

Póster: inmunología



Evaluación de la reactividad cruzada del suero antiescorpiónico contra *Tityus discrepans* frente al veneno de *Tityus isabelceiliae*

E. García, M. Cepeda¹

1. Biotecfar, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela

Introducción

En Venezuela el envenenamiento por escorpiones del género *Tityus*, es un problema endémico asociado a emergencias pediátricas y geriátrica¹, por ello es fundamental el uso del único antiescorpiónico disponible en el país, que registra alta efectividad en las regiones Centro Norte Costera, Nororiental e Insular^{2,3}. El presente trabajo evaluó la reactividad cruzada del antiescorpiónico, con la finalidad de determinar el reconocimiento contra el veneno de *Tityus isabelceiliae*, y de esta forma establecer una nueva especie capaz de ser neutralizada.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la reactividad cruzada del suero antiescorpiónico contra *Tityus discrepans* frente al veneno de *Tityus isabelceiliae*.

Objetivos específicos

- Comparar el perfil electroforético de los venenos de *Tityus discrepans* y *Tityus isabelceiliae*.
- Evaluar la especificidad del suero antiescorpiónico contra *Tityus discrepans* frente a los componentes proteicos del veneno de *Tityus isabelceiliae*, a través de Western Blot.
- Cuantificar la inmunoreactividad del suero antiescorpiónico contra *Tityus discrepans*, frente al veneno de *Tityus isabelceiliae*, mediante ensayos de ELISA.
- Establecer la dosis letal media (DL50) del veneno de *Tityus isabelceiliae*.
- Determinar la dosis efectiva media (DE50) del suero antiescorpiónico contra *Tityus discrepans* frente al veneno de *Tityus isabelceiliae*.

Materiales y métodos

Los venenos (*Tityus discrepans*, *Tityus isabelceiliae*) y el antiescorpiónico fueron suministrados por la unidad de materias primas biológicas de Biotecfar, para comparar el perfil proteico de ambos venenos a través de electroforesis, además de la inmunoespecificidad e inmunoreactividad del antiescorpiónico contra las proteínas en los venenos mediante Western Blot y ELISA de tipo indirecto^{4,5}, los resultados suministrados fueron respaldados por pruebas *in vivo*, a través del método de Spearman Karber^{6,7,8}.

Resultados

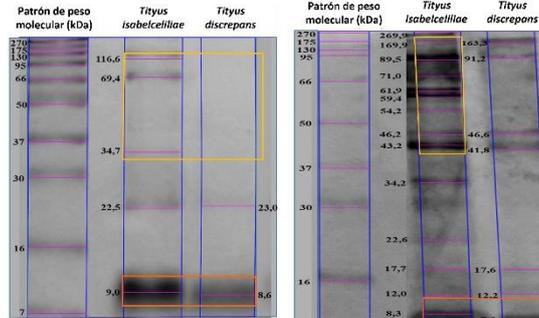


Figura 1. Perfil electroforético generado a partir de las proteínas de los venenos (5 µg), en gel analítico de acrilamida al 12%. Imagen Lab de BioRad.

Figura 2. Inmunotransferencia en papel de nitrocelulosa de los venenos de en estudio frente al antiveneno. Software Imagen Lab de BioRad.

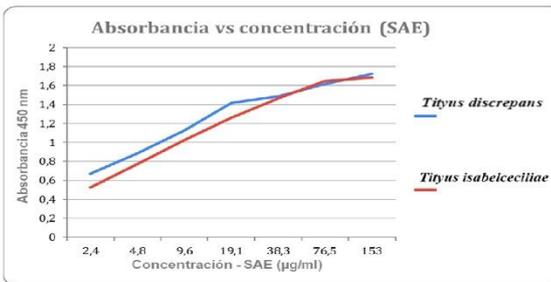


Figura 3. ELISA indirecto - Absorbancia vs concentración (SAE) - 0,01 µg veneno (100 µl pozo)

Dosis evaluada (µg/ml)	Numero de ratones			Porcentaje de mortalidad (%)
	Vivos	Muertos	Total	
187,5	0	5	5	100
125	2	3	5	60
83,33	4	1	5	20
55,55	5	0	5	0

Tabla 1. Determinación del porcentaje de mortalidad para el veneno de *Tityus isabelceiliae*

Dosis evaluada (µg/ml)	Numero de ratones			Porcentaje de supervivencia (%)
	Vivos	Muertos	Total	
375	5	0	5	100
565	4	1	5	80
845	3	2	5	60
1263	2	3	5	40
1902	0	5	5	0

Tabla 2. Determinación del porcentaje de supervivencia asociado al uso del suero antiescorpiónico

La evaluación electroforética refleja la variabilidad de proteínas presentes en cada veneno, al registrar diferencias en la región de alto peso molecular, como pueden observarse en la Figura 1, asimismo; en la Figura 2 la región de alto peso fue reconocida de forma efectiva por el antiveneno en ambos casos, con bandas más fuertemente marcadas en el caso del *Tityus isabelceiliae*, además de identificar con gran afinidad la porción de bajo peso molecular¹. Por otra parte, la inmunoreactividad determinó que la respuesta para ambos antígenos es proporcional a la concentración de antiveneno, como se demuestra en la Figura 3. Estos datos fueron corroborados mediante las pruebas *in vivo* como se observa en las tablas respectivas⁹.

Conclusiones

- Se evidencian diferencias significativas entre los venenos de *Tityus discrepans* y *Tityus isabelceiliae*, asociadas a variaciones en los cuadros clínicos^{3,10}.
- La letalidad del veneno de *Tityus isabelceiliae*, por vía intraperitoneal (DL50), fue de 110,68 µg/ratón, lo cual destaca la letalidad de los componentes del veneno.
- La neutralización por parte del antiescorpiónico contra *Tityus discrepans* frente al veneno de *Tityus isabelceiliae*, refleja que 1 ml de antiveneno neutraliza 933 µg de veneno.
- Se demostró el reconocimiento de la mayoría de los componentes proteicos mediante el uso de Western Blot^{3,10}.
- La información obtenida a través de la técnica de ELISA de tipo indirecto, respalda la inmunoreactividad del antiescorpiónico frente al veneno de *Tityus isabelceiliae* *in vitro*⁵.

Referencias

1. Aranguren, A., & Calandino, N. Evaluación de la diversidad antigénica de venenos de escorpiones de importancia médica en Venezuela: empíricas técnicas inmunológicas. 2014, Universidad Central de Venezuela. (Tesis de maestría inédita).
2. Borges, A., Lomonte, B., Angulo, Y., Acosta de Fajardo, H., Pascale, J. M., Otero, R., ... Carralón, J. A. Venom diversity in the neotropical scorpion genus *Tityus*: implications for antivenom design emerging from molecular and immunological analyses across endemic areas of scorpionism. *Acta Tropica*, 2020, 204: 1-23.
3. Soares, A., Rojas-Ruiz, P., Díaz, M., Falcó, G., Ojeda-Castro, H. L., & de Sousa, L. Envenomation by the scorpion *Tityus breyeri* in the Guayana shield, Venezuela: report of a case, efficacy and reactivity of antivenom, and proposal for a serological positioning of the venotoxic scorpion fauna. *Widomness & Environmental Medicine*, 2010, 21: 282-290.
4. Kharrouz, A. Biotecnología orientada al diseño de antivenenos. *Pharmaceutical Innovation*. Forum 10292-0277. Disponible en: http://www.uspbgp.com/usp3/pub/data/32270/usp3167270_1058.html
5. Wahnefeld, T., & Yang, P.-C. Western Blot: Technique, theory, and troubleshooting. *North American Journal of Medical Sciences*, 2012, 4(9).
6. World Health Organization. Progress in the characterization of venoms and standardization of antivenoms. WHO Offset Publication, 1981, 50.
7. Rojas, E., Quintero, L., Arce, V., Lomonte, B., Rojas, G., & Gutiérrez, J. M. Neutralization of four Peruvian *Bothriopsis* sp. snake venoms by polyvalent antivenoms produced in Peru and Costa Rica: preclinical assessment. *Acta Tropica*, 2005, 93: 85-95.
8. Sells, P. G. Animal experimentation in snake venom research: and in vitro alternatives. *Toxicon*, 2003, 42: 115-133.
9. Sewell, C., Braxton Marcano, J. M., & Paragaita Solís, I. F. Emergencias por animales ponzoñosos en las Américas. México, D.F.: 2011.
10. Quintero-Hernández, V., Jimenez-Ruiz, J. M., García, G. B., Valderrama, H. H., & Posadas, L. D. Scorpion venom components that affect ion-channel function. *Toxicon*, 2015, 76: 328-342.