

UNIVERSIDAD TÉCNICA NACIONAL

SEDE ATENAS

MEDICINA VETERINARIA

**DETERMINACIÓN DE LA DOSIS TEÓRICA DE ADMINISTRACIÓN
INTRAMUSCULAR DEL ANTIVENENO POLIVET-ICP PARA EL
TRATAMIENTO DE BOVINOS ENVENENADOS POR LA MORDEDURA DE LA
SERPIENTE TERCIOPELO (*Bothrops asper*)**

**TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA**

MAUREN RODRÍGUEZ CASTRO

**ATENAS, COSTA RICA
2025**

DECLARACIÓN JURADA

Yo Mauren Rodríguez Castro portadora de la cédula de identidad número 207260272 estudiante de la Universidad Técnica Nacional, UTN en la carrera de Medicina Veterinaria con Énfasis en Buiatría, conocedora (s) de las sanciones legales con que la Ley Penal de la República de Costa Rica castiga el falso testimonio y el delito de perjurio que pueda ocasionarse ante el (la) Director (a) de Carrera y quienes constituyen el Tribunal Examinador de este trabajo de investigación, juramos solemnemente que este trabajo de investigación es una obra original respetando las leyes y que ha sido elaborada siguiendo las disposiciones exigidas por la Universidad Técnica Nacional, UTN, así como con los derechos de autor.

En fe de lo anterior, firmamos en la ciudad de Grecia, a los nueve días del mes de mayo del 2025

Mauren Rodríguez Castro
207260272

HOJA DE APROBACIÓN

Este Trabajo Final de Graduación fue aprobado por el Tribunal Evaluador como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Medicina Veterinaria con Énfasis en Buiatría.

MV. Dr. Josué Rivera Castillo
Director de Carrera

Ph. D. Guillermo León Montero
Tutor del TFG

MV. Dr. Esteban Soto Molina
Lector TFG

MV. Dr Sergio Vásquez Logoria
Lector TFG

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios y mi familia, especialmente a mis padres Ana Guiselle Castro y Mauricio Rodríguez y a mi hermana María Daniela Espinoza, que me han acompañado, guiado y apoyado en todo mi camino de formación académica y personal.

También a mis tíos y primos que han estado conmigo desde pequeña que han sido parte importante de mi vida, siendo como papás y hermanos (especialmente Merelin Alfaro, Andrés Vargas, Tatiana Alfaro, Nidia Castro, Giselle Rodríguez, Gerardo Alfaro y Luis Hidalgo) que con sus actos y palabras me han alentado en momentos difíciles, dándome ánimos para seguir adelante y ser la profesional que soy hoy en día.

AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos primeramente a Dios por darme la salud y perseverancia para no rendirme y lograr mis objetivos, por darme el don del amor eterno y enorme hacia las creaturas más maravillosas de su creación, que son los animales, por permitirme cumplir este gran sueño, que desde pequeña ha sido mi mayor objetivo. Asimismo, por darme el apoyo incondicional de mis padres y familiares que con sus palabras y acciones me impulsaron positivamente para hoy poder estar en el lugar donde me encuentro.

Por otro lado, agradezco a la Universidad Técnica Nacional por brindarme la oportunidad de estudiar esta maravillosa carrera y haber conocido a grandes personas que actualmente son parte fundamental de mi vida y grandes colegas como lo son Meli, Gaby, Naty, Jime, Abi, Di, Mari y Kar para las cuales las palabras de agradecimiento no son suficientes para recompensar su apoyo, consuelo, amistad y conocimiento aportado no solo a mi carrera, sino también a mi vida personal.

De igual manera agradezco a los profesores y profesionales que contribuyeron de manera positiva a mi formación como lo son: Guillermo León, Esteban Soto, Arturo Trejos, Daisy Fallas, Tahiana Vargas, José David Bolaños y Sergio Vásquez, que han dejado una gran huella en mi proceso educativo y profesional. Al Instituto Clodomiro Picado por brindarme todo su apoyo e instalaciones para hacer este proyecto posible.

Además, agradezco enormemente a Vini, por ser esa persona que ha estado a mi lado en los momentos más difíciles de mi carrera y vida, que nunca me dejó rendirme, al contrario, todo el tiempo me motivo con palabras y acciones para continuar adelante y me apoyó en todos los aspectos de mi vida.

Resumen

Título: Determinación de la dosis teórica de administración intramuscular del antiveneno PoliVet-ICP para el tratamiento de bovinos envenenados por la mordedura de la serpiente terciopelo (*Bothrops asper*).

Autor: Mauren Rodríguez Castro

En la presente investigación se determinó la dosis intramuscular teórica del antiveneno PoliVet-ICP, que se debe administrar en campo en casos de envenenamiento de bovinos por mordedura de la serpiente terciopelo (*Bothrops asper*). Para la recolección de datos experimentales, se utilizaron 14 bovinos de la unidad productiva de carne de la Universidad Técnica Nacional Sede Atenas. Estos animales cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: ser de la misma raza y sexo, edad entre 2-5 años, peso de 250-650 Kg y una condición corporal entre 2,75-4,00.

Con el propósito de establecer un marco de referencia sobre el comportamiento del antiveneno administrado por vías intramuscular e intravenosa, se estudiaron dos grupos integrados por 7 animales cada uno, donde se aplicaron 100 mL del suero antiofídico a los individuos de cada grupo según la vía de administración correspondiente. La medición de la concentración de anticuerpos IgG se evaluó mediante la toma de muestras de sangre de la vena coccígea, en función del tiempo para ambas vías de administración, la evaluación se realizó: antes de la aplicación del suero, después de la aplicación del suero a los 30 min;

1, 3 y 6 h; 1, 7, 9, 14 y 28 días. Después, se analizaron por el método de ELISA, elaborando las curvas de los anticuerpos para obtener el área bajo la curva.

Se determinó mediante la fórmula de dosis ajustada que la dosis teórica de administración intramuscular de suero antiofídico es de 14 viales, a diferencia de los 10 viales que se administran según el fabricante por vía intravenosa. Esta se calculó mediante la comparación de los parámetros farmacocinéticos en ambas vías de aplicación, en donde no se observó una diferencia significativa de estos, lo cual muestra que la vía intramuscular es eficaz para el tratamiento de envenenamientos por mordeduras de la serpiente terciopelo.

Palabras clave:

Suero antiofídico, bovinos, ELISA, mordedura de serpiente, anticuerpos.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	16
1.1 Problema de investigación.....	17
1.2 Justificación.....	18
1.3 Antecedentes.....	19
1.4 Objetivos.....	21
1.4.1 Objetivo general.....	21
1.4.2 Objetivos específicos.....	22
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	23
2.1 Envenenamiento por mordedura de terciopelo.....	23
2.1.1 Etiología.....	23
2.1.2 Patogenia.....	24
2.1.3 Signos clínicos.....	26
2.1.4 Diagnóstico.....	28
2.1.5 Tratamiento.....	29
2.2 Suero antiofídico polivalente veterinario.....	30
2.2.1 Producción del suero antiofídico.....	30
2.2.2 Capacidad neutralizante del suero antiveneno.....	32
2.2.3 Farmacocinética del antiveneno.....	33
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO.....	37

	10
3.1 Ubicación	37
3.2 Muestra	37
3.2.1 Criterios de inclusión	38
3.2.2 Criterios de exclusión	38
3.3 Materiales y métodos	38
3.3.1 Revisión de los animales	38
3.3.2 Grupos objeto de estudio	39
3.3.3 Inoculación del antiveneno	39
3.3.4 Recolección de muestras de sangre	40
3.3.4 Medición de la concentración plasmática de anticuerpos IgG	41
3.3.5 Cálculo de parámetros farmacocinéticos	43
3.3.6 Determinación de la dosis IM teórica	44
3.4 Análisis de datos y métodos estadísticos	44
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	47
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	54
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	59
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	61
CAPÍTULO VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
ANEXOS	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales toxinas del veneno de serpiente.....	26
Tabla 2. Capacidad neutralizante del suero antiofídico hacia diferentes actividades tóxicas y enzimáticas del veneno de la serpiente terciopelo (<i>Bothrops asper</i>).....	33
Tabla 3. Concentración de antiveneno ofídico en el suero de bovinos inoculados por la vía intravenosa	48
Tabla 4. Concentración de antiveneno ofídico en el suero de bovinos inoculados por la vía intramuscular	49
Tabla 5. Parámetros farmacocinéticos del antiveneno PoliVet-ICP administrado por la vía intravenosa	52
Tabla 6. Parámetros farmacocinéticos del antiveneno PoliVet-ICP administrado por la vía intramuscular	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales signos clínicos en caso de envenenamiento por mordedura de serpiente con relación al tiempo.....	28
Figura 2. Ejemplo de curva de calibración.....	35
Figura 3. Representación gráfica de la zona de inoculación con el antiveneno PoliVet-ICP en el glúteo de bovino.....	39
Figura 4. Ejemplo de cálculo de área bajo la curva de aproximación trapezoidal	45
Figura 5. Ejemplo de concentración máxima de un fármaco	46
Figura 6. Ejemplo de curva de calibración que relaciona la concentración de antiveneno con la absorbancia obtenida por ELISA de suero de bovinos tratados	47
Figura 7. Curva de concentración de anticuerpos anti-veneno en función del tiempo en el suero de bovinos a los que se les administró PoliVet-ICP por la vía intramuscular y la vía intravenosa	50
Figura 8. Comparación del AUC obtenidas de los bovinos tratados por ambas vías administración	51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Carta de préstamo de animales de la unidad de bovinos de carne de la Universidad Técnica Nacional sede Atenas	72
---	----

ABREVIATURAS

AUC: Área bajo la curva

C_nmax: Concentración máxima

df: Grados de libertad

ELISA: Enzimoimmunoanálisis de adsorción

ICP: Instituto Clodomiro Picado

IgG: Inmunoglobulina G

IM: Intramuscular

IV: Intravenoso

K_{el}: Constante de eliminación

PBS: Buffer de fosfato salino

s: Valor de significancia estadística

t: T de student

t $\frac{1}{2}$: Tiempo de vida media

t_{max}: Tiempo máximo

TMR: Tiempo de residencia media

Vd: Volumen de distribución

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

El envenenamiento por mordeduras de serpientes es uno de los principales motivos de pérdidas de ganado vacuno en Costa Rica. Según la Encuesta Nacional Agropecuaria, realizada por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC, 2020), entre los años 2019 y 2020, el 13,9 % de las muertes de cabezas de ganado reportadas en ese periodo fueron a causa de ataques por serpientes y felinos.

Idealmente, los envenenamientos por mordedura de serpiente deben ser tratados mediante la administración oportuna de antivenenos ofídicos. Los antivenenos ofídicos son formulaciones de inmunoglobulinas purificadas a partir del plasma de animales (generalmente equinos) que han sido inmunizados con venenos de serpientes (Morris et al., 2023). Dichas inmunoglobulinas son capaces de reconocer y neutralizar las toxinas de los venenos, evitando que generen daño a los tejidos (Morris et al., 2023; Sarmiento et al., 2020).

Estudios realizados revelan que los antivenenos deberían ser administrados por vía intravenosa (IV), ya que de esta manera se logra la mayor biodisponibilidad del producto y se obtiene el mayor efecto terapéutico en el menor tiempo (Gutiérrez et al., 2003). Sin embargo, el tratamiento de bovinos en el campo rara vez permite las condiciones necesarias para acceder a la vía IV (Isbister, 2023).

En este trabajo se infirió la dosis intramuscular del antiveneno PoliVet-ICP a partir de la dosis intravenosa previamente determinada y de las relaciones entre los parámetros farmacocinéticos del antiveneno determinados por las vías IV e intramuscular (IM).

1.1 Problema de investigación

Las mordeduras por serpiente suponen una de las problemáticas más importantes que comprometen la salud de los animales que habitan las zonas rurales, siendo la serpiente terciopelo (*Bothrops asper*) la principal reportada como causante de accidentes ofídicos en América Central (Silva et al., 2018; Bolon et al., 2019).

En Costa Rica, se ha notificado que dicha especie es responsable de aproximadamente 10 000 casos de envenenamiento en ganado bovino por año, solo en la zona Pacífico Central del país (Bolon et al., 2019). Dicho hallazgo se traduce en falencias económicas asociadas a la pérdida del animal en cuestión, ya que el plan terapéutico en respuesta al envenenamiento suele ser deficiente, debido a una aplicación incorrecta, tardía o incluso ausente del antiveneno (Graça et al., 2022).

Otro aspecto que influye de manera directa es la lejanía de los sitios productivos, lo cual dificulta la atención veterinaria en las fincas y conlleva a que el suero antiofídico sea frecuentemente aplicado por el mismo productor o encargado de la producción, quienes, ante la carencia de capacitación técnica en el tema, suelen administrarlo vía IM (Fernández, 2007; M. Arguedas, comunicación personal, 5 de julio de 2023).

La principal implicancia de esta vía de administración radica en la sospecha de una menor biodisponibilidad del fármaco, razón por la que se podría requerir un incremento en la dosis en búsqueda de obtener los efectos deseados. No obstante,

actualmente no se cuenta con datos que respalden la eficiencia de esta vía y la dosis necesaria para lograr el éxito terapéutico (M. Arguedas, comunicación personal, 5 de julio de 2023).

1.2 Justificación

El estudio de la biodisponibilidad del suero antiofídico durante la administración IM permitirá determinar la eficacia de esta vía y, en caso de obtenerse resultados positivos, a través de respaldo científico, incentivarse su aplicación, lo cual resuelve un desafío importante en el ámbito clínico y socioeconómico que cobra la vida de miles de animales cada año en el territorio nacional (Silva et al., 2018; Bolon et al., 2019).

Además, a través del análisis de la farmacodinámica, también será posible determinar la dosis requerida para alcanzar concentraciones en sangre capaces de hacer frente a la fisiopatología desencadenada en los cuadros ofídicos, lo cual, junto con el análisis de eficacia antes mencionado, maximizará la aplicación y el éxito terapéutico de esta herramienta tan valiosa dentro del ámbito científico costarricense (Gutiérrez et al., 2020).

Por último, y no menos importante, cabe destacar que el presente estudio constituye un aporte importante en los estudios cerca de la administración de la vía IM del suero antiofídico, lo cual, desde el punto de vista académico y regional, es importante, pues la generación de información científica a partir de datos regionales favorece la aplicación de esta técnica no solo dentro, sino también fuera del país (Fernández, 2007; Gamulin et al., 2025).

1.3 Antecedentes

Los accidentes ofídicos en Costa Rica constituyen un importante problema de salud pública. Se estima que ocurren entre 500 a 600 casos de mordeduras de serpiente por año, con una incidencia anual de 13 casos por cada 100 000 habitantes (Gutiérrez et al., 2020).

Mediante un estudio realizado en el año 1998, se determinó el aclaramiento (CL) y volumen de distribución (Vd) en conejos, ratones y ratas a los cuales se les administró de manera intravenosa (IV) 10 mg/kg de antiveneno de equino. Se tomaron muestras de sangre por seis días, con el fin de generar una gráfica para obtener el área bajo la curva (AUC) y, por medio de un programa informático, obtener CL y Vd, cuyos resultados fueron que, entre menor es el tamaño del animal, más rápida es la eliminación del antiveneno (Bazin et al., 1998).

Un estudio realizado en el año 2001 quiso recrear accidentes de picaduras de escorpión en conejos, donde se administró veneno del escorpión *Buthus occitanus*, y después se aplicó la misma cantidad de antiveneno de equino para este artrópodo. Este último fue administrado de manera IV en la vena de la oreja e IM en el miembro posterior en diferentes animales, con el fin de evaluar el efecto neutralizante del antiveneno. El resultado de este estudio fue que la administración de manera IM genera una neutralización parcial y retardada del veneno, mientras que la IV genera neutralización total y rápida, por su gran biodisponibilidad a nivel sanguíneo (Naceur et al., 2001).

Se realizó un estudio por Chaves et al. (2003), donde se administró antiveneno de forma IM en envenenamientos experimentales por *Bothrops asper*, comparando los fragmentos Fab e IgG, donde se ajustaron para tener la misma dosis efectiva del 50 %, encontrando así que ni los Fab ni los IgG neutralizaron por completo la letalidad del veneno aplicado de manera IM; sin embargo, los Fab llegan con mayor rapidez al torrente sanguíneo en comparación con los IgG, siendo estos la mejor opción para la administración IM.

En el año 2003, el Instituto Clodomiro Picado realizó un estudio donde se relacionan la farmacocinética y farmacodinamia del antiveneno administrado en conejos por diferentes vías, donde se obtuvo que, a nivel IM, la absorción es mucho más lenta, con un tiempo de 46–76 horas para alcanzar la concentración máxima y con una biodisponibilidad de 36–42 %, lo que demuestra que los anticuerpos antiveneno llegan a un ritmo relativamente lento y una parte significativa no llega a la circulación sanguínea (Gutiérrez et al., 2003).

Un estudio realizado por Isbister et al. (2007) comparó las concentraciones séricas de anticuerpos del antiveneno de la araña viuda negra, donde se obtuvo que la biodisponibilidad de la administración IM es pobre (36–42 %), con un tiempo de concentración máxima de 48–96 horas, dando como resultado que las concentraciones en las primeras horas de administración no son detectables, por lo cual se demostró que la vía IM por sí sola no reduce de manera significativa el veneno libre detectable en comparación con la vía IV, que actúa de manera rápida.

El Instituto Clodomiro Picado, en el año 2013, realizó un estudio donde se administró de manera IV el antiveneno en equinos y bovinos para la evaluación de

los parámetros farmacocinéticos del fármaco a través de pruebas de ELISA (Enzimoimmunoanálisis de adsorción). Después se encontró que, a pesar de las diferencias fisiológicas, como la frecuencia cardiaca entre equinos y bovinos, ambas especies requieren 10 minutos para alcanzar la concentración máxima del antiveneno (Rojas et al., 2013).

El estudio realizado por Kurtovic et al. (2021) tenía como objetivo comparar los parámetros farmacocinéticos y la eficacia clínica de los fragmentos Fab intravenosos y los fragmentos $F(ab')_2$ intramusculares específicos del antiveneno ViperaTAb. Los fragmentos intramusculares obtuvieron un aclaramiento corporal total 25 veces más prolongado y un tiempo de eliminación 14 veces más prolongado en comparación con los administrados vía IV (dos semanas versus 24 horas, respectivamente), donde la concentración plasmática máxima de fragmentos intramusculares fue solo el 10 % de la dosis IV y se estableció 48 horas después de la aplicación.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Comparar la farmacocinética del antiveneno PoliVet-ICP cuando es administrado por las vías IM e IV, mediante el análisis de las variables área bajo la curva, concentración/tiempo, volumen de distribución y concentración máxima para la determinación de la dosis teórica IM en bovinos.

1.4.2 Objetivos específicos

Cuantificar la concentración plasmática de anticuerpos IgG en función del tiempo mediante el método de ELISA para determinar los parámetros farmacocinéticos del antiveneno PoliVet-ICP aplicado en bovinos por las vías IV e IM.

Relacionar los parámetros farmacocinéticos del antiveneno PoliVet-ICP (área bajo la curva, concentración/tiempo y concentración máxima) obtenidos por las vías de administración IV e IM en bovinos, para la determinación de la dosis IM teórica del fármaco.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Envenenamiento por mordedura de terciopelo

Los accidentes ofídicos son causados por la mordedura de serpientes venenosas, capaces de inocular sustancias tóxicas que generan lesiones y alteraciones fisiopatológicas en el individuo. Su frecuencia y gravedad lo convierten en un aspecto de gran importancia para la salud pública y animal.

2.1.1 Etiología

La serpiente terciopelo pertenece a la familia Viperidae, que incluye géneros de serpientes altamente venenosas, como *Crotalus*, *Lachesis*, *Bothriechis*, *Bothrocophias* y *Bothrops*, este último es el género de la terciopelo (Butera et al., 2023). La identificación de la serpiente terciopelo se realiza principalmente por sus características físicas, como la forma triangular de su cabeza y el color de su cuerpo, que puede variar entre gris oscuro, verdoso o café. Además, su característica más distintiva es el patrón que se observa lateralmente en el animal, consistente en una serie de triángulos en ambos lados del cuerpo que contienen dos puntos oscuros y una base de tonalidad amarillenta (Solórzano, 2022).

La inoculación de veneno por parte de la serpiente terciopelo en su presa es de 0 a 50 mg, siendo una secreción tóxica utilizada para la inmovilización y muerte de sus presas. Este veneno es producido y almacenado en glándulas especializadas ubicadas en la parte superior de su cabeza (Solórzano, 2022).

2.1.2 Patogenia

Los venenos de serpientes son un conjunto de enzimas hidrolíticas, proteínas y péptidos no enzimáticos biológicamente activos (Tabla 1). Estas son responsables de las presentaciones citotóxica, hemotóxica o neurotóxica. Se han encontrado diferencias significativas en la composición del veneno entre especies de diferentes orígenes geográficos (Mora-Obando et al., 2023). De igual manera, algunas toxinas pueden ejercer distintos efectos dependiendo de la cantidad de veneno inoculado (Herrera et al., 2012).

La actividad hemotóxica del veneno de las serpientes de la familia Viperidae es producida por enzimas proteolíticas que hidrolizan los componentes de la membrana basal, desestabilizando las paredes de los vasos sanguíneos (Gutiérrez et al., 2016).

Las hemotoxinas pueden clasificarse como proteasas procoagulantes (activando la protrombina y los factores de coagulación V y X) y también como proteasas anticoagulantes (inhibiendo los factores de coagulación IX y X, el activador de la proteína C y anticoagulantes PLA2). Por lo tanto, en los exámenes de laboratorio se observa el tiempo de protrombina prolongado y bajos niveles de fibrinógeno (Gutiérrez et al., 2016).

La actividad citotóxica se debe a la presencia de fosfolipasas A2 miotóxicas (PLA2) y hialuronidasas que hidrolizan la membrana plasmática de las fibras musculares, vasculares y nerviosas, lo cual provoca dermonecrosis, miotoxicidad, hemorragia y edema. Se desencadenan secuelas irreversibles, como pérdida de

la regeneración del tejido, disminución de la sensibilidad y amputaciones (Kini, 2013).

En casos severos, se produce la liberación de la enzima creatina quinasa (CK) y mioglobina al torrente sanguíneo, siendo estas medibles mediante pruebas laboratoriales, confirmándose la miotoxicidad sistémica que contribuye a generar rabdomiólisis y lesión renal aguda por el depósito de mioglobina en los túbulos renales (Romanelli et al., 2021; Sarkar et al., 2021).

Tabla 1*Principales toxinas del veneno de serpiente*

Toxina	Efecto
Metaloproteinasas (SVMP)	Destruyen los componentes de la membrana basal, generando daño a las células endoteliales y contribuyendo al sangrado sistémico espontáneo. Además, inducen daño a nivel cutáneo al degradar la interfase dermoepidérmica, formando ampollas.
Fosfolipasas A ₂ (PLA ₂)	Induce la fosfolipólisis de membrana, hemólisis, miotoxicidad, necrosis e inhibición / activación plaquetar.
Serina proteinasas de veneno de serpiente (SVSP)	Afectan la hemostasia degradando proteolíticamente los componentes sanguíneos (fibrinógeno) y modulando factores de coagulación (plasminógeno y factor V), produciendo coagulopatía, hipotensión y edema.
Proteínas similares a PLA ₂ (MjTX-I)	Generan necrosis muscular.
L-aminoácido oxidasa (LAAO)	Provoca citotoxicidad, hemorragia por inducción de apoptosis y/o inhibición del factor IX de la coagulación.
Hialuronidasa	Degradan la matriz extracelular, ayuda a la difusión de toxinas desde el sitio de la mordedura hacia el sistema circulatorio.
Proteínas tipo lectina de tipo C: (CTL)	Inhiben o promocionan la agregación plaquetaria y trombocitopenia

Nota. Adaptado de *Abordaje de mordedura de serpiente en la consulta de atención primaria de salud* (p. 23), por Velepucha et al., 2021, UTMACH.

2.1.3 Signos clínicos

Los principales signos clínicos a nivel local que se logran apreciar en caso de una mordedura de serpiente son el sangrado en la zona de inoculación del veneno, edema e inflamación que se extienden a lo largo del área afectada, así

como la presencia de dolor y mionecrosis, presentando cuadros clínicos diferentes (Figura 1) (Laustsen et al., 2018).

Según Rodríguez et al. (2016), los envenenamientos por mordeduras de terciopelo se pueden clasificar en:

Cuadro clínico leve: En las primeras dos horas posteriores a la mordedura se produce dolor leve con signos inmediatos de inflamación circunscrita a la zona afectada (menos de 4 cm), con presencia o ausencia de equimosis. Además, la prueba de coagulación resulta negativa, es decir, se forma el coágulo en menos de 20 minutos.

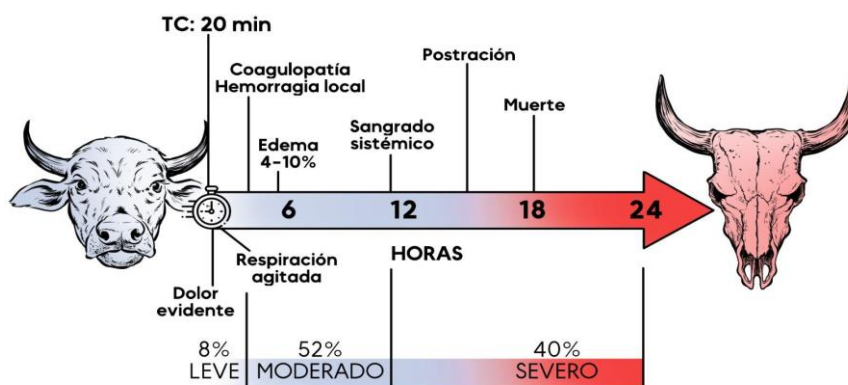
Cuadro clínico moderado: En las primeras doce horas posteriores a la mordedura, el dolor se intensifica (moderado), con un diámetro afectado de más de 4 cm, donde el edema avanza hasta alcanzar 2-3 segmentos del área afectada. También se presenta la formación de ampollas, equimosis, signos de linfangitis (líneas de coloración rojiza en la piel) y hemorragia en las heridas donde penetraron los colmillos de la serpiente. La prueba de coagulación resulta positiva, es decir, no se forma el coágulo en 20 minutos, lo que ocasiona sangrado en mucosas (hematuria, sangrado conjuntival y de encías).

Cuadro clínico severo: Se presenta en accidentes por mordeduras de serpientes en la región cefálica del individuo o cuando han transcurrido más de doce horas. Se observa dolor severo, daño tisular (mionecrosis, dermonecrosis y hemorragias), edema que se extiende a zonas lejanas del sitio de inoculación, postración del individuo, así como la presencia de infecciones secundarias (celulitis

o abscesos). A nivel sistémico, se presentan alteraciones hemostáticas relacionadas con la coagulopatía por la acción de las toxinas procoagulantes y hemorragia (hemoptisis, sangrado digestivo y hematoquecia), lesión renal aguda, insuficiencia cardiovascular, shock hipovolémico y muerte.

Figura 1

Principales signos clínicos en caso de envenenamiento por mordedura de serpientes con relación al tiempo



Nota. Imagen por *Awapa Biotech S.A.* Resumiendo el trabajo de Rodríguez et al., 2016.

2.1.4 Diagnóstico

La historia clínica y anamnesis del individuo son un método de diagnóstico inicial, localizando las marcas de los colmillos en el sitio de la mordedura (se observan como dos heridas punzantes), el tiempo transcurrido, el tipo de serpiente (de ser posible), la sintomatología de envenenamiento y si se le ha aplicado algún tratamiento previamente. Además, la valoración de los signos vitales sirve para categorizar el estado clínico del paciente (Lomonte, 2012).

La prueba de coagulación se realiza tomando una muestra de sangre del animal (vena yugular o coccígea) en un tubo sin aditivo (tapa roja); luego, se debe colocar en una superficie plana y esperar la formación del coágulo. En un animal que no presente envenenamiento por mordedura de serpiente, la formación del coágulo debe ocurrir entre 5 y 15 minutos posteriores a la extracción de la muestra, mientras que, en un animal afectado por veneno de serpiente, luego de 30 minutos no hay presencia de coágulo, siendo este resultado una señal positiva y alerta para implementar una terapia antiofídica (Rodríguez et al., 2016; Kumar et al., 2022).

2.1.5 Tratamiento

Se deben evitar medidas inadecuadas como el uso de torniquetes (riesgo de síndrome compartimental), la aplicación de hielo en el sitio de la mordedura (que acelera la propagación del veneno en individuos hipotérmicos) o la realización de incisiones (riesgo de infecciones secundarias). El tratamiento tardío puede resultar fatal, especialmente después de seis horas de la mordedura de la serpiente, por lo que se recomienda la atención pronta y la aplicación del suero antiofídico lo antes posible (Saluba et al., 2021).

Al revisar al paciente, se debe descartar una mordedura seca (sin inoculación de veneno por parte de una serpiente venenosa o mordedura de una serpiente no venenosa), la cual se detecta por la ausencia de signos y síntomas locales y sistémicos durante un periodo de observación de doce horas (Muniz et al., 2023; Pucca et al., 2020).

Sin embargo, si se manifiestan clínicamente los efectos de envenenamiento ofídico, se procede a la aplicación del suero antiofídico y se valora la eficacia del tratamiento o la progresión de los síntomas. Por ello, es de suma importancia la asepsia del sitio de la mordedura, así como delimitar la extensión de la lesión, con el fin de comprobar la eficacia del tratamiento (Rojas et al., 2013; Pucca et al., 2020).

Además, es importante tomar en consideración que la inoculación del antiveneno no es el único tratamiento; se debe aplicar una terapia de soporte al animal que incluye: fluidoterapia, analgesia, diurético, antitetánico, limpieza y desinfección de la herida (áreas con necrosis), con la finalidad de evitar una descompensación del paciente y asegurar su adecuada recuperación y supervivencia (Saluba et al., 2021).

2.2 Suero antiofídico polivalente veterinario

El suero PoliVet-ICP es una preparación de inmunoglobulinas G (IgG) equinas capaces de reconocer las toxinas del veneno de serpientes pertenecientes a la familia Viperidae de Costa Rica, neutralizando su capacidad de producir daño (principalmente a nivel sistémico). Actúa contra mordeduras de las serpientes *Bothrops asper* (terciopelo), *Crotalus simus* (cascabel) y *Lachesis stenophrys* (cascabel muda o matabuey) (Instituto Clodomiro Picado [ICP], 2016).

2.2.1 Producción del suero antiofídico

El antiveneno PoliVet-ICP se produce a través de la inmunización activa de equinos adultos sanos, quienes son inoculados con una mezcla de partes iguales

de los venenos de las serpientes terciopelo, cascabel y matabuey (Sánchez et al., 2020).

El esquema de inmunización para equinos que no han sido inoculados con veneno se basa en inoculaciones subcutáneas con cantidades crecientes, que han sido mezcladas con coadyuvantes inmunológicos (Fox et al., 2023). Normalmente, las dosis son aplicadas a intervalos de 10 a 15 días y, con muy pocas excepciones, no superan los 5 mg de veneno (León et al., 2018; Solano et al., 2018).

La respuesta inmune de los equinos llega a su punto más alto entre los 100 y 130 días desde el inicio de la inmunización, teniendo un descenso posteriormente. Esto implica determinar minuciosamente el desarrollo del título de anticuerpos neutralizantes para detectar el momento óptimo en que efectuar el sangrado de los equinos, con el fin de obtener la mayor cantidad de IgG (León et al., 2018).

El fraccionamiento posterior del plasma equino se lleva a cabo por medio de la precipitación de las IgG, mediante la adición de ácido caprílico (Rojas et al., 1994). En el Instituto Clodomiro Picado se elabora suero antiofídico compuesto por IgG completas y pequeñas cantidades de proteínas séricas como albúmina, alfa-globulinas y beta-globulinas. Una vez producido, el suero se somete a un control de calidad siguiendo estipulaciones internacionales (León et al., 2018; Fox et al., 2023).

2.2.2 Capacidad neutralizante del suero antiveneno

Los venenos inducen una compleja serie de efectos fisiopatológicos a nivel local como mionecrosis, hemorragia y edema, que se desencadenan pocos minutos después de la mordedura. Luego aparecen efectos sistémicos como hemorragia generalizada, alteraciones en la coagulación, choque cardiovascular e insuficiencia renal (Camacho et al., 2023).

Se realizaron estudios posteriores para analizar el efecto del suero polivalente, en los que se evaluó la capacidad neutralizante de estos efectos locales y sistémicos. Se encontró que neutraliza los efectos coagulantes, fibrinolíticos, fibrinogenolíticos, hemorragia, necrosis y edema generados por el veneno de la serpiente *Bothrops asper* (tabla 2) (Camacho et al., 2023).

Tabla 2

Capacidad neutralizante del suero antiofídico hacia diferentes actividades tóxicas y enzimáticas del veneno de la serpiente terciopelo (Bothrops asper).

Actividad	Capacidad neutralizante (dosis efectiva 50%)
Hialuronidasa	2 µL suero/mg de veneno
Proteolítica	90 µL suero/mg de veneno
Hemorrágica	135 µL suero/mg de veneno
Fibrinolítica	278 µL suero/mg de veneno
Coagulante	293 µL suero/mg de veneno
Letal	333 µL suero/mg de veneno
Edematígena	460 µL suero/mg de veneno
Desfibrinante	600 µL suero/mg de veneno
Miotóxica	900 µL suero/mg de veneno

Nota. Adaptado de *El suero antiofídico polivalente producido en Costa Rica: estabilidad y capacidad neutralizante* (p. 165), por Gutiérrez et al., 1988, Revista costarricense de ciencias médicas.

2.2.3 Farmacocinética del antiveneno

La farmacocinética de un fármaco abarca el mecanismo de absorción (oral o parenteral), distribución en el organismo (que dependerá de las características químicas del producto y factores fisiológicos del individuo), metabolismo (biotransformación del fármaco en metabolitos para facilitar la excreción) y excreción (renal o biliar) (Rial et al., 2006).

En el caso del suero antiofídico PoliVet-ICP, cuya administración es principalmente IV (aunque también se aplica de manera IM y subcutánea), se

distribuye vía sanguínea y su metabolismo ocurre a nivel hepático (Gutiérrez et al., 2003)

2.2.3.1 Parámetros farmacocinéticos

Los parámetros farmacocinéticos permiten analizar el comportamiento de un fármaco y/o sus metabolitos dentro del organismo, donde su valor dependerá de las propiedades fisicoquímicas del fármaco y de los procesos fisiológicos involucrados (Rial et al., 2006).

El análisis de los parámetros farmacocinéticos se basa en la prueba ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés), mediante la cual se cuantifican los niveles de anticuerpos en el suero sanguíneo (Sadat et al., 2022). Esta técnica de laboratorio consiste en la detección de anticuerpos a través de un antígeno enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como por ejemplo un cambio de coloración, que permite la medición de los anticuerpos mediante espectrofotometría (Rial et al., 2006).

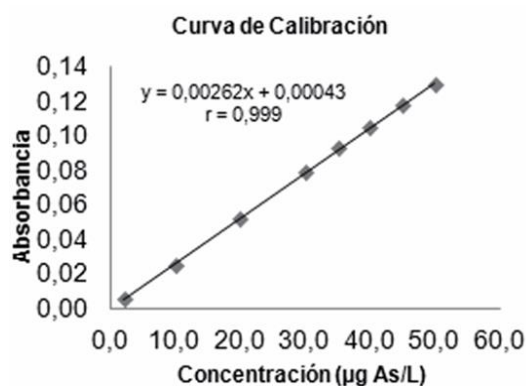
La espectrofotometría es una técnica analítica utilizada para medir la cantidad de luz que absorbe una sustancia química, lo que posibilita determinar diferentes parámetros de una sustancia, como composición química cuantitativa y/o cualitativa, color, absorbancia, entre otros (Abma et al., 2022; Moreau et al., 2022).

La curva de calibración se utiliza en métodos analíticos cuantitativos, estableciendo el rango de trabajo para determinar la concentración de un analito en una muestra desconocida. Este método se basa en la relación proporcional

entre la concentración y una determinada señal analítica (absorbancia), para lo cual es necesario preparar diferentes patrones a distintas concentraciones del analito y medir sus absorbancias, para luego representar esta relación en una gráfica lineal (Figura 2) (Yuan et al., 2020).

Figura 2

Ejemplo de curva de calibración



Nota. Tomado de *Cuantificación de arsénico por absorción atómica en termoformados y películas flexibles biodegradables* (p. 161), por Alvira et al., 2012, Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial

El área debajo de la curva (AUC, por sus siglas en inglés) corresponde a la concentración plasmática de un fármaco frente a un intervalo de tiempo definido y se utiliza para cuantificar la absorción de la sustancia hacia la circulación sistémica (Chakrabarti et al., 2021). Además, por medio de esta gráfica, se evalúan parámetros farmacocinéticos de un producto; según Vásquez et al. (2013), son:

- **Concentración máxima:** Concentración máxima plasmática que se alcanza tras la administración de un medicamento.

- **Tiempo máximo:** Momento en el que el fármaco alcanza su concentración máxima en sangre, expresado en minutos.
- **Tiempo de distribución:** Es el tiempo que dura el fármaco en llegar al torrente sanguíneo y de ahí a otros órganos del cuerpo.
- **Volumen de distribución:** Es la proporción entre la dosis administrada del fármaco y su concentración plasmática.

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación

El análisis experimental del proyecto se realizó en la Universidad Técnica Nacional, sede Atenas, en la unidad de bovinos de carne, y el análisis laboratorial de las muestras sanguíneas se llevó a cabo en el Laboratorio de Control de Calidad del Instituto Clodomiro Picado, ubicado en Dulce Nombre de Coronado.

La Universidad Técnica Nacional, sede Atenas, está localizada en las coordenadas geográficas 9°56'20.65" N y 84°22'16.02" O, con una altitud de 536 msnm. El clima presente en la zona se categoriza como bosque seco tropical, con precipitaciones anuales que rondan los 1200 mm y una temperatura promedio de 25 °C. La estación seca tiene una duración aproximada de seis meses, abarcando desde noviembre hasta abril (Instituto Meteorológico Nacional, 2023).

El Instituto Clodomiro Picado se localiza en Dulce Nombre de Coronado, provincia de San José, en las coordenadas geográficas 9°58'59" N y 84°00'48" O, con una altitud de 1670 msnm. En esta zona, la estación seca es corta, calurosa y nublada, mientras que la estación lluviosa es larga, húmeda y nublada, con una temperatura que varía entre 19 °C y 29 °C, rara vez descendiendo por debajo de 17 °C (Instituto Meteorológico Nacional, 2023).

3.2 Muestra

Para la presente investigación se utilizó un total de 14 bovinos, distribuidos en dos grupos de siete individuos cada uno. Para el cálculo de la población total objeto de estudio se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z - score)^2 * (SD)^2}{(d)^2}$$

Donde el Z-score son los límites de confianza, SD la desviación estándar y d es el error asignado por el investigador (García et al., 2013). Al aplicar los datos propios para la realización del trabajo, se obtiene el siguiente resultado:

$$n = \frac{(1,96)^2 * (15)^2}{(10)^2} = 8,64 \text{ animales}$$

3.2.1 Criterios de inclusión

Se consideraron dentro del presente proyecto animales del mismo sexo y raza, con edades entre 2 y 5 años, un peso entre 250 y 650 kg, y una condición corporal con un puntaje de 2,75 a 4.

3.2.2 Criterios de exclusión

No se consideraron parte de la muestra animales que contaran con un historial de aplicación previa de antiveneno PoliVet-ICP antes de la realización del proyecto.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Revisión de los animales

Inicialmente se realizó la recopilación de información sobre el historial clínico y el examen objetivo general de cada uno de los bovinos objeto de estudio, con el fin de verificar que cumplieran con los criterios de inclusión considerados en la presente investigación.

3.3.2 Grupos objeto de estudio

Se seleccionaron 14 individuos del hato bovino de carne, basados en los criterios de inclusión. Posteriormente, los animales fueron divididos en dos grupos de siete miembros cada uno. La selección se realizó al azar, donde los animales del grupo 1 fueron inoculados vía IV y los pertenecientes al grupo 2, vía IM, con la dosis estudiada del antiveneno PoliVet-ICP.

3.3.3 Inoculación del antiveneno

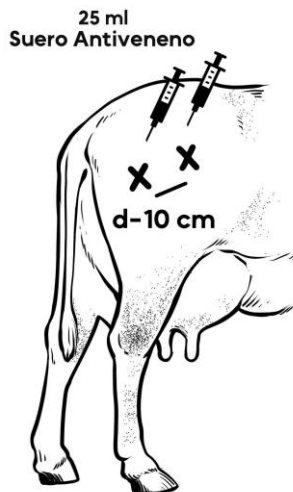
Se realizó la inoculación de los animales de los grupos 1 y 2 con un volumen total de 100 mL de antiveneno (PoliVet-ICP), de acuerdo con la vía de aplicación IV e IM. Para ello, se efectuó la asepsia del área anatómica elegida para la administración del fármaco, con el fin de evitar la contaminación o entrada de agentes patógenos.

En el grupo 1 (inoculación IV) se utilizó la vena yugular para administrar los 100 mL de antiveneno mediante la colocación de una aguja calibre 14, acoplada a cuatro jeringas con 25 mL de suero antiofídico cada una, inmovilizando a los animales en la prensa ganadera para facilitar la exposición del área del cuello.

Para el grupo 2 (inoculación IM), la dosis del suero fue administrada en ambos glúteos, específicamente 50 mL en cada uno, divididos en dos puntos (A y B), aplicando 25 mL en cada punto y manteniendo una distancia aproximada de 10 cm entre ellos (equivalente a la palma de la mano), con la finalidad de favorecer la absorción del fármaco (Figura 3).

Figura 3

Representación gráfica de la zona de inoculación con el antiveneno PoliVet-ICP en el glúteo de bovino



3.3.4 Recolección de muestras de sangre

Se recolectaron las muestras de sangre de los siete individuos de cada uno de los grupos objeto de estudio, previo a la aplicación del antiveneno, registrando este valor dentro del tiempo correspondiente a los cero minutos. Posterior a la inoculación de los individuos de cada uno de los grupos, se procedió a tomar muestras de sangre a lo largo del tiempo, específicamente a los 30 minutos; a la 1, 3 y 6 horas; así como a los 1, 7, 9, 14 y 28 días para cada uno de los animales.

La toma de las muestras sanguíneas se realizó de la vena coccígea, de los 14 animales en estudio, a través de vacutainer y tubos sin aditivo (tapa roja). Una vez que la muestra se encontró en su respectivo tubo, se procedió a esperar la coagulación de la sangre, para lo cual se colocó la muestra en una superficie plana, sin movimiento y a temperatura ambiente hasta que se produjo la formación del

coágulo. Esto permitió la separación de la fórmula roja de la fórmula blanca (suero) de la sangre. Luego se refrigeró hasta el momento de su procesamiento, el cual consistió en la centrifugación a 3000 rpm durante 15 minutos en una centrífuga de mesa (Centrifuge 5424R, Eppendorf).

El suero sobrenadante de las muestras sanguíneas fue recolectado con una pipeta Pasteur y colocado en viales de plástico (Eppendorf) con capacidad para 2 mL. Las muestras de suero fueron conservadas en congelación (-20 °C) hasta el día de la medición de los anticuerpos.

3.3.4 Medición de la concentración plasmática de anticuerpos IgG

La medición de la concentración de anticuerpos se realizó por medio de la técnica ELISA.

En placas de poliestireno de 96 pozos, se procedió a recubrir cada uno de los pozos con el antígeno, en este caso el veneno de la serpiente terciopelo, al que se agregaron 100 µL de PBS que contenían 3 µg del veneno. Seguidamente, se dejó reposar las placas durante toda la noche (aproximadamente 14 horas) a temperatura ambiente.

Al día siguiente, se procedió al lavado de las placas con agua destilada, eliminando el exceso de agua entre cada lavado. Después se realizaron diluciones de las muestras (suero de cada animal recolectado a diferentes tiempos) con PBS-albúmina bovina al 2 % (BSA). Una vez elaboradas las diluciones, se agregaron 100 µL a cada uno de los pozos.

Las placas fueron incubadas durante 1 hora a temperatura ambiente. Después se procedió nuevamente al lavado de las placas con agua destilada en cinco ocasiones, eliminando el exceso de agua en el último lavado. Luego se secaron las placas sobre papel filtro.

A cada pozo se le agregó 100 μ L de una dilución 1/5000 de IgG de cabra anti-IgG bovina conjugada con peroxidasa; se incubaron las placas durante 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizó un último lavado de las placas.

Se adicionó peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y o-fenilendiamina para desarrollar el color de las muestras. Después se añadieron 50 μ L de HCl 1 M, con el fin de detener la coloración de las muestras. Seguidamente, se realizó la medición de la absorbancia, la cual fue registrada a 492 nm mediante un espectrofotómetro para placas de 96 pozos (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific).

La concentración de anticuerpos en las muestras se calculó por interpolación de las absorbancias en una curva de calibración. Para la elaboración de esta curva, construida con 8 patrones, se usaron diluciones del antiveneno PoliVet-ICP: 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/4000, 1/8000, 1/16000, 1/32000 y 1/64000.

En una hoja de cálculo se colocaron los valores de concentración y absorbancia de cada patrón utilizado, para obtener la ecuación de la curva de calibración. Se utilizó una ecuación lineal ($y = mx + b$), donde “y” es la absorbancia de las muestras sanguíneas de los animales objeto de estudio y “x” es la incógnita, es decir, la concentración de anticuerpos IgG de las muestras sanguíneas, dato a

determinar. Para calcular la concentración de anticuerpos antiveneno de cada animal, se utilizó la fórmula $x = (y - b)/m$, donde el valor de “y” es sustituido por la absorbancia obtenida en cada uno de los bovinos mencionados.

Luego de determinar la concentración sérica de anticuerpos antiveneno a lo largo del tiempo, se procedió a realizar una curva concentración/tiempo, que fue graficada mediante el programa Microsoft Office Excel. En una hoja de cálculo se colocaron los datos de concentración de anticuerpos antiveneno (IgG) y el tiempo en que fue recolectada la muestra sanguínea del individuo en estudio, obteniendo de esta manera la gráfica de la curva.

3.3.5 Cálculo de parámetros farmacocinéticos

La concentración máxima, tiempo de distribución y el área bajo la curva se obtuvieron a partir de la gráfica de concentración de anticuerpos antiveneno a través del tiempo para las vías IM (IM) e IV (IV).

Además, la constante de eliminación se calculó a partir de datos en la fase de eliminación de la curva concentración/tiempo. Para ello, se seleccionaron dos puntos de la fase terminal (fase de eliminación) para aplicar la siguiente ecuación:

$$K_{el}: \frac{\ln(C_1) - \ln(C_2)}{t_2 - t_1}$$

Donde C_1 y C_2 son las concentraciones plasmáticas de antiveneno en los tiempos t_1 y t_2 , respectivamente.

La vida media se calculó con base en la constante de eliminación mediante la siguiente fórmula:

$$t_{1/2}: \frac{0.693}{K_{el}}$$

El tiempo de residencia media (TMR) se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{TMR}: \frac{AUMC}{AUC}$$

El volumen de distribución se calculó dividiendo la dosis administrada del suero antiveneno entre la concentración máxima de anticuerpos antiveneno obtenida en cada vía de administración.

3.3.6 Determinación de la dosis IM teórica

La determinación de la dosis IM teórica se realizó por medio de la fórmula de dosis ajustada, que relaciona la farmacocinética de la administración IM e IV, calculada mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Dosis ajustada} = \frac{AUC\ IV \times 100mL}{AUC\ IM}$$

3.4 Análisis de datos y métodos estadísticos

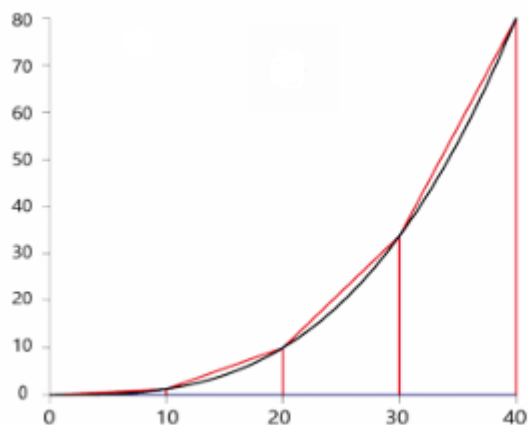
El cálculo del área bajo la curva se realizó mediante la suma de Riemann por aproximación trapezoidal, método que consiste en aproximar el área mediante trapecios de forma que los dos vértices superiores de cada trapecio tocan la curva (Figura 4).

Luego se elaboró una tabla con los valores de “x” y “y” que se relacionaron con los trapecios trazados. En la fórmula $((y_1 + y_2) \times (x_2 - x_1)) / 2$, los valores de “x” y “y” fueron sustituidos por los datos de la tabla, obteniendo así el área de cada

trapecio; finalmente, se sumaron todos los valores para obtener el área bajo la curva.

Figura 4

Ejemplo de cálculo de área bajo la curva de aproximación trapezoidal

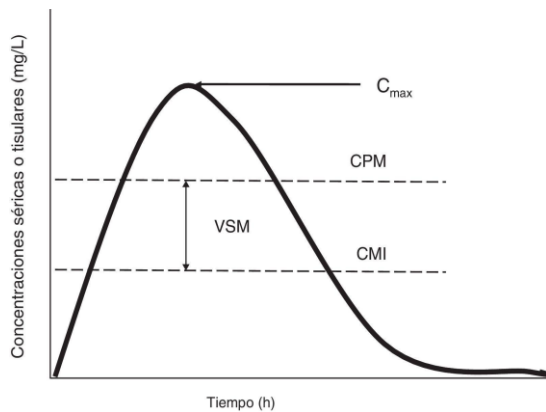


Nota. Tomado de *Cálculo del área bajo una curva: la suma de Riemann* (p. 3), por P. Talens, 2014, Universidad Politécnica de Valencia.

Por otro lado, el valor de la concentración máxima del fármaco se midió a través del gráfico de la curva concentración/tiempo, en donde el valor máximo obtenido en el eje “y” de la gráfica corresponde al valor de dicho parámetro (Figura 5).

Figura 5

Ejemplo de concentración máxima de un fármaco



Nota. Tomado de *Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano* (p. 50), por Canut et al., 2015, ElSevier.

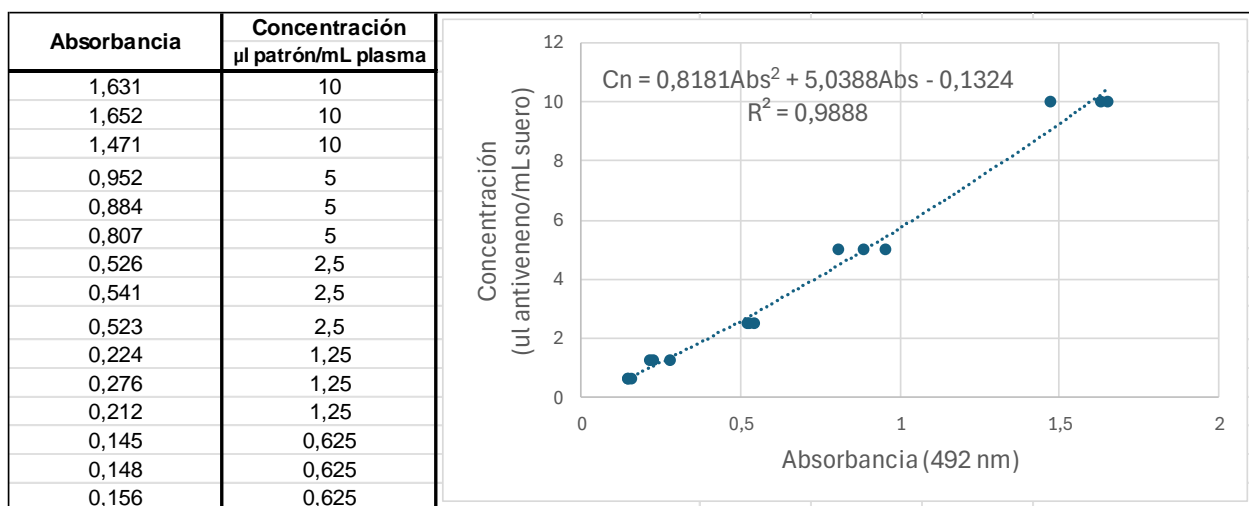
La significancia estadística en los valores determinados en ambos grupos fue evaluada mediante una prueba t de muestras independientes, considerando valores de 0,05 como significativamente diferentes.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

La concentración de anticuerpos anti-veneno en el suero de los bovinos tratados fue determinada en muestras recolectadas a diferentes tiempos, luego de la administración del antiveneno, mediante la técnica ELISA. En cada placa de ELISA se analizó una serie de patrones de concentración conocida, formulados con el mismo lote de antiveneno que fue administrado a los animales. Al graficar la concentración de estos patrones con la absorbancia obtenida para cada uno de ellos, se pudo construir una curva de calibración para cada placa. Un ejemplo de curva de calibración se muestra a continuación:

Figura 6

Ejemplo de curva de calibración que relaciona la concentración de antiveneno con la absorbancia obtenida por ELISA de suero de bovinos tratados



La interpolación de las absorbancias de las muestras en la curva de calibración correspondiente permitió el cálculo de la concentración de antiveneno en cada muestra. Los resultados obtenidos se resumen en las siguientes tablas:

Tabla 3

Concentración de antiveneno ofídico en el suero de bovinos inoculados por la vía IV

Tiempo (h)	Concentración de antiveneno (mL antiveneno/mL suero)						
	Número de vaca						
	2011	2129	59010	2203	2148	2090	2038
0	---	1,0 ± 0,1	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,6 ± 0,0	---
0,5	49,5 ± 0,5	---	32,3 ± 0,1	23,0 ± 0,2	---	31,6 ± 0,1	29,4 ± 0,2
1	46,3 ± 0,4	---	27,8 ± 0,3	14,8 ± 0,1	---	27,8 ± 0,3	27,9 ± 0,1
3	---	---	14,1 ± 0,1	14,5 ± 0,3	---	18,7 ± 0,1	14,7 ± 0,1
6	54,8 ± 0,7	---	48,8 ± 0,1	45,9 ± 0,0	13,6 ± 0,2	40,1 ± 0,2	44,5 ± 0,3
24	29,0 ± 0,2	---	60,8 ± 0,3	59,7 ± 0,1	68,2 ± 0,3	24,5 ± 0,3	63,0 ± 0,2
168	31,7 ± 1,0	14,7 ± 0,3	20,6 ± 0,2	22,6 ± 0,4	11,9 ± 0,2	19,2 ± 0,1	21,3 ± 0,2
336	20,2 ± 0,0	6,9 ± 0,1	12,0 ± 0,0	19,0 ± 0,2	16,4 ± 0,3	10,8 ± 0,0	---
672	9,8 ± 0,2	---	4,4 ± 0,0	---	10,1 ± 0,1	3,4 ± 0,0	---

*La indicación “---” corresponde a muestras que no pudieron ser analizadas por ser escasas o estar hemolizadas.

Tabla 4

Concentración de antiveneno ofídico en el suero de bovinos inoculados por la vía IM

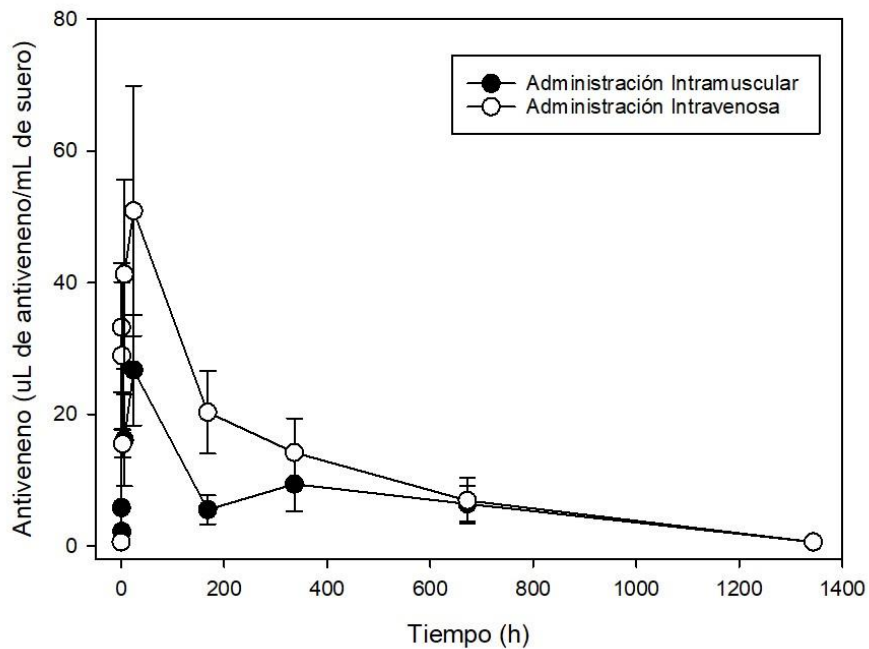
Tiempo (h)	Concentración de antiveneno (mL antiveneno/mL suero)						
	Número de vaca						
	2054	2181	2151	2114	2143	2003	2204
0	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	---	0,6 ± 0,0	---
0,5	---	---	---	---	---	5,8 ± 0,1	---
1	---	---	---	---	---	2,2 ± 1,1	---
3	---	---	---	---	---	---	---
6	5,2 ± 0,4	18,0 ± 0,2	15,8 ± 0,4	25,0 ± 3,4	14,0 ± 0,5	10,8 ± 0,2	24,0 ± 0,2
24	12,6 ± 0,1	23,4 ± 0,3	25,5 ± 0,3	22,7 ± 0,7	30,2 ± 0,1	35,9 ± 1,0	36,6 ± 0,3
168	4,2 ± 0,1	7,0 ± 0,1	9,7 ± 0,1	3,1 ± 0,1	4,3 ± 0,1	5,4 ± 0,1	4,9 ± 0,0
336	4,8 ± 0,0	11,6 ± 0,1	13,1 ± 0,3	5,7 ± 0,2	7,3 ± 0,1	16,0 ± 0,1	7,3 ± 0,2
672	---	7,2 ± 0,1	8,6 ± 0,2	---	---	---	3,4 ± 0,0

* La indicación “---” corresponde a muestras que no pudieron ser analizadas por

ser escasas o estar hemolizadas.

Figura 7

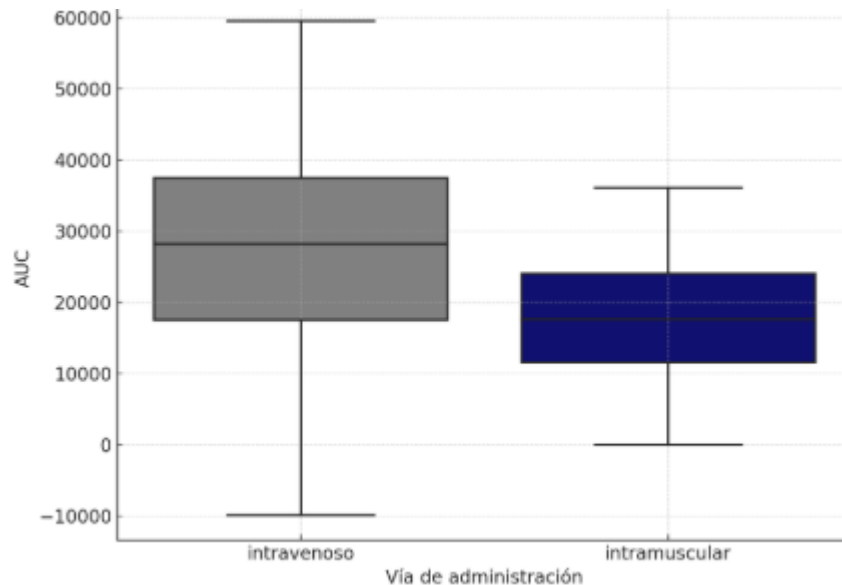
Curva de concentración de anticuerpos anti-veneno en función del tiempo en el suero de bovinos a los que se administró PoliVet-ICP por la vía IM y la vía IV



La $C_{n_{max}}$ y t_{max} fueron inferidos gráficamente a partir de los promedios de las concentraciones séricas de antiveneno en cada grupo de animales a lo largo del tiempo (Figura 7). Puede observarse que, cuando el antiveneno es administrado por vía IV, alcanza un valor de $C_{n_{max}}$ significativamente mayor que cuando es administrado por vía IM ($t = 6,183$; $gl = 11$; $p = 0,000$). Sin embargo, con ambas vías de administración, el t_{max} es de 24 h ($t = -0,767$; $gl = 11$; $p = 0,459$).

Figura 8

Comparación del AUC obtenidas de los bovinos tratados por ambas vías de administración



Según la Figura 8, se observa que la media y la mediana son más altas en la vía IV en comparación con la vía IM. Esto sugiere que existe una mayor exposición del fármaco en el cuerpo de los animales tratados por la vía IV. Por otro lado, se visualiza que el tamaño de la caja de la vía IV es mayor en altura y anchura, lo que da a entender que existe una mayor variabilidad entre los valores del AUC, mientras que en la vía IM se presenta una menor dispersión de los valores, lo que indica que los bovinos respondieron de forma más consistente a la dosis administrada del suero PoliVet-ICP.

Por otra parte, con las concentraciones disponibles, se procedió a calcular los parámetros farmacocinéticos de cada animal, según lo descrito en la sección

de Materiales y Métodos. Los parámetros obtenidos se resumen en Las siguientes tablas:

Tabla 5

Parámetros farmacocinéticos del antiveneno PoliVet-ICP administrado en bovinos por la vía IV

Animal	K_{el}	t_½	TMR	Vd
2011	0,002	330	429	3,4
2129	0,002	289	179	---
59010	0,003	231	84	1,6
2203	0,003	210	272	1,7
2148	0,005	139	115	1,5
2090	0,003	239	106	4,1
2038	0,057	12	51	1,6
Promedio	0,011	207	177	2,0
DE	0,020	104	133	5,3

*DE: Desviación estándar

Tabla 6

Parámetros farmacocinéticos del antiveneno PoliVet-ICP administrado en bovinos por la vía IM

Animal	K_{el}	t_½	TMR	Vd
2054	0,002	330	242	7,9
2181	0,003	248	99	4,3
2151	0,003	231	169	3,9
2114	0,003	239	152	4,4
2143	0,005	150	142	3,3
2003	0,003	224	179	2,8
2204	0,004	192	129	2,7
Promedio	0,003	231	159	3,8
DE	0,001	55	45	11,9

*DE: Desviación estándar

Las diferencias entre los parámetros farmacocinéticos calculados para ambos grupos de vacas, en los que se utilizaron diferentes vías de administración, no fueron significativas: K_{el} ($t = 0,961$; $gl = 12$; $p = 0,356$), $t_{1/2}$ ($t = -0,523$; $gl = 12$; $p = 0,611$) y MRT ($t = 0,334$; $gl = 12$; $p = 0,744$). Sin embargo, con el volumen de distribución sí se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa: V_d ($t = 2,3$; $gl = 10,3$; $p = 0,04$).

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Los antivenenos están formulados con inmunoglobulinas de origen equino que reaccionan contra las diferentes toxinas de los venenos de serpiente y neutralizan su capacidad para producir efectos tóxicos. Cuando se administran al ganado vacuno por vía IM, estos anticuerpos quedan depositados en el intersticio tisular. A partir de allí, inician un trayecto por vía linfática hasta ser drenados en el sistema venoso a través del conducto torácico.

Conforme los anticuerpos equinos van llegando a la sangre, su concentración en suero se incrementa hasta alcanzar un valor máximo, es decir, su C_{nmax} . Según Gutiérrez et al. (2003), la absorción del suero antiveneno se ve afectada por la vía de administración y la dosis, por lo cual se ve modificado el valor de la C_{nmax} . Siendo que ambos grupos de bovinos recibieron la misma dosis de antiveneno (i.e., 100 mL), esta variable no debería aportar a las diferencias encontradas en los valores de C_{nmax} en ambos grupos de animales. Consecuentemente, la diferencia significativa en la C_{nmax} entre ambos grupos de vacas solo puede explicarse por la variación en la vía de administración.

Durante su trayecto desde el intersticio tisular hasta la sangre, muchos de los anticuerpos equinos administrados por vía IM se pierden al interactuar con los diferentes tejidos que encuentran a su paso. Por lo tanto, solo una fracción del antiveneno administrado alcanza el compartimento vascular, en un proceso conocido como absorción. En contraste, cuando se utiliza la administración por vía IV, la totalidad del antiveneno llega instantáneamente al torrente sanguíneo sin sufrir pérdidas. Consecuentemente, no es de extrañar que el valor de C_{nmax} fuera

significativamente mayor cuando el antiveneno fue administrado por vía IV que cuando se utilizó la vía IM (C_{nmax} IM: $27 \pm 8 \mu\text{L}$ de antiveneno/mL; C_{nmax} IV: $51 \pm 19 \mu\text{L}$ de antiveneno/mL). La diferencia significativa de $24 \mu\text{L}$ sugiere que el antiveneno es más eficaz cuando se administra por vía IV que cuando se administra por vía IM.

Según Gutiérrez et al. (2003), la dosis y la vía de administración son los dos factores que más afectan el tiempo que tardan los antivenenos en alcanzar su concentración máxima (i.e., t_{max}). Una vez más, siendo que ambos grupos de animales recibieron la misma dosis, esta variable no debería contribuir significativamente a las diferencias en los valores de t_{max} ; por lo tanto, las diferencias en el valor de este parámetro farmacocinético se deberían a las diferencias en la vía de administración. Dado que el trayecto que deben recorrer los anticuerpos equinos para llegar al torrente sanguíneo es más largo cuando se administran por vía IM que cuando se administran por vía IV, el pronóstico era que el valor de t_{max} sería menor en los animales que recibieron el antiveneno por vía IV. Sin embargo, contrario a lo esperado, las diferencias encontradas en los valores de t_{max} no fueron significativas, ya que en ambas vías de administración el t_{max} fue de 24 horas. Hace falta un estudio más profundo para llegar a una explicación de esta discrepancia entre el pronóstico esperado y el resultado obtenido.

La constante de eliminación (K_{el}) es un parámetro que describe la velocidad a la que un fármaco se elimina del cuerpo y está determinada principalmente por los procesos de metabolismo y excreción, los cuales son independientes de cómo se administra el fármaco. Por lo tanto, el hecho de que los valores de K_{el} entre

ambos grupos no fueran estadísticamente significativos se alinea con el pronóstico hecho a partir del conocimiento teórico existente (Gutiérrez et al., 2003).

Por otro lado, la vida media de un fármaco (i.e., $t_{1/2}$) es el tiempo que tarda la concentración plasmática de un medicamento en reducirse a la mitad de su valor inicial después de alcanzar su C_{nmax} . Este parámetro es de suma importancia en farmacocinética porque ayuda a determinar la frecuencia y la dosis de administración de un medicamento. Un fármaco con una vida media corta puede necesitar administrarse con mayor frecuencia para mantener niveles terapéuticos, mientras que un fármaco con una vida media larga puede administrarse con menos frecuencia.

Teóricamente, la $t_{1/2}$ de un antiveneno se ve afectada por los procesos de absorción (i.e., la velocidad y la cantidad de fármaco que entra en el torrente sanguíneo), distribución (i.e., cómo se distribuye el fármaco en los diferentes tejidos y fluidos corporales), y eliminación (i.e., la velocidad a la que los anticuerpos equinos son eliminados del cuerpo, principalmente por metabolismo hepático). Ya que todos estos procesos se ven afectados por la vía de administración, el pronóstico era encontrar diferencias significativas en los valores de $t_{1/2}$ entre ambos grupos de vacas. En contraste, los valores de $t_{1/2}$ no fueron significativamente diferentes.

El tiempo de residencia media (TMR), también conocido como MRT (*Mean Residence Time*), es un parámetro farmacocinético que representa el tiempo promedio que una molécula de un fármaco permanece en el cuerpo antes de ser eliminada. Este concepto se basa en la teoría de los momentos estadísticos y

considera el movimiento aleatorio de las moléculas del fármaco a través del organismo. El TMR se calcula como la relación entre el área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC) y el área bajo la curva de concentración-tiempo multiplicada por el tiempo (AUMC). En términos simples, el TMR proporciona una medida del tiempo que, en promedio, una molécula de fármaco pasa en el cuerpo desde su administración hasta su eliminación. Teóricamente, la vía de administración puede afectar el valor de TMR. Sin embargo, los resultados obtenidos en los experimentos indican que el TMR no fue afectado significativamente por la diferencia en la vía de administración (Gutiérrez et al., 2003).

El TMR generalmente no es dependiente de la dosis en condiciones de farmacocinética lineal, donde los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción siguen una cinética de primer orden. En estos casos, los parámetros farmacocinéticos, incluido el TMR, permanecen constantes independientemente de la dosis administrada.

El volumen de distribución por la vía IM es mayor que por la vía IV, lo que indica que el suero antiveneno está más disponible durante más tiempo, con una difusión más amplia en tejidos que a nivel sanguíneo.

Finalmente, el AUC es un parámetro farmacocinético importante porque proporciona información sobre cuánto del fármaco ha sido absorbido en el torrente sanguíneo (i.e., absorción), la fracción del fármaco administrado que alcanza la circulación sistémica en su forma activa (i.e., biodisponibilidad), y la dosis

adecuada para alcanzar niveles terapéuticos sin causar toxicidad (i.e., eficacia y seguridad).

El área bajo la curva es 1,5 veces mayor cuando el antiveneno se administra por vía IV que cuando se administra por vía IM. Esto quiere decir que la cantidad de antiveneno que alcanza el compartimento central cuando se administra por vía IM es aproximadamente el 66 % de la que se alcanza cuando se administra por vía IV.

Aplicando la fórmula de la dosis ajustada se tiene:

$$\text{Dosis ajustada: } \frac{26838 \times 100\text{ml}}{17413} = 137 \text{ mL}$$

Por lo cual, se requieren 14 viales de antiveneno administrados por vía IM, lo que equivale a 10 viales administrados por vía IV.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

Se concluye que, cuando el antiveneno PoliVet-ICP es administrado a bovinos utilizando la vía IM, deben aplicarse 14 viales, a diferencia de la vía IV, para la cual se recomiendan 10 viales según el fabricante. Este ajuste se basa en las diferencias de biodisponibilidad observadas entre ambas vías de administración.

La vía IV presentó una biodisponibilidad significativamente mayor, evidenciada por una C_{max} más alta de anticuerpos en el suero en comparación con la vía IM. Esto indica que la vía IV permite una llegada más eficiente del antiveneno al torrente sanguíneo.

Se concluye que, a pesar de las diferencias esperadas, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima entre ambas vías de administración, lo que sugiere que la absorción del antiveneno aplicado por vía IM ocurre de manera progresiva, pero efectiva.

Los parámetros farmacocinéticos, como la constante de eliminación, la vida media y el tiempo de residencia media, no mostraron diferencias significativas entre las vías IM e IV, lo que sugiere un comportamiento farmacocinético similar una vez que el antiveneno alcanza la circulación sistémica.

Se evidenció una diferencia significativa en el volumen de distribución entre ambas vías de administración, siendo mayor en la vía IM, lo que indica una

distribución más amplia del antiveneno en los tejidos corporales en comparación con la vía IV.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar ensayos clínicos adicionales que permitan comprobar la efectividad terapéutica de los 14 viales del suero antiveneno PoliVet-ICP por vía IM en casos de mordedura de serpiente terciopelo (*Bothrops asper*) en ganado bovino. Esto brindaría la evidencia necesaria para validar su inclusión oficial en el prospecto del producto.

Para futuras investigaciones, se sugiere tomar muestras sanguíneas en mayores volúmenes y con una frecuencia de muestreo más alta en las primeras horas posteriores a la inoculación. Esto permitiría una visualización más precisa de la curva concentración/tiempo y una mejor estimación de los parámetros farmacocinéticos.

Dado que la absorción del antiveneno por vía IM se da a través del sistema linfático, es recomendable que futuros estudios incluyan la evaluación de la participación de este sistema en la farmacocinética del suero. Esto permitiría entender mejor su distribución y eficacia cuando se administra por vía IM.

CAPÍTULO VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abma, G., Kleuskens, D., Wang, S., Balster, M., Roji, A., Janssen, N. y Horke, D. (2022). Single-Color isomer- resolved spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry. A.*, 126(23), 3811-3815. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.2c02277>
- Bazin, M., Pepin, S., Hong, G., Debray, M. y Scherrmann, J. (1998). Interspecies Scaling of Clearance and Volume of Distribution for Horse Antivenom F(ab')₂. *Toxicology and applied pharmacology*, 150(2). DOI: 10.1006/taap.1997.8363
- Bolon, I., Finat, M., Herrera, M., Nickerson, A., Grace, D., Schütte, S., ... Ruiz de Castañeda, R. (2019). Snakebite in domestic animals: First global scoping review. *Preventive Veterinary Medicine* 170(10), 1-14.
- Butera, T., Broderick, M. y Meza, C. (2023). Animals poisonous and venomous. *Toxicon*, 20. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.01031-9>.
- Camacho, E., Ramirez, G., Vargas, K., Rucavado, A., Escalante, T., Vargas, M., Segura, A., Arguello, I., Campos, M., Guerrero, G., Lamela, M. y Gutiérrez, J. (2023). Neutralization, by a polyspecific antivenom, of the coagulopathy induced by the venom of *Bothrops asper*. Assessment by standard coagulation tests and rotational thromboelastometry in a murine model. *Toxicon*, 234. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107301>

- Chakrabarti, K., Frame, D., Abbas, M. y McCune, W. (2021). The use of mycophenolate mofetil area under the curve. *Current opinion in rheumatology*, 33(3), 221-232. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000799.
- Chaves, F., Loría, G., Salazar, A. Gutiérrez, J. (2003). Intrauscular administrativos of antivenoms in experimental envenomation by *Bothrops asper*: comparison between Fab an IgG. *Toxicon*, 41, 237-244. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(02\)00283-0](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(02)00283-0)
- D'Occhio, M., Baruselli, P. y Campanile, G. (2019). Influence of nutrition, body condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review. *Theriogenology*, 125(4). <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.010>
- Fernández, S. (2007). *Descripción de los eventos por envenenamiento ofídico en animales domésticos de Costa Rica* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Costa Rica]. Repositorio UNA. <https://repositorio.una.ac.cr/items/a24e4c66-2520-4393-bde8-301697e293c5/full>
- Fox, C., Khandhar, A., Phan, T., Kinsey, R., Cordero, D. y León, G. (2023). Physicochemical and immunological effects of adjuvant formulations with snake venom antigens for immunization of horses for antivenom production. *Toxicon*, 232. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107229>.

- Gopalan, S., Perry, B., Schield, D., Smith, C., Mackessy, S. y Castoe, T. (2022). Origins, genomic structure and copy number variation of snake venom myotoxins. *Toxicon*, 216. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.06.014>.
- Graça, F. A. S., Caldas, S. A., França, T. N., Brust, L. A., Nogueira, V. A., Cecco, B. S., Santos, B. B. N. y Peixoto, P. V. (2022). Guidelines for the diagnosis and differential diagnosis of snakebite envenoming of ruminants in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 42, e07105.
- Gutiérrez, J. (2018). Preclinical assessment of the neutralizing efficacy of snake antivenoms in Latin America and the Caribbean: A review. *Toxicon*, 146, 138-150. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.02.053>.
- Gutiérrez, J. M., Núñez, V. y Herrera, M. (2020). Retrospective evaluation of the epidemiology of snakebite envenomings in Costa Rica. *Toxicon*, 185, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.06.008>.
- Gutiérrez, J., Girón, A. y Rodríguez. (2020). Snakebite envenoming in Costa Rica: achievements and pending tasks. *Acta Médica Costarricense*, 62(3). 0001-6002-amc-62-03-102.pdf (scielo.sa.cr).
- Gutiérrez, J., León, G. Lomonte, B. (2003). Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Relationships of Immunoglobulin Therapy for Envenomation. *Clinical pharmacokinetics*, 42(8). DOI: 10.2165/00003088-200342080-00002
- Herrera, M., Fernández, J., Vargas, M., Villalta, M., Segura, Á., León, G., Angulo, Y., Paiva, O., Matainaho, T., Jensen, S.D., Winkel, K.D., Calvete, J.J., Williams, D.J., Gutiérrez, J.M. (2012) Comparative proteomic analysis of the

venom of the taipan snake, *Oxyuranus scutellatus*, from Papua New Guinea and Australia: role of neurotoxic and procoagulant effects in venom toxicity. *J Proteomics*, 75(7):2128-40.

Instituto Clodomiro Picado [ICP]. (2016). *El envenenamiento por mordedura de serpiente en Centroamérica*. Employee Manual (ucr.ac.cr).

Instituto Meteorológico Nacional. (2023). *Condiciones actuales del tiempo*. Reporte pronóstico regional - IMN.

Instituto Nacional de Estadísticas y Censos [INEC]. (2020). *Encuesta Nacional Agropecuaria Costa Rica 2019-2020*. sistemas.inec.cr/pad5/index.php/catalog/280#:~:text=La Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA,económicos y de desarrollo actualizados).

Isbister, G. (2023). Antivenom availability, delays and use in Australia. *Toxicon*, 17. <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2022.100145>.

Isbister, G., O'Leary, M., Miller, M., Brown, S., Ramasamy, S., James, R. y Schneider, J. (2007). A comparison of serum antivenom concentrations after intravenous and IM administration of readback (widow) spider antivenom. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 65(1). DOI:10.1111/j.1365-2125.2007.03004.x.

Kandi, S., Savaryn, J., Ji, Q. y Jenkins, G. (2022). Use of in-sample calibration curve approach for quantification of peptides with high-resolution mass spectrometry. *Rapid communication Mass spectrometry*, 36(22). <https://doi.org/10.1002/rcm.9377>.

- Kini, R. M. (2013). Secreted phospholipases A₂ of snake venoms: Myotoxicity and beyond. *Toxicon*, 62, 27–43. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.09.004>
- Knudsen, C., Jürgensen, J., Knudsen, P., Organesyan, I., Harrison, J., Dam, S., Haack, A., Friis, R., Vitved, L., Belfakir, S., Ross, G., Zenobi, R. y Laustsen, A. (2023). Prototyping of a lateral flow assay based on monoclonal antibodies for detection of *Bothrops* venoms. *Toxicon*, 12(72). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.341306>.
- Kumar, P. y Sharma, S. (2022). Snake bite: soft pointers for early diagnosis. *Indian Journal of pediatrics*, 89(1). <https://doi.org/10.1007/s12098-020-03642-z>.
- Kurtovic, T., Karabuva, S., Grenc, D., Dobaja, M., Krizaj, I., Luksic, B., Halassy, B. y Brvar, M. (2021). Intravenous *Vipera berua* venom-specific Fab fragments and IM *Vipera ammodytes* venom-specific F(ab')₂ fragments in *Vipera ammodytes*-envenomed patients. *Toxins*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/toxins13040279>.
- Laustsen, A., Gutiérrez, J., Knudsen, C., Jihansen, K., Bermúdez, E., Cerni, F., Jurgensen, J., Ledsgaard, L., Martos, A., Ohlenschlaeger, M., Pus, U., Andersen, M., Lomonte, B., Engmark, M. y Pucca, M. (2018). Pros and cons of different therapeutic antibody formats for recombinant antivenom development. *Toxicon*, 146. 151-175. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.03.004>.
- Lomonte, B. (2012). Venenos de serpiente: de la investigación al tratamiento. *Acta Médica Costarricense*, 54(2). 86-96. art04.pdf (scielo.sa.cr)

- Mora-Obando, D., Lomonte, B., Pla, D., Guerrero-Vargas, J.A., Ayerbe-González, S., Gutiérrez, J.M., Sasa, M., Calvete, J.J. (2023). Half a century of research on *Bothrops asper* venom variation: biological and biomedical implications. *Toxicon*. 221, 106983.
- Moreau, C. y Issakidis, E. (2022). A Simplified Method to Assay Protein Carbonylation by Spectrophotometry. *Methods in molecular biology*, 25(26). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2469-2_10.
- Morris, N., Blee, J. y Hauert, S. (2023). Global parameter optimization and sensitivity analysis of antivenom pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Toxicon*, 1-41. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107206>.
- Muniz, E., Martins, I., Saraiva, M., Monteiro, W., Magno, E. y Oliveira, S. (2023). Biological characterization of the *Bothrops brazili* snake venom and its neutralization by Brazilian *Bothrops* antivenom produced by the Butantan Institute. *Toxicon*, 223. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.107010>
- Naceur, M., Miled, K., Abderrazek, M. y Ayeb, M. (2001). Effects of antivenom on *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) scorpion venom pharmacokinetics: towards an optimization of antivenom immunotherapy in a rabbit model. *Toxicon*, 39(9). 1317-1326. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(01\)00083-6](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(01)00083-6)
- Obando, D., Lomonte, B., Pla, D., Guerrero, J., Ayerbe, S., Gutiérrez, J., Sasa, M. y Calvete, J. (2023). Half a century of research on *Bothrops asper* venom variation: biological and biomedical implications. *Toxicon*, 221. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.106983>.

- Pucca, M., Knudsen, C., Oliveira, I., Rimbault, C., Cerni, F., Hui, F., Sachett, J., Sartim, M., Laustsen, A. y Monteiro, W. (2020). Current Knowledge on Snake Dry Bites. *Toxins*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/toxins12110668>.
- Rial, A., Morais, V., Rossi, S. y Massaldi, H. (2006). A new ELISA for determination of potency in snake antivenoms. *Toxicon*, 48(4). 462-466. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.07.004>.
- Rodríguez, C., Estrada, R., Herrera, M., Gómez, A., Segura, Á., Vargas, M., Villalta, M., León, G. (2016). *Bothrops asper* envenoming in cattle: Clinical features and management using equine-derived whole IgG antivenom. *Vet J.*, 207, 160-3.
- Rodríguez, S., Corrales, G., Chacón, D., Guevara, M., Esquivel, C., Arroyo, C. y Gómez, A. (2019). Morphological alterations caused by manual venom extraction on the main venom gland of *Bothrops asper* and *Crotalus simus* snakes (Serpentes: Viperidae): Long-term implications for antivenom production. *Toxicon*, 172, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.10.242>
- Rojas, A., Vargas, M., Ramírez, N., Estrada, R., Segura, A., Herrera, M., Villalta, M., Gómez, A., Gutiérrez, J. y León, G. (2013). Role of the animal model on the pharmacokinetics of equine-derived antivenoms. *Toxicon*, 70, 9-14. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.03.013>

- Rojas, G., Jiménez, J.M., Gutiérrez, J.M. (1994) Caprylic acid fractionation of hyperimmune horse plasma: description of a simple procedure for antivenom production. *Toxicon* 32(3), 351-63.
- Romanelli, M., Soeiro, P., Costa, R., Taveira, R., Melo, P. y Lara, L. (2021). Revisiting the acute kidney injury in Wistar rats experimentally envenomated with *Bothrops jararacussu* venom. *Toxicon*, 199, 117-126. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.06.004>.
- Sadananda, N. (2023). Intravenous snake bite: A catastrophic snake envenomation. *Annals of African Medicine*, 22(3), 239-245. DOI: 10.4103/aam.aam 9_23.
- Sadat, M. y Ahmed, M. (2022). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Methods in Molecular Biology*, 25(8), 115-134. <https://doi.org/10.1007/978->.
- Saluba, H., Himmatrao, P. y Himmatrao, P. (2021). The global burden of snake bite envenoming. *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 51(1). DOI: 10.4997/JRCPE.2021.102
- Sánchez, M., Solano, G., Vargas, M., Reta, F., Neri, E., Alagón, A., Sánchez, A., Villalta, M., León, G. y Segura, A. (2020). Toxicological profile of medically relevant *Crotalus* species from Mexico and their neutralization by a *Crotalus Basiliscus*. *Bothrops asper antivenom*, 179. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.03.006>
- Sarkar, S., Sinha, R., Ray, A., Maduwage, K., Abeyagunawardena, A., Bose, N., Pradhan, S., Liberato, N., Avelino, B. y McCulloch, M. (2021). Snake bite

associated with acute kidney injury. *Pediatric nephrology*, 36(12). 3829-3840. <https://doi.org/10.1007/s00467-020-04911-x>.

Sarmiento, K., Rodríguez, A., Quevedo-Buitrago, W., Torres, I., Ríos, C., Ruiz, L., Salazar, J., Hidalgo-Martínez, P. y Díez, H. (2020). Comparación de la eficacia, la seguridad y la farmacocinética de los antivenenos antiofídicos: Revisión de literatura. *Universitas Médica*, 61(1), 1–22. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed61-1.anti>

Seifert, S., Armitage, J. y Sánchez, E. (2022). Snake Envenomation. *The New England Journal of Medicine*, 386(1), 68-78. DOI: 10.1056/NEJMra2105228.

Silva, L. G., Panziera, W., Lessa, C. A. S. y Driemeier, D.. (2018). Epidemiological and clinical aspects of ophidian bothropic accidents in dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(11), 2146–2149.

Solano, G., Gómez, A., Corrales, G., Chacón, D., Estrada, R. y León, G. Contributions of the snake venoms of *Bothrops asper*, *Crotalus simus* and *Lachesis stenophrys* to the paraspecificity of the Central American polyspecific antivenom (PoliVal-ICP). *Toxicon*, 144. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.01.016>

Solórzano, A. (2022). *Serpientes de Costa Rica*. Litografía e Imprenta LIL, S.A.

Vásquez, H., Olvera, F., Alagón, A. y Sevcik, C. (2013). Production of anti-horse antibodies induced by IgG, F(ab')₂ and Fab applied repeatedly to rabbits.

Effect on antivenom pharmacokinetics. *Toxicol*, 76. 362-369.
<https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2013.09.004>.

Yuan, L., Gu, H., Zeng, J., Pillutla, R. y Ji, Q. (2020). Application of in-sample calibration curve methodology for regulated bioanalysis: Critical considerations in method development, validation and sample analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 5(17).
DOI: 10.1016/j.jpba.2019.112844.

ANEXOS

Anexo 1

Carta de préstamo de animales de la Unidad de Bovinos de Carne de la Universidad Técnica Nacional sede Atenas



Área de Producción y Gestión Empresarial
Sede Atenas



19 de octubre del 2023
APGESA-115-2023

Señor
Josue Rivera Castillo
Medicina Veterinaria
Sede Atenas

Asunto: Respuesta oficio MV-182-2023

Estimado señor:

Reciba un cordial saludo, según oficio [MV-182-2023](#) esta coordinación da el aval para que la estudiante Mauren Rodríguez Castro portadora de la cédula 207260272 desarrolle su proyecto de graduación para el grado de Licenciatura en Medicina Veterinaria con Énfasis en Buiatría el próximo I cuatrimestre del 2024.

Así mismo tendrá disponible 10 animales de la producción de bovinos de carne, del mismo sexo, misma raza, edad de 2-5 años y una con una diferencia de peso de 50 kilos entre los animales con una condición corporal entre 3-4.

Cordialmente,

MILTON GUTIERREZ ARAYA (FIRMA)
PERSONA FÍSICA, CPF-01.0521.0390.
Fecha declarada: 19/10/2023 04:22:36 PM
Razón: APGESA
Lugar: UTN SEDE ATENAS

Milton Gutiérrez Araya
Coordinador

Copia: Eduardo Barrantes Guevara, Decano Sede Atenas
Isabel Quesada Oviedo, Médico Veterinario Regente Sede de Atenas
Mauren Rodríguez Castro, Estudiante MV
Luis Vásquez Bustos, Coordinador Ganado de Carne

Carol V.

San José, 18 de mayo de 2025

Señores

Medicina Veterinaria

Universidad Técnica Nacional

Estimados señores:

He revisado y corregido en todos los extremos filológicos: la redacción, la ortografía, la puntuación, la morfología, la sintaxis y los vicios del documento titulado "**Determinación de la dosis teórica de administración intramuscular del antiveneno PoliVet-ICP para el tratamiento de bovinos envenenados por la mordedura de la serpiente terciopelo (*Bothrops asper*)**", presentado por Mauren Rodríguez Castro, para optar por el grado de Licenciatura en Medicina Veterinaria.

Con las correcciones y recomendaciones aplicadas en este trabajo de investigación, es un documento con valor filológico y cumple con los requisitos necesarios para ser presentado ante las autoridades universitarias correspondientes.

Atentamente,

MARGARITA
SIRLENE CHAVES
BONILLA (FIRMA)



Firmado digitalmente por
MARGARITA SIRLENE
CHAVES BONILLA (FIRMA)
Fecha: 2025.05.18
18:18:48 -06'00'

Margarita Sirlene Chaves Bonilla

Filóloga

Cédula 2 0717 0620

Carné 83791 (COLYPRO)