	0,1 „	+	+	++	++
0,2 „	0,1 „	—	++++	++++	++++	++++

Incubación variable, bañomaria 37°C entre una solución de veneno al 1 ‰ y una suspensión de glóbulos rojos de zorro lavados al 5 %; adición de suero fresco de *C. thous*. Lectura 30', bañomaria 37°C.

CONCLUSION

En todas nuestras investigaciones, *C. thous* ha sido el único zorro que mostró una pequeña resistencia acompañada por un debil poder neutralizante del suero en relación al veneno de *C. d. terrificus*. Esta resistencia no alcanza al veneno de *B. n. meridionalis*.

Esta acción específica para un solo veneno y poco intensa es, además, irregular. Sólo se observó con una partida de zorros provenientes de Santiago del Estero. Otros ejemplares de la misma especie, provenientes del Norte de la Provincia de Tucumán, carecían de resisten-

cia contra los venenos de cascabel. Tampoco se ha verificado en los ejemplares de *Ps. gracilis*, provenientes todos de la región andina de Salta y Catamarca, en las cuales no existen especies venenosas.

Los *Crotalus* abundan en todo Santiago del Estero. Parece que existe en los zorros de esta provincia una pequeña inmunidad natural que se desarrolla paulatinamente en animales expuestos a mordeduras accidentales, por una especie de serpiente muy común, y posiblemente esa resistencia se transmite por herencia, como en el caso de los *Didelphis*.

La poca intensidad de esta inmunidad natural explica que no se extiende a venenos del mismo grupo, como *B. n. meridionalis*. Fenómenos análogos se observan durante la inmunización activa de los animales de laboratorio: la inmunidad aparece estrictamente específica al principio y, a medida que se acentúa, se hace extensiva a otros venenos del mismo grupo zoológico y hasta de otros grupos (*Crotalinae* y *Viperinae*).

Así se explica la irregularidad de esta inmunidad natural de *C. thous*, bastante marcada en algunos individuos, poco nítida o nula en otros, y también su carencia en ejemplares provenientes de regiones sin especies venenosas, como es el caso de *Ps. gracilis*.

Es interesante subrayar que *P. vetulus*, estudiado por R. Kraus, había mostrado una pequeña resistencia en relación a los venenos de *B. jaracaca* y *B. alternata*, especies abundantes en el Sur del Brasil, de donde provenían sus ejemplares de zorros, y ninguna resistencia contra *C. d. terrificus* o *B. atrox*. Es probable que, en ese caso, los zorros estudiados por R. Kraus estaban desarrollando una pequeña inmunidad contra las serpientes venenosas más comunes de esa región.

Todas estas observaciones vienen a confirmar la hipótesis de la existencia de una verdadera inmunidad específica en las especies de carnívoros nocturnos expuestos al encuentro frecuente de serpientes venenosas. Muy marcada en *Didelphis* y *Conepatus*, esta inmunidad es débil e irregular en los zorros.

LOS ARMADILLOS

Algunas especies de armadillos comen, ocasionalmente, pequeñas serpientes y son consideradas, por gente del campo, como destructores de serpientes venenosas. En cautividad, he podido constatar que tres especies diferentes de armadillos, *Dasypus novemcinctus*, "tatú eté" o "tatú gallina" del Brasil; *Euphractus sexcinctus*, "tatú péba" del Brasil y Norte de Argentina; y el "Mataco" o "tatú bola", *Tolypeutes mataco*, de Argentina, son capaces de atacar y comer a pequeñas serpientes venenosas, *Bothrops* o *Crotalus*, pero no es raro que mueran después de mordeduras repetidas.

Nuestras investigaciones experimentales han sido realizadas solamente con la última especie, *Tolypeutes mataco* (Argentina). Es una especie nocturna como la mayoría de los armadillos y muy abundante.

Ha mostrado una sensibilidad elevada a los dos venenos estudiados y una carencia total de poder neutralizante del suero:

1 cc. de suero + 0,05 mgr. veneno de B.n. meridionalis :	muerte en 4'
1 cc. de suero + 0,003 mgr. veneno de C.d. terrificus :	muerte en 20 hrs.

Control:

0,05 mgr. veneno de B.n. meridionalis :	muerte en 7'
0,003 mgr. veneno de C.d. terrificus :	muerte en 18 hrs.

El suero es poco coagulante para el plasma de caballo y el plasma muy poco coagulable por un suero de caballo:

Índice de coagulación del suero por el plasma fluorado de caballo: 2,0 cc.

Índice de coagulabilidad del plasma por el suero de caballo: 1,2 a 1,5 cc.

El plasma es, al contrario, muy sensible a la acción coagulante de los venenos.

Índice de coagulabilidad por el veneno de *B.n. meridionalis*: 0,0001 mgr.

Índice de coagulabilidad por el veneno de *C.d. terrificus*: 0,001 mgr.

La resistencia globular a las soluciones hipotónicas es muy alta:

Solución al NaCl 3,2 ‰ +++++; 2,8 ‰ ++++; 2,4 ‰ ++++; 2,0 ‰ ++; 1,6 ‰ —.

Los glóbulos rojos no son sensibles a la acción hemolítica de los venenos, no hemolizando en presencia de veneno puro ni tampoco en presencia del complejo veneno *B. n. meridionalis* + suero de caballo, muy activo para otros glóbulos: dosis progresivas de veneno desde 0,005 mgr. hasta 1,0 mgr. + 0,1 cc. y 0,5 cc. suero de caballo, no produjeron ningún vestigio de hemólisis en 5 hrs. con los glóbulos de este armadillo.

El suero de *T. mataco* es igualmente incapaz de formar hemolisinas en presencia de un veneno activo de *B. n. meridionalis*.

Es interesante verificar de nuevo la independencia absoluta entre la sensibilidad del suero y la de los glóbulos sanguíneos de una especie animal, a la acción hemolítica de un veneno y la sensibilidad de esta misma especie a la acción tóxica del veneno.

Los *Didelphis* y *Conepatus*, muy resistentes a la acción tóxica de los venenos, son muy sensibles a su acción hemolítica. Los armadillos, muy sensibles a la acción tóxica, poseen suero y glóbulos completamente refractarios a su acción hemolítica.

LAS AVES CAZADORAS DE SERPIENTES

Tres aves sud-americanas son consideradas como destructoras de serpientes venenosas. Dos pertenecen a las Gruiformes, *Chunga burmeisteri* y *Cariama cristata*; la última es una Falconiforme, *Herpetotheres cachinnans*. En Africa, una otra Falconiforme, el Serpentario o Secretario, *Gypogeranus reptilivorus*, es también ofiófaga.

Ningun estudio parece existir sobre la sensibilidad a los venenos de las aves americanas cazadoras de serpientes. Era interesante investigar la existencia de una inmunidad posible en estos animales que cazan con frecuencia y comen serpientes venenosas.

Las tres atacan a las serpientes, venenosas o no, golpeándoles con el pico y aturdiéndolas con violentos aleteos, al mismo tiempo que protegen su cuerpo con sus alas. Quedando aturdiditas las serpientes las tiran repetidas veces al aire, las sacuden y las golpean sobre el suelo. Cuando ya no se mueven más, comienzan a devorarlas. La *Chunga* y la *Cariama*, que vuelan poco, atacan a las serpientes en el suelo, saltando sobre sus largas patas. (1) El *Herpetotheres* las ataca al vuelo, dejándose

¹ Para ilustrar el modo de combatir de *Chunga burmeisteri* con las serpientes, reproducimos un fragmento de una carta enviada por el Dr. Juan Heller, Presidente de la Corte de Tucumán, relatando la pelea de una "Chufia" con una víbora de la Cruz (*B.n. meridionalis*).

"Cerca de la casa, de una pirca de piedra que defiende un zanjón, salió una víbora de la Cruz, de tamaño más que regular. Repetió un corto trecho por el suelo, que era en esa parte plano, cuando, de pronto, la apercibió la "chufia", se encrespó y acudió de inmediato a trabar pelea. La víbora se enroscó y levantó la cabeza, en

caer sobre sus víctimas, elevándose de nuevo, sacudiéndolas y llevándolas después a su nido sobre las ramas, para comerlas.

No me ha sido posible conseguir ejemplares vivos de *Herpetotheres*, quedando limitadas mis investigaciones a las dos otras especies.

CHUNGA BURMEISTERI

Es la Chunga de patas negras, propia de Argentina, especie común en los campos y formaciones de bosques secos del Norte y del Centro del país, desde el Norte de la Pampa hasta el Chaco y la provincia de Salta.

Los ejemplares estudiados provienen todos de las regiones de Salta y del Norte de la provincia de Tucumán, zonas en las cuales abunda *B. n. meridionalis*, siendo escasas las cascabeles.

La sangre ha sido obtenida por punción de la vena axilar del ala. Coagula muy rápidamente, siendo difícil conseguir más de 6,0 cc. por sangría, sin utilizar una sustancia anticoagulante. El rendimiento de suero es cerca de 40 % del volumen total de sangre.

"cuya boca flameaba una agudísima lengua de fuego. La "chuffa" comenzó por dar vueltas en grandes círculos alrededor de su enemiga; pero, poco a poco fué estrechando la rueda, y cuando se aproximó más a la víbora, bajo una ala y proyectándola un poco hacia adelante, pero cubriéndose siempre hasta las patas como un escudo, continuó dando vueltas muy rápidas. El ánimo del ave era decididísimo y causaba asombro a quien la veía. De pronto, en el relámpago en que la víbora debía cambiar la rotación de su cabeza para seguir los giros circulares de la "chuffa", ésta se precipitaba como un rayo, cazaba con su pico la cola de la víbora, la estiraba de un solo golpe y, sacudiéndola con energía, la chicoteaba y la arrojaba lejos. Tres veces logró esta puntería. A la tercera, la víbora quedó estirada por el suelo, quebrantada, inerte. La "chunga" se acercó furiosa y le comió a picotazos parte de la cabeza. Todos los ataques de la víbora dieron en la materia inerte de las plumas del ala, bajada a manera de escudo".

a) *Resistencia al veneno*

Disponiendo solamente de pocos ejemplares, he podido realizar apenas dos experiencias, sin gran valor, con dos ejemplares de poco más de un Kgr. de peso.

La inyección intramuscular de 7,0 mgr. de veneno de *B. n. meridionalis* en los músculos pectorales, mató a un ejemplar de 1,140 gr., en menos de 4 hrs.

Una inyección intramuscular de 0,5 mgr. de veneno de *C. d. terrificus* a otro ejemplar de 1,050 gr., produjo la muerte en 6 hrs.

Estas dosis escogidas, creyendo en la existencia de una resistencia elevada de las aves al veneno, eran, con toda evidencia, demasiado fuertes; pero, no fué posible realizar nuevas investigaciones por falta de ejemplares.

b) *Poder neutralizante del suero*

Cuatro ejemplares han sido utilizados para estas investigaciones, mostrándose todos completamente desprovistos de poder neutralizante sobre los venenos de *B. n. meridionalis* y *C. d. terrificus*.

(Inyección a la Paloma de la mezcla suero + veneno).

1 cc. de suero + 0,05 mgr. veneno de *B. n. meridionalis*: muerte en 8'.

Control.—0,05 mgr.: muerte en 6' (dosis mínima mortal).

1 cc. suero + 0,003 mgr. veneno de *C. d. terrificus*: paralítico en 4 hrs.; muerte en 12 hrs.

Control.—0,003 mgr. veneno de *C. d. terrificus*: muerte en 10 hrs. (dosis mínima mortal).

c) *Coagulación*

El plasma de *Ch. burmeisteri* es muy sensible a la acción coagulante del veneno de *B. n. meridionalis*: inicio de coagulación en 1 hr. con 0,0005 mgr. de veneno; coagulación total 0,001 mgr.

Como todos los plasmas de aves, este plasma es muy poco sensible a la acción coagulante del veneno de *Crotalus*. En 60' ningún vestigio de coagulación con dosis

crecientes de 0,01 hasta 3,0 mgr.; en 5 hrs. + con 1 mgr. de veneno y ++ con 3,0 mgr.

d) *Resistencia globular*

Los glóbulos rojos de *Chunga* son medianamente sensibles a las soluciones hipotónicas. En 60' la hemólisis aparece con una solución de NaCl al 4‰, siendo completa con una solución al 3,2‰.

Son muy poco sensibles a la acción de los sueros heterólogos. Dosis de suero de caballo entre 0,05 y 1,0 cc. no produjeron ningún vestigio de hemólisis en 6 hrs., en bañomaria a 37° C.

Los glóbulos lavados hemolisan lentamente en presencia de un veneno puro, sin adición de suero ni de lecitina.

Veneno de <i>B. n.</i> meridiona- lis al 1‰	Glóbulos lavados de <i>Chunga</i> 5 ‰	Resultados Bañomaria 37°C.			
		Ejemplar Nº 1		Ejemplar Nº 2	
		60'	300'	60'	300'
0,01 mgr.	0,5 cc.	++++	++++	++++	+++
0,04 "	0,5 "	++++	++++	++++	++
0,08 "	0,5 "	++++	+++	++++	—
0,10 "	0,5 "	++++	+++	++++	—
0,15 "	0,5 "	++++	++	++++	—
0,20 "	0,5 "	++++	+	++++	—
—	0,5 "	++++	++++	++++	++++

La adición de suero normal de caballo activa la hemólisis, pero es necesario utilizar fuertes dosis de suero a fin de conseguir una formación intensa de hemolisinas y observar un efecto apreciable. Una dosis de 0,1 cc. de suero es incapaz, en presencia de dosis de veneno variables entre 0,005 y 0,25 mgr., de producir hemólisis en 2 hrs. al bañomaria 37° C. Solamente dosis superiores a 0,4 cc. se muestran activas en las mismas condiciones.

Suero de caballo	Veneno de <i>B. n. meridionalis</i> 1%	Glóbulos lavados de Chunga al 5%	Resultados Bañomaria 37°C.	
			30'	120'
0,20 cc.	0,10 mgr.	0,5 cc.	++++	++++
0,40 "	0,10 "	0,5 "	+++	++
0,60 "	0,10 "	0,5 "	++	—
0,80 "	0,10 "	0,5 "	—	—
1,0 "	0,10 "	0,5 "	—	—
—	0,10 "	0,5 "	++++	++++
0,80 "	—	0,5 "	++++	++++

Ningun efecto secundario de resistencia a la hemólisis ha podido ser observado.

e) *Formación de hemolisinas en el suero*

En presencia de un veneno de *B. n. meridionalis* (único veneno estudiado) el suero de Chunga no forma he-

Veneno de <i>B. n. meridionalis</i> al 1%	Suero de Chunga	Glóbulos rojos de Chunga 5%	Resultados Bañomaria 37°C. en 300'		
			0 incub. suero + veneno	60' incub. suero + veneno	300' incub. suero + veneno
0,005 mgr.	0,1 cc.	0,5 cc.	+++	+++	+++
0,01 "	0,1 "	0,5 "	++	++	++
0,02 "	0,1 "	0,5 "	++	++	++
0,05 "	0,1 "	0,5 "	+	+	+
0,08 "	0,1 "	0,5 "	—	—	—
0,10 "	0,1 "	0,5 "	—	—	—
0,005 "	—	0,5 "	+++		
0,01 "	—	0,5 "	++		
0,02 "	—	0,5 "	++		
0,05 "	—	0,5 "	+		
0,08 "	—	0,5 "	—		
0,10 "	—	0,5 "	—		
—	0,1 "	0,5 "	++++	++++	++++

molisinas activas para los propios glóbulos ni tampoco de antihemolisinas hasta después de 3 hrs. de incubación al bañomaría con el veneno. La hemólisis que puede observar se 2 o 3 hrs. después de la adición de los glóbulos rojos corre por cuenta de la acción directa del veneno sobre los glóbulos y no es más intensa en los tubos que reciben veneno + suero de *Chunga* + glóbulos, que en los tubos que reciben únicamente veneno y glóbulos.

C O N C L U S I O N

La *Chunga* no posee ninguna resistencia especial contra los venenos de *B.n.meridionalis* y *C.d.terrificus*; su suero carece de todo poder neutralizante. Su plasma es muy sensible a la acción coagulante del veneno de *Bothrops*; pero, como todos los plasmas de aves, es muy poco sensible al veneno de *Crotalus*.

Los glóbulos de *Chunga* hemolisan lentamente en presencia del veneno puro y más rápidamente en presencia de un sistema hemolítico veneno + un suero normal de caballo, sin presentar de fase negativa secundaria.

El suero de *Chunga* no forma hemolisinas ni antihemolisinas en cantidad apreciable en presencia de un veneno de *Bothrops*.

C A R I A M A C R I S T A T A

La *Cariama cristata*, "chuña de pata colorada" en Argentina, "Siriéma" del Paraguay y del Brasil, posee una distribución geográfica mucho más extensa que *Chunga burmeisteri*. Existe en todas las Sábanas de la zona tropical y sub-tropical, desde el Sur del Amazonas hasta el Norte de Argentina.

Se alimenta de toda clase de pequeños animales, atacando con frecuencia a las serpientes venenosas o no. En las Sabanas de Goyas (Brasil Central) la he visto varias veces atacar y comer pequeñas víboras de cascabel.

Cuatro ejemplares han sido utilizados para nuestras investigaciones: dos provenientes de la provincia de Tu-

cumán, uno del Chaco Salteño y el último de una localidad no determinada del Norte de Argentina. En todas estas regiones las *B. n. meridionalis* son comunes y los *Crotalus* poco abundantes o inexistentes.

Los resultados han sido casi idénticos a los obtenidos con *Chunga burmeisteri*: ausencia de resistencia especial en relación al veneno y carencia de poder neutralizante del suero; plasma muy sensible a la acción coagulante de los venenos de *Bothrops* y muy poco sensible al veneno de *Crotalus terrificus*; glóbulos rojos hemolizando lentamente en presencia de un veneno puro o de un sistema hemolítico veneno + suero de caballo. Pero, el suero de *C. cristata* en presencia de veneno de *B. n. meridionalis* forma, en pequeña cantidad, hemolisinas activas para sus propios glóbulos; una incubación previa de 60' entre el suero y el veneno acelera esta acción hemolítica, en cuanto que una incubación más prolongada la disminuye.

a) *Resistencia al veneno*

Una sola experiencia realizada con un ejemplar de 1400 gr. que recibió por vía intramuscular, en los músculos pectorales, una inyección de 1 mgr. de *C. d. terrificus*: paralítico en 4 hrs., muerte en 12 hrs.

b) *Poder neutralizante del suero*

Tanto en relación al veneno de *C. d. terrificus* como al veneno de *B. n. meridionalis*, ningún ejemplar ha mostrado propiedades neutralizantes en el suero. Las palomas inyectadas con la mezcla de suero + veneno murieron en el mismo plazo o antes de los controles (60' incubación suero + veneno, bañomaría 37° C; inyección intravenosa).

B.n. meridionalis.

- | | |
|---------------------------------|--|
| 1 cc. suero + 0,06 mgr. veneno: | muerte en 10' |
| 1 cc. suero + 0,05 mgr. veneno: | paralítico en 5 hrs.; muerte en 8 hrs. |

Control:

0,06 mgr. veneno:	muerte en 11'
0,05 mgr. veneno:	paralítico en 6 hrs., res- tablecido en 2 días. (Dosis mínima mortal)

C.d. terrificus.

1 cc. suero + 0,003 mgr. veneno: muerto en menos de 12 hrs.

Control:

0 003 mgr. veneno: muerto en menos de 12 hrs.

c) *Coagulación*

Como todos los plasmas fluorados de aves, el plasma de *C. cristata* es muy sensible a los venenos de *Bothrops*, coagulando muy difícilmente con el veneno de *Crotalus* sud-americano.

Veneno	Resultados	
	60' bañomaria 37°C.	
	<i>B. n. meridionalis</i>	<i>C. d. terrificus</i>
0,0005 mgr.	—	—
0,001 "	++	—
0,002 "	+++	—
0,005 "	++++	—
0,01 "	++++	—
0,10 "	++++	—
0,5 "	++++	—
1,0 "	+++	—
2,0 "	—	—

La acción proteolítica del veneno aparece normalmente con dosis superiores a 0,5 mgr., como se observa con cualquier plasma sensible.

d) *Resistencia globular*

Los glóbulos son muy resistentes a las soluciones hipotónicas. En una hora al baño María 37° C, la hemólisis comienza solamente en las soluciones de NaCl al 3,6‰ siendo total con la solución al 2,4‰.

Solución de NaCl	Resultados	
	Baño María 37°C.	
	30'	60'
4,0‰	++++	++++
3,6 "	+++	+++
3,2 "	++	+
2,8 "	++	+
2,4 "	—	—

En presencia de veneno puro, los glóbulos hemolisan lentamente comenzando la hemólisis a manifestarse después de 3 hrs. de contacto entre el veneno y los glóbulos lavados con las dosis utilizadas de veneno de *B. n. meridionalis*.

Veneno de <i>B. n. meridionalis</i> al 1‰	Glóbulos lavados C.c. 5%	Resultados	
		Baño María 37°C.	
		60'	300'
0,02 mgr.	0,5 cc.	++++	++++
0,05 "	0,5 "	++++	++
0,08 "	0,5 "	++++	++
0,10 "	0,5 "	++++	+
0,20 "	0,5 "	++++	—
—	0,5 "	++++	++++

Los glóbulos de *C. c.* no hemolisan en presencia de un suero normal de caballo (0,05 cc. hasta 1,0 cc. suero normal de caballo + 0,5 cc. de suspensión al 5 % de glóbulos rojos lavados; bañomaria 37° C., 3 hrs.).

En presencia de un sistema hemolítico, suero de caballo + veneno, la hemólisis aparece solamente en 3 hrs., siendo un poco más intensa que en los tubos de control conteniendo únicamente veneno y glóbulos, sin suero.

En presencia de un veneno de *B. n. meridionalis*, el suero de *C. c.* muestra una pequeña acción hemolítica cuando no hay incubación previa entre el suero y el veneno. La actividad hemolítica máxima se observa después de una incubación de 1 hr. entre el veneno y el suero. Una incubación más prolongada determina, al contrario, un atraso muy nítido de la hemólisis, debido a la formación de sustancias antihemolíticas.

Veneno de <i>B. n.</i> <i>meridionalis</i> al 1%	Suero de <i>C. cristata</i>	Glóbulos de <i>C. cristata</i> 5 %	Resultados Bañomaria 37°C. 60'		
			0 incub. veneno + suero	60' incub. veneno + suero	300' incub. veneno + suero
0,01 mgr.	0,1 cc.	0,5 cc.	++++	++++	++++
0,02 "	0,1 "	0,5 "	++++	+++	++++
0,05 "	0,1 "	0,5 "	+++	+	++++
0,08 "	0,1 "	0,5 "	++	+	+++
0,10 "	0,1 "	0,5 "	++	—	+++
0,20 "	0,1 "	0,5 "	—	—	+++
—	0,1 "	0,5 "	++++	++++	++++

Para los controles de veneno más glóbulos sin suero, ver el cuadro anterior.

CONCLUSION

Cariama cristata como *Chunga burmeisteri* carece de cualquier protección especial contra los venenos de ser-

pientes. En todas las investigaciones realizadas, estas dos aves se han comportado de modo casi idéntico.

Gracias a su agilidad, a la pantalla protectora de sus plumas y a sus poderosos aletazos que aturden a las serpientes, estas aves pueden cazar y matar a las serpientes venenosas. Son especies carnívoras y voraces; atacan, sin distinción, a todos los pequeños animales: insectos, arácnidos, langosta, serpientes, pequeñas aves y pequeños roedores.

Es sin embargo interesante constatar que unas aves cazadoras de serpientes carecen totalmente de inmunidad contra su veneno, en cuanto que pequeños mamíferos, cuyo régimen alimenticio no es normalmente ofiófago, posee una inmunidad elevada contra esos venenos.

CONCLUSIONES GENERALES

- 1.—Las tres especies de *Didelphis* estudiadas, *D. virginiana*, *D. aurita* y *D. azarae*, poseen una resistencia muy elevada, tanto a la acción general como a la acción local de los venenos de *Crotalinae* sud-americanos; pero, carecen de resistencia especial contra los venenos de *Colubridae proteroglypha*.

Esta resistencia se traduce por una disminución considerable de la sensibilidad, sea a la acción tóxica del veneno, sea a sus propiedades coagulantes, anticoagulantes o proteolíticas. Pero, no se extiende al grupo de las acciones fosfatidásicas. Los glóbulos de *Didelphis* se sitúan entre los más sensibles al efecto hemolítico de los venenos y su suero se vuelve fuertemente hemolítico en presencia de un veneno.

Al mismo tiempo existe en el suero un poder antitóxico elevado y precipitinas específicas.

- 2.—Los lipoides sanguíneos y hepáticos de *Didelphis* no poseen, en relación al veneno, un poder fijador más elevado que los de especies sensibles.
- 3.—Esta resistencia elevada se transmite por herencia, siendo los animales nacidos en cautiverio tan resistentes como los recién capturados.
- 4.—Dos especies de *Conepatus*, *C. castaneus* y *C. amazonicus*, gozan de una resistencia casi tan elevada que los *Didelphis* y con caracteres idénticos.

- 5.—Los factores sexo, edad, estación, origen de los animales, carecen de importancia. De las diversas hipótesis formuladas, solamente una, la existencia de una verdadera inmunidad natural, merece ser retenida. Esta inmunidad se desarrolla en animales nocturnos cazando ocasionalmente serpientes, siendo aumentada por las mordeduras que pueden sufrir estos animales.

- 6.—Es una inmunidad de grupo que se extiende no sólo a las especies de *Crotalinae* más frecuentes en la región, sino también a todas las especies de *Crotalinae* americanas y hasta algunas *Viperinae* asiáticas. Pero no alcanza a los venenos de *Colubridae proteroglypha*, de escasa importancia en el Continente.
Caracteres análogos han sido verificados en sueros terapéuticos antiofídicos, preparados con venenos de *Crotalinae* americanos.

- 7.—Una especie de zorro de la región andina, en la cual no existen *Crotalinae*, *Pseudalopex gracilis*, se ha mostrado tan sensible como el perro a los venenos. Una otra especie, *Cerdocyon thous*, proveniente de una zona rica en cascabeles, ha revelado de modo irregular una pequeña resistencia al veneno de *C. d. terrificus*, que no se extiende a los venenos de *Bothrops*.

- 8.—La única especie de armadillo estudiada, *Tolypeutes mataco*, muestra una gran sensibilidad a los venenos.

- 9.—Las dos especies de aves cazadoras de serpientes estudiadas, *Cariama cristata* y *Chunga burmeisteri*, han mostrado una gran sensibilidad a los venenos.

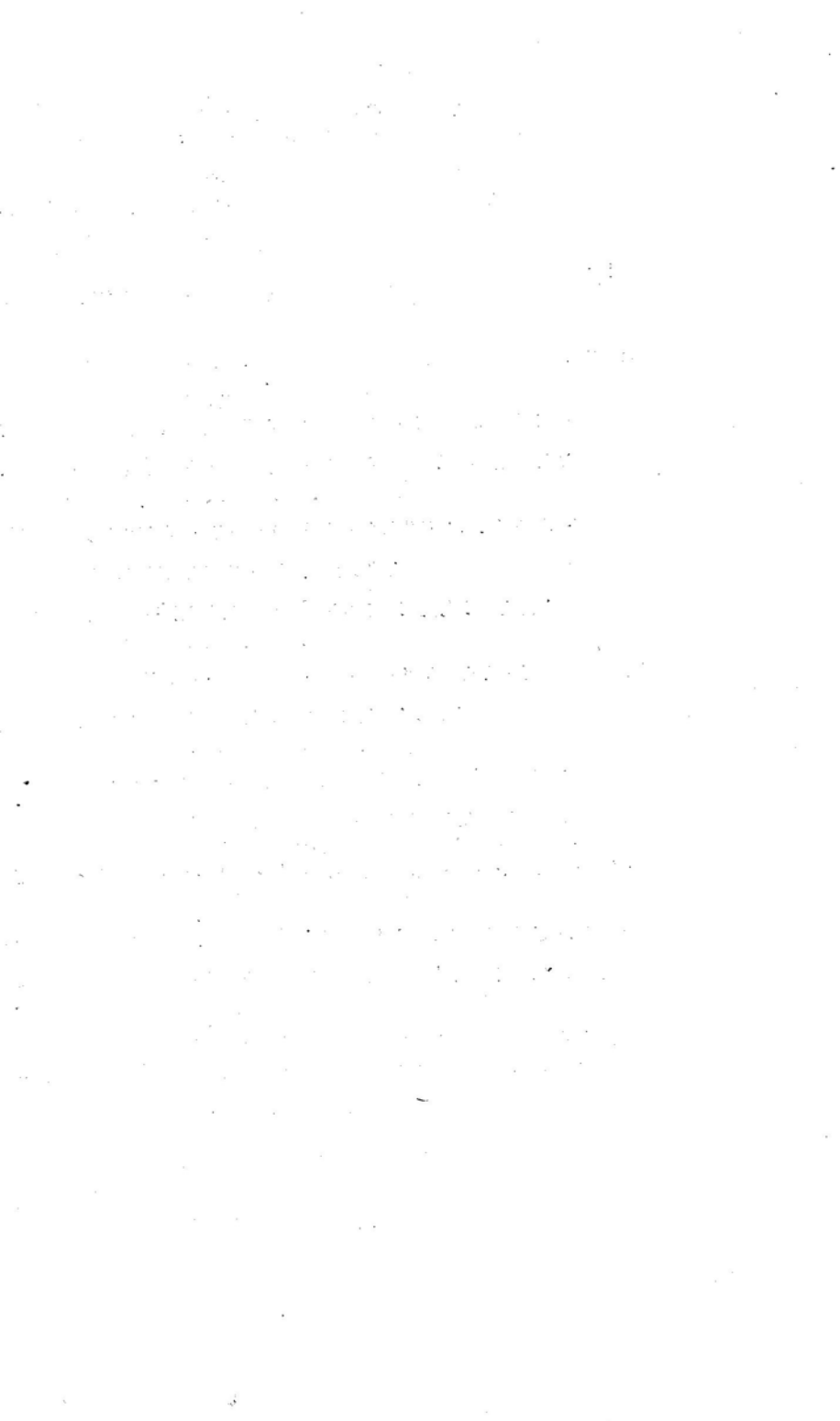
- 10.—Todas las observaciones realizadas permiten concluir que, en algunas especies de mamíferos expues-

tos a frecuentes encuentros con serpientes venenosas, se desarrolla progresivamente una inmunidad verdadera en relación al veneno de las especies más comunes en la región, pudiendo extenderse a las serpientes pertenecientes a grupos zoológicos vecinos, pero no a las formas alejadas.

Es interesante subrayar que inmunidad semejante no se desarrolla en las aves americanas cazadoras de serpientes.

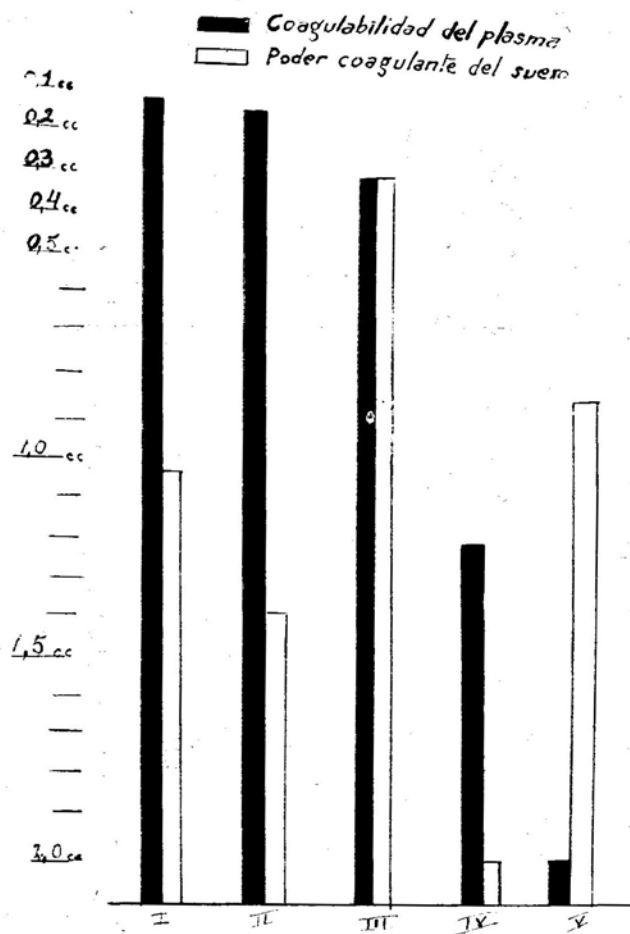
PRINCIPALES REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.—CALMETTE: *Expériences sur l'immunité de la mangouste*, "An. Inst. Pasteur", Paris, 1895.
——— *Les venins*. Masson, Paris, 1907.
- 2.—CALMETTE et DELÉARDE: *Sur la propriété des humeurs des animaux réfractaires*, "An. Inst. Pasteur", Paris, 1896.
- 3.—IGLESIAS Fr.: *Ann. Paulistas Medicina*, São Paulo, 1917.
- 4.—IHERING H. VON: *Rev. Museo Paulista*, São Paulo, VIII, 1910.
- 5.—KRAUS R.: *Serumtherapie der Vergiftungen durch tierieschegifte*. Kolle-Wassermann, *Handbuch der pathogenen mikroorganismen*, 3 Aufl. III, 1930.
——— *Ueber biologische Schlangenforschung*. *Mediz. Klinik*, 1924, XXIII.
——— *Münc. Mediz. Woch.*, 1927.
- 6.—LEWIN: *Beitrag zur Lehre von der natuerlichen Immunitat*. *D. med. Woch.*, 1898.
- 7.—MAAS Th.: *Tabulae Biologicae*, 1934, IX; 1936, XI.
- 8.—PAWLOWSKY: *Giftiere*, Iena 1926.
- 9.—PHISALIX M.: *Les animaux venimeux et les venins*. Paris, Masson, 1922.
- 10.—SUZUKI: *Journ. med. Assoc.*, Formosa, 1934, XXXIII.
- 11.—VITAL BRAZIL: *La défense contre l'ophidisme*, São Paulo, 1912.
——— *Biologia do Conepatus chilensis*, "Bol. Inst. V. Brazil", Nictheroy, 1927, I.
- 12.—VITAL BRAZIL y J. VELLARD: *Action coagulante et anti-coagulante des venins*, "Ann. Inst. Pasteur", Paris, XLII.
- 13.—VELLARD J.: *Resistencia de los Didelphis a los venenos ofídicos*, "Rev. Brasileira Biología", 1945.
——— *Résistance des sarrigues au venin des serpents*, "C. R. Acc. Sc.", Paris, 1947.

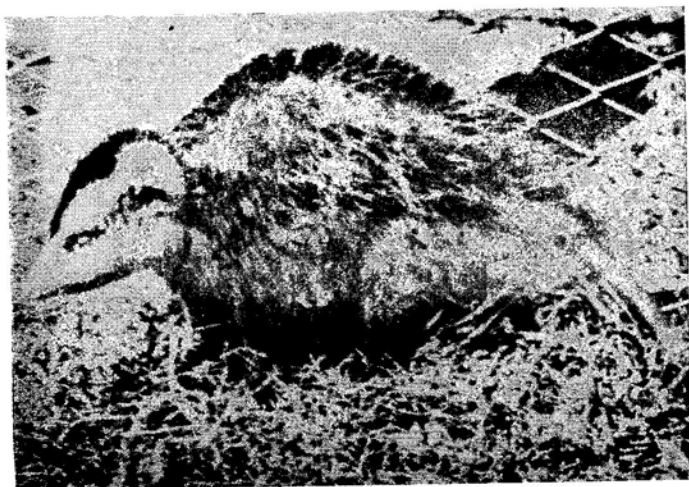




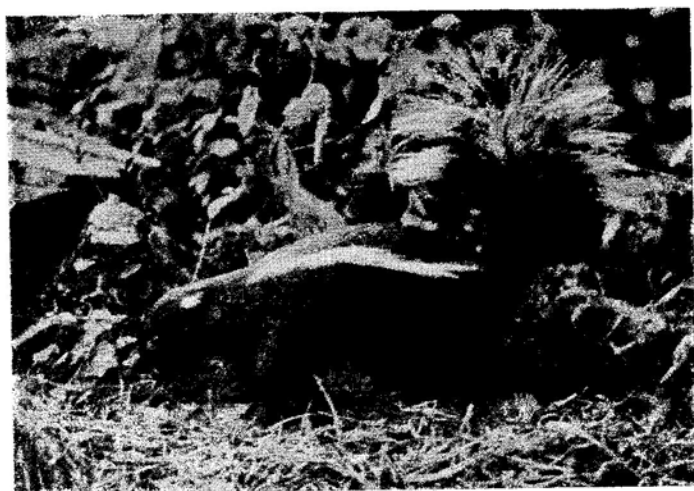
5.—*Chunga burmeisteri*, de la Provincia de Tucumán.



6.—Índice del poder coagulante del suero y de la coagulabilidad del plasma de diversas especies animales: I Perro; II *Pseudalopex gracilis*; III Caballo; IV *Tolypeutes mataco*; V *Didelphis azarae*.



1.—*Didelphis azarae*, ♀ adulta, de la Provincia de Tucumán.



2.—*Conepatus castaneus*, ♀ adulta, de la Sierra de Córdoba.



3.—*Cariama cristata*, del Chaco Salteño.



4.—*Herpetotheres cachinnans*, del Norte Argentino.

gl. rojo de
5%

+

++

+++

ho

2,0 cc

1,8 cc

1,6 cc

1,4 cc

1,2 cc

1,0 cc

0,8 cc

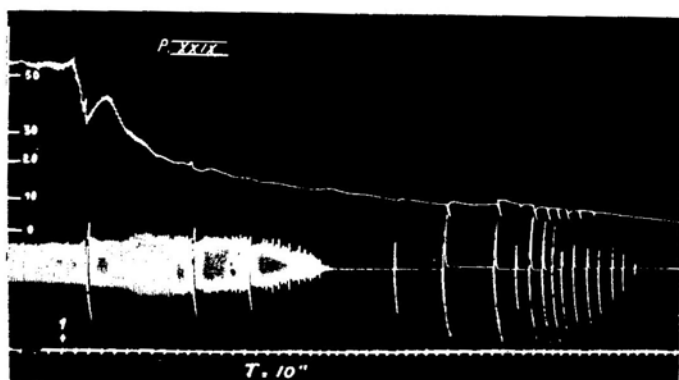
0,6 cc

0,4 cc

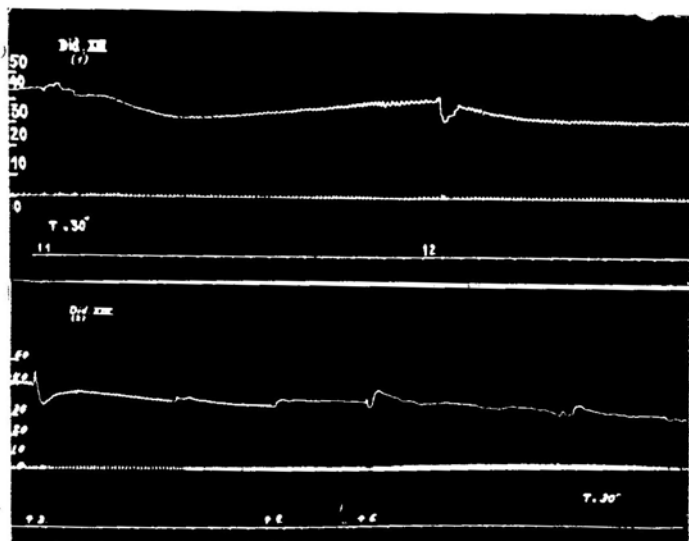
0,2 cc

Capacidad de formación de hemo-
lisinas venenosas en presencia de
veneno de *Pothrops neuviedii*
— Suero normal de perro + globulos de
perro
- - - Suero normal de *Didelphis azarae*
+ gl de perro
(0,1 cc suero + 0,1 mg veneno B
neuviedii + globulos)

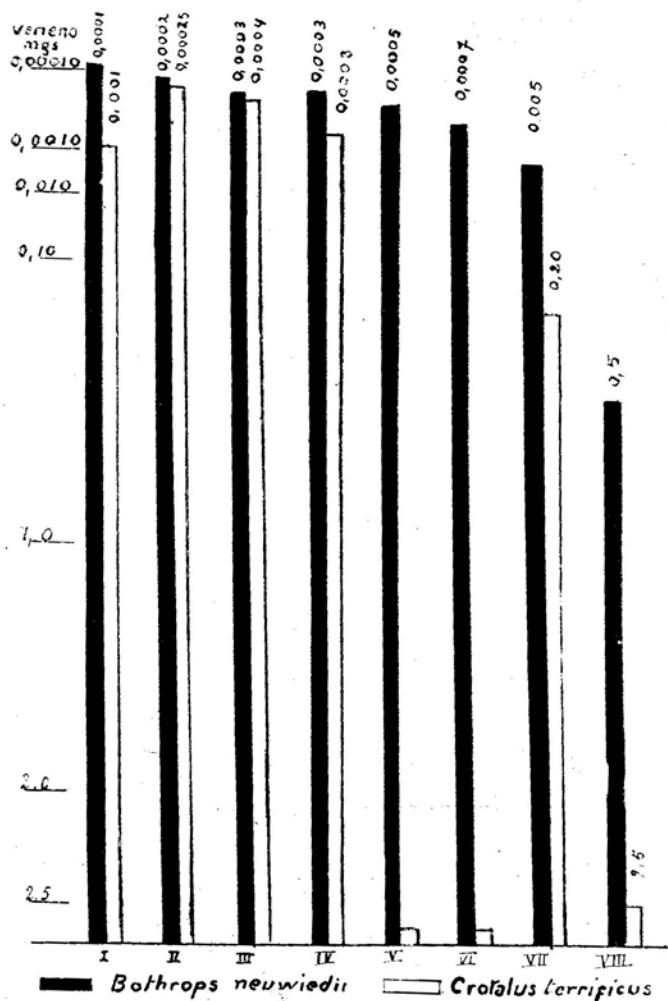
9.—Capacidad de formación de hemolisinas venenosas en presencia de veneno de *B. n. meridionalis*: Perro y *Didelphis azarae*.



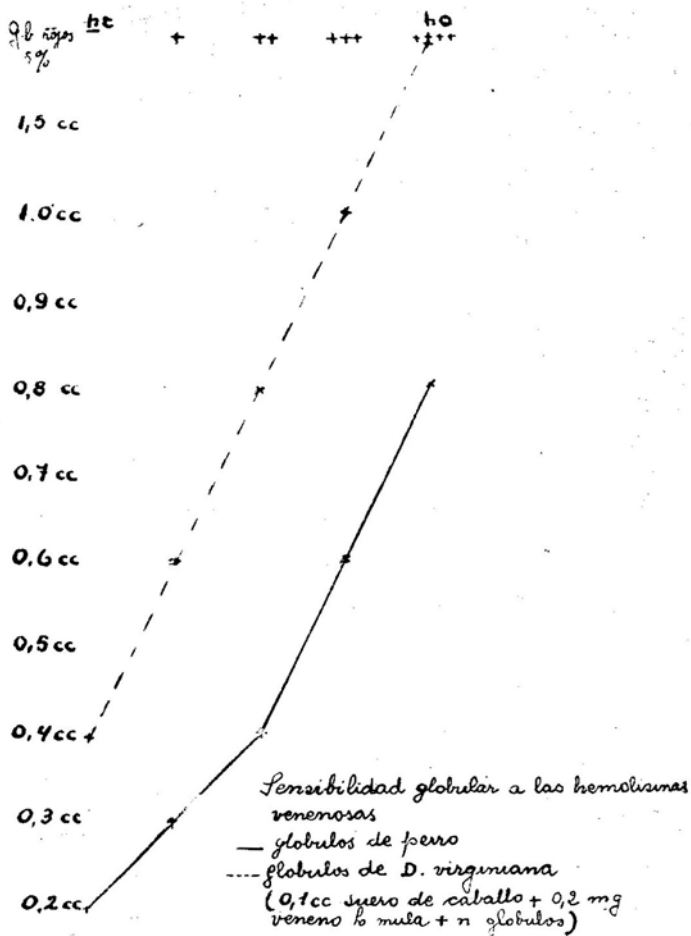
10.—Variaciones de la Presión Arterial y de la Respiración. Perro XXIX, ♂ 7,500 gr.: 1, inyección intravenosa de 0.5 mgr. *B. n. meridionalis*. Muerto en 9'30". Tiempo 10".



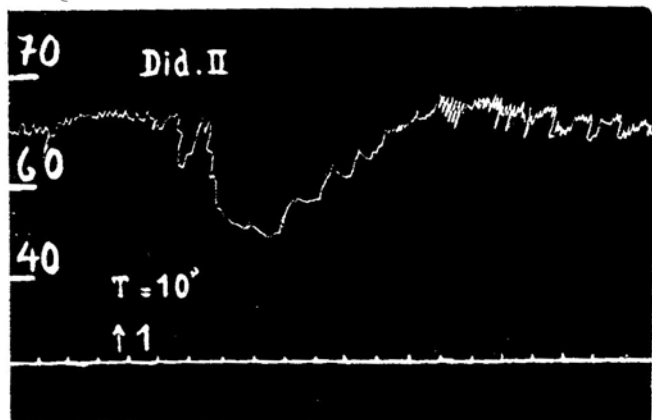
11.—Variaciones de la Presión Arterial y de la Respiración. D.XIII *Didelphis azarac* ♀ 1,300 gr.: 1, inyección intravenosa de 1 mgr. de *B. n. meridionalis*; 2, inyección intravenosa de 2 mgr. de *B. n. meridionalis*; 3, inyección intravenosa 5,0 mgr. de *B. n. meridionalis*; 4, inyección intravenosa 5,0 mgr. *C. d. terrificus*; 5, inyección intravenosa de 2,0 mgr. *Naja naja*. Tiempo 30".



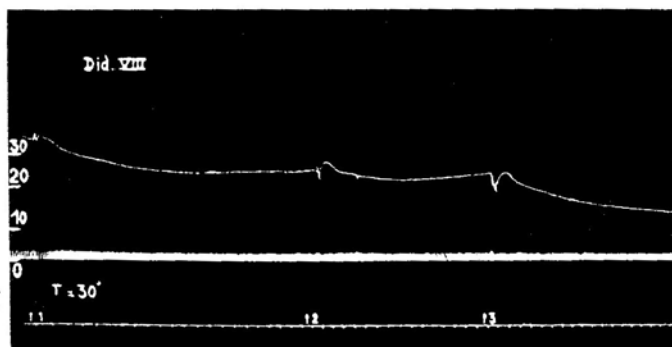
7.—Índice de coagulabilidad del plasma de diversas especies animales por los venenos de *C. d. terrificus* y *B. n. meridionalis*: I *Tolypeutes mataco*; II Perro; III *Pseudalopex gracilis*; IV Caballo; V *Chunga burmeisteri*; VI *Cariama cristata*; VII *Conepatus castaneus*; VIII *Didelphis azarae*.



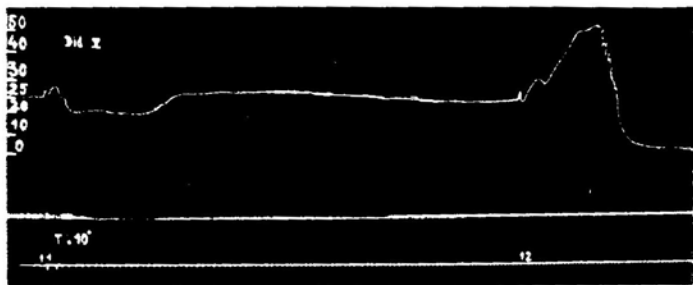
8.—Sensibilidad globular a las hemolisinas venenosas. Perro y *Didelphis virginiana*.



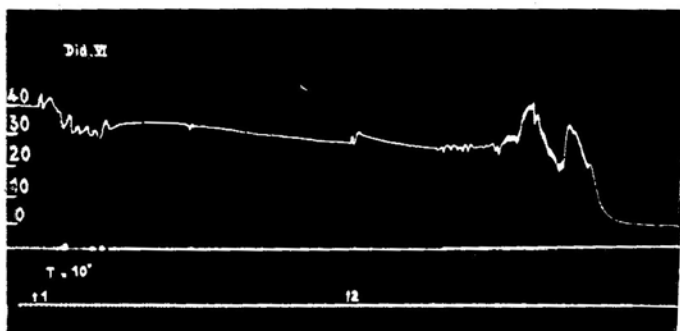
14.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. D. II *Didelphis azarac* 2050 gr. Inyección intravenosa de 10 mgr. de *C. d. terrificus*. Tiempo 10".



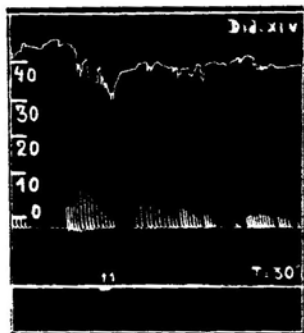
15.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. D.VIII ♂ 1,080 gr.; 1, inyección intravenosa 5,0 mgr. de *C. d. terrificus*; 2, inyección intravenosa 5,0 mgr. de *C. d. terrificus*; 3, inyección intravenosa 5,0 mgr de *B. n. meridionalis*. Tiempo 30".



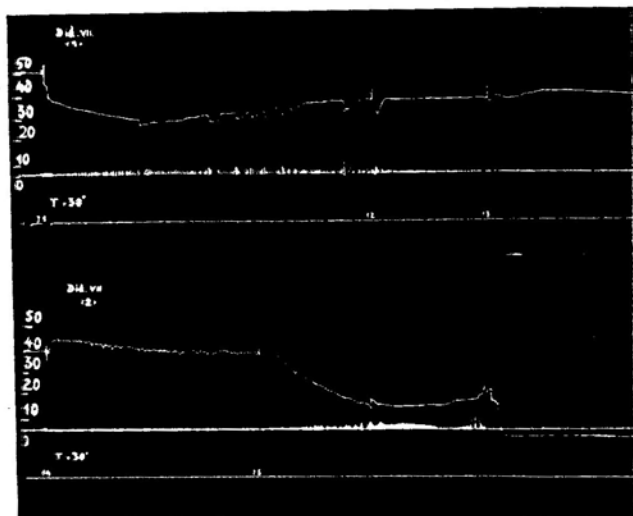
16.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. D.V. *Didelphis azarae* ♀ 1,130 gr.; 1, inyección intravenosa de 5,0 mgr. de *Naja naja*; 2, inyección intravenosa de 2,0 mgr. *N. naja*. Muerto en 26'. Tiempo 10".



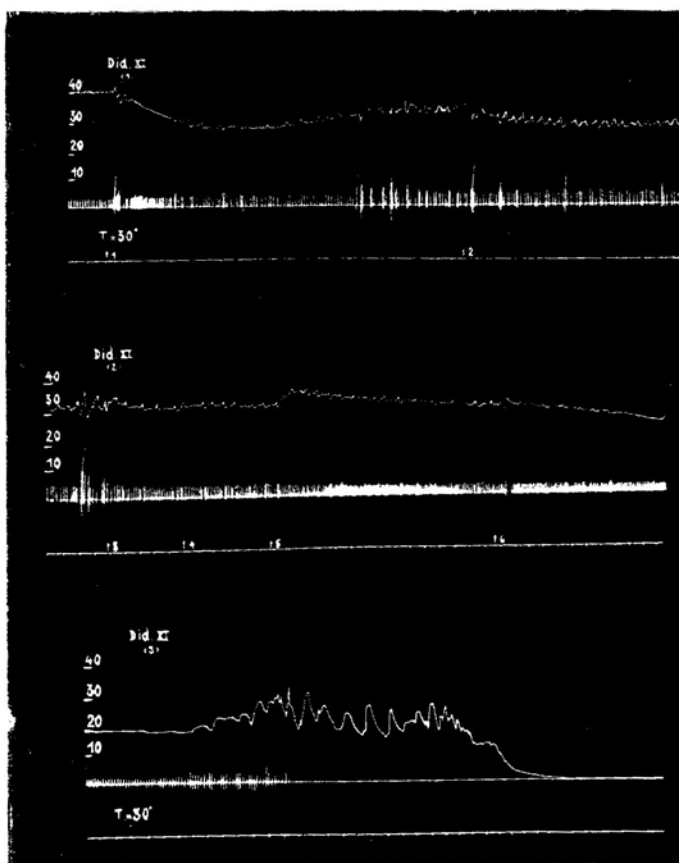
17.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. D. VI *Didelphis azarae* ♀, 1130 gr.: 1, inyección intravenosa 3,0 mgr. *N. naja*; 2, inyección intravenosa 1,0 mgr. *N. naja*. Muerto en 35'. Tiempo 10".



18.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. D.XIV. *Didelphis azarae* ♂ 1500 gr. Inyección intravenosa 5,0 cc. solución veneno de *Leptodactylus laticeps*. Tiempo 30".



12.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. E. VII. *Didelphis azarae* ♀, 900 gr. 1, inyección intravenosa 5.0 mgr. de *B. n. meridionalis*; 2, inyección intravenosa de 5.0 mgr. *B. n. meridionalis*; 3, inyección intravenosa: 5.0 mgr. de *C. d. terrificus*; 4, inyección intravenosa de 5.0 mgr. *Trimeresurus flavo-viridis*; 5, inyección intravenosa 5.0 mgr. *Naja naja*. Tiempo 30\".

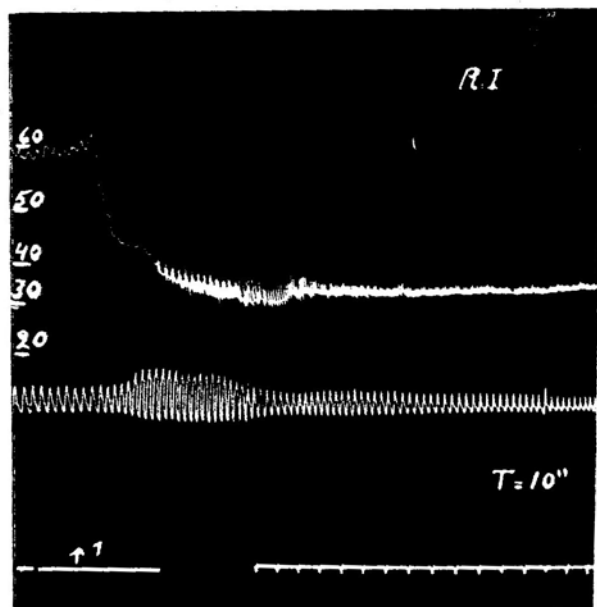


13.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. D.XI. *Didelphis azarac* ♂ 2,550 gr. 1, inyección intravenosa de 5,0 mgr. de *B. n. meridionalis*; 2, inyección intravenosa de 5,0 mgr. de *B. n. meridionalis*; 3, inyección intravenosa de 5,0 mgr. de *C. d. terrificus*; 4, inyección intravenosa 2,0 mgr. *Tr. flavo-viridis*; 5, inyección intravenosa de 5,0 mgr. de *Naja naja*; 6, inyección intravenosa 2,0 mgr. de *N. naja*. Tiempo 30'..

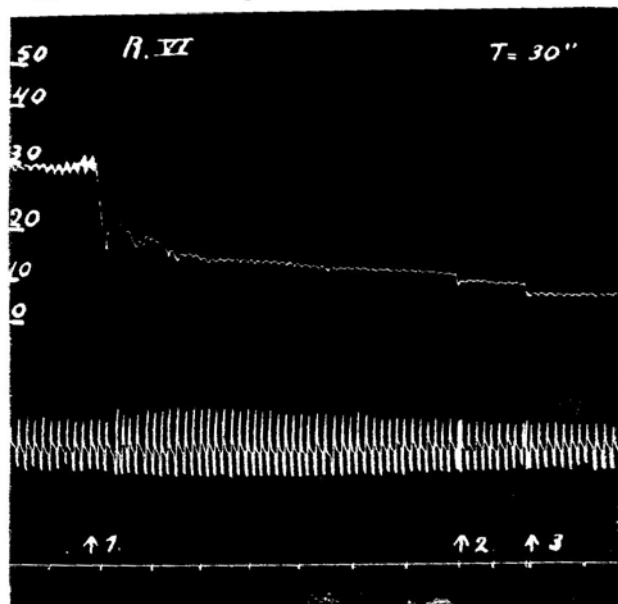
Lima _____

Editorial: Lumen S. A.

----- Per



19.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. R. I. *Cerdocyon thous* ♀ 3700 gr.; 1, inyección intravenosa de 1.0 mgr. *B. n. meridionalis*. Tiempo 10\".



20.—Variaciones de la Presión Arterial y de la respiración. R. VI. *Pseudalopex gracilis*. ♂ 3,000 gr.; 1, inyección intravenosa 1.0 mgr. *C. d. terrificus*; 2, inyección intravenosa 1.0 mgr. *C. d. terrificus*; 3, inyección intravenosa 2.0 mgr. *C. d. terrificus*. Tiempo 30\".

