

Dr. Samuel Barnsley Pessôa

Ex-auxiliar academico do Instituto de Hygiene

Ex-interno da Clinica Pediatrica da

Faculdade de Medicina

Assistente Pensionado do Instituto de Hygiene.



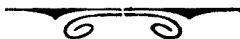
**"ESTUDO DOS COMPONENTES DO OLEO
ESSENCIAL DE CHENOPODIO.
SUA APPLICAÇÃO NA PROPHY-
LAXIA DA ANCYLOSTOMOSE."**

(Trabalho do Instituto de Hygiene)



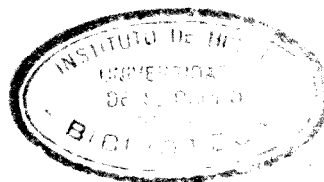
These Inaugural

Approvada com Grande Distincção



**Escolas Profissionaes
do Lyceu Coração de Jesus — S. Paulo**

— 1922 —



*no distincta calle,
e ansejo. Ben Jan
off. of. P. S. S.
S. Paulo 20-11*

Dr. Samuel Barnsley Pessôa

Ex-auxiliar academico do Instituto de Hygiene

Ex-interno da Clinica Pediatrica da

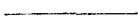
Faculdade de Medicina

Assistente Pensionado do Instituto de Hygiene.

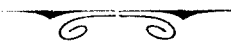


**“ESTUDO DOS COMPONENTES DO OLEO
ESSENCIAL DE CHENOPODIO.
SUA APPLICAÇÃO NA PROPHY-
LAXIA DA ANCYLOSTOMOSE.”**

(Trabalho do Instituto de Hygiene)



**These Inaugural
Aprovada com Grande Distincção**



Escolas Profissionaes
do Lyceu Coração de Jesus — S. Paulo

Faculdade de Medicina e Cirurgia de S. Paulo

Director : Prof. Dr. Edmundo Xavier.

Vice-Director : Prof. Dr. João Alves de Lima.

Secretario : Dr. Domingos Goulart de Faria (interino)

LENTES CATHEDRATICOS:

Profes. Drs.

Edmundo Xavier	Physica Medica
Guilherme Bastos Millward	Clinica Medica
Celestino Bourroul	Historia Natural
Alfonso Bovero	Anatomia Descriptiva
Cantidio de Moura Campos	Physiologia
Ascendino Angelo dos Reis	Pharmacologia e Materia Medica
Alfonso Bovero	Histologia
Adolpho Lindenberg	Clinica Dermatologica e Syphiligraphica
Henrique Lindenberg	Clinica Oto-Rhine-Laryngologica
Alexandrino Pedroso	Microbiologia
Sergio de Paiva Meira Filho	Anatomia Medico Cirurgica, Operações e appa- relhos
Oscar Klotz	Anatomia e Histologia Pathologica
Domingos Rubião Meira	Clinica Medica (1.ª Cadeira)
Antonio Candido de Camargo	Clinica Cirurgica (1.ª Cadeira)
João Paulo da Cruz Britto	Clinica Ophthalmologica
Alexandre Donatti	Pathologia Geral
Vago	Therapeutica e arte de formular
Ovidio Pires de Campos	Clinica Medica (2.ª Cadeira)
João Alves de Lima	Clinica Cirurgica (2.ª Cadeira)
Sylvio Azambuja de Oliva Maya	Clinica Obstetrica
Delphino Pinheiro de Ulióa Cintra	Clinica Pediatrica
Wilson Smillie	Hygiene
Oscar Freire de Carvalho	Medicina Legal
Nicolau de Moraes Barros	Clinica Gynecologica
Francisco Franco da Rocha	Clinica Psychiatrica e Molestias nervosas.

LENTES SUBSTITUTOS:

Drs.

Raphael Penteadó de Barros	1.ª Secção
João de Aguiar Pupo	2.ª Secção
Benedicto Montenegro	3.ª Secção
Carmo Lordy	4.ª Secção
Geraldo de Paula Souza	5.ª Secção
Antonio de Paula Santos	6.ª Secção
Oliveira Fausto	7.ª Secção
Antonio de Almeida Prado	8.ª Secção

NOTA: — A Faculdade não approva nem reprova as opiniões emitidas nas theses que lhe são apresentadas.



Dedico este trabalho

A meus paes



ao
Dr. Wilson G. Smillie

Professor de Hygiene da Faculdade de
Medicina de S. Paulo.

Homenagem de
Sincera estima e Admiração

"...it seems that there are on the market a number of varieties of this drug (oil of chenopodium) which differ greatly in their strength and toxicity.

A better pharmacopoeial standard seems highly desirable.

(The Rockefeller Foundation - Annual Report 1919)

O Instituto de Hygiene da Faculdade de Medicina e Cirurgia de Sao Paulo, nestes dois ultimos annos, tem se dedicado ao estudo de problemas referentes á technica do diagnostico e tratamento da ancylostomose. Este esforço tem sido coroado com o apparecimento de trabalhos interessantissimos que elucidam alguns pontos, antes obscuros, do grande mal intertropical.

Frequentando, desde o 5.^o anno, os laboratorios do Instituto, sugeriu-nos o professor Darling, então seu Director, apresentar como trabalho inaugural o estudo das propriedades dos diversos componentes do oleo essencial de chenopodio e possibilidades de applicação no serviço de hygiene.

Hoje é grande a nossa satisfação, principalmente porque cremos não ter desmerecido a confiança em nós depositada pelo illustre mestre.

Aqui deixamos os agradecimentos a todos que nos auxiliaram nesta these. Mais particularmente somos gratos aos Drs. Salles Gomes Junior, pela numerosa bibliographia sobre o assumpto que nos forneceu e Mario Pernambuco, illustrado director Estadual da Commissão Rockefeller, por nos ter franqueado diversos postos de prophylaxia contra a ancylostomose na zona dos quaes a maioria das experiencias foram realizadas.

Immensa é a gratidão para com o nosso mestre e amigo, o Prof. W. Smillie pois acompanhou e dirigiu todas as experiencias que fizemos, e conosco passou muitos mezes de suas ferias, auxiliando os trabalhos no interior do Estado.



I PARTE





INTRODUÇÃO

Em consequencia de campanhas ininterruptas, tenazes e systematicas, realisadas por Miguel Pereira, Chagas, Penna e outros, mostrando o estado precario da nossa gente do interior, resolveram os governantes seguir o bom caminho do saneamento rural do Brasil.

A ancylostomose, de todas molestias ruraes, é aquella que se dissemina em maior extensão do paiz e faz maior numero de victimas na população camponeza. Por isso os serviços de saneamento do interior brasileiro, iniciaram-se com razão, pelo combate a essa verminose.

Em uma campanha intensiva contra este mal, é o tratamento de todos os individuos infestados, isto é, de todos aquelles que tem ovos de ancylostomos nas fézes, a primeira medida de que se lança mão. Medida de grande alcance é esta, pois concorre para salvar a vida dos mais gravemente infestados e para diminuir o gráo de polluição do solo. O tratamento bem feito, na verdade, vem coroar de exito feliz a execução de outras medidas de character mais geral, como as construcções de fossas, o uso de calçado; porquanto é elle que, ganhando a confiança do povo, o torna apto e prompto para seguir os conselhos de hygiene que lhe são dados.

A escolha do medicamento a ser empregado em tal caso, é pois, o ponto mais importante em serviços de natureza do deste. Ha, além disso, grande conveniencia no uso do menor numero possivel de drogas, devendo a escolha recahir naquella que reuna em si certo numero de requisitos, taes como: bastante efficacia, pouca toxidez na dose optima de sua efficacia, facilidade na administração e custo barato.

No caso particular de uma campanha contra a ancylostomose no Brasil, cuja população alberga, além do ancylostomo, grande numero de outros vermes, principalmente ascaris, é muito conveniente, para maior beneficio da zona tratada, que o ancylostomicida seja tambem, no minimo, um ascaricida. A expulsão dos ascaris traz para o remedio a confiança do povo, que dahi por diante o tomará sem relutancia e seguirá com boa vontade as indicações medicas.

De todas as drogas que appareceram no mercado, rotuladas como ancylostomicidas, só tres permaneceram na arena: o thymol, o naphthol beta e o oleo essencial de chenopodio. Ao higienista ficava a tarefa de escolher uma dentre ellas ou, então, de empregar um tratamento mixto.

Em uma campanha pelo "methodo intensivo", cujo fim é, por assim dizer, tirar o grosso da ferrugem, é claro que não seria conveniente o uso de tratamentos mixtos; o que aliás não se daria num dispensario, onde não existem os mesmos inconvenientes no uso de muitos medicamentos, pois são estes administrados sob a fiscalizaçào directa do medico.

O ideal seria encontrar um vermifugo que, á virtude de maior efficiencia, reunisse a vantagem de ser innocuo para a saude e para a vida das pessoas tratadas. Infelizmente ainda não se conseguiu este ideal. Actualmente os termos da questão se reduzem em escolher um dos tres medicamentos citados, elegendo o de maior effiçacia e menos toxico.

Persistiam controversias a respeito da primasia, até á pouco tempo, entre o thymol, o betanaphthol e o oleo essencial de chenopodio. Mas, depois dos estudos magistraes de illustrados higienistas, á frente dos quaes se collocam os nomes de Darling e Smillie, desapareceram motivos para essa duvida e a excellencia do oleo essencial de chenopodio sobre os outros dois firmou-se á luz meridiana.

Não temos a intenção de fazer aqui estudo comparativo entre esses tres vermifugos: seria perder de vista o nosso fim, além de ser bastante numerosa a literatura sobre o assumpto. Não podemos, porém, deixar de assinalar alguns pontos que se nos affiguram inconvenientes áquelles dois vermifugos.

Assim, uma das maiores desvantagens do betanaphthol, nos serviços de uma campanha sanitária é a sua nulla efficacia no tratamento de outras verminoses. Demais, a sua efficiencia contra os ancylostomos não é muito alta; bastante efficaz na dóse de 18 grammas, mas nessa dóse, é tão toxico “que não póde ser recommendado para uso geral no tratamento da ancylostomose” (Smillie). Os principaes accidentes toxicos que produz, concernem á hemolyse e aos phenomenos que a esta destruição dos globulos vermelhos do sangue se seguem: anemia aguda, dilatação do baço e do figado, hemoglobinuria.

Quanto ao thymol é um ancylostomicida de comprovada efficacia, mas de grandes inconvenientes para ser usado em campanhas prophylacticas. “E’ regularmente toxico, produzindo frequentes accidentes, de gravidade variavel e sempre alarmante em geral.” (Nuno Guerner). Tem tambem o inconveniente de não ser polyvermicida. A depressão de forças é infallivel, levando os doentes constantemente á prostração profunda, ás vezes aggravada por vomitos e vertigens. Finalmente a sua efficacia em expulsar os ancylostomos é comparativamente menor que a do chenopodio.

No principio da applicação do oleo de chenopodio systematicamente, surgiram accidentes de intoxicação e até muitos casos fataes. Estudando-os cuidadosamente vemos que, posto á margem um pequeno numero devido á idiosyncrasia do organismo para a substancia, os casos de intoxicação, em sua maioria, provieram da alta dose em que foi administrado o vermifugo. Desse facto resulta que não importa sómente a escolha do medicamento mais efficaz; mas no escolhel-o cabe analysar problemas outros de importancia capital, como por exemplo a dosagem, a dieta e o purgativo preferivel.

O chenopodio era um remedio caseiro contra os vermes. Seu estudo scientifico, sob o ponto de vista physico-chimico, foi feito na Allemanha por Bruening, na America do Norte por Salant e seus collaboradores, Nelson, Hall, e outros; o estudo das possibilidades de suas applicações practicas nas campanhas contra a ancylostomose foi feito por

Schuffner e Verwoort, por Darling, Barber e Hacker em Malaca. Em 1918 outros problemas que lhe dizem respeito foram resolvidos por Darling e Smillie, no Brasil. Em 1917 a "Comissão Rockefeller" nota os seus efeitos prejudiciaes ao organismo nos seguintes termos: — "Alarming symptoms, and sometimes deaths, have been reported in Southern States, the West Indie Colonies, Panamá, Ceylon, and Egypt following the administration of the drug in accordance with accepted methods of treatment, and in nearly every instance in less than the maximum dose. Extreme caution in the use of the drug is therefore indicated, until its proper method of preparation has been learned, its chemical composition and stability standardized and a safe dosage and method of administration established."

Resolvidos esses problemas em sua maioria, tornou-se a administração do oleo essencial de chenopodio facil, ficando reduzidos ao minimo os accidentes por elle determinados. A dose maxima, que era de 3 c. c. foi reduzida a 1,5 c. c.; supprimiram-se a dieta na vespera e o purgativo anterior; e o intervallo entre uma e outra medicação foi fixado em prazo de, pelo menos, 10 dias. Demonstraram Darling e Smillie que com dois destes tratamentos os doentes expellem cerca de 97% dos ancylostomos albergados; donde se admittir a necessidade de fazer duas medicações destas para os habitantes da cidade e tres para os da zona rural, afim de se obter a cura clinica.

Em vista dos bons resultados obtidos por estes autores com methodo de tratamento pelo oleo essencial de chenopodio, da simplicidade na sua execução e o do minimo de accidentes, que elle produz, resolveu a Comissão Rockefeller, que, como se sabe, mantem no Brasil numerosos postos de prophylaxia contra a ancylostomose, adoptal-o como medicamento padrão no tratamento da ancylostomose no Brasil. Mais tarde tambem o Governo Federal, pelos mesmos motivos, tomou a resolução de adoptar o chenopodio nos seus postos de prophyllaxia, no que foi seguido pelos departamentos de Saude Publica na maioria dos Estados da Federação, de modo que, hoje, se administra o oleo essencial

de chenopodio do Norte ao Sul do Brasil. Só a “Commissão Rockefeller” fez no Brasil cerca de 920.000 tratamentos pelo chenopodio, praticando actualmente a média de 40.000 tratamentos por mez. Mantem a “Commissão” postos em 11 Estados brasileiros e em todos elles só se administra o chenopodio. A Directoria do Saneamento Rural mantem postos no Districto Federal, no Pará, na Parahyba, no Rio Grande do Norte, no Paraná, em Minas, em Santa Catharina e em muitos outros, e nelles o medicamento usado ainda é o oleo essencial de chenopodio.

Do exposto resalta claramente a immensa importancia do conhecimento minucioso de medicamento tão largamente empregado, tanto mais quanto desse conhecimento poderão surgir novos horizontes, ao tratamento da ancylostomose, de modo a simplificar ainda mais a administração do vermifugo, conservando activa a sua propriedade anthelmintica.

Apesar da maioria dos autores achar o oleo essencial de chenopodio um dos melhores vermifugos para campanhas sanitarias, a verdade é que elle ainda não satisfaz, em muitos pontos, todas as condições de um bom vermifugo.

Em primeiro logar, o oleo de chenopodio, como a maioria dos oleos volateis é mistura de constituintes; por essa razão os pesquisadores, que procuraram determinar a sua toxidez chegaram a resultados contradictorios. Essa falta de uniformidade na composição do oleo de chenopodio, além de diffcultar a sua dosagem, é, segundo Caius e Mhaskar, “responsavel pelo conflicto de opiniões sobre o seu valor na ancylostomose.” Pratica e theoreticamente, cada amostra de chenopodio differe da outra quanto á toxidez, e ao valor anthelmintico. Ainda mais, o tempo altera as características phisicas de um mesmo oleo, estando essas modificações phisicas ligadas ás alterações dos seus componentes, principalmente de um d’elles, o ascaridol. Caius e Mhaskar mostraram que, depois de um periodo de 8 mezes, uma amostra de chenopodio cujas características phisicas variaram, tambem a percentagem do ascaridol cahira de 70 a 66 %.

Muitas vezes constituem certos oleos de chenopodio de toxidez elevada um desastre em campanhas de prophylaxia. Conhecemos alguns casos fataes que se deram em S. Bernardo (E. S. Paulo) depois que se começou a empregar um oleo de chenopodio nas mesmas dosagens até ali usadas, chegando o saneador daquela localidade a escrever que "casos fataes tem sido observados com o uso do chenopodio americano". E tanto o impressionaram esses factos, que mais adiante pede que se não utilise o chenopodio em campanha sanitaria "sem que primeiro seja estabelecida, de modo definitivo e certo, a sua dosagem optima e procedencia, não obstante ser em sua opinião, o vermicida mais completo, commodo e efficaz, etc."

Caius e Mhaskar, durante as suas experiencias, usaram 5 amostras differentes do oleo, com variações nos resultados. Estas variações diziam respeito ao numero de vermes expulsos, ao numero de curas e aos symptomas toxicos apresentados pelos pacientes.

Para que o chenopodio podesse se approximar do vermifugo ideal seria necessario obter uniformidade na sua composição; só assim teriamos dóse uniforme, toxidez variavel de accordo com a dose empregada e poder vermicida calculavel mais ou menos exactamente.

Foi levado por essas considerações que resolvemos nos entregar ao presente trabalho para assumpto de nossa these. Sendo o oleo de chenopodio uma mistura de constituintes, experimentaríamos "per se" cada um de seus componentes, e assim poderíamos determinar qual ou quaes delles os mais activos e verificar por conta de qual correriam os phenomenos toxicos observados.

No nosso "desideratum" fomos auxiliados pelos Laboratorios "Wellcome", que nos forneceram os diversos componentes do oleo de chenopodio até então conhecidos. Aqui lhes deixamos nossos vivos agradecimentos pelo seu auxilio, que nos veio facilitar grandemente a tarefa.

O que fizemos foi estudar, em animaes e em homens o effeito dos diversos componentes do oleo de chenopodio,.

E o resultado desse estudo é o presente trabalho.



Resumo Historico

O oleo essencial de chenopodio é o producto obtido pela distillação da herva de S. Maria, nome vulgar em quasi todo o Brasil do “Chenopodium Ambrosioides” Lin. e “Chenopodium anthelminticum” Lin. A maioria dos autores americanos confunde estas duas especies do genero “Chenopodium”; realmente sua distincção em duas especies differentes ainda não foi claramente exposta.

O “american wormseed oil” official na pharmacopéa americana como “oleum chenopodii”, foi durante muito tempo considerado, naquelle paiz, como remedio caseiro para vermes, particularmente para ascaris. Esta propriedade anthelmintica é attribuida pelo povo e pela pharmacopéa popular brasileira ás summidades floridas, flores e folhas da herva de S. Maria. Todas as partes do chenopodio e por excellencia—folhas, sementes e fructos, sob a fórma de oleos, essencias infusões, pós, etc. tiveram vastas indicações therapeuticas, variando a sua maneira de emprego e sendo apontado como possuidor de propriedades carminativas, diaphoreticas, emmenagogas e outras.

Só levaremos em conta a sua melhor propriedade que é a vermicida.

O oleo essencial de chenopodio começou a ser divulgado em meados de 1807, graças aos estudos de Fleisch. O seu uso imprudente deu logar, não poucas vezes, a envenenamentos e morte. O primeiro caso de morte que se encontra na literatura foi o de uma criança de 6 annos de idade, em 1851. Em 1875 morreram tres crianças de 6, 3 e 1 annos; registraram-se ainda casos de morte em 1880, 1897,

1901, 1903, todos devidos á alta dóse em que foi administrado o remedio.

Baumler, de Friburgo, tendo conhecimento de que no Brasil se empregava o oleo de chenopodio como anthelmintico, introduziu-o na Europa, tratando em 1881 alguns casos de ancylostomose. O tratamento não deu, porém, resultados.

No Brasil, datava de muitos annos o emprego do chenopodio, principalmente sob a forma de infuso de folhas.

Em 1905 Calmette e Breton noticiaram a inefficacia do chenopodio no tratamento da ancylostomose.

Em 1906 Bruening publicou os resultados obtidos com esta substancia em varios animaes; fez um estudo, quasi completo, da toxidez do oleo em cães, gallinhas, peixes, rãs, e mostrou ser o vermifugo ideal para ascaris.

Bruening recommendou o seu uso no tratamento da ancylostomose a Schuffner e Verwoort, que em 1913, publicaram os resultados obtidos em Senembah Maatrchappig Hospital, Deli, Sumatra, mostrando a superioridade anthelmintica do oleo sobre o thymol, betanaphthol e o oleo de eucalyptus. Shuffner e Verwoort davam dois centimetros cubicos, seguidos do purgativo de oleo de ricino (17 grammas) e chloroformio (3 grammas) e acharam que 91% dos vermes eram expulsos.

O primeiro trabalho brasileiro sobre o assumpto, de que temos noticia, é o do Dr. J. T. da Costa Franco, publicado em 1912 sob o titulo de **“Contribuição ao estudo chimico pharmacologico e physio-therapeutico experimental da herva de Santa Maria dos brasileiros (Chenopodium Ambrosioides de Linneu).”** E' mais um estudo physio-chimico, nada nos ensinando sobre o valor anthelmintico da substancia. Este valor foi-nos mais tarde demonstrado em 1913 na excellente these de Godoy Tavares, que fez o estudo clinico da herva de Santa Maria, affirmando que a essencia da herva de Santa Maria não é toxica em absoluto e recommendando a dóse maxima para adultos de 4 a 5 grammas.

Desde 1913, depois dos trabalhos de Shuffner e Verwoort, começou-se a empregar o chenopodio intensivamente. Come-

çaram então a apparecer as maiores discordancias a respeito do seu valor e do seu gráo de toxidez. Assim, Macallau, do Cairo, declarou que o valor do chenopodio dado em dóse de 45 minimos, no assucar e seguido de oleo de ricino e chloroformio não era efficaz. Dahi Sandwith suggerir que talvez o oleo empregado no Egypto não fosse da mesma qualidade que o empregado nos Estados Malaios.

Durante o anno de 1914 o chenopodio tornou-se o remedio favorito contra a ancylostomose, sendo recommendado por Guthrie, Levy, Bishop e Brosius.

Em 1915 fizeram-se numerosas experiencias em Guatemala, sendo tratadas mais de 9.000 pessoas e obtendo-se resultados favoraveis. Entre estas 9.000 pessoas, sómente se observaram dois casos com symptomas de intoxicação mais graves, sob a fórma de surdez, que durou em um caso duas semanas e em outro quatro. A dóse maxima para adultos foi de 30 gottas, administradas de uma só vez ou divididas em duas porções e dadas com intervallo de 2 horas.

Em Nicaragua e Costa-Rica obtiveram-se tambem excellentes resultados com o uso do chenopodio, não se observando nenhum caso fatal.

Na Trindade os resultados foram máos, o que levou Washburn a concluir que nada justificava o adoptar-se este remedio em lugar do thymol.

Durante o anno de 1916 as opiniões dividiram-se quanto ao valor do oleo de chenopodio.

Em 1917 os autores começaram a experimentar misturas contendo oleo de chenopodio e oleo de eucalyptus, porém os resultados não foram satisfactorios.

Nesse anno (1917) a Commissão Rockefeller deu o grito de alarme, chamando a atenção para os perigos que existem na administração do chenopodio, pedindo extrema precaução no uso do medicamento e divulgando casos de accidentes sérios e mortes em diversos paizes, taes como Ceylão, Panamá e Brasil, depois da ingestão do chenopodio, e concluiu que a dose maxima de chenopodio que deve ser administrada é a de 1,5 c. c. dividida em tres porções de 0,5 c. c.

Em 1918 Darling, Barber e Hacker publicam um estudo exhaustivo sobre a administração do óleo de chenopódio no tratamento da ancylostomose, fixando-lhe a dose máxima de 3 c. c. e recommendando metade da dose ou 1,5 c. c. como o tratamento habitual em campanhas prophylacticas. Neste trabalho emittem a hypothese de ser o óleo de ricino, o purgativo, responsavel pelos numerosos casos de symptomas toxicos e surdez. Publicam dois casos de accidentes fataes devidos á ingestão da droga.

Ainda em 1918 appareceram os trabalhos de Meubile e de Wrench, nos quaes são estudados methodos novos na administração do óleo.

Em 1918 houve no Brasil reacção contra o uso do chenopódio dirigida por Gonzaga e Lima, de São Paulo, que citaram dois casos de accidentes fataes, occorridos em creanças de 6 e 7 annos, sendo a dose a de 2 gottas por anno de idade e assignalaram a impotencia do medico nestes casos graves para debellar omal, achando que os estimulantes devem ser evitados. Em 1920 appareceram outros trabalhos brasileiros sobre o assumpto, taes como os de H. de Souza Araujo no Paraná, Nuno Guerner em S. Paulo e Paulino de Mello no Rio e outros, estando a maioria concorde em ser o óleo de chenopódio um dos melhores vermícidas, porém de uso perigoso, principalmente em creanças, devido á falta de uniformidade na sua composição e toxidez.

Em São Paulo começou a ser cultivada a herva de Santa Maria no Instituto de Butantan, sendo o estudo physio-chimico da essencia obtida publicado, nesse mesmo anno, por Adelino Leal.

Em Fevereiro de 1921 appareceu, publicado pela commissão Rockefeller, o estudo que Darling e Smillie fizeram sobre a ancylostomose no Brasil. Neste trabalho os autores fixaram definitivamente o methodo de administração e posologia do óleo de chenopódio, após estudo minucioso e comparativo com outras drogas. Depois de compararem cinco modos diversos na administração do remedio concluíram que o melhor, em campanhas sanitarias, é dar 1,5 c. c. em duas doses de 0,75 c. c. com intervallo de 2 horas, e duas

horas depois da ultima d6se administrar-se um purgativo salino. N6o 6 necess6rio dieta nem purgativo na vespera. Segundo estes autores dois tratamentos bastam para que o doente expulsa 97% dos ancylostomos. E' o tratamento padr6o adoptado pela Comiss6o Rockefeller e que segundo ella, tem dado 6timos resultados.

Durante o anno de 1920 e 1921 Caius e Mhaskar publicaram varios estudos sobre o oleo de chenopodio, dos mais completos de que temos noticia. Nos seus trabalhos os autores confirmam os resultados obtidos por Darling e Smillie.

* * *

A composi6o chimica da essencia de chenopodio tem sido pouco investigada. O primeiro exame chimico do oleo de chenopodio que se encontra na literatura foi feito por Garigues, em 1854; mencionou a presen6a, na essencia de chenopodio de dois constituintes: um, considerado como hydrocarbureto, fervendo a 176° e outro, um liquido de formula $C_{10}H_{16}O$

Kremer (1907), procurando distillar o oleo 6 press6o atmospherica, verificou uma explos6o quando aquecido 6 temperatura da ebulli6o 6 descobriu no oleo, a presen6a de um alcool n6o saturado.

Em 1908 Schimmel e Cia. publicaram extenso estudo sobre a essencia de chenopodio. Pela distilla6o fraccionada, com press6o reduzida, separaram uma substancia liquida, por elles denominada "**Ascaridol**", que constitue a maior por6o da essencia, e 6 qual esta deve as suas propriedades medicinaes e chimicas. Deu o "**Ascaridol**" pela analyse elemental a formula $C_{10}H_{16}O_2$. Descreveram-no como um liquido amarello, de cheiro especial e desagradavel, lembrando o da camphora. Experiencias feitas, afim de determinar a natureza dessa substancia, n6o deram resultados, por n6o apresentar reac6es que lhe justificassem a classifica6o entre alcooes, aldehydos, acetonas, phenoes, etc. O "**Ascaridol**" reage violentamente, quando concentrado, com acido formico ou com acido sulfurico, dando cymeno; limalhas de zinco e acido acetico produzem

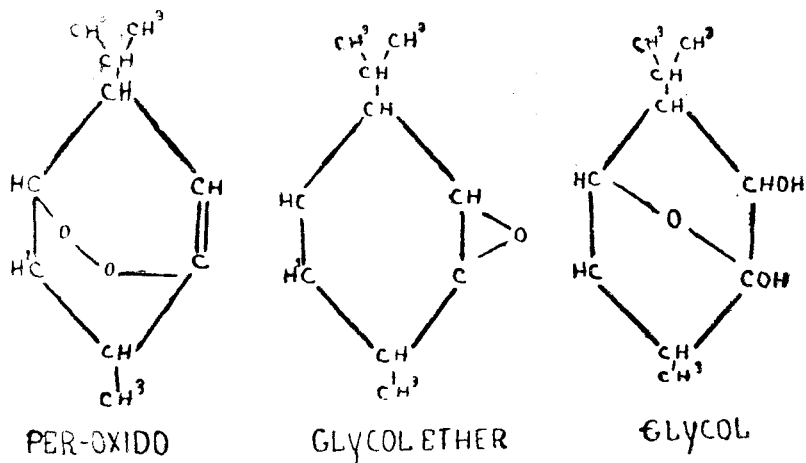
além de cymeno uma ketona, provavelmente carvenona. A primeira fracção que distilla do óleo, cerca de 22%, acharam ser constituída, quasi exclusivamente, por cymeno e pequena quantidade de terpena, provavelmente sylvestrena. Identificaram a camphora na fracção que distilla logo após o “**Ascaridol**”.

Em 1910, Nelson, examinando varias amostras de óleo de chenopodio, chegou ás mesmas conclusões de Schimmel e Gia. Separou o “**Ascaridol**” pelo fraccionamento a 8 m. m. Purificado este, verificou ter um ponto de ebullicão constante e provavelmente constituir 70% da amostra. Mostrou a grande instabilidade chimica do “**Ascaridol**” com as seguintes experiencias: 1) aquecido á temperatura proxima de seu ponto de ebullicão decompõem-se com violenta explosão; 2) aquecido sobre mercurio, á temperatura de 260° C. inflamma-se rapidamente; 3) tratado por uma solução saturada de bisulfito de sodio, produz-se violenta explosão, desprendendo-se um gaz, de reacção acida, produzindo elevação de temperatura e transformando-se numa substancia preta de aspecto resinoso; 4) tratado pelos acidos sulfurico, acetico, chlorydrico ou phosphorico, decompõe-se rapidamente com explosão; 5) aquecido brandamente com chloreto de zinco decompõe-se tambem de um modo explosivo; 6) agitado com sulfato ferroso produz elevação notavel de temperatura, desprendendo-se um gaz combustivel e precipitando-se o sulfato basico de ferro, enquanto o liquido, a principio incolor, se torna escuro e viscoso. Esta reacção indica ser o “**Ascaridol**” um oxydo não saturado, instavel.

Nelson, tratando o Ascaridol pelo sulfato ferroso, com o cuidado de evitar a elevação de temperatura pela refrigeração, e, depois tratando o producto da reacção pelo ether, chloreto de benzoyla e sóda (methodo de Schotten-Baumann), separou um composto crystallino, que foi isolado por filtração e secco sobre uma placa porosa. O alcool puro foi pela saponificação obtido sob a fórma de um liquido viscoso, incolor, inodoro, crystallizado. Este alcool contem duas hydroxylas, e é designado como sendo o “Ascaridol-glycol”.

Considera Nelson o producto da reacção de Schotten-Baumann como sendo um mono benzoato. A segunda hydroxylo do “Ascaridol-glycol” foi demonstrado por Nelson com

a preparação do bi-benzoato que é obtido aquecendo o glycol com anhydrido benzoico a 150° C. durante duas horas. Quando aquecido a 150° C. o Ascaridol se transforma dando um isomero, o “anhydrido do glycol”. Portanto, o Ascaridol modifica-se no seu arranjo molecular, formando o anhydrido do glycol no qual provavelmente dois atomos de oxygenio se combinam com um atomo de carbono, como num oxydo. Oxydado por uma solução de permanganato de potassio em meio acido, o Ascaridol-glycol dá origem a um acido dibasico, o acido ascaridico. A sua fórmula pela analyse é **C¹⁰H¹⁶O⁵**. Nelson dá as seguintes fórmulas estruturales, que procuram mostrar a relação com a hydroxythymoquinona, e indicariam o curso das reacções desenvolvidas:



Em 1915 e 1916 Salant e Nelson e Salant e Livingston estudaram pormenorisadamente o effeito toxico do chenopodio, repetindo as experiencias de Bruening e mostrando que o chenopodio produz grande quéda da pressão arterial, diminue os movimentos peristalticos do intestino, talvez, por paralysisa do vago. A injecção endovenosa do oleo de chenopodio tambem produz diminuição do numero dos movimentos respiratorios, assim como da amplitude da respiração thoracica; a respiração abdominal é pouco affectada com doses

pequenas, produzindo, porém, doses maiores, apnéa. Para explicar esta depressão respiratoria Salant e Nelson lembraram que, sendo o chenopodio constituido em quasi sua totalidade pelo "Ascaridol", que é um per-oxydo, a depressão respiratoria poderia ser attribuida ao oxygenio desprendido pelo "Ascaridol".

Em 1917 Ziegler, confirmou o estudo de Nelson.

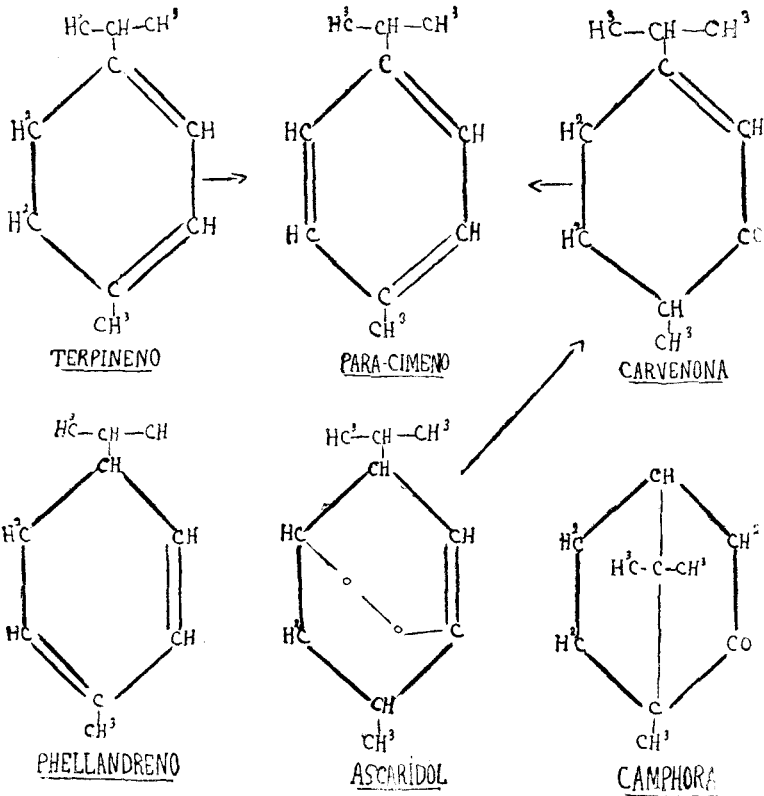
Em 1918 Hall e Hamilton mostraram que na distillação do chenopodio não ha, com o augmento da temperatura, modificação na qualidade do producto distillado, de modo a obter em cada phase um unico dos constituintes do chenopodio. Á pressão de 2 a 5 m. m. de mercurio a distillação começa a 50° C. e o oleo distilla completamente a 100° C., excepção feita de um residuo gommoso que forma 5 % do total. Estes resultados discordam em absoluto dos trabalhos de Schimmel e Cia. e de Nelson, que separaram cada um grande quantidade do oleo, com o mesmo e determinado ponto de ebullicão a que chamaram "Ascaridol". Acharam Hall e Hamilton, entretanto, que as diversas fracções distilladas conforme a temperatura, apresentavam propriedades anthelminticas diferentes: a porção que tinha o ponto de ebullicão mais baixo (85 a 100° a 30 m. m.) e o mais alto poder rotatorio optico (-13,9° e -13,4°) era a mais efficiente e a efficiencia diminuia a medida que a temperatura de ebullicão se elevava. Segundo Hall e Hamilton são as fracções pesadas que além de terem acção irritante sobre a mucosa gastrointestinal, possuem propriedades mais toxicas do que as fracções leves; dahi aconselharem a redistillação do oleo de chenopodio do mercado antes de ser usado, afim de eliminar a fracção, que, não tendo propriedades anthelminticas, tem alto poder toxico e irritante.

Nos seus estudos Caius e Mhaskar trataram o oleo de chenopodio pelo sulfato ferroso e verificaram que 60 a 70% do oleo se reduz. Separavam a parte que não reage (denominada por elles "oleo residual") e determinaram suas propriedades phisicas, chemicas e anthelminticas. Tem o "oleo residual" densidade baixa e alto poder rotatorio; é difficilmente soluvel no alcool a 70 %, mas dissolve-se bem no

alcool a 80 %. Corresponde, em verdade, o “oleo residual” á primeira fracção do distillado de Schimmel e Cia.

Suas constantes physicas variam de uma amostra a outra. Distillando-o á pressão atmospherica identificaram os seguintes corpos, além dos já conhecidos.

Fracção	Quantidade aproximada %	Substancia identificada
170° — 173°	12	Phellandreno
173° — 176°	35	Para-cimeno
178° — 190°	15	Terpineno
190° — 220°	6	
220° — 250°	9	Carvenona
250° — 295°	8	
Residuo não votatil	15	



Mostraram que o valor anthelmintico do “oleo residual” era nullo.

A relação entre alguns dos componentes existentes no oleo de chenopodio conforme Caius e Mhaskar acha-se na pagina anterior.

Caius e Mhaskar experimentaram o phellandreno e acharam-no desprovido de valor anthelmintico; emquanto que o Ascaridol se lhes revelou poderoso vermicida.

Em 1921 Tyssen, comparando o valor anthelmintico de duas fracções do oleo, uma com “Ascaridol” e outra sem “Ascaridol”, diz ser esta ultima a mais poderosa.



III

Methodos empregados — Substancias usadas

O estudo comparativo do valor de vermifugos pôde ser feito, calculando a percentagem de curas microscopicas, ou avaliando a percentagem dos vermes expellidos.

O primeiro methodo, de technica assaz simples, consiste unicamente em se administrar o medicamento a um grupo de pessoas e, em seguida, por exames de fézes repetidos estabelecer a percentagem dos curados. Este methodo tem valor sómente quando se administra a substancia a grande numero de individuos que soffrem de grãos diversos da infestação, e albergam numero vario de vermes, porquanto só assim obteremos o valor approximado do vermifugo. Para demonstral-o basta o seguinte exemplo: sejam dois vermifugos, que supponmos de igual poder, expellindo, ambos, 90% dos vermes. Si administrarmos estes vermifugos a dois grupos de pessoas A e B e si o primeiro grupo albergar em media 100 vermes e o segundo 1000 vermes, no primeiro grupo depois do tratamento permaneceriam 10 vermes, o que daria numero muito elevado de curas reveladas pelo microscopio; enquanto que, restando ainda 100 vermes nos individuos do segundo grupo, o numero de curas reveladas pelo microscopio seria pequeno. Concluíriamos, pois, erradamente, ser o primeiro vermifugo melhor que o segundo.

O segundo methodo, isto é, aquelle em que se calcula a percentagem dos vermes expellidos, apesar de ser infinitamente mais trabalhoso, é mais racional e nos dá resultados mais exactos. E' este o methodo usado no nosso trabalho e foi o adoptado pela Commissão Malaia e por Darling e Smillie no Brasil.

A technica, já minuciosamente descripta por Darling e Smillie, é a seguinte: o tratamento de ensaio (*trial treatment*) é o vermifugo em experiencia e varia de accordo com os factores a serem estudados. Depois de se ter escolhido o local para experiencia, regista-se um numero elevado de pessoas e avalia-se sua hemoglobina pelo aparelho de Dare. Desses individuos escolhem-se um ou dois grupos de 28 a 30 pessoas, sendo em geral dois terços de individuos de mais de 15 annos e o restante creanças de 8 a 15 annos. Cada individuo tem a sua ficha, em que se registam nome, idade, raça, sexo e occupação, hemoglobina, volume do baço (palpavel ou não), previo tratamento anthelmintico, previo tratamento antimalarico e resultado de um primeiro exame microscopico das fézes. No punho de cada individuo ata-se uma fita com um numero e entrega-se-lhe um ourinól com o mesmo numero do punho. Durante o tratamento toma-se nota, e cuidadosamente, da natureza, dosagem e hora da administração do vermifugo e do purgativo, e de todos os symptomas accusados durante e depois do tratamento, ainda mesmo os mais ligeiros. As pessoas tratadas só evacua nos primeiros ourinóes numerados até 24 horas após o tratamento; recolhido e entregue então esse primeiro ourinól, é dado um segundo no qual elles defecarão durante as 24 horas subseqüentes.

As fézes serão cuidadosamente lavadas, no mesmo dia em que se recolhe os ourinóes, em uma peneira de cobre numero 40 e todos os vermes colhidos, classificados e contados.

Dez ou quinze dias após o tratamento de ensaio dá-se o tratamento de prova (*test treatment*), por meio do qual, determinaremos o numero total dos vermes que ficam no grupo. Este intervallo é necessario afim de ser eliminada a substancia administrada no primeiro tratamento.

Accéitamos, para base do nosso trabalho, que, tres centímetros cubicos de oleo de chenopodio para adultos e 1,5 c. c. para creanças expulsam todos os ancylostomos. Com effeito, desde que a Comissão Malaia, e Darling e Smillie demonstraram que 3 c. c. de chenopodio expulsam

99% de todos os ancylostomos, o nosso erro será pequeno, sendo muito boa a base estabelecida para o estudo comparativo.

O tratamento de prova é sempre o mesmo. Administra-se na vespera um purgativo salino, ás 8 horas da noite. Na manhã seguinte dá-se aos doentes em jejum, 1 c.c. de chenopodio ás 7, 8 e 9 horas sendo administrado um purgativo final as 10 horas. Da mesma maneira que para o tratamento de ensaio, as fézes são recolhidas, depois de 24 e 48 horas, lavadas, os vermes extrahidos, contados e classificados. A's creanças administra-se a dose de 1,5 c.c. de chenopodio. Usámos como purgativo, nas nossas experiencias o sulfato de magnesia em solução de 60%, dando-se 20 a 40 grammas do sal, conforme a idade e as condições physicas dos individuos tratados.

O chenopodio deve ser administrado em capsulas gelatinosas, sendo a dose medida com uma pipeta graduada e controlada. As capsulas devem ser cheias na vespera do tratamento.

As fézes foram sempre lavadas por um unico individuo, tecnico cuidadoso, experiente e consciencioso e todos os vermes foram contados e classificados por nós e pelo nosso mestre, Prof. Smillie.

Segundo a opinião dos professores Darling e Smillie: « the technic is not difficult but requires constant vigilance, painstaking care, great patience and considerable experience. »

Nas fichas de cada individuo registram-se os vermes classificados e contados como se segue: Ancylostomo duodenale, machos e femeas; Necator americanus, machos e femeas; Ascaris, machos, femeas e formas immaturas; Trichocephalus; Oxyuros; Tænia; e outros parasitas intestinaes que ás vezes são expellidos. A distincção macroscopica de todos esses vermes não apresenta difficuldades; a differenciação macroscopica entre o Ancylostomo e o Necator, foi muito bem estudada por Darling e Smillie e, graças a esses estudos, conhecemos hoje uma série de pequenas differenças que nos permitem classificar immediatamente esses dois vermes.

Como os livros não cuidam, em sua totalidade, desses caracteres macroscópicos, chegando alguns autores, como Brumpt, a considerar muito difícil a distinção macroscópica, entre o *ancylostomo* e o *necator*, resolvemos dar nas linhas que se seguem um quadro comparativo, mostrando a diferença entre esses dois vermes.

ANCYLOSTOMO DUODENALE

FEMEA.

Tamanho. É um pouco mais comprida e muito mais grossa que a do *Necator*.

Fôrma. Forma sempre uma curva mais ou menos accentuada, semelhante a da letra C.

Extremidade posterior. A extremidade posterior termina em uma ponta grossa.

Cor. Branca, tendo ás vezes uma pintura preta na região esophagiana. Frequentemente observa-se sangue fresco no tracto intestinal do verme.

Textura. Fazendo-se rolar o verme sob uma agulha nota-se uma resistencia como de cartilagem.

NECATOR AMERICANUS

FEMEA.

É um pouco mais curta e notavelmente mais delgada que a do *ancylostomo*.

Apresenta a fôrma de um S, devido á curva posterior da cabeça.

A extremidade posterior vai afinando até terminar em uma ponta delgada.

Parda. Quasi nunca se observa sangue no tracto intestinal do verme.

Nota-se que o verme é molle quando comprimido com uma agulha.

Os caracteristicos acima applicam-se tanto ás fêmeas como aos machos, com as seguintes differenças.

MACHO

Tamanho. O *ancylostomo* macho é muito maior que o *necator*.

MACHO

Muito menor que o *ancylostomo*. A diagnose pode ser feita quasi sempre só por este ponto.

Fórma.	A fórma é quasi exactamente a de um prego—as vezes levemente recurvada em forma de C.	Tem sempre a fórma de um S devido á curva dorsal característica da cabeça.
Extremidade posterior.	Termina em bolsa aberta á semelhança das petalas de uma flor.	Termina por uma bolsa fechada á semelhança de uma flor em botão
Cor.	A mesma que a da femea.	A mesma que a da femea.
Textura.	Identica a da femea.	Identica a da femea.

* * *

Muitos e importantes são os criterios por meio dos quaes se julga a eficiencia do tratamento dado. Em quasi todas as comparações consideramol-as da seguinte forma :

Percentagem das uncinarias expellidas:—O facto de maior valor para se julgar da eficiencia de um tratamento é a percentagem de uncinarias expellidas por esse tratamento. Póde-se tambem levar em consideração a differença do seu valor em expellir ancylostomos e necatores.

Percentagem de curas revelada pela dóse de 3 c.c. de chenopodio:—(Tratamento de prova) Esta percentagem se obtem calculando o numero de casos que expelliram vermes pelo tratamento de ensaio, porém que não expelliram pelo tratamento de prova. Como já dissemos, este não é um factor absoluto, porquanto é possível a permanencia de alguns vermes até depois do tratamento de prova.

Media do numero de vermes que permaneceram, por caso, depois do tratamento de ensaio:—Este termo de comparação, differente dos outros, determina-se tirando uma media, por caso, das uncinarias que são expulsas pelo tratamento de prova. Tem muito valor para se comparar a efficacia de anthelminticos por meio de varios tratamentos de ensaio, porquanto mostra a media de uncinarias que o

tratamento de ensaio deixou permanecer no intestino do paciente.

Medida do numero de falhas: — A respeito deste ponto que estuda as falhas ou sucessos do tratamento, fazem os nossos mestres, Prof. Darling e Smillie, as seguintes considerações que julgamos conveniente transcrever: «Si um individuo alberga 100 vermes e um tratamento de prova expulsa todos menos tres, o individuo não se acha curado, porém não se pôde dizer que o tratamento falhou.

Nós, arbitrariamente, consideramos o numero maximo de 10 vermes como falha do tratamento. O numero podia ser da mesma forma 8 ancylostomos ou 12, mas com o fito de comparação é mais simples aceitar-se que, um individuo que recebeu um tratamento de ensaio de um vermifugo e ainda alberga 10 ancylostomos, representa uma falha do tratamento. Este indice comparativo é obtido calculando-se a percentagem de casos, de um dado grupo, que hospeda 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio».

* * *

Como vimos no capitulo anterior os trabalhos de Schimmel e Cia. e Nelson, mostraram que o oleo de chenopodio é constituído essencialmente por

- a) Ascaridol e
- b) uma mistura de terpenas.

O «Ascaridol» converte-se pelo aquecimento em um isomero o «Ascaridol-glycol-anhydrido», que por hydratação forma o «Ascaridol-glycol». Reputam provavel os autores que ambas estas substancias estejam presentes no oleo, em pequena quantidade, devido ás perturbações produzidas no «Ascaridol», por influencia do calor e da humidade, durante a preparação do oleo.

Já deixamos clara a relação entre estas tres substancias expressas pela formula de constituição de Nelson.

A composição da mistura das terpenas no oleo de chenopodio é ainda questão aberta. De accordo com Schimmel

os componentes são cymeno (**C¹⁰ H¹⁴**) e provavelmente sylvestreno (**C¹⁰ H¹⁶**). Nelson pensa que a mistura inclui terpineno (**C¹⁰ H¹⁶**) limoneno (**C¹⁰ H¹⁶**) e cymeno (**C¹⁰ H¹⁶**) enquanto que Caius e Mhaskar dizem ser os constituintes terpineno, phellandreno (**C¹⁰ H¹⁶**) e cymeno.

Os trabalhos do Laboratorio Wellcome demonstraram no oleo :

- 1.^o traços de acidos graxos, talvez acido butyrico,
- 2.^o uma pequena porção de uma substancia que talvez seja uma Ketona ou aldehydo, e
- 3.^o cerca de 0,5% de salicylato de methyla e traços de acido salicylico.

O chenopodio pela distillação no vacuo, pode ser dividido em tres fracções, como segue :

Fracção I Mistura de terpenas acima descriptas ;

» II » » » e ascaridol, isto é, egual á I e III

» III "Ascaridol".

O Laboratorio Wellcome nos mandou, muito gentilmente as fracções I e III. A fracção II é o mesmo chenopodio do commercio. Além destes nos forneceu o Ascaridol-glycol produzido pela hydratação do anhydrido (que denominamos fracção IV) e o Ascaridol-glycol-anhydrido (que chamamos fracção V).

A fracção I, posta em experiencia, revelou possuir algum poder anthelmintico. Procurando pesquisar nella o Ascaridol, encontrámo-lo presente, na proporção de 35%; era, pois, uma fracção impura. Isto foi communicado ao Laboratorio Wellcome, que nos mandou então uma amostra completamente pura, da mesma fracção, que denominamos I-a.

Conjuntamente recebemos uma das terpenas que foi isolada, o phellandreno, e salicylato de methyla.

Em resumo, fizemos experiencias com os seguintes componentes do oleo de chenopodio :

I Fracção I: — Mistura de terpenas; impura por conter 35% de ascaridol.

II Fracção I-a: — Mistura de terpenas, sem ascaridol. E' um liquido incolor, cheiro "sui generis", ferve a 85° a 15 m.m. Constitue cerca de 35 a 40% do peso original do oleo de chenopodio. Ponto de ebullicão 85° a 15 m.m. D. $^{150}_{150}$ 0,8596 a 0,8839; $[\alpha]^{150}_D$ — 14° a — 18°.

Contem além das seguintes terpenas, α terpineno, paracimeno uma outra terpena, que segundo Henry e Paget é uma terpena ainda não identificada, porem segundo Caius e Maskar é o

III Phellandreno (C¹⁰ H¹⁶); constitue cerca de 12% da mistura total; tem o ponto de ebullicão a 173° á pressão atmospherica.

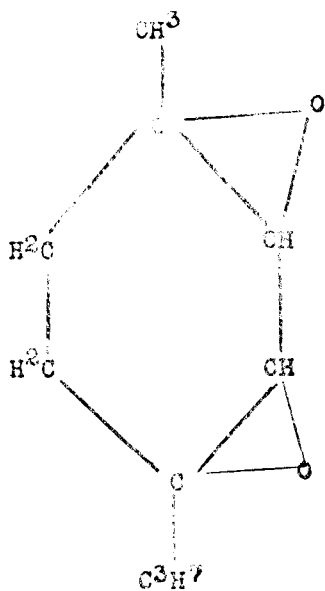
IV Salicylato de methyla: — (C⁸ H⁸ O³). Encontra-se na proporção de 0,5% no oleo de chenopodio. Seu ponto de ebullicão é muito elevado 224° C., porem emite vapores á baixa temperatura. E' um liquido incolor, tem aroma de mel, muito penetrante e nauseoso.

Fracção III — Ascaridol — E' um liquido de cor amarella, cheiro do proprio oleo de chenopodio. Ponto de ebullicão 110°/15 m. m. d^{150}_{150} 1,0120; $[\alpha]^{150}_D$ — 5°.

VI Fracção IV—Glycol: é um oleo viscoso e amarello; ferve entre 230 — 245°/15 m.m.; 122 — 125°/20 m. m. d^{150}_{150} 1,026 $[\alpha]^{250}_D$ — 0,72°.

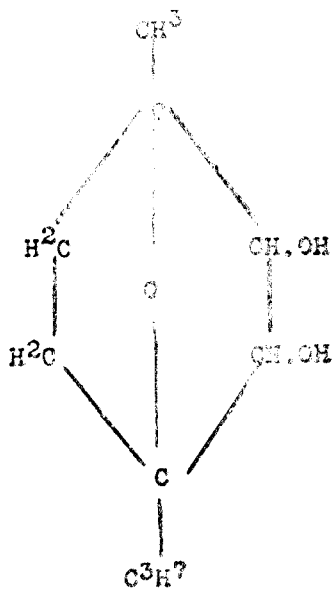
VII Fracção V — Anhydrido do glycol: — E' um oleo viscoso e esverdeado: ferve a 135 — 160°/15 m. m.

Estes dois ultimos corpos tem, segundo Nelson e Wal-lach, as formulas estruturales que se acham na pagina seguinte :



GLYCOL ANHYDRIDE

(Fr. V)



GLYCOL HYDRATE

(Fr. IV)



II PARTE





Experiencias em animaes

As experiencias que fizemos em animaes com os diversos componentes do oleo essencial de chenopodio tiveram como principal objectivo mostrar: em primeiro logar a dóse mortal para o cão, assim como os symptomas toxicos produzidos; em segundo logar a sua maior ou menor efficacia em expulsar os vermes do cão.

Não ignoramos que um vermifugo póde ser muito poderoso contra os vermes caninos e não ter valor algum contra os do homem. Assim, si as experiencias nesse sentido não trouxessem grande ajuda para conhecer a efficacia no homem, sempre teriam algum valor em medicina veterinaria.

Em nossas experiencias empregámos exclusivamente cães, por serem, segundo todos os autores, os animaes mais sensiveis ao oleo de chenopodio. Sempre démos preferencia na escolha do modo de introducção do medicamento, á via gastrica. A via endo-venosa é defeituosa quando se trata de experimentar medicamentos oleosos, e a intra muscular e a sub-cutanea são extremamente dolorosas.

Experimentando aquelles medicamentos tivemos como principal objectivo determinar, o mais rigorosamente possível, os pontos seguintes, que nos iriam orientar no conhecimento do medicamento.

1. Determinação da dóse optima em que expelle os vermes dos cães, isto é, a dóse que, sem produzir phenomenos de intoxicacção, expelle o maior numero de vermes;

II. Determinação da dose maxima, além da qual os phenomenos de intoxicação começam a apparecer;

III. Determinação da dose minima mortal.

Com semelhantes elementos podiamos fazer o estudo comparativo das propriedades vermifugas e toxicas dos diversos componentes usados.

Para determinarmos o primeiro ponto, administramos uma dose pequena, que julgávamos não ser toxica, da droga em experiencia em capsulas gelatinosas. Este primeiro tratamento, egual ao tratamento de ensaio usado nos nossos estudos em homens era feito com todas as regras que se adopta na administração do oleo de chenopodio, isto é, dose fraccionada, dada em jejum e com o intervallo de 2 horas, seguido de purgativo salino, duas horas depois.

Fazia-se a lavagem das fézes durante quarenta e oito horas, e procedia-se á contagem dos vermes.

O segundo tratamento, tratamento de prova, era feito 10 dias depois do primeiro, sendo então dado o chenopodio padrão. Outras vezes matava-se o animal com ether, ou, então, administrava-se uma dose bastante alta do mesmo vermifugo, aproveitando-se assim, para se determinar, no mesmo cão, a toxidez da substancia.

O segundo ponto é de facil obtenção, bastando administrar doses progressivamente crescentes, até se obter aquella além da qual já não ha mais a tolerancia do organismo.

Para determinarmos a dose mortal davamos sempre preferencia a animaes novos, isto é, nunca usados em experiencias outras, administrando a dose de uma só vez e sendo em algumas experiencias com a Fracção III, supprimido o purgativo posterior.

Abaixo damos o resumo das experiencias que fizemos em cães com os diversos componentes do chenopodio. Para alguns delles não determinamos a dose toxica, porquanto, tendo administrado em grande quantidade a droga, como por exemplo, a fracção I-A, que démos na proporção de 0,9 c. c. por kilo, sem obtermos symptomas de intoxicação, seria em pura perda elevar ainda mais essa dose.

Fracção I-A (Mistura de terpenas)

- Cão n.º 1 Dóse 0,6 c. c. por kilo. Não expelliu nenhum verme. Não teve symptoma toxico algum. Expelliu com o chenopodio (Fr. III) 8 ancylostomos.
- Cão n.º 2 Dóse 0,9 c. c. por kilo. Não expelliu nenhum verme. Nenhum syptoma toxico. A este cão administramos o chenopodio (Fr. III) na dóse de 0,3 c. c. por kilo. O cão morreu intoxicado e na necroscopia não encontramos nenhum ancylostomo no seu intestino.

Phellandreno

- Cão n.º 1 Dóse por kilo 0,15 c. c. Não expelliu nenhum verme; nenhum effeito toxico. O animal foi morto e verificou-se não albergar nenhum verme.
- Cão n.º 2 Dóse por kilo 1 c. c. Nenhum effeito toxico; o animal não expelliu nenhum verme. Foi-lhe administrado chenopodio do commercio, e expulsou 13 ancylostomos e 1 ascaride.

Salicylato de methyla

- Cão n.º 1 Dóse por kilo 0,5 c. c. Expelliu um verme; effeitos toxicos fracos. O animal foi morto com o ascaridol, sendo encontrados 7 ancylostomos.

Fracção I (Misturas de terpenas contendo 35 % de ascaridol, como impureza)

Experiencias em tres cães

Dóse 0,1 c.c. por kilo.	Expelliu todos os vermes de dois cães. Não produziu nenhum effeito toxico.
Dóse 0,2 c.c. por kilo	Effeitos toxicos regulares.
Dóse 0,5 a 0,6 c.c. »	Dóse mortal.

Fracção III (Ascaridol)

Cão n.º 1	Dóse por kilo 0,05. Expelliu 7 ancylostomos do cão sem produzir phenomenos de intoxicação. Na necropsia não encontramos mais nenhum verme.
Cão n.º 2	Dóse por kilo 0,08. Expelliu todos os ancylostomos dos dois cães em numero total de 22, com symptomas toxicos regulares.
Cães n.ºs 4,5 e 6.	Dóse media por kilo 0,25 Dóse mortal.

Neste grupo tambem determinamos a dóse mortal sem purgativo posterior. Estas experiencias foram feitas em nove cães e estão abaixo resumidas :

Cães	Dóse por kilo	Resultado
7	0,50	Morte
8	0,30	„
9	0,25	„
10	0,25	„
11	0,20	„
12	0,20	„
13	0,13	Não morreu
14	0,10	Gravemente intoxicado Não morreu
15	0,10	Morte

Fracção IV (Ascaridol glycol)

Cão n.º 1

Macho 3 kilos. Demos-lhe doses progressivamente crescentes com intervallo de 10 dias começando com a dose de 0,05 por kilo. A segunda foi de 0,1 e a terceira de 0,5 não tendo o animal experimentado effeito toxico

Na dose de 1 c.c. por kilo o animal morreu intoxicado. Com nenhuma dose expelliu verme algum, sendo na necropsia encontrados 14 ancylostomos e 1 dypilidium.

Cão n.º 2

Demos-lhes 0,8 c. c. por kilo, ficando gravemente intoxicado; não morreu. No dia seguinte administramos-lhe 0,5 c. c. por kilo. Ficou novamente muito intoxicado nas primeiras dez horas depois da ingestão do remedio. No dia seguinte nada mais tinha.

Fracção V (Ascaridol glycol anhydrido)

Cão n.º 1

Demos-lhe, como para o antecedente, doses progressivamente crescentes na mesma proporção. Veio a morrer depois da ingestão da 4.ª dose de chenopodio na proporção de 1,2 c. c. por kilo, não expelliu vermes.

Cão n.º 2

Administramos-lhe esta fracção na dose de 1,5 c. c. por kilo não apresentando o animal nenhum symptoma de intoxicação.

* * *

Phenomenos toxicos devidos á absorção do oleo de chenopodio

Já ninguém nega hoje que o oleo de chenopodio é um poderoso toxico para o organismo animal. Todas as vistas dos autores convergiram para a questão de saber, si, era possivel, separar a propriedade toxica da vermificada do medicamento. Dahi a separação dos diversos componentes e o estudo de cada um afim de conhecer-lhe a parte virtuosa.

Os primeiros autores que estudaram os componentes do chenopodio attribuiram ao ascaridol o poder vermificada, não o demonstrando, porém, em experiencias. Mais tarde essa asserção foi desmentida por Hall e Hamilton, que attribuiram ás terpenas as propriedades vermificadas e ao ascaridol o poder toxico e irritante para a mucosa gastro-intestinal, baseando-se unicamente, em experiencias em cães.

Recentemente appareceram duas opiniões a esse respeito. A primeira é a de Caius e Mhaskar que dizem ser o ascaridol um poderoso vermificada e toxico, negando ás terpenas estas propriedades; a segunda é a de J. Tyssen que considera todas as substancias que, juntas formam o oleo de chenopodio, mais ou menos affins e que todas ellas possuem acção vermifuga mais ou menos forte.

As nossas experiencias, que atraz resumimos, não permitem duvidas quanto á substancia responsavel pela toxidez do oleo; dellas claramente resulta que a substancia mais toxica do oleo essencial de chenopodio é o *ascaridol*.

Assim o ascaridol puro mata o cão na dóse de 0,1 a 0,2 c. c. por kilo; numa fracção que continha 35 % de ascaridol e 55 % de terpenas a toxidez foi de 0,5 a 0,6 por kilo. As terpenas puras, dadas até a dóse de 0,9 c. c. por kilo, não produziram o minimo symptoma toxico.

As perturbações moleculares por que passa o ascaridol, transformando-se em ascaridol glycol e seu correspondente hidratado, fazem diminuir o seu gráo de toxidez. E sabemos que, esses dois corpos, são encontrados como resultado de má distillação do producto; assim pois nem mesmo esse

facto póde ser invocado para explicar a toxidez do medicamento.

O oleo essencial de chenopodio do commercio contem todos esses productos em proporção variavel conforme o cuidado da distillação, as plantas ou as partes das plantas empregadas. Ora, havendo variação na quantidade de ascaridol, ha, "ipso facto", variação na dóse toxica, o que nos explica facilmente a diversidade dos resultados obtidos pelos autores, desde Bruening, que encontrou a dóse toxica de 0,1 c. c. por kilo, Salant e Nelson 0,3, Ziegler 0,5, até Caius e Mhaskar, que dizem variar a toxidez do chenopodio em todas as amostras.

Nossas experiencias tambem demonstraram que, ao menos para o cão, residem no mesmo principio as propriedades toxicas e vermifugas, concordando assim com as idéas de Schimmel e Cia.

Quanto aos symptomas da intoxicação pelos componentes do oleo de chenopodio, só pudemos apreciar o envenenamento produzido pelo ascaridol e seus glycós. Estes symptomas, tanto os gastro-intestinaes como os neuro-toxicos, revestem o typo de intoxicação pelo oleo de chenopodio do commercio.

O quadro da intoxicação pelo chenopodio foi muito bem estudado pelos americanos Ziegler, Salant e seus colaboradores. não precisando nós insistir sobre o ponto.

O tremor apparece muito cedo, sempre precedido de uma phase de excitação; depois vêm as paresias com perturbação da marcha e do equilibrio. As patas posteriores são as primeiras attingidas pela paralyisia. Os vomitos e as evacuações diarrheicas são constantes. A respiração é superficial, exclusivamente diaphragmatica. O pulso é rapido. Em algumas experiencias encontramos um abaixamento da temperatura variando de 0,3° a 0,7° C.

As convulsões apparecem 6 a 8 horas depois dos primeiros symptomas; começam quasi sempre pela contracção das patas anteriores e das commissuras dos labios. As contracções generalisam-se e em breve todo o corpo é sacudido pelo tremor.

Antes de se verificar o desfecho, cahe o animal numa phase de paralysis completa; as pupillas se dilatam e o animal morre em asphyxia.

Nas intoxicações ligeiras phenomeno sempre presente é a atonia intestinal. Salant e Mitchel, que estudaram esta acção em intestinos isolados, consideram-na devida á acção inhibitora do oleo de chenopodio, maior no ileo do que no duodeno e jejuno e imperceptivel no colo. Explicam a inibição pela acção do oleo de chenopodio sobre o vaso. Demonstraram elles que o ascaridol age como depressor da circulação e respiração; a respiração cessa enquanto o coração continua a bater.

Em casos de intoxicação mais graves, encontramos phenomenos taes como surdez, incoordenação da marcha e perturbação do equilibrio. As perturbações auditivas observam-se em casos de perturbação de equilibrio; é por esse facto que Leiton pensa que a vertigem tenha origem auditiva.

Quanto á causa da morte, Ziegler pensa que é devida a nephrite diffusa, produzida pelo oleo. A maioria dos autores está, porém, concorde em explica-la por intoxicação geral dos centros nervosos. Nas necropsias que fizemos, de cães envenenados pelo Ascaridol, encontramos as lesões já descriptas pelos autores em cães mortos pelo oleo de chenopodio, como hyperhemia com alguns pontos de hemorrhagia da camada sub-mucosa gastro-intestinal; hyperhemia da cortex cerebral com hemorrhagia.

O figado sempre se apresentou congestionado; nos rins encontramos congestão e lesões de nephrite aguda. Si a nephrite é causada pela eliminação do oleo pelos rins ou por productos toxicos, ainda é ponto discutido pelos autores.

O envenenamento produzido pelos glycóes do ascaridol reveste do mesmo typo que o produzido por este ultimo corpo, sendo porem a marcha dos phenomenos mais lenta.

Outro ponto sobre que pudemos realizar algumas experiencias foi a questão do accumulo do medicamento. Como se sabe, o oleo de chenopodio accumula-se no organismo, de modo que é de rigor deixar passar um certo numero de dias, para a eliminação do medicamento. Isto com o oleo de

chenopodio : com o ascaridol o mesmo se observa. E' o que nos demonstraram as diversas experiencias que fizemos. Aqui transcrevemos uma dellas.

Como já vimos a dose toxica do ascaridol é de 0,1 a 0,2 c. c. por kilo. Ora, a um cão administramos 0,1 c. c. por kilo de ascaridol ; no dia seguinte administramos mais 0,08 e o cão morreu 13 horas depois da ingestão do medicamento. A outro cão, que servia de testemunha, administramos da mesma maneira 0,1 por kilo no primeiro dia e dez dias depois 0,08 . O animal apresentou phenomenos toxicos, porem se salvou.

Das nossas experiencias cremos poder concluir :

1) O ascaridol é a parte activa e toxica do oleo de chenopodio ; mata o cão na dose de 0,1 a 0,2 c. c. por kilo.

2) As terpenas não são toxicas para os cães, não gosando tambem de propriedades vermifugas.

3) A transformação do ascaridol em glycol faz diminuir cerca de 15 a 20 vezes, para os cães, sua toxidez ; sua propriedade vermifuga totalmente desaparece.

4) Os phenomenos produzidos pelo envenenamento com o ascaridol revestem o mesmo typo que é observado pelo oleo de chenopodio.

5) O accumulô de doses se verifica para o ascaridol tão bem como para o oleo de chenopodio.



II

Administração a homens dos componentes do oleo essencial de chenopodio

Uma vez estudada, em cães, a toxidez dos diversos componentes do oleo de chenopodio, estavamos habilitados a administrar-os a homens, afim de conhecer o seu valor como vermifugo. A technica que empregamos já foi descripta em um dos capitulos anteriores, assim como os medicamentos usados.

As experiencias foram feitas em uma villa do interior do Estado, em uma fazenda e no Instituto Disciplinar de S. Paulo: todas ellas foram realizadas sob a direcção do nosso mestre o Prof. Smillie.

1.º Grupo de experiencias

Neste grupo administramos os medicamentos em experiencia na mesma dóse que o oleo de chenopodio do commercio, isto é, na dóse maxima de 1,50 c. c. para adultos. A dóse foi dividida em duas porções, dadas ao doente em jejum, a primeira ás 7 e a segunda ás 8 horas sendo o purgativo de sulfato de magnesia administrado duas horas depois da ultima porção, isto é, ás 10 horas. Constituiu o vermifugo em experiencia o tratamento de ensaio. O tratamento de prova foi feito 10 dias depois com 3 c. c. de oleo de chenopodio do commercio.

I

**Fracção I (mistura de terpenas, impura
por conter 35% de ascaridol)**

Guayra—Município de Orlandia, Est. de S. Paulo, Junho 1920

I

N.º de casos tratados	20
Media do n.º de ancylostomos por caso	60,6
Media da dose da fracção I dada (tratamen- to de ensaio)	1,2 c. c.
Percentagem dos ancylostomos expulsos pelo tratamento de ensaio	24 %
Percentagem dos casos curados pelo trata- mento de ensaio	0 %
Media do n.º de ancylostomos não expulsos pelo tratamento de ensaio	45
Percentagem das falhas, casos albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio	70 %
Ascaris: N.º total	11
Percentagem dos ascaris expellidos pelo trata- mento de ensaio	0
Dóse maxima: 1,50 c. c.	

Toxidez: Neste grupo encontramos todos symptomas caracteristicos do envenenamentos pelo oleo de chenopodio: cephalalgia, tontura, formigamento nos pés e mãos, nauseas, dor e sensação de queimadura no estomago.

Os symptomas, se bem que presentes, não foram muito fortes, sendo menos accentuados que os produzidos pela mesma dóse de chenopodio. Foram transitorios: ás 16 horas tinham já desaparecidos. Os que tomaram 1 c. c. não apresentaram taes symptomas de intoxicacção; os que ingeriram 1,5 c. c. foram os mais affectados.

Commentario: Como se vê com esta fracção foram expellidos 24% dos ancylostomos. Quando a administramos, ainda não tinhamos pesquisado, o ascaridol, e achamos que Hall e Hamilton tinham razão pelo menos em parte quando disseram ser os primeiros productos da distillação do oleo a parte activa do chenopodio. Mais tarde pesquisando, no laboratorio, o ascaridol em todas as amostras que tinhamos em mão, vimos que esta fracção continha, como impureza, 35% de ascaridol. Dahi a duvida em que ficámos, sem saber si o effeito vermifugo era devido ás terpenas ou ao ascaridol, ahí presente.

O unico meio de resolver a questão, seria empregar uma mistura de terpenas completamente pura, isto é, sem traços de ascaridol; isto foi o que fizemos com a fracção que denominamos I - a.

II

Fracção I - a (mistura de terpenas)

Fazenda da Cachoeira -- Municipio de Piracaia.

E. S. Paulo. Out. 1921

	Casos	Media da idade	Doses	Resultados
	4 adultos	31 annos	2 c. c.	Exp. 1 de 57 ancylost.
	1 criança	10 annos	0,5 c. c.	» 0 de 8 »
Total	5 casos			Expulsou 1 de 65 ancylostomos

Com esta experiencia a duvida deixou de subsistir, porquanto a fracção I sem ascaridol (fracção I-a) expelliu sómente 1 ancylostomo de um total de 65. Os symptomas toxicos foram nullos.

III

Phellandreno:

Fazenda da Cachoeira. (Outubro de 1921.)

	Casos	Media da idade	Dose	Resultados
	1 adulto	40 annos	1, 6, c. c.	Exp. 0 de 9 ancylost.
	3 creanças	11 annos	1 c. c.	» 0 de 47 »
Total	4 casos			Expelliu 0 de 56

Até a dose de 1, 6 c. c. não produziu phenomeno algum de intoxicação.

IV

Salicylato de Methyla :

Fazenda da Cachoeira. (Outubro de 1921)

Existe no oleo de chenopodio na proporção de 0, 5 0/0, Administramol-o em dois casos, sendo o resultado o seguinte :

Casos	Media de idade	Doses	Resultados
2 adulto	24 annos	2 c. c.	Exp. 1 de 106 ancy.

O unico effeito toxico observado foi em um dos casos, cephaléa ligeira, que desapareceu algumas horas depois.

V

Ascaridol (Fracção III)

Guayra - Julho de 1920.

N.º de casos tratados	17
Media do n.º de ancylostomos por caso . . .	178
Media da dose de chenopodio (Fracção III) dada como tratamento de ensaio . . .	1,07 c. c.
Percentagem dos ancylostomos expellidos pelo tratamento de ensaio	94,7 %
Percentagem dos casos curados pelo trata- mento de ensaio	24 %
Media do n.º de ancylostomos não expul- sos pelo tratamento de ensaio	9
Percentagem das falhas, casos com 10 ou mais vermos depois do tratamento de ensaio	24 %
Percentagem dos ascaris expellidos pelo tratamento de ensaio	66 %
Ascaris n.º total	60
Dose maxima — 1,5 c. c.	

Toxidez : Os symptomas toxicos produzidos pela fracção III foram mais accentuados que os produzi-

dos por egual d6se de chenopodio-padr6o. Os symptomas foram exactamente os mesmos observados com chenopodio, por6m mais fortes. Grosseiramente, os symptomas produzidos pela frac6o III s6o eguaes ou ultrapassam os produzidos por 1,5 c. c. de chenopodio padr6o.

A maior d6se dada, de 1,5 c. c. para adultos, produziu uma intoxica6o egual a 2 c. c. do chenopodio-padr6o. Foram porem os symptomas menores que os observados com o tratamento de prova — 3 c. c. de chenopodio. Parece-nos tambem que os individuos deste grupo foram mais maltratados pelo tratamento de prova, que aquelles que tiveram como primeiro tratamento as frac6es I, IV e V. Podemos calcular em 2 c. c. a d6se maxima de ascaridol que p6de ser administrada a adultos; esta ser6 a d6se que poder6 ser dada com seguran6a.

VI

Ascaridol Glycol (Frac6o IV)

Guayra · Junho de 1920

N.º de casos tratados	15
Media do n.º de ancylostomos por casos	147,7
Media da d6se de chenopodio (Frac. IV) dado como tratamento de ensaio	1,26 c. c.
Percentagem dos ancylostomos expellidos pelo tratamento de ensaio	0,3 %
Percentagem dos casos curados pelo tratamento de ensaio	0
Media do n.º de ancylostomos que ficaram depois do tratamento de ensaio	147,4
Percentagem das falhas, casos albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio	81 %
Ascaris n.º total	2
Percentagem dos ascaris expellidos pelo tratamento de ensaio	0
D6se maxima — 1,5 c. c. para adultos.	

Toxidez: Um ou dois individuos queixaram-se de um pouco de tontura, nauseas e formigamento nos pés. Os symptomas foram, porem, muito transitorios. Mesmo com 1,5 c. c. não houve, em geral, phenomeno algum toxico. Esta fracção mostrou-se a menos toxica de todas.

VII

Ascaridol Glycol Anhydrido: (Fracção V)

Guayra Junho de 1920

N.º de casos tratados	16
Media do n.º de ancylostomos por caso	182
Media da dose de chenopodio (Fracção V) dada como tratamento de ensaio	1,2 c. c.
Percentagem dos ancylostomos expulsos pelo tratamento de ensaio	1,6 %
Percentagem dos casos curados pelo trata- mento de ensaio	0 %
Média do n.º de ancylostomos não expulsos pelo tratamento de ensaio	180
Percentagem das falhas, casos albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio	90 %
Ascaris n.º total	12
Percentagem dos ascaris expulsos pelo trata- mento de ensaio	0 %
Dose maxima 1,5 c. c. para adultos	

Toxidez: A fracção IV não produziu symptomas na maioria dos casos. Alguns dos individuos que tomaram 1,5 c. c. tiveram fraqueza e tontura e dor de cabeça, porém tudo isso cessou logo. A's 12 horas já nada mais mostraram de anormal.

Controle

Usamos para contraste de nossas experiencias a adminstraicção de 1,5 c. c., dose usada para adulto

do chenopodio-padrão. Com esta dose Darling e Smilie verificaram a expulsão de 90% dos ancylostomos. O mesmo verificamos nós, conforme evidencia o resumo da experiência VIII.

VIII

Chenopodio Padrão

Guayra Junho de 1926

N.º de casos tratados	10
Mediã do n.º de ancylostomos por caso	135.7
Mediã da dose de chenopodio usado no tratamento de ensaio	1,28 c. c.
Percentagem dos ancylostomos expulsos pelo tratamento de ensaio	90,9 %.
Percentagem dos casos curados pelo tratamento de ensaio	10 %.
Médiã do n.º de ancylostomos que ainda ficaram depois do tratamento de ensaio	12,3
Percentagem das falhas, casos albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio	33, %.
Ascaris n.º total	9
Percentagem dos ascaris expulsos pelo tratamento de ensaio	33 %.
Dose maxima 1.5 c. c.	

Toxidez: Os phenomenos que apparecem depois da ingestão de 1.5 c. c. de chenopodio revelam intoxicação branda: nauseas, cephaléa, e raramente formigamento nos pés e mãos e tontura. São tambem muito transitorios: ás 12 horas todos já tinham desaparecidos.

Resumo das experiencias do primeiro Grupo

Notação

+	+	+	symptomias toxicos fortes
+	+	o	o regulares
	+	o	o fracos
	0	o	o nullos

	Fr. I - A	Phellan.	Sol. methyl	Fr. I	Fr. III	Fr. IV	Fr. V	CONTROLES	
								Guayra	Chanaan
N.º de casos tratados	5	4	2	20	17	15	16	10	26
Media do n.º de ancylostomos por caso	13	14	53,5	60,6	178	147	182	135	220
Media da dóse de che-nopodio (Fracções)	1,7 c. c.	1,15 c. c.	2 c. c.	1,2 c. c.	1,07 c. c.	1,26 c. c.	1,2 c. c.	1,28 c. c.	1,27
Percentagem dos ancylostomos expelidos pelo tratamento de ensaio	1 de 65	0 de 56	1 %	24 %	94 %	0,3 %	1,6 %	90,9 %	90,3 %
Percentagens dos casos curados pelo tratamento de ensaio	0	0	0	0	24 %	0	0	10 %	8 %
Media do n.º de ancylostomos que ainda ficaram depois do tratamento de ensaio	---	---	---	45	9	147,4	180	12,3	21,2
Percentagem das falhas	---	---	---	70 %	24 %	80 %	90 %	33 %	23,3 %
Ascaris n.º total	---	---	---	11	6	2	12	6	82
Percentagem dos ascaris expelidos pelo tratamento de ensaio	---	---	---	0	66 %	0 %	0 %	33 %	90 %
Toxidez.	0	0	0	+	+++	+	+	++	-

Observação: As duas ultimas columnas registam os tratamentos que serviram de contraste: a penultima o tratamento foi por nós dado em Guayra, e a ultima o resultado da experiencia do Dr. Smillie, realisada na Fazenda de Chanaan em 1918 e publicado numa das monographias do Instituto Rockefeller.

Segundo grupo de experiencias

O objectivo deste grupo de experiencias foi conhecer a accção de pequenas doses do ascaridoi (Fracção III).

A menor dose dada foi de 0,4 c. c. e a maior de 0,75 c. c., isto é, approximadamente a metade da dose usada na administração do chenopodio. Não foi dado o purgativo preliminar e a dose foi administrada em duas porções ás 7 e 8 horas da manhã e o purgativo salino duas horas depois.

Este grupo de experiencias foi feito no Instituto Disciplinar de São Paulo. As condições das experiencias foram ideaes, devido á esplendida disciplina. A idade dos rapazes variou de 9 a 20 annos. A maior parte delles tinha sido tratado de ancylostomo e ha 2 annos atraz, de modo que só restavam os entrados depois dessa epoca. A technica da experiencia foi satisfatoria: todos deglutiram as suas capsulas com facilidade e o purgativo não lhes causou nauseas.

Quasi não houve phenomenos de intoxicação. Um ou dois tiveram um pouco de atordoamento e cephalea e nada mais. A nausea não constituiu um symptoma proeminente. Os phenomenos toxicos foram seguramente menores do que os que succedem á administração de 1,5 c. c. de chenopodio no tratamento rotineiro. Em nenhum caso os symptomas permaneceram além de 12 horas, isto é, 5 horas depois da administração da primeira capsula.

IX

Ascaridol (Fracção III)

Instituto Disciplinar de S. Paulo — (Março de 1921)

N.º de casos tratados	20
Media da dóse de chenopodio (Fracção III) dada como tratamento de ensaio.	0,63 c. c.
Média do n.º de ancylostomos por casos	71
Percentagem dos ancylostomos expellidos pelo tratamento de ensaio	77 %
Percentagem dos casos curados pelo trata- mento de ensaio	18 %
Media do n.º de ancylostomos que ainda permaneceram depois do tratamento de ensaio.	15
N.º de falhas, casos albergando 10 ou mais ancylos- tomos depois do tratamento de ensaio	7
Percentagem das falhas	25 %
Ascaris n.º total	75
Percentagem dos ascaris expellidos pelo tratamento de ensaio	76 %

Experiencia IX

Analyse dos casos em relação á dose administrada

	0,75 c. c.	0,60 c. c.	0,50 c. c.	0,40 c. c.
N.º de casos tratados	14	8	5	2
N.º de ancylostomos por caso	126	16	31	4
Percentagem dos ancy- lostomos expellidos pe- lo tratamento de ensaio	78 %	74 %	60 %	
Percentagem dos casos curados pelo tratamento de ensaio	26 %	25 %	0 %	

	0,75 c. c.	0,60 c. c.	0,50 c. c.	0,40 c. c.
Media do n.º de ancylostomos que ainda ficaram depois do tratamento de ensaio . . .	27	4	12 %	
Falhas, percentagem dos casos albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio .	35 %	12 %	20 %	
Media dos ascaris por caso	11	3	5	1
Percentagem dos ascaris expulsos pelo tratamento de ensaio	60 %	81 %	100 %	

Terceiro grupo de experiencias

Este grupo de experiencias é quasi uma **duplicata** do precedente. Só differe no seguinte: sendo o chenopodio dado a mesma fracção III, isto é, o ascari^udol, a dose foi, entretanto, pouco maior, não dividida e o purgativo salino foi administrado 1/2 hora depois.

Não houve phenomenos toxicos assignalaveis. Dos 30 rapazes tratados, no Instituto Disciplinar, 27 de nada absolutamente se queixaram; dois tiveram dor de cabeça e um ficou nauseoso.

A dose maxima nessa experiencia foi de 1,2 c. c. para adultos, enquanto que em Guayra foi de 1,5 c. c. O purgativo, logo depois da ingestão das capsulas, suprimiu, neste grupo, os effeitos toxicos da substancia.

X

Ascaridol

Dose indivisa, purgativo 1/2 hora depois

Instituto Disciplinar — Março de 1921

N.º de casos tratados 30
 Media da dose de chenopodio (Fracção III)
 dada como tratamento de ensaio 0,87 c. c.

Media de ancylostomos por caso	39,7
Percentagem dos ancylostomos expulsos pelo tratamento de ensaio	86 %
Percentagem dos casos curados pelo tratamento de ensaio	57 %
Media do n.º de ancylostomos, por caso, que permaneceram depois do tratamento de ensaio	5,6
Falhas, casos ainda albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio	3
Percentagem das falhas	10 %
Ascaris expéllidos pelo tratamento de ensaio	71 de 72

Analyse dos casos em relação a quantidade de chenopodio (Frac. III) dada.

	1,2 c. c.	0,90 c. c.	0,75 c. c.	0,60 c. c.
N.º de casos tratados	6	10	9	5
Media do n.º de ancylostomos por caso	26	16	21	155
Percentagem de ancylostomos expulsos pelo tratamento de ensaio	95,4 %	90 %	84 %	82 %
Percentagem dos casos curados pelo tratamento de ensaio	50 %	70 %	44 %	60 %
Media do n.º de ancylostomos que permaneceram, por caso, depois do tratamento de ensaio	1	1,3	3	23
Falhas, percentagem dos casos ainda albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio	0	10 %	11 %	20 %

XI

Ascaridol

(Fracção III) Dóses indivisas, purgativo salino 1/2 hora depois

Fazenda Cachoeira — Outubro de 1921

N.º de casos tratados	15
Media da dóse de chenopodio (Fracção III).	0,9 c. c.
Media de ancylostomos por casos.	22
Percentagem de ancylostomos expellidos pelo tratamento de ensaio	94 %
Media de ancylostomos que ficaram, por caso, depois do tratamento de ensaio	1,4 %
Falhas, percentagem dos casos albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento de ensaio	0
Dóse maxima.	1 c. c.



III

Apreciação dos resultados obtidos.

Antes mesmo de usar os diversos componentes do óleo de chenopódio no homem, já tínhamos idéa mais ou menos formada a respeito da toxidez daquelles diversos productos. Em cães, com effeito, o ascaridol mostrou-se bastante toxico, confirmando nesse ponto as experiencias de Salant, ao passo que as outras fracções se mostraram desprovidas de toxidez. Não nos referimos á fracção I, porquanto é producto impuro, mas sim a essa fracção pura, que denominamos 1-a.

Quanto ao poder anthelmintico, muito grande para o ascaridol, não existe, em verdade para os outros productos.

As experiencias, em homens, confirmaram todos esses dados. Mostrou-se o ascaridol o melhor, sob o ponto de vista anthelmintico, assim como o mais toxico. As experiencias do primeiro grupo tiveram por fim tactear o terreno, se assim se póde dizer. Os resultados desse grupo são claros; basta consultar o resumo de todas as experiencias que reunimos no quadro do capitulo anterior. As fracções leves isto é, as de menor densidade e de poder rotatorio optico muito alto mostraram-se desprovidas de valor anthelmintico, discordando em absoluto com as experiencias de Hall e Hamilton e confirmando as idéas de Schimmiell e Co.

O poder anthelmintico do ascaridol revelou-se maior do que o do chenopodio do commercio; sua toxidez tambem se mostrou superior á do chenopodio padrão. Si quizessemos comparar diríamos que 1,5 c. c. de ascaridol produz effeitos toxicos igual á uma dóse de 2 c. c. de chenopodio padrão. Mostrou ainda este grupo de experiencias que o ascaridol

convertido em Glycol-anhydrido perde completamente a sua actividade, que não volta com hydratação para formar o glycol.

Finalmente e em resumo, as experiencias do primeiro grupo mostraram que tanto a propriedade anthelmintica como o poder toxico do oleo essencial de chenopodio são devidos á presença do ascaridol.

Resumo das experiencias do grupo I — mostrando que as propriedades toxicas e anthelminticas do oleo de chenopodio são devidas ao *ascaridol*.

	Frac. III Ascaridol	Frac. I-a Terpena	Frac. IV Glycol	Frac. V Anhydrido
N.º de casos tratados	17	5	15	16
Media do n.º de ancylostomos por caso	178	13	147,7	182
Media da dose de chenopodio (Fracções) administrada	1,07 c. c.	1,7 c. c.	1,26 c. c.	1,2 c. c.
Percentagens dos ancylostomos expellidos	94,7 %	1,5 %	0,3 %	1,6 %
Percentagem dos casos curados	24 %	0 %	0 %	0 %
Percentagens das falhas	24 %		82 %	90 %
Percentagens dos ascaris expellidos	66 %		0 %	0 %
Toxidez	+	0	+	+

Outro ponto que precisavamos saber é se o effeito anthelmintico do ascaridol é maior que o do chenopodio do commercio. Dos resultados obtidos vemos que 1,5 c. c. de ascaridol, produzindo effeitos toxicos eguaes a 2 c. c. de oleo de chenopodio officinal, expulsa mais vermes que o oleo essencial de chenopodio na dose de 1, 5 c. c.

Quadro comparativo do valor e toxidez do ascaridol e do oleo de chenopodio padrão.

Dóse maxima 1, 5 c. c. para adultos em duas porções — purgativo 2 horas depois.

	Frac. III	Chenopodio padrão	
	Ascaridol	Guayra 1920	Chanuan 1918
N.º de casos tratados	17	10	26
Media do n.º de ancylostomos por caso	147,7	135,7	220,5
Media da dóse de chenopodio administrado	1,07 c. c.	1,28 c. c.	1,27 c. c.
Percentagem dos ancylostomos expellidos	94,7 %	90,9 %	90,3 %
Percentagem das falhas	24, %	33 %	23, %
Percentagem dos ascaris expellidos	66, %	33 %	90 %
Toxidez	+ + +	+ +	—

Com este primeiro grupo de experiencias vimos o pouco valor das outras partes do chenopodio com excepção do ascaridol. No entanto o ascaridol na dóse de 1.5 c. c. para adulto tinha-se revelado bastante toxico, não podendo, pois, ser usado sem accidentes nesta dóse. Dahi a necessidade de se determinar a dóse minima que não produzisse symptomas e de conhecer o valor dessa dóse como vermifugo para depois podermos tomar, como base do tratamento, uma dóse media. Foi o que fizemos e as experiencias nos demonstraram que o valor do vermifugo crescia de accordo com a dóse, o que evidencia o quadro da experiencia IX.

Os symptomas toxicos com a dóse maxima de 0,75 c. c. para adultos foram quasi nullos, porém o numero de vermes expulsos foi pequeno — 78 %.

Estávamos, pois no dilemma de, si quizessemos augmentar a efficacia do vermifugo, augmentar a sua dosagem e de,

augmentando a sua dosagem, provocarmos phenomenos toxicos.

Ora, como se sabe, a intoxicação é resultante da absorpção de doses mais ou menos massiças do oleo, dahi o facto de procuramos impedir essa absorpção, dando o purgativo pouco depois da ingestão da droga.

Com o oleo de chenopodio do commercio o purgativo dado pouco tempo depois do medicamento diminue, com effeito, a sua toxidez, porém o poder anthelmintico tambem se enfraquece. Mas não estavamos lidando com o oleo de chenopodio, e sim com o ascaridol, principio muito mais activo, e pensamos que talvez sua presença no tubo intestinal para produzir os effeitos toxicos sobre os vermes não precisasse ser tão demorada. E' porisso que fizemos o terceiro grupo de experiencias, dando doses medias, indivisas, de ascaridol e o purgativo salino meia hora depois.

Os resultados foram os melhores possiveis ; os symptomas toxicos tornaram-se minimos e o numero de ancylostomos expulsos bem consideravel.

Na mesma dose, o ascaridol dado de uma só vez e o purgativo $\frac{1}{2}$ hora depois é mais efficaz, além de ser muito menos toxico, que quando dado em duas porções, o purgativo duas horas depois. E' que nos mostra o quadro abaixo:

	ASCARIDOL			
	Em duas porções purgativo 2 horas depois.		Em uma só porção purgativo 1/2 hora depois	
	0,75 c. c.	0,60 c. c.	0,75 c. c.	0,60 c. c.
N.º de casos tratados	14	8	9	5
N.º de ancylostomos por caso	126	16	21	155
Percentagem de ancylostomos expellidos	78 %	74 %	84 %	82 %
Percentagem dos casos curados	26 %	25 %	44 %	60 %
Percentagem das falhas	35 %	12 %	11 %	20 %

Segundo nossa opinião a dose optima de ascaridol para ser usada em campanha Sanitaria é de 1 c. c. Esta dose deve ser dada de uma só vez sendo o purgativo salino administrado 1/2 hora depois,. Deste modo, o ascaridol, com efeitos toxicos muito menos accentuados que 1, 5 c. c. de chenopodio do commercio, expelle cerca de 95 % dos ancylostomos.

Quadro comparativo, mostrando o valor do ascaridol na dose de um 1 c. c. indivisa e o purgativo meia hora depois com 1, 5 c. c. de chenopodio (Tratamento usual).

	Ascaridol	Chenopodio
N.º de casos tratados	25	19
Media de ancylostomos por caso	23	230
Percentagem de ancylostomos expulsos	95 %	91 %
Falhas, casos albergando 10 ou mais vermes depois do tratamento do ensaio	1	4
Percentagem das falhas	4 %	21 %

Quadro comparativo das percentagens de ancylostomos expulsos com doses indivisas de ascaridol e chenopodio.

	Dose	Porcento dos ancylostomos expellidos.
Ascaridol	1 c. c.	95 %
Chenopodio (Caius e Mhaskar)	1, 5 c. c.	81, 8 %
Chenopodio (Caius e Mhaskar)	2 c. c.	96, 3 %
Chenopodio (Darling e Smillie)	2 c. c.	87, 5 %

Todos os autores que têm estudado a acção do chenopodio sobre os ancylostomos e necatores chega-

ram á conclusão de ser aquelle mais resistente ao vermifugo. Fizemos em todas as experiencias a contagem, em separado, dessas duas especies de vermes mas nos nossos resultados não lhe fizemos referencia por ter sido sempre o numero de ancylostomos tão diminuto, em comparação com o dos necatores, que não permittia paráλληlo. Os ancylostomos, como também verificamos, são mais resistentes ao ascaridol que os necatores, duas vezes mais resistentes. E' o que mostram os resultados abaixo:

N.º de casos tratados	30
Media de ancylostomos por caso	2,4
Media de necatores por caso	37,3
Media de ancylostomos e necatores	39,7
Percentagem de ancylostomos expellidos pelo tratamento de ensaio	47,6 %
Percentagem dos necatores expellidos pelo tra- tamento de ensaio	88 %

O quadro abaixo evidencia a differença da acção do ascaridol em pequena dóse sobre os ancylostomos e necatores.

N.º de casos tratados	29
Media de ascaridol dado	0,63 c. c.
Percentagem de ancylostomos expulsos pelo tratamento de ensaio	20 %
Percentagem dos necatores expellidos pelo tratamento de ensaio	78,6 %



IV

Aplicação do Ascaridol na Prophylaxia da Ancylostomose.

Dois são os systemas usados, no Brasil, na lucta contra a ancylostomose : o systema do dispensario e o das campanhas intensivas.

Em suas linhas geraes vemos que, no systema dispensario, compete aos habitantes da zona por elle servido irem ao local em que funciona para ahi serem examinados e receberem o medicamento, estando pois sob a fiscalização immediata do medico chefe.

O systema de campanha intensiva, introduzido no Brasil pela Comissão Rockefeller, em 1918 tem por fim tratar todos os individuos infestados de uma determinada zona. Nesse systema recenseam-se todos os habitantes da area a ser saneada, Faz-se em seguida o exame microscopico das fézes de cada habitante. E o tratamento, nas proprias casas de todas as pessôas infectadas pelo ancylostomo, se segue ao exame das fézes.

Depois de numerosas experiencias ficou patente que, para uma localidade ainda não saneada deve-se sempre comecar empregando a campanha intesiva, para mais tarde então ahi deixar permanentemente um dispensario.

No systema de campanha intensiva, são os enfermeiros que vão de casa em casa, e que administram a cada pessoa infectada o vermifugo. Estão, pois os enfermos fóra da fiscalização do medico, que quando muito, verá os casos mais graves e em que fór solicitada a sua presença.

Por todas essas razões os dirigentes dos serviços contra a ancylostomose no Brasil, desde logo viram a necessidade

de adoptar, nas campanhas intensivas, um só medicamento e uma só maneira de administração. O remedio, que melhor prehenche essas indicações, é sem duvida actualmente o oleo essencial de chenopodio; dahi a sua facil acceitação e o seu largo emprego.

Entretanto os adversarios do oleo de chenopodio não se fizeram esperar. Discordando do emprego universal que delle se fazia, trouxeram argumentos de ordem diversas. Muitos delles cahiram logo de começo; outros, porem mais importantes e serios ficaram de pé até hoje. Argumentam que não sendo o oleo de chenopodio medicamento de composição fixa, mas simples mistura de substancias, algumas dellas ainda hoje desconhecidas, de variavel efficacia e toxidez, de amostra á amostra, de fabricante a fabricante, não se comprehende que se pudesse usal-o em logar de ancylostomicidas de formula chimica conhecida, regulares em seus effeitos, de toxidez dosada, taes como o thymol e o beta-naphtol.

Tem o argumento sua parte de razão e de verdade. Mas attenda-se a que, para se ter o mesmo effeito do oleo de chenopodio, não é preciso empregal-o totalmente; basta porem redistillal-o de maneira a separar sua parte activa e virtuosa o ascaridol. Não mais se lidar á então com um producto mysterioso, de composição incerta, porém com um corpo chimicamente classificado, um peroxydo, de constantes fixas, invariaveis.

Ao uso do ascaridol só duas objecções poderiam ser sensatamente feitas; a de ser mais toxico que o oleo de chenopodio; e a de ser muito mais caro, não convindo o seu uso em campanhas sanitarias.

Quanto ao primeiro ponto já demostramos que, si é certo que o ascaridol é, nas mesmas doses, mais toxico que o oleo de chenopodio, o que é logico que aconteça pois o oleo de chenopodio contem 60% de ascaridol, não é menos verdade que, basta dar o ascaridol em doses um terço menores que o chenopodio, para serem obtidos effeitos eguaes além de ser, menos toxico, nesta dóse.

A questão economica não deve ser desprezada, é de muita importancia. Não sabemos em quanto importa um tra-

tamento com o ascaridol; podemos entretanto estabelecer um parallelo com o oleo de chenopodio. Cada 100 partes do oleo contem 60 de ascaridol, quer dizer que se aproveita mais ou menos $\frac{2}{3}$ da quantidade do oleo total. Perde-se apenas um $\frac{1}{3}$ mais ou menos.

Mas na administração, desapparece essa perda, porquanto em lugar de darmos 1,5 c. c. do oleo devemos dar 1 c. c. de ascaridol, isto é, $\frac{1}{3}$ menos.

O preparo do ascaridol requer nova distillação, o que contribue para encarecel-o. Entretanto o desperdicio de tempo na preparação é compensado pelo grande ganho na administração.

Com effeito, para se tratar uma pessoa com oleo são precisos quatro horas (duas capsulas, cada uma com metade da dose de hora em hora e duas horas depois o purgativo) emquanto que com o ascaridol gasta-se $\frac{1}{2}$ hora. (uma capsula com a dose toda e o purgativo $\frac{1}{2}$ hora depois)

Finalmente, ainda mesmo que ficasse mais dispendioso o uso do ascaridol, isso não seria razão para abandonal-o, devido a maior segurança do seu manejo por ser corpo definido e de effeito regulado.

Em nosso pensar, pois, deve-se substituir o oleo de chenopodio pelo ascaridol.

A sua administração deverá ser feita da seguinte forma:

O doente, em jejum tomará de manhã uma capsula gelatinosa contendo toda a dose de ascaridol a ser administrada, e meia hora depois ingerirá o purgativo salino, por exemplo o sulfato de magnesia. As doses seriam as seguintes: para creanças até 5 annos uma ou duas gottas do ascaridol emulsionada em 10 ou 20 c. c. de oleo de ricino; de 6 a 15 annos uma gotta por anno de idade em capsulas gelatinosas e o purgativo salino meia hora depois; de 15 a 17 annos uma gotta e meia por anno de idade e para adultos 30 gottas e o purgativo administrado como precedentemente.

(*) O conta-gottas deve ser graduado de modo que 30 gtts. correspondam a 1 c. c.



Conclusões

I

O oleo essencial do chenopodio é constituído por uma mistura de:

- a) Terpenas, algumas já identificadas, como o terpineno e o paracimeno, e uma outra ainda não identificada, na proporção de 20 a 30%.
- b) Traços de ácidos graxos, traços de ácido salicílico e 0,5% de salicylato de methyla.
- c) Cerca de 50 a 70 % de *ascaridol*, peroxydo organico de formula $C^{10} H^{16} O^2$.
- d) Pequenas porções de um isomero do ascaridol, o glycol anhydrido e o seu correspondente hidratado.

II

As terpenas não possuem poder vermífida. Não observamos com ellas ~~symptom~~as toxicas, seja em animaes seja em homens.

III

O salicylato de methyla até a dose de 2 c. c. ppra adultos, não apresentou poder vermífida nem toxidez.

IV

Tanto o isomero do ascaridol, como o glycol hidratado, não revelaram sensível acção vermícida. Em animaes só se tornaram toxicos com doses bastante altas (1 c. c. por kilo); em homens a dose maxima de 1,5 c. c. produziu leves symptomas de intoxicação.

V

O ascaridol é um poderoso vermífugo. Com a technica por nós usada na sua administração, 1 c. c. de ascaridol expulsa cerca de 95% das uncinarias.

VI

O ascaridol é substancia bastante toxica para cães, determina a morte nas doses de 0,10 a 0,20 c. c. por kilo. Para homens 1,5 c. c. de ascaridol produz symptomas toxicos equivalentes á dose de 2 c. c. do oleo de chenopodio.

VII

Os symptomas toxicos determinados pelo ascaridol revelam o mesmo quadro que o do oleo de chenopodio.

VIII

A dose optima de ascaridol é 1 c. c. dada de uma só vez em capsula gelatinosa solidificada.

IX

O remedio deve ser dado de manhã, ao doente em jejum. Não é necessario purgativo preliminar. O purgativo salino posterior á administração da capsula deve ser dado $\frac{1}{2}$ hora depois.

Assim procedendo os symptomas toxicos serão nullos ou muito brandos, alem de que o numero de vermes expulsos não será menor do que quando se administra o purgativo 2 horas depois.

X

O *Ancylostomo duodenale* é mais resistente ao ascaridol do que o *Necator americanus*.

XI

A mesma amostra de ascaridol usada 1 anno e 4 mezes depois das primeiras experiencias, não apresentou variações no seu poder vermifugo ou toxico.

XII

O ascaridol substitue vantajosamente o oleo de chenopodio nas campanhas sanitarias contra a ancylostomose.



Bibliographia

- Bruening 1906 — Zeits f. exper. Pathol. Theu-
rapie Vol. 3
- Brumpt 1910 — Precis de Parasitologie
- Nelson 1911 — Jour. of the Am. Chem. Soc.
Vol. XXXII N.º 8
- Nelson 1911 — Bureau of Chem. Cir. N.º
73 June.
- Loos 1911 — Records of School of Med.
Egypt. Vol. IV.
- T. J. da Costa Franco . . . 1912 — Contribuição ao estudo chi-
mico pharmacologico e physio-
therapeutico da herba de S. Ma-
ria dos brasileiros.
- Wallach 1912 — Annalen der Chemie. Vol. 393.
- Godoy Tavares. 1913 — These do Rio.
- Nelson 1913 — Jour. of the Am. Chem.
Soc. Vol. XXXV N.º I
- Levy. R. L. 1914 — Jour. Am. Med. Ass. No-
vember 28.
- Salant-Livingston 1915 — Am. Jour. of Physio Vol. 38.
- Bishop-Brosius 1915 — Jour. Am. Med. Ass. Novem-
ber 6.
- Salant-Nelson 1915 — Am. Jour. of Physio Vol. 36.
- Salant-Livingston 1916 — Am. Jour of Physio. Vol. 41
- Salant-Mitchell 1916 — Am. Jour. of Physio. Vol.
39. N.º 1
- 1916 — The Rockefeller Found. Se-
cond Ann. Report.
- Zéigler 1917 — Interstate Med. Jour. Vol.
XXIV N.º 10
- Salant-Bengis 1917 — Jour. of Pharmac. and. exper.
Therapeutics Vol. IX N.º 2
- Heiser V. G. 1917 — Military. Surg. Vol. 45.
1917 — Rockefeller Found. Third.
Ann. Report.
- O. Gonzaga—Carvalho Lima 1918 — Pub. do Ser. Saut. do E.
de S. Paulo N.º 1
- Darling-Barber-Hacker . . 1918 — Jour, Am. Med. Ass. Vol.
70 Feb. 23
- Hall, Maurice C. 1918 — Nevv Orleans Med. and Surg
Jour. Vol. 70

- Hall, M. C. Foster 1918 — Jour. of Agric. Research.
Vol. XII N.º 7
- Hackett 1918 — Escolha de um medicamen-
to melhor e methodo de admi-
nistração na uncinariose.
1918 — Rockefeller Found. Fo-
urth Ann. Rep.
- Darling, S. T. 1919 — Pub. do Inst. de Hyg. de
S. Paulo. Bolletim N.º 2.
- Knowlton 1919 — Jour. Am. Med. Ass March.
- Souza Araujo 1919 — A prophylaxia rural no E.
do Paraná.
- Geraldo C. da Silva 1919 — These da Bahia.
- Wrench 1920 — Ind. Jour. of Med. Research.
Vol. 6 N.º 3.
- Howard 1919 — Rockefeller Found. Pub. N.º 8
- Caius-Mhaskar 1919 — Ind. Jour. of Med. Research.
Vol. 7 N.º 2.
- Hali, Maurice C. 1919 — Jour. of Am. Vet. Med.
Ass. Vol. XLVI. N.º 1
- Hall, Maurice C. 1920 — Jour. of Am. Vetr. Med.
Ass. Vol. LVI N.º 4.
- C. Flu-De Lanje e F. Weehuizen. 1919 — Mededeeling aart Geneesh.
Sab. té. Wehmemeden. 3.
serie. N. 1
- Smillie, W. G. 1920 — Pub. do Inst. de Hyg. de
S. Paulo. Bolletim N.º 3.
- Darling, S, T. 1920 — The Lancet CXCVII.
- Nelson 1920 — Jour. of the Am. Chem. Soc.
Vol. XLII N.º 6.
- Guerner, Nuno. 1920 — Pub. do Ser. Sanit. do E.
de S. Paulo. N.º 17.
- Leal, Adelino 1920 — Pub. do Ser. Sanit. do E.
de S. Paulo. N. 17.
- Caius-Mhaskar 1920 — Ind. Jour. of Med. Research.
Vol. 7 N.º 3.
- Paulino de Mello 1920 — These do Rio.
- Darling, S. T-Smillie, W. G. 1921 — Monograph of the Rockefel-
ler Inst. for Med. Research.
N.º 14.
- Caius-Mhaskar 1921 — Ind. Jour. For Med. Res.
Vol. 8 N.º 4
- Lellis, Areobaldo 1921 — Brazil Medico. Vol. 1 Anno
XXXV N. 4
- Tyssen, J. 1921 — Geneeskundig Tydsthrift
Voor Neder. Indie. Tomo 61
Batavia.
- Henry-Paget. 1921 — Trans. of Chem. Soc. Vol. 119.
- Almeida Junior 1922 — Brasil Medico Ann. XXXVI N. 5