

**ESTUDIO SOBRE LA ESTABILIDAD
DE LA ACTIVIDAD NEUTRALIZANTE
DEL SUERO ANTIOFÍDICO CONTRA VENENO DE TERCIOPELO
(*BOTHROPS ASPER*)**

José A. Gené, Maribel Gómez y Luis Cerdas

Key Word Index: Antivenins

RESUMEN

*Se determina la actividad neutralizante de la letalidad de varios lotes de suero antiofídico polivalente líquido contra veneno de terciopelo (*Bothrops asper*). Se compara la actividad de lotes con diferente fecha de expiración para determinar la fecha de vencimiento del suero líquido almacenado a 4°C. Se concluye que el suero es estable por un período de tres años, cuando se almacena en forma líquida a la temperatura señalada. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1986; 7(1):3-5].*

INTRODUCCIÓN:

En el Instituto Clodomiro Picado se fabrican varios tipos de sueros antiofídicos en forma líquida y liofilizada (2,3). Es bien conocida la estabilidad de la actividad neutralizante del suero liofilizado durante el almacenamiento por periodos hasta de cinco años, mientras que la del suero líquido se ve más afectada por varios factores de fabricación como el pH y contenido final de proteínas (9). La utilización de sueros antiofídicos en forma líquida en los trópicos, donde las temperaturas en ciertas épocas del año son altas, han llevado a la recomendación de fabricar en estas latitudes el suero liofilizado (9).

Ya que la estabilidad del suero líquido depende de varias condiciones locales de fabricación así como de la temperatura de almacenamiento, se hace necesario determinar experimentalmente la validez de la fecha de vencimiento presuntiva de tres años establecida para el suero antiofídico polivalente líquido, cuando se almacena en refrigeración, y comparar los resultados con las recomendaciones generales existentes (7,8,9).

MATERIAL Y MÉTODOS

De cada lote de suero antiofídico producido en el Instituto Clodomiro Picado se conserva varias muestras almacenadas a 4°C como control. De éstas se seleccionó 10 lotes de suero polivalente líquido para la realización de las pruebas.

Para evaluar la actividad neutralizante de los sueros se utilizó como parámetro la neutralización de la letalidad midiendo la dosis efectiva 50 por ciento utilizando ratones Webster (n=4) de 16-18 g de peso, que fueron inyectados por vía intraperitoneal con 0,5 ml de una mezcla de proporciones variables de suero antiofídico polivalente y dosis logarítmicas de veneno de *Bothrops asper*, previamente incubadas durante 30 minutos a 37°C, como se ha descrito previamente (1).

Las lecturas de mortalidad de los ratones se efectuaron 48 horas después de la inoculación. El cálculo de la DE_{50%} para cada lote de suero se realizó utilizando el método de SpearmanKarber (9), con la ayuda de un programa adaptado en el Instituto Clodomiro Picado para computador Sinclair ZX-81.

Para determinar los cambios ocurridos en la potencia de cada lote de suero se comparó su potencia original (al momento de su salida al mercado) con la potencia determinada varios meses antes o después de su fecha de expiración. La potencia de los lotes se expresa como miligramos de veneno neutralizados por mililitro de suero.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se muestran los resultados de las pruebas de neutralización realizadas, tomando como punto de partida en la medición de tiempo la fecha de expiración del lote de suero. Los resultados obtenidos indican que antes de la fecha de vencimiento del producto no ha ocurrido disminución apreciable en su capacidad neutralizante de la letalidad; sin embargo, posteriormente se inicia una disminución en la potencia del suero entre los 35 y 40 meses después de su fabricación y al cabo de cincuenta meses se ha reducido la actividad en un 30 por ciento según se muestra en la Figura 1. La reducción más pronunciada de la actividad neutralizante se produjo entre los 40 y 50 meses y disminuye más lentamente en los meses siguientes.

CUADRO 1

DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA DE VARIOS LOTES DE
SUERO ANTIOFÍDICO POLIVALENTE LÍQUIDO

LOTE	POTENCIA ORIGINAL* (mg/ml)	POTENCIA ACTUAL** (mg/ml)	PÉRDIDA DE POTENCIA (mg/ml)	TIEMPO t*** (meses)
95	3,8	2,0	1,8	47
97	2,4	1,4	1,0	42
101	3,2	1,4	1,8	37
110	4,0	2,8	1,2	14
116	3,5	2,4	1,1	18
117	3,0	2,0	1,1	14
121	3,4	3,4	0	-5
123	3,0	2,9	0,1	-9
123	3,0	2,9	0,1	3
129	3,8	3,8	0	-26
133	3,0	3,0	0	-27

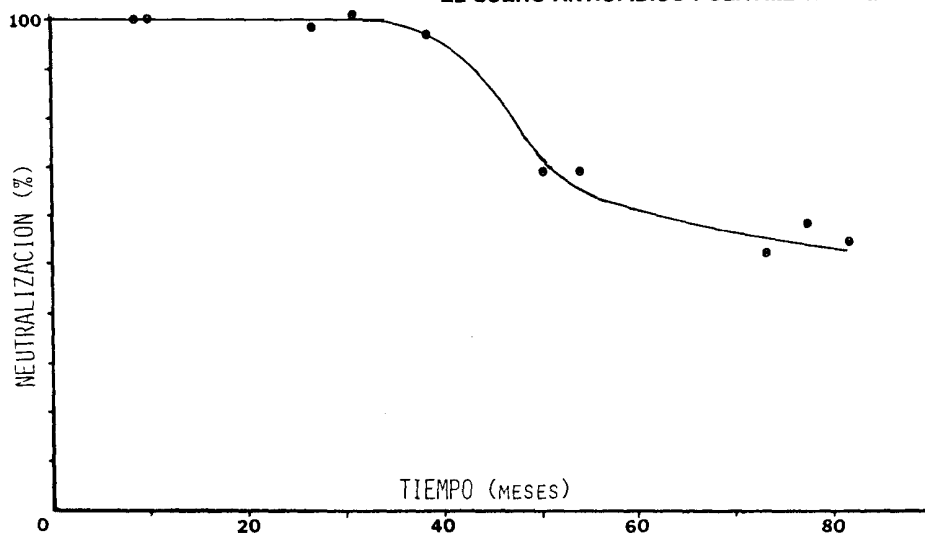
* Potencia del suero al salir al mercado

** Potencia a un tiempo t de la fecha de expiración

*** Período antes (-) o después (+) de la fecha de expiración

FIGURA 1

VARIACIONES EN LA ACTIVIDAD NEUTRALIZANTE
EL SUERO ANTIOFÍDICO POLIVALENTE LÍQUIDO



DISCUSIÓN

Los antivenenos usualmente conservan su potencia por períodos de 2 a 3 años, cuando se mantienen en forma líquida y en refrigeración. Sin embargo, se produce un deterioro en la actividad neutralizante del suero después de seis meses a un año cuando se mantiene a la temperatura de 30°C. (9). Dado que el tiempo durante el cual los antivenenos retienen su actividad depende de varias condiciones de fabricación, es recomendable que cada fabricante determine experimentalmente la estabilidad de su producto.

Los resultados de este estudio comprueban que el suero antiofídico polivalente líquido producido en el Instituto Clodomiro Picado retiene la actividad neutralizante de la letalidad del veneno de *Bothrops asper* por un período no menor de tres años, cuando se conserva almacenando a 4°C según se sugirió previamente (7). Por otra parte se ha establecido que el suero antiofídico polivalente neutraliza varias actividades biológicas de los venenos de serpientes costarricenses en proporciones diferentes (4,5,6) y la neutralización de la actividad específica de algunas toxinas podría permanecer inalterada por más tiempo o disminuir antes que la actividad neutralizante de la letalidad. Siendo este último parámetro el aceptado por la Organización Mundial de la Salud para determinar la potencia de los antivenenos, se concluye que la fecha de expiración adecuada para el producto estudiado es de tres años cuando se almacena en las condiciones descritas.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos al personal del Instituto Clodomiro Picado por su colaboración en la realización de este trabajo.

ABSTRACT

The ability of several lots of liquid polyvalent antivenom to neutralize lethality of Bothrops asper venom was studied.

In order to determine the actual expiration date of this antivenom, several lots kept at 4°C and having different expiration dates were compared. It is concluded that the potency of antivenom does not decrease during a period of 3 years, if kept at 4°C in liquid form.

BIBLIOGRAFIA

1. Bolaños, R. Toxicity of Costa Rican Snake Venoms for the White House. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1972; 21:360-363.
2. Bolaños, R.; Cerdas, L. Producción y control de sueros antiofídicos en Costa Rica. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 1980;88:189-196.
3. Bolaños, R. Las serpientes venenosas de Centroamérica y el problema del ofidismo. Segunda parte: Recursos terapéuticos y tratamiento. *Rev. Cost. Cienc. Méd.* 1983; 4:17-26.
4. Gené, J.A.; Gómez, M.; Gutiérrez, J.M. and Cerdas, L. Neutralization of Hyaluronidase and Indirect Hemolytic Activities of Costa Rican Snake Venoms by Polivalent Antivenom. *Toxicon*, 1985; (En prensa)
5. Gutiérrez, J.M.; Chaves, F.; Bolaños, R.; Cerdas, L.; Rojas, E.; Arroyo, O.; Portilla, E. Neutralización de los efectos locales del veneno de *Bothrops asper* por un antiveneno polivalente. *Toxicon* 1981; 19:493-500.
6. Gutiérrez, J.M.; Gené, J.A.; Rojas, G. and Cerdas, L. Neutralization of Proteolytic and Hemorrhagic Activities of Costa Rican Snake Venoms by a Polivalent Antivenom. *Toxicon* 1985; (En prensa).
7. Organización Panamericana de la Salud. Manual de procedimientos: Producción y pruebas de control en la preparación de antisueros diftérico, tetánico, botulínico, antivenenos y de la gangrena gaseosa. O.P.S. 1977:127.
8. U.S. Department of Health, Education, and Welfare. *Biological Products Regulations*. National Institutes of Health 1969; 42:24-31
9. World Health Organization. Progress in the Characterization of Venoms and Standardization of Antivenoms. WHO offset publication No. 58, 1981: 58:11.