

**DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50 DEL VENENO DE TRES
POBLACIONES DE *Bothrops asper* (SERPENTES: VIPERIDÆ) Y SU
INCIDENCIA EPIDEMIOLÓGICA EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA,
COLOMBIA.**

RODRIGO EMILIO NAVIA PIZO

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
LÍNEA DE ÉNFASIS EN ZOOLOGÍA
POPAYÁN
2006**

**DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50 DEL VENENO DE TRES
POBLACIONES DE *Bothrops asper* (SERPENTES: VIPERIDÆ) Y SU
INCIDENCIA EPIDEMIOLÓGICA EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA,
COLOMBIA.**

Trabajo de Grado Presentado para Optar al Título de Biólogo

RODRIGO EMILIO NAVIA PIZO

Director

SANTIAGO AYERBE GONZÁLEZ, MD.

Asesores.

Magíster Silvio Marino Carvajal Varona

Biólogo Jimmy Alexander Guerrero

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
LÍNEA DE ÉNFASIS EN ZOOLOGÍA
POPAYÁN
2006**

Nota de Aceptación

SANTIAGO AYERBE MD.
Director

Msc. PATRICIA EUGENIA VELÉZ
Jurado

Msc. JOSE T. BELTRAN V.
Jurado

Trabajo de Grado Sustentado en Popayán, el 24 de Mayo de 2006.

A Dios por darme vida y salud para salir adelante.
A mi familia: Mi papá José Nonato Navia†, mi mamá
María Josefa Pizo, a mi hermano León Libardo Navia
a quienes les dedico este logro.

AGRADECIMIENTOS

Las siguientes instituciones y personas hicieron posible el desarrollo del presente estudio:

Universidad del Cauca; Departamento de Biología, a todo el personal docente que guió mi camino durante mi formación universitaria. German Gómez, Mabel Paz, Leonidas Zambrano, Pilar Rivas, Patria Torres, Silvio Carvajal.

Museo de Historia Natural Universidad del Cauca (MHNUC), que fue mi segundo hogar durante años y en especial a su director Santiago Ayerbe MD, quien compartió su gran experiencia en procura de dar siempre lo mejor.

Hospital Universitario Nivel III “San José” de Popayán (HUSJ), en especial a la sección de Estadística, por su colaboración en el préstamo de las historias clínicas.

Universidad del Valle; Escuela de Ciencias Básicas Médicas y Laboratorio de Farmacología. En especial a Santiago Castaño Cand. Ph.D y Mauricio Palacios, MD, por su colaboración en la determinación de las dosis letales.

A mi familia; María Josefa Pizo, Libardo Navia, Arturo Pizo, Ernestina Valencia, por su apoyo incondicional y aliento en los malos y buenos días. A mi tío Emilio Navia, por su ayuda y compromiso con mi formación.

Liliam Cerón, por su apoyo, comprensión y cariño.

Amigos; Claudia San Juan, Adriana Collazos, Fernando Zúñiga, Gerardo Zúñiga, Diana y Karol Zúñiga, Milton Vega, Heriberto Mueses, Jhon Erick Vega, Carmen Valdivieso, Jaime Ramírez y todos los que un día caminaron junto a mi y dejaron su granito de arena para seguir adelante con entusiasmo.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag
RESUMEN	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
3. JUSTIFICACIÓN	18
4. OBJETIVOS	20
4.1. OBJETIVO GENERAL	20
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
5. MARCO TEÓRICO	21
5.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES <i>Bothrops asper</i>	21
5.2. CARACTERÍSTICAS DEL VENENO DE <i>Bothrops asper</i>	24
5.3. MECANISMOS DE ACCIÓN DEL VENENO	25
5.3.1. ACCIÓN NECROSANTE	25
5.3.2. ACCIÓN HEMORRÁGICA	26
5.4. DIAGNÓSTICO DEL ENVENAMIENTO	27
5.4.1. ANAMNESIS	27
5.4.2. EXAMEN FÍSICO	27
5.4.3. EXÁMENES PARACLÍNICOS	28
5.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS CAUSADAS POR EL ENVENAMIENTO	29
5.6. GRADOS DE ENVENAMIENTO	31
5.7. MEDIDAS PARA CONTRARRESTAR EL ENVENAMIENTO	32
6. DISTRIBUCIÓN DE LAS POBLACIONES DE <i>Bothrops asper</i> EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA	33

7. ANTECEDENTES	35
8. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	37
8.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES	37
8.2. OBTENCIÓN DEL VENENO	38
8.3. CUANTIFICACIÓN DE PROTEINAS	40
8.4. DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50 (DL ₅₀)	41
8.5. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	44
8.6. DOSIS EMPLEADAS	45
8.7. VIA DE INOCULACIÓN DEL VENENO	45
8.8. TIEMPO DE OBSERVACIÓN	46
8.9. DETERMINACIÓN DE LA EPIDEMIOLOGÍA CAUSADA POR LAS POBLACIONES Ba - 1, Ba- 2 Y Ba - 3 DE <i>Bothrops asper</i> .	47
9. RESULTADOS	48
9.1. POBLACIÓN 1 DE <i>Bothrops asper</i> (Ba-1)	48
9.1.1. RESULTADOS TOXINOLÓGICOS	50
9.1.1.1. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-1, DOSIS 1	51
9.1.1.2. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-1, DOSIS 2	52
9.1.1.3. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-1, DOSIS 3	53
9.1.2. RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS	55
9.2. POBLACIÓN 2 DE <i>Bothrops asper</i> (Ba-2)	61
9.2.1. RESULTADOS TOXINOLÓGICOS	63
9.2.1.1. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-2, DOSIS 1	63
9.2.1.2. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-2, DOSIS 2	64
9.2.1.3. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-2, DOSIS 3	66

9.2.2. RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS	67
9.3. POBLACIÓN 3 DE <i>Bothrops asper</i> (Ba-3)	75
9.3.1. RESULTADOS TOXINOLÓGICOS	77
9.3.1.1. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-3, DOSIS 1	78
9.3.1.2. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-3, DOSIS 2	79
9.3.1.3. DL ₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-3, DOSIS 3	80
9.3.2. RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS	82
10. ANÁLISIS DE RESULTADOS	90
11. CONCLUSIONES	103
12. RECOMENDACIONES	105
13. BIBLIOGRAFIA	106

TABLA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Características Morfológicas de Serpientes del Género <i>Bothrops</i> .	23
Figura 2. Dentición de <i>Bothrops asper</i> .	24
Figura 3. Paciente con Necrosis Generada por el Veneno de <i>Bothrops asper</i> .	25
Figura 4. Paciente con Hemorragia Generada por el Veneno de <i>Bothrops asper</i> .	26
Figura 5. Izquierda Marca de Colmillos, Derecha Máscara Equimótica Causadas por el Veneno de <i>Bothrops asper</i> .	28
Figura 6. Izquierda Edema, Derecha Flictenas Causadas por el Veneno de <i>Bothrops asper</i> .	30
Figura 7. Cuencas de Importancia Herpetológica en el Departamento del Cauca.	33
Figura 8. Sujetadores para Manipulación de Serpientes.	38
Figura 9. Beakers Estériles para Recolección de Veneno.	39
Figura 10. Sujeción y Extracción de Veneno.	39
Figura 11. Características del Programa AOT 425 Statpgm, para la Determinación de la Dosis Letal 50.	43
Figura 12. Ratones Cepa ICR.	44

Figura 13. Inoculación Intraperitoneal de Veneno.	46
Figura 14. Distribución Espacial Población 1 de <i>Bothrops asper</i> (Ba-1), en el Departamento del Cauca.	49
Figura 15. <i>Bothrops asper</i> Población Ba – 1, Localidad: Huisitó (350msnm), El Tambo, Cauca, Colombia.	50
Figura 16. Incidencia de Accidentes ofídicos Causados por la Población Ba – 1, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	55
Figura 17. Incidencia de Accidentes Causados por la Población Ba-1 Según Grupos Etéreos en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	56
Figura 18. Áreas Corporales Comprometidas en Accidentes Ofídicos por Ba – 1, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	57
Figura 19. Proporción de los Grados de Ofidismo Causados en los Accidentes por la Población Ba -1, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	59
Figura 20. Distribución Espacial de la Población 2 de <i>Bothrops asper</i> (Ba-2), en el Departamento del Cauca.	62
Figura 21. <i>Bothrops asper</i> Población Ba-2, Localidad: Río Quilcacé (1400msnm), Rosas, Cauca, Colombia.	62
Figura 22. Incidencia de Accidentes Ofídicos Causados por la Población Ba-2, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	67
Figura 23. Proporción de Accidentes Causados por la Población Ba-2 Según Municipios de Incidencia, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	68

Figura 24. Incidencia de Accidentes Ofídicos Causados por la Población Ba-2, Según Grupos Etéreos, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	69
Figura 25. Áreas Corporales Comprometidas en Accidentes Ofídicos por Ba - 2.	70
Figura 26. Proporción de los Grados de Ofidismo Causados en los Accidentes por la Población Ba-2, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	72
Figura 27. <i>Polygala spp.</i>	73
Figura 28. Distribución Espacial de la Población 3 de <i>Bothrops asper</i> (Ba-3), en el Departamento del Cauca.	76
Figura 29. <i>Bothrops asper</i> Población Ba-3, Localidad: Morales (1500msnm), Cauca, Colombia.	77
Figura 30. Incidencia de Accidentes Causados por la Población Ba-3, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	82
Figura 31. Proporción de Accidentes Causados por la Población Ba-3 según Municipios de Incidencia en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	83
Figura 32. Incidencia de Accidentes Causados por la Población Ba-3, Según Grupos Etéreos, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	84
Figura 33. Áreas Corporales Comprometidas en Accidentes Ofídicos por Ba – 3	85
Figura 34. Proporción de los Grados de Ofidismo Causados en los Accidentes por la Población Ba-3, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.	88
Figura 35. Incidencia de Ofidismo Ocasionado por las Poblaciones Ba-1, Ba-2 y Ba-3 de <i>B. asper</i> en el Departamento del Cauca entre 1998 y 2003.	95
Figura 36. Grados de Ofidismo de los Accidentes por Población Causante	100

RESUMEN

A través de la determinación de la Dosis Letal 50 en ratones cepa ICR obtenida mediante el programa AOT425 StatPgm, el estudio de la distribución geográfica y la incidencia de accidentes ocasionados a los seres humanos, se estudiaron características biológicas y epidemiológicas causadas por tres poblaciones de serpientes del género *Bothrops*, distribuidas geográficamente en cuencas de importancia Herpetológica así: Población 1 de *Bothrops asper* en la Cuenca del Pacífico, Población 2 de *Bothrops asper* en la Cuenca del río Patía, Población 3 de *Bothrops asper* Cuenca del río Cauca.

Toxinológicamente en cada una de estas poblaciones se encontró diferencias mínimas en la concentración del veneno puro y la Dosis letal 50, siendo la población Ba-2 la cual presento la mayor concentración de veneno de 194.2876 mg/ml y por ende una Dosis Letal 50 mas efectiva de 5.96 µg/g de peso, seguida por la población Ba-1 con una concentración de veneno de 194.2415 mg/ml, una Dosis Letal 50 de 60.6 µg/g de peso y por ultimo la población Ba-3 con una concentración de veneno de 177.6538 mg/ml y una Dosis Letal 50 de 7.12 µg/g de peso.

Según los resultados epidemiológicos entre 1998 y 2003 se encontraron un total de 119 accidentes ofídicos en el Departamento del Cauca, presentando una incidencia de 23.8 casos/año, de los cuales 82 casos (68.90%) fueron causados por las tres poblaciones de *Bothrops asper* en estudio. El 50% de los municipios del Departamento de Cauca resultaron afectados por accidentes con alguna de las poblaciones de *B. asper*. El mayor número de casos fue registrado por la población Ba - 2 con 51 casos (62.2%), seguido por la población Ba – 3 con 16 casos y la población Ba – 1 con 15 casos. la población mas afectada fue la de 0 a 15 años con un 29.2 % de los casos seguida por el grupo de personas con edades entre los 31 a 45 años con un 24.3%.

El grado II de envenenamiento fue el mas recurrente en esta serie de datos, siendo la población Ba - 2 la cual reporto un mayor numero de casos con este grado de envenenamiento. Para contrarrestar el envenenamiento ocasionado por estas serpientes en el 30.5% de los pacientes no se empleo suero, 65.8% recibieron algún tipo de suero antiofídico (monovalente o polivalente) y el 3.6 % no registra esta información.

1. INTRODUCCIÓN

La letalidad del veneno de una serpiente está estrechamente relacionada con los ofidismos ocasionados por la misma, ofidismos resultantes de la inoculación accidental o provocada de sustancias letales por parte de las serpientes. La gravedad de los envenamamientos no solo dependerá de la letalidad del veneno que fue inoculado, sino también de la concentración del veneno, del área ofendida, de la vía de absorción y también a la falta de tratamiento adecuado y oportuno que se le pueda prestar a los afectados.

En la actualidad, a nivel mundial se han reportado alrededor de 30.000 a 40.000 muertes anuales ocasionadas por la mordedura de serpientes venenosas por lo que se han constituido en un grave problema de salud pública (Pineda y Renjifo 2002, Palacios 2004).

Para los países que cuentan con diversidad de ecosistemas se puede encontrar una gran riqueza en grupos taxonómicos, registrando una fauna ofídica muy importante y variada que juega un papel importante a nivel ecológico y que en algunos casos, la vemos enfrentada al hombre, en algunas regiones convertidas en atractivos polos de colonización, presentándose una dinámica poblacional de explotación de los recursos, donde las áreas silvestres han sido reemplazadas sistemáticamente por zonas de cultivos, áreas de ganadería y pastoreo, situaciones que hacen inevitable la invasión

de los nichos ecológicos de estas especies, provocando por tanto, un aumento alarmante de accidentes por envenenamiento ofídico (Pineda y Renjifo 2002).

En Colombia se han registrado 10 géneros de serpientes venenosas distribuidos en las familias Elapidæ y Viperidæ. La primera tiene las subfamilias Hydrophiinæ Leptomicrurinæ y Micrurinæ; la segunda tiene la subfamilia Crotalinæ, compuesta por los géneros *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrocophias*, *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis* y *Porthidium*. (Roze 1996, Gutberlet y Campbell 2001, Pineda y Renjifo 2002, Campbell y Lamar 2004)

El Departamento del Cauca por encontrarse estratégicamente ubicado en una zona geográfica significativa, presenta condiciones favorables de habitats que han permitido el desarrollo y establecimiento de una fauna ofídica variada. Estas condiciones están dadas por la presencia de tres cordilleras adquiriendo una condición muy privilegiada en cuanto a biodiversidad se refiere.

Así, este Departamento cuenta con la Cuenca del Pacífico, la Cuenca del río Cauca, la Cuenca del río Magdalena, la Cuenca del río Patía, con el Valle Alto del mismo nombre y la Cuenca del Amazonas. Por lo anterior podemos encontrar aproximadamente un 80% de las serpientes venenosas que se han reportado para Colombia.

Pese a la gran diversidad de ofidios existentes en el Departamento del Cauca, el mayor porcentaje de accidentes son ocasionados por serpientes de la especie *Bothrops asper*, la cual se constituye en un grave problema de salud pública, no solo en nuestro Departamento sino en toda Colombia.

Con esta investigación se pretende aportar más sobre la biología de una de las especies de serpientes más importante tanto a nivel biológico como de salud pública, partiendo de un conocimiento inicial determinado de las observaciones y salidas de campo que nos permiten pensar que en el Departamento del Cauca se encuentra un conglomerado de *Bothrops asper* que se ha determinado como una sola especie, pero se han encontrado diferencias marcadas tanto de Fenología como de distribución espacial, que nos dan pie a pensar que se cuenta con tres diferentes poblaciones las cuales, dos no han sido estudiadas y no se sabe cual es su interacción con el medio y en qué proporciones son más o menos ofensivas para los humanos.

El estudio y comparación del grado de toxicidad de su veneno proporcionará una visión real referente al efecto letal que tienen estas poblaciones sobre sus presas y en general sobre todos los mamíferos permitiendo además, comprender mejor el efecto observado en las mordeduras a seres humanos procedentes de las mismas regiones biogeográficas y así poder brindar un mejor enfoque terapéutico del Ofidismo Bothrópico.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se estima que en el mundo ocurren anualmente 5'400.000 mordeduras de serpientes, de las cuales 2'682.500 producen envenenamiento y mueren 125.345 personas que equivale al 4.67% de los pacientes envenenados. En Latinoamérica de 150.000 accidentes con envenenamiento mueren 5.000 personas cada año, es decir un 3.33% (Chippaux 1998).

Los venenos se sitúan en el vasto conjunto de sustancias producidas por los seres vivos que intervienen en las relaciones entre los animales. En el caso de las serpientes, la toxicidad hacia el hombre es un tema especial, dado que éste se presenta como un enemigo relativamente excepcional para estos animales venenosos, lo cual justifica las preocupaciones por conocer sus efectos en las poblaciones implicadas.

En Colombia aproximadamente cada año se reportan entre 2000 y 3000 accidentes de Ofidismo, con una tasa de accidentalidad de 7.5 / 100.000 habitantes (Pineda y Renjifo 2002), y una letalidad que oscila entre el 0.042 y 7.6%. En el Cauca se han registrado valores de letalidad por accidente ofídico del 6.2% (Ayerbe *et al.* 1979) y a fines del siglo XX declinó a cero (Ayerbe 2000); sin embargo, en los tres primeros meses de 2005 se registraron 19 casos de Ofidismo en el Hospital Universitario Nivel III "San José" con dos accidentes fatales que equivalen a una mortalidad del 10.53% (Ayerbe, Com. Per. 22 de Marzo, 2005).

El rango de letalidad, puede explicarse por diferentes factores tales como las especies de serpientes causantes de las mordeduras, la diferencia en la letalidad de los venenos influenciado de cierta manera por su estado de desarrollo, la zona corporal ofendida, cantidad de veneno inoculado, mordeduras múltiples ó de saturación, ubicación geográfica donde ocurren los accidentes, el desconocimiento en aspectos biológicos y clínicos, poca disponibilidad de suero antiofídico en regiones apartadas de las

cabeceras municipales y aún en las capitales de los Departamentos, entre otros (Gutiérrez *et al.* 1980, Pineda y Renjifo 2002).

Aunque en el Departamento del Cauca ya existen algunas investigaciones sobre reptiles, especialmente en serpientes y Ofidismo (García 1896; Ayerbe *et al.* 1977, 1979; Ayerbe 1982, 1990, 1995, 2000 y 2001), existe poco interés en cuanto a la investigación sobre su Biología y no se ha realizado mucho esfuerzo por la elaboración de planes de manejo y conservación, hecho que se refleja en la escasez de información básica sobre su historia natural (Ayerbe 1990).

En el presente trabajo se tratarán de resolver los siguientes cuestionamientos:

1. Cuál es la DL_{50} del veneno correspondiente a tres poblaciones de *Bothrops asper*.
2. Cuál es el grado de diferencia entre las dosis letales de las poblaciones de estudio.
3. Rangos de distribución de las poblaciones de *B. asper* en el Departamento del Cauca.
4. Cuál es la incidencia epidemiológica de las tres poblaciones de *B. asper* en el Departamento del Cauca durante el periodo de tiempo comprendido entre 1998 y 2003.

3. JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto tiene un carácter investigativo biológico sobre la especie de serpiente *Bothrops asper* la cual se ha considerado un problema de salud pública no solo en el Departamento sino en todos los países que habita, esta especie es la causante del 80% de los accidentes que ocurren por serpientes en el Departamento, lo cual suscita un interés mucho mayor para realizar esta investigación con la especie mencionada, el resultado de esta investigación contará con un enfoque real hacia la comunidad quien será en última instancia la más beneficiada por los hallazgos que aquí se puedan obtener.

Se aportará a la comunidad científica del Departamento en el conocimiento de aspectos toxicológicos como concentración y producción de veneno de tres poblaciones de *B. asper*, datos que son indispensables en el momento de determinar su efectividad de caza que está representada por la mínima cantidad de veneno que necesita un individuo para matar el 50 % de una población.

La comunidad se verá beneficiada en este aspecto debido a que estos datos toxicológicos ayudarán de manera más directa en la dosificación de suero antiofídico (SAO) que deberá ser suministrado a los pacientes pues se podrá determinar el riesgo potencial de envenenamiento sabiendo de antemano cual es la DL₅₀ específica del veneno inoculado por la serpiente. Los datos de letalidad brindarán bases confiables para que no se den excesos o defectos en las cantidades de (SAO) a utilizar en el manejo de los casos de envenenamiento Bothrópico.

De acuerdo a lo anterior, es de gran importancia conocer cómo ha sido afectada la población humana por este grupo de serpientes, siendo éste el motivo por el cual se realizará un estudio retrospectivo con el fin de tener una visión actualizada y completa de las principales características epidemiológicas como: procedencia del paciente, área corporal comprometida, hora de la mordedura, tratamiento realizado entre otras, datos que nos servirán para determinar causas y efectos de este tipo de envenenamiento en nuestro departamento y con estos datos más tangibles llegar a la población en especial a la rural que es la más afectada, con planes de prevención y manejo de los accidentes ofídicos.

Por otra parte, si se establece la existencia de diferencias significativas entre las DL_{50} de las tres poblaciones estudiadas, se estará contribuyendo en el paso inicial para la determinación de otras especies actualmente nominadas bajo la misma taxa, pues las tres poblaciones de *B. asper* presentan características morfológicas y de distribución que las diferencian. Con la contribución a nivel toxinológico de este trabajo se dará una base más, que puede servir en un futuro estudio que conlleve a la determinación de al menos dos nuevas especies del género *Bothrops* para el Cauca y Colombia.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la Dosis Letal 50 (DL₅₀) del veneno de tres poblaciones de *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidæ) en ratones cepa ICR (animales puros, para la investigación internacional en cáncer) y conocer sus aspectos epidemiológicos a partir de historias clínicas del Hospital Universitario Nivel III “San José” de Popayán, entre 1998 y 2003 en el Departamento del Cauca.

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Comparar las dosis letales 50 (DL₅₀) en *Mus musculus*, del veneno de tres poblaciones de *B. asper* procedentes de sendas bio-regiones del Departamento del Cauca.
- Establecer el perfil epidemiológico causado por tres poblaciones de *B. asper* en un período de cinco años (entre 1998 y 2003) en el Departamento del Cauca.

5. MARCO TEÓRICO

Los primeros reptiles aparecen cerca al final de la era Paleozoica hace aproximadamente 300 millones de años (Bellairs y Attridge 1975) El suborden: Ophidia ó Serpentes, perteneciente a la clase Reptilia, tiene en total 18 familias de dos superfamilias y alrededor de 3000 especies distribuidas en el mundo (Mattison 1995)

En Colombia se han descrito 8 familias y 71 géneros de ofidios con aproximadamente 222 especies y 97 subespecies, de las cuales el 10% se consideran venenosos para el ser humano (Pineda y Renjifo 2002)

Las serpientes de la familia Viperidæ, se caracterizan por poseer un aparato inoculador de veneno tipo Solenoglifo (Colmillos retráctiles en la parte anterior de la maxila, con un conducto central cerrado a manera de aguja hipodérmica). Las serpientes de la subfamilia Crotalinæ son las únicas que tienen un par de fosas termoreceptoras entre los ojos y las fosas nasales, en Colombia esta subfamilia está representada por 7 géneros: *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrocophias*, *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis*, y *Porthidium* con 19 especies (Ayerbe *et al.* 2004).

5.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES *Bothrops asper*.

La especie *Bothrops asper* (Tabla 1) fue descrita por Garman en 1883, conocida con su nombre en inglés como Western Lancehead, con su nombre vulgar como “Equis Negra”, “Terciopelo”, “Barbi Amarilla” (Campbell & Lamar 1989).

Tabla 1. Posición Taxonómica de *Bothrops asper*.

Reino	Animal
Phyllum	Chordata
Clase	Reptilia
Orden	Squamata
Suborden	Serpentes (Ophidia)
Familia	Viperidæ
Subfamilia	Crotalinæ
Genero	<i>Bothrops</i>
Especie	<i>asper</i>

Esta especie se puede encontrar en una gran variedad de habitats como bosque húmedo, bosque tropical, montaña baja, zona de árboles, entre otros. Está asociada a fuentes de agua como lagos, arroyos y ríos, también se le encuentra en áreas de cultivo, alrededor de habitaciones o zonas urbanas con malezas, su distribución altitudinal va desde los 0 hasta los 2.700 msnm (Campbell & Lamar 1989).

Los rasgos más importantes son: Coloración generalmente café o carmelita (algunas son gris claro), sobre la cual aparecen en su dorso diseños en forma de equis, mariposas o corbatines de color amarillo, café oscuro, o blanco, entre otros, su vientre es uniforme de color crema (Otero *et al.*, 1992).

Puede llegar a tener una longitud de hasta 2.5 m, su cabeza esta bien delimitada del resto del cuerpo, que generalmente es de forma triangular y acorazonada, presenta escamas supracefálicas pequeñas y carenadas (quilladas) al igual de las del resto del cuerpo. Habitualmente su pupila es elíptica debido a su hábito nocturno (Figura 1).

Son serpientes ovovivíparas, generalmente las hembras suelen tener mayor tamaño que los machos de igual edad, su tasa reproductiva es elevada, pueden tener un parto por año en el cual llegan a tener un promedio de 30 viboreznos, pudiendo sobrevivir el 90% de estos (Otero *et al.*, 1992).

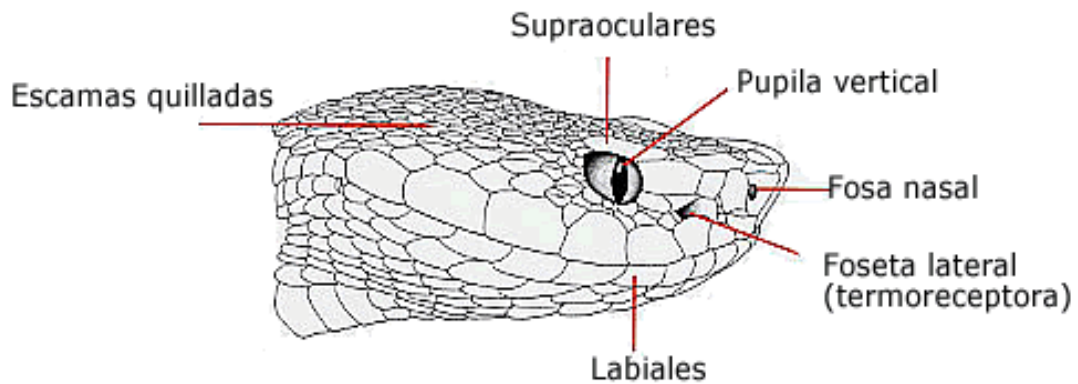


Figura 1. Características Morfológicas de Serpientes del Género *Bothrops*.

Fuente: Renjifo, J.M y M, Lundberg 1999.

Tienen dos colmillos anteriores, móviles (solenoglifas), representando el grado más alto de sofisticación. Dichos colmillos tienen forma de gancho y están huecos, por su base están comunicados con las glándulas venenosas de Duvernoy, una a cada lado de la cabeza y debajo del ojo. Al morder su presa son comprimidas por los músculos temporales y masticatorios, liberando el veneno hacia los colmillos tubulares, por donde es conducido a presión hasta el punto de inoculación. Este sistema de inyección de veneno logra inocular mucha cantidad, de forma casi instantánea (Figura 2) (Campbell & Lamar 1989).

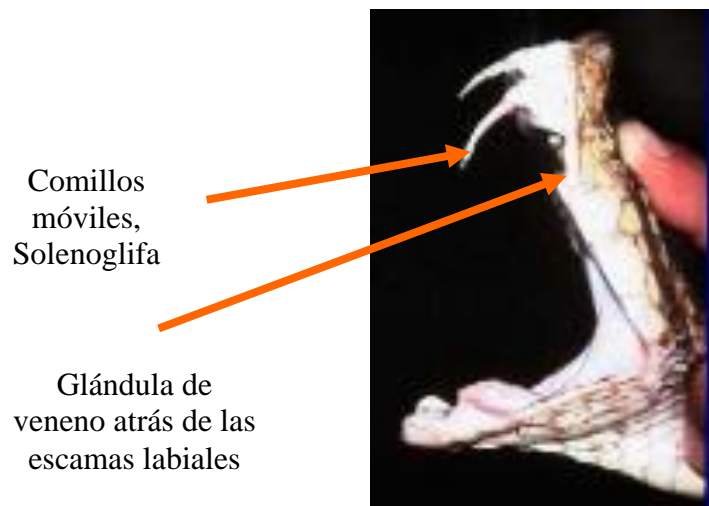


Figura 2. Dentición de *Bothrops asper*.

Fuente: Alberto Alape MD. Ph.D. Instituto Clodomiro Picado Univ. de Costa Rica.

En la subfamilia Crotalinae, la intensidad del efecto de sus venenos depende básicamente de tres variables: la especie de serpiente causante del accidente, la edad del ofidio y la ubicación geográfica. Los principales mecanismos de acción que exhiben los venenos de estas serpientes son: anticoagulantes, hemorrágicos, necrosantes y neurotóxicos (Pineda y Renjifo, 2002).

5.2. CARACTERÍSTICAS DEL VENENO DE *Bothrops asper*.

El veneno es un producto de secreción exocrina de las glándulas venenosas, y cumple una función inmovilizadora y defensiva. Generalmente es utilizado para inmovilizar a las presas, matarlas e iniciar la digestión (Pineda y Renjifo, 2002).

El veneno de las serpientes presenta diferentes tipos de propiedades bioquímicas y farmacológicas, conteniendo alrededor de un 25% de sólidos totales, de los cuales el 70 a 90% están constituidos por proteínas y polipéptidos que ocasionan la mayoría de

los efectos biológicos en los envenenamientos. La elevada concentración de sólidos les confiere a los venenos una gran viscosidad. El restante 10 a 30% de los solutos están constituidos por una amplia gama de sustancias orgánicas de bajo peso molecular como carbohidratos, péptidos pequeños, aminoácidos libres, amins biógenas, nucleótidos, compuestos inorgánicos y elementos tanto aniónicos como catiónicos (Kardong 1982, Da Silva 2000).

5.3. MECANISMOS DE ACCIÓN DEL VENENO

5.3.1. ACCIÓN NECROSANTE: se presenta principalmente por dos mecanismos: uno, la acción de las mítoxinas en la membrana celular de las células muscoesqueléticas y, el otro, la isquemia de los tejidos musculares como resultado del daño vascular ocasionado por la liberación de los mediadores endógenos de la histamina, las cininas y las prostaglandinas, puede causar necrosis (Figura 3) al elevar la presión intracompartimental (Gutiérrez 1989, 1990).



Figura 3. Paciente con Necrosis Generada por el Veneno de *Bothrops asper*.

Fuente: Alberto Alape MD. Ph.D. Instituto Clodomiro Picado Univ. de Costa Rica.

5.3.2. ACCIÓN HEMORRÁGICA: Se origina debido al daño ocasionado por el veneno en el endotelio vascular al romperlo. La actividad coagulante está dada por la acción del veneno sobre los factores de la cascada de la coagulación. El veneno tiene compuestos que actúan sobre el fibrinógeno, la protrombina y el factor X. Las dos enzimas que actúan sobre la protrombina y el factor X han sido denominadas enzimas procoagulante. Las enzimas actúan solamente sobre la cadena α del fibrinógeno, a diferencia de la trombina que actúa sobre sus cadenas α y β , lo cual no permite la formación de los dímeros de fibrina y, en consecuencia no hay activación del factor XIII (Mandelbaum 1990, Barraviera 1999).

Lo anterior hace que la fibrina formada sea bastante inestable y por tanto, rápidamente degradada por la activación secundaria del sistema fibrinolítico. Toda esta cadena de acciones lleva a que el paciente consuma Fibrinógeno sin obtener una coagulación adecuada (Figura 4). Por tanto el Fibrinógeno estará disminuido y los productos de degradación del Fibrinógeno estarán aumentados (Barrantes *et.al* 1985).



Figura 4. Paciente con Hemorragia Generada por el Veneno de *Bothrops asper*.
Fuente: Santiago Ayerbe MD. Hospital Universitario Nivel III “San José”, Popayán, Cauca.

El veneno de estas serpientes ha sido descrito como causante de trombocitopenia; debido a la acción de la trombocitina y la trombolectina (Stoker 1990).

5.4. DIAGNÓSTICO DEL ENVENENAMIENTO

Para diagnosticar un paciente con envenenamiento ofídico en general se deben tener en cuenta los siguientes parámetros:

5.4.1. ANAMNESIS.

Es la realización de una historia clínica a todo paciente que ingresa a un centro médico por una mordedura de serpiente y se trata de interrogar para determinar algunas precisiones sobre el tipo de accidente y vislumbrar más fácilmente el procedimiento a seguir; debe anotarse entre otras cosas la procedencia del paciente, la hora del accidente, síntomas y tiempo transcurrido.

5.4.2. EXAMEN FÍSICO.

El examen físico debe ser lo más completo posible y enfocado a corroborar algunos datos obtenidos en la anamnesis, en este examen físico se determinan los signos vitales, presencia de marcas de colmillos (Figura 5), sitio de la mordedura, signos de sangrado local o sistémico, dolor, edema, equimosis (Figura 5), flictenas, miembro afectado y examen neurológico entre otros y dependiendo de la experiencia médica.



Figura 5. Izquierda Marca de Colmillos, Derecha Máscara Equimótica Causadas por el Veneno de *Bothrops asper*.

Fuente: Santiago Ayerbe MD. Hospital Universitario Nivel III “San José”, Popayán, Cauca.

5.4.3. EXÁMENES PARACLÍNICOS

Son las pruebas que junto a la anamnesis y el examen físico nos dan un parámetro más amplio del accidente ofídico. Aunque existen múltiples pruebas para el diagnóstico, es importante evaluar cuales son las mas importantes según el tipo de envenenamiento, para no realizar pruebas innecesarias. Las pruebas mas importantes en el Ofidismo Bothrópico son: tiempo de coagulación, fibrinógeno, tiempo parcial de tromboplastina y tiempo de protrombina, recuento de plaquetas, cuadro hemático, parcial de orina, BUN y creatinina (Pineda y Renjifo 2002).

5.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS CAUSADAS POR EL ENVENAMIENTO

Se encuentran dos tipos de efectos bien definidos en el envenenamiento por mordedura de *Bothrops asper*: manifestaciones locales (Tabla 2) y los sistémicas (Tabla 3).

Tabla 2. Efectos Locales Causados por el Envenenamiento por *B. asper*.

Efectos Locales (Modificado Ayerbe 2002)	
Dolor intenso	Se presenta inmediatamente después de la mordedura.
Edema (Figura 6)	Aumenta rápidamente en la primera hora, alcanza el máximo a las 24 horas y presenta un descenso lento que puede durar varios días.
Flictenas (Figura 6)	Pueden ser hemorrágicas y son el efecto de la acción destructora de las metaloproteínas sobre el endotelio, vasos linfáticos y venosos.
Sangrado	Como consecuencia del consumo de Fibrinógeno, daño del endotelio capilar y efecto anticoagulante plaquetario o destructor de las plaquetas.
Otros efectos	Linfadenitis regional, parestesias, hipotermia, síndrome compartimental, necrosis tisular, abscesos y gangrena.



Figura 6. Izquierda Edema, Derecha Flictenas Causadas por el Veneno de *Bothrops asper*.

Fuente: Santiago Ayerbe MD. Hospital Universitario Nivel III “San José”, Popayán, Cauca.

Tabla 3. Efectos Sistémicos Causados por el Envenenamiento por *B. asper*.

Efectos Sistémicos (Modificado Ayerbe 2002)	
Sangrado	Se puede presentar a nivel gingival ó en cualquier superficie mucosa del organismo ó en el parénquima cerebral, pulmonar ó renal.
Hipotensión	Por acción del veneno o como resultado de una perdida importante de sangre, o por ambos, al inhibir la liberación de la enzima bradiquinina convertidora de angitensina.
Oliguria o Anuria	Como consecuencia de una insuficiencia renal aguda producida por daño en el endotelio renal o hipoperfusión renal. En mujeres embarazadas, se ha descrito que causa aborto por desprendimiento de placenta (Abruptis Placentae)
Síntomas Neurológicos	A causa de una hemorragia intracraneal ya sea en el espacio subarcnoideo ó intraparenquimatososa.

Según las manifestaciones locales y sistémicas, los hallazgos Paraclínicos que se observaran mas frecuentemente podrán ser: la elevación de los indicadores de la fase aguda, leucocitosis con desviación a la izquierda, anemia hemolítica microangiopática, disminución de los niveles de fibrinógeno, por fibrinogénolisis, fibrinólisis; trombocitopenia, prolongación del tiempo de coagulación, del tiempo de protrombina, del tiempo de sangría, del tiempo de trombina, y del tiempo parcial de

tromboplastina, aumento de los productos de degradación del fibrinógeno. Hematuria micro a macroscópica, hiperbilirrubinemia indirecta, elevación del aspartato amino-transferasa, aspartato alanino-transferasa, creatino-fosfoquinasa y lactodeshidrogenasa; elevación de la creatinina sérica y del nitrógeno ureico sanguíneo, elevación de los niveles de potasio serico y acidosis metabólica si coincide con insuficiencia renal aguda (Ayerbe 2002).

5.6. GRADOS DE ENVENENAMIENTO

Estos grados de envenenamiento se comparten con todas las especies del género *Bothrops*, *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrocophias*, *Porthidium* y *Lachesis* (Tabla 4).

Tabla 4. Grados de Envenenamiento por *Bothrops asper*.

Grado de Envenenamiento	Características (Modificado Ayerbe 2002)
Grado 0	Sin envenenamiento, huellas de mordedura sin otros cambios en 6 horas.
Grado I (Leve)	Edema de 12 cm. de extensión ó <; eritema perilesional, dolor local mínimo sin otros cambios en 6 horas.
Grado II (Moderado)	Edema entre 12-25 cm. Sangrado local escaso, flictenas, equimosis y/o petequias locales con dolor tolerable. Paraclínicos: [FI]: 100-200 mg/Dl.; TC: > 5 minutos; TP, TT, TPT prolongados 1 ó 2 veces lo normal, Trombocitopenia leve y hematuria microscópica. Leucocitos entre 12.000 y 16.000/mm ³ , neutrofilia franca y elevación potencial de la Proteína C Reactiva.
Grado III (Severo)	Edema entre 25-30 cm; equimosis y sangrado severo, por sitio diferente al área lesionada. Hipotensión arterial y/o absceso del área ofendida, bradicardia sinusal. Paraclínicos: [FI]: 50-99 MG/Dl.; TC: > 5 minutos, trombocitopenia leve a moderada, TP, TT, TTP prolongados 2 á 3 veces lo normal, hematuria franca, alteración progresiva de las pruebas de función renal. Leucocitos entre 16.000 y 20.000/mm ³ , con marcada neutro filia y elevación franca de la proteína C Reactiva (PCR)
Grado IV (Grave)	Edema mayor de 50 cm. hasta el hemitronco ipsilateral a la lesión, shock mixto, hemorragia del SNC, convulsiones, estupor, coma, falla renal aguda, insuficiencia respiratoria aguda, ictericia, necrosis, gangrena, falla orgánica multisistémica. Paraclínicos: [FI]: < 50 MG/Dl., pruebas de coagulación y de función renal gravemente alteradas, acidosis metabólica con [K ⁺] Sérico alto.

5.7. MEDIDAS PARA CONTRARRESTAR EL ENVENENAMIENTO

Estas medidas al igual que los grados de envenenamiento se comparten con todas las especies del género *Bothrops*. Cada ampolleta del Antiveneno Polivalente Bothrópico-Crotálico fabricado por el Instituto Nacional de Salud (INS) neutraliza 70 mg de veneno de *Bothrops* spp y 10 mg de veneno de *Crotalus durissus cumanensis* (Ayerbe 2002).

Tabla 5. Medidas para Contrarrestar el Envenenamiento Causado por *B. asper*.

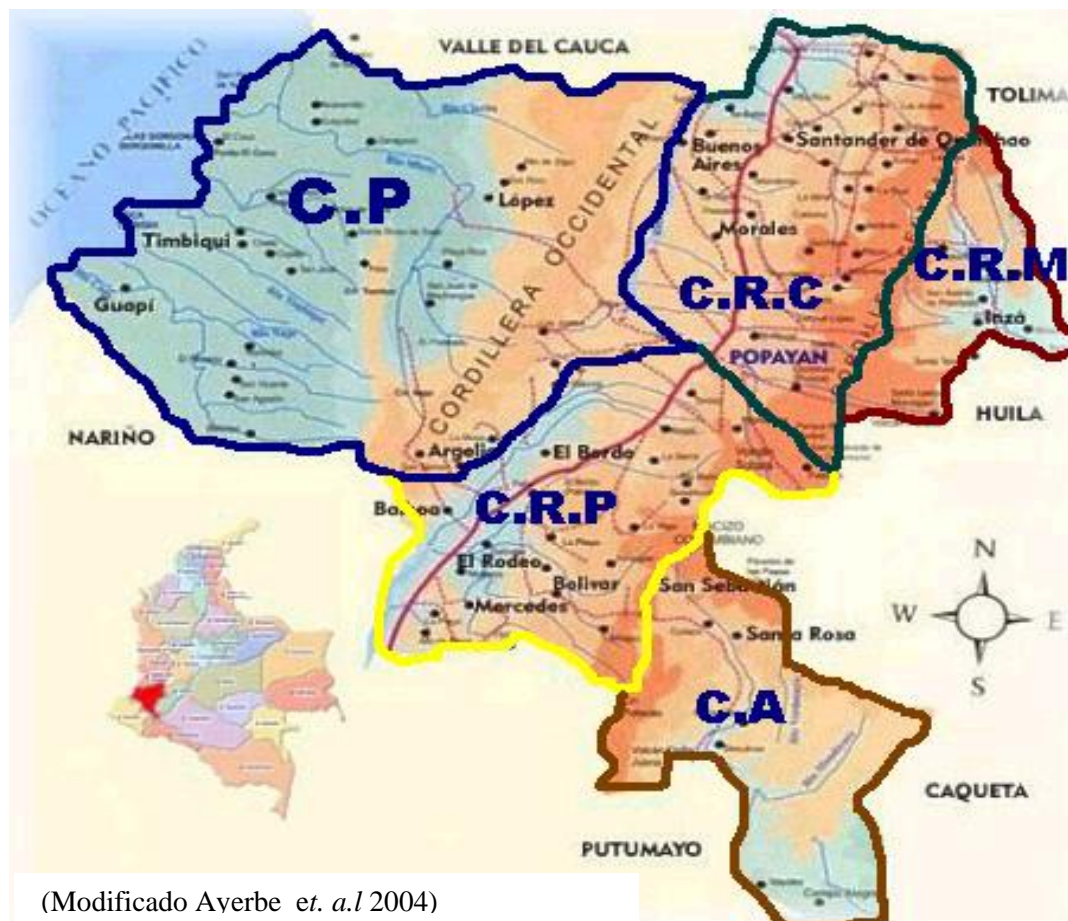
Grado de Ofidismo	Antiveneno Polivalente a Emplear
Grado 0 y I	No usar antiveneno
Grado II	2 á 4 ampollas
Grado III	5 á 8 ampollas
Grado IV	9 y + ampollas y/o hemodiálisis, repitiendo la dosis de antiveneno post- diálisis.

(Modificado Ayerbe 2002)

6. DISTRIBUCIÓN DE LAS POBLACIONES DE *Bothrops asper* EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA.

La topografía del Departamento del Cauca genera límites naturales, demarcados por cuencas hidrográficas que por la biología de la especie condicionan más su rango de distribución. En el Departamento del Cauca se cuenta con cinco cuencas hidrográficas (Figura 6).

Figura 7. Cuencas de Importancia Herpetológica en el Departamento del Cauca.



Convenciones: C.A: Cuenca del Amazonas, C.P: Cuenca del Pacífico, C.R.P: Cuenca del río Patía, C.R.C: Cuenca del río Cauca, C.R.M: Cuenca del río Magdalena.

Según las Cuencas hidrográficas y los registros en la colección de referencia de Herpetología del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca, se encontraron 3 poblaciones de *B. asper* con diferencias morfológicas marcadas. Por tal motivo se determinaron como áreas de estudio las Cuencas del Pacífico, del Río Patía y del Río Cauca. A estas poblaciones se les asignó una determinación arbitraria así:

- **Población *Bothrops asper* 1: Ba – 1**

Rango de distribución: Cuenca del Pacífico.

- **Población *Bothrops asper* 2: Ba – 2**

Rango de distribución: Cuenca del Río Patía.

- **Población *Bothrops asper* 3: Ba – 3**

Rango de distribución: Cuenca del Río Cauca.

7. ANTECEDENTES

Kuch y colaboradores en 1996 en uno de los apartes de su trabajo reportan la dosis letal 50 vía intraperitoneal del veneno de *Bothrops asper* de diferentes provincias del Ecuador así:

Área Geográfica	DL ₅₀ Aproximada (µg/g)
Prov. Manabí	6.5
Prov. Guayas	8.5
Prov. Los Ríos	8.5

Además reportan la dosis letal 50 de un “pool” de veneno de *Bothrops asper* procedente de Costa Rica, la cual fué determinada mediante inoculación intraperitoneal, obteniendo como resultado una dosis de 6.3 (µg/g).

Algunos estudios puntuales que se encuentran son los de Montilla y Álvarez (1998), los cuales calcularon la DL₅₀ del veneno de la serpiente *Bothrops colombiensis* (sinónimo de *B. atrox*, Campbell y Lamar 2004) mediante la inoculación intraperitoneal a ratones albinos. El procedimiento se hizo evaluando dosis ascendentes de veneno desde 100 hasta 200 µg por ratón, en un período de observación de 48 horas post-inoculación. Hallaron que existía relación entre la dosis de veneno y su efecto, demostrada por la alta sensibilidad de los animales y la reproducibilidad del efecto. La DL₅₀ obtenida para este veneno Bothrónico fue de 138.9 µg por ratón de peso entre 19 y 21 g.

En 2001 Saravia y colaboradores en su trabajo obtienen una dosis letal 50 vía intraperitoneal para el veneno de *Bothrops asper* de Guatemala de 5.68 µg/g (44.5-72.4) en ratones con peso entre 16-18 g, con un límite de confianza del 95%.

Yasnó en 2005, determinó la dosis letal 50 de un “pool” de veneno de 3 ejemplares de *Bothrops asper* del Departamento del Cauca, encontrando una concentración de veneno puro de 192.9876 mg/ml y una concentración de la solución de trabajo de 0.5421 mg/ml. Para la determinación de la DL_{50} empleó ratones cepa ICR con un rango de peso entre 33-36g de peso, partiendo de una dosis letal 50 conocida de 5.68 $\mu\text{g/g}$, evaluada mediante el método de Hodges y Lehmann, y el programa estadístico Tóxico Sevcick (1998), encontró una dosis letal 50 de 6.22 $\mu\text{g/g}$.

Uno de los investigadores con más trayectoria sobre el estudio epidemiológico en el Sur Occidente Colombiano es Santiago Ayerbe Gonzáles MD. Quien Publicó en el año 2000 el resultado de una de sus investigaciones donde evaluó los aspectos epidemiológicos, etiológicos, clínicos y complicaciones del Ofidismo observado en 66 pacientes atendidos entre 1993 y 1997 en el Hospital Universitario Nivel III “San José” de Popayán (Colombia). Hizo comparaciones con estudios retrospectivos del mismo Hospital llevados a cabo en las dos últimas décadas del siglo XX, mostrando cambios importantes en algunas variables; como el incremento de pacientes por año debido al parecer por la mayor difusión del manejo del accidente ofídico realizada en los municipios, mejor capacidad y calidad de atención dada a los pacientes. Esto permitió disminuir la mortalidad a pesar de que las complicaciones aumentaron en razón del incremento de casos.

Los pacientes en edad pediátrica por debajo de los 15 años fueron los más afectados, las mordeduras nocturnas disminuyeron y disminuyeron los casos de ofidismo ocasionados por *Bothriechis schlegelii*, los Colúbridos y *Micrurus mipartitus*.

8. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

8.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

De acuerdo a la distribución geográfica de las poblaciones a evaluar obtenida de la revisión de la colección de referencia de Herpetología del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca, se procedió a identificar las características toxinológicas (letalidad del veneno) y Epidemiológicas de la especie *Bothrops asper*.

Se trabajó con tres especímenes adultos de *B. asper* (Tabla 6) colectados en el Departamento del Cauca y mantenidos en cautiverio, en condiciones similares de luz, humedad y temperatura en el Herpetario del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca (He-MHNUC), hoy en el Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Cauca (CIBUC), se contó con un individuo por cada población de estudio para el desarrollo del trabajo. Estos individuos se alimentan cada 15 días con ratones albinos adultos.

Tabla 6. Identificación y Procedencia de las Serpientes de Estudio

Población de <i>Bothrops asper</i>	Nº Terrario	Procedencia
Ba - 1	11	Cuenca Pacífico
Ba - 2	16	Cuenca Río Patía
Ba - 3	34	Cuenca Río Cauca

8.2. OBTENCIÓN DEL VENENO

Se realizó la extracción del veneno de un individuo por cada población de serpiente, este procedimiento se llevó a cabo de manera manual empleando para tal fin un sujetador, dos ganchos sencillos y un gancho de presión (Figura 7) diseñados especialmente para inmovilizar y manipular a las serpientes, estos implementos se consiguieron en préstamo en el Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca. Para la recolección del veneno se empleó un Beaker recubierto con látex en condiciones estériles (Figura 8).

Estando inmovilizada la serpiente se procedió a emplear el método europeo de sujeción en el cual se emplean 3 soportes, el dedo anular en un extremo, el índice sobre la cabeza y el dedo pulgar sujetando el otro extremo de la cabeza de la serpiente, estas posiciones de agarre imposibilitan al reptil de girar y morder, se acercó el Beaker a la serpiente para que ésta mordiera el látex de manera natural y una vez ubicados los colmillos de la serpiente dentro del beaker se procedió a realizar masajes sobre su maxilar superior procurando presionar las glándulas de veneno para obtener una muestra considerable de éste (Figura 9). En estos procedimientos se procuró hacer el menor daño posible a las serpientes, brindando condiciones de seguridad para quienes las manipulaban.

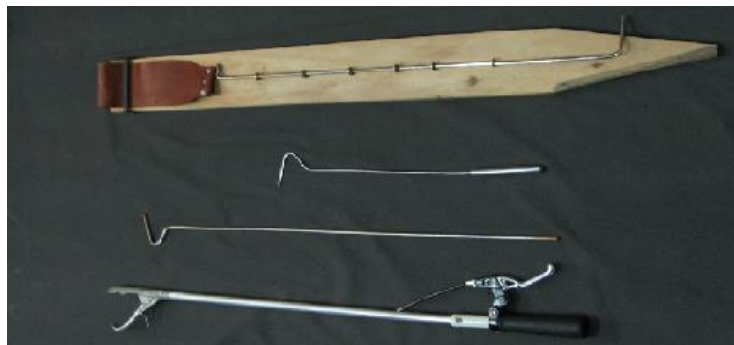


Figura 8. Sujetadores para Manipulación de Serpientes.

Fuente: Leney Solarte, Rodrigo Navia

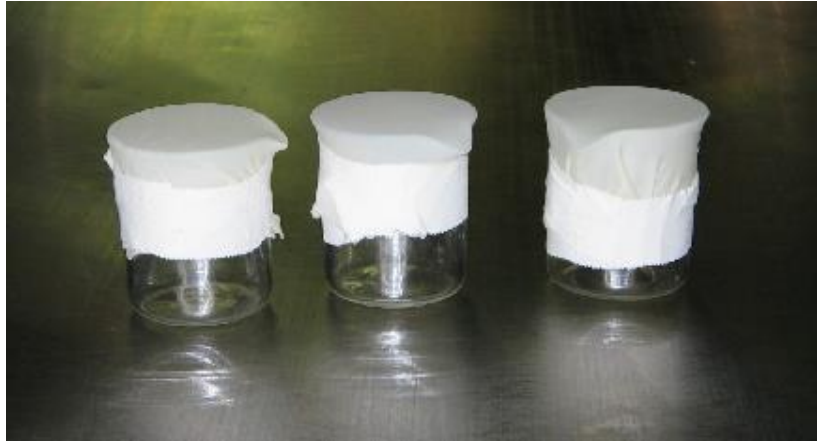


Figura 9. Beaker Estériles para Recolección de Veneno

Fuente: Leney Solarte, Rodrigo Navia



Figura 10. Sujeción y Extracción de Veneno

Fuente: Leney Solarte, Rodrigo Navia.

Una vez recolectado el veneno en el Beaker debidamente rotulado fue pasado a tubos Eppendorf, para realizar el proceso de espectrofotometría y se almacenó congelado a una temperatura de -20°C para su posterior utilización.

8.3. CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS

Al veneno obtenido y mantenido en los tubos Eppendorf se le agregó 1ml de solución salina al 0.9 N y se procedió a homogenizar en un vortex, seguidamente se llevó a centrifugación a 6000 rpm a una temperatura de 4°C durante 30 min. (Guerrero 2002) con el fin de separar los componentes del veneno y obtener una concentración de proteínas aisladas con la menor cantidad de impurezas.

Para la cuantificación de las proteínas se empleó 10 µl del sobrenadante diluyéndose en 490 µl (Factor de dilución equivalente a 50) de solución salina de NaCl (0.9 N) para emplear cubetas de 500 µl estériles, además se empleó como blanco para la lectura NaCl (0.9 N). Se realizó la lectura de absorbancia a 280 nm en un equipo espectrofotométrico Genesys 6, Los valores obtenidos se promediaron mediante la siguiente formula:

$$C_{fv}(mg/mL) = (A_{280})(F_{d1})(F_{d2})(V_t)$$

C_{fv} : Concentración final del veneno.

A₂₈₀: Absorbancia a 280 nm.

F_d: Factor de Dilución.

V_t: Volumen de veneno obtenido.

Para determinar la concentración de proteínas del veneno puro se empleo la siguiente formula:

$$C_2 = V_1 C_1 / V_2$$

C₁: Concentración Inicial, C₂: Concentración Final

V₁: Volumen Inicial, V₂: Volumen Final

8.4. DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50 (DL₅₀)

En términos generales un bioensayo puede ser definido como cualquier prueba que involucra organismos vivos, a su vez se puede señalar como cualquier método por medio del cual alguna propiedad de una sustancia o material, es medida en términos de la respuesta biológica que produce. Los datos obtenidos de un bioensayo no pueden ser analizados con la metodología estadística tradicional que se usa en los ensayos de campo sino que se debe utilizar lo que se llama estadística cuantil, la cual se caracteriza por la respuesta a un estímulo de n unidades experimentales, donde r unidades responden y $n - r$ no lo hacen. El principal objetivo de este tipo de análisis es evaluar el nivel de estímulo que es necesario para obtener una respuesta en un grupo de individuos de la población.

Este procedimiento se llevo a cabo con el objetivo de determinar la letalidad de cada una de las poblaciones de serpientes y su posterior comparación, teniendo en cuenta que la dosis letal 50 es un valor o dosis mínima ya sea de un veneno, fármaco o químico que hace que el 50% de una población expuesta a éste muera, y el otro 50% de la población sobreviva.

Con la ayuda del programa AOT425 StatPgm Program AOT425 StatPgm de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de Norte América por Westat, se realizaron las progresiones geométricas para determinar las dosis a emplear y la evaluación estadística no paramétrica mediante el programa estadístico Graphpad Prism 4.

VARIABLES QUE EMPLEA DE PROGRAMA AOT425 STATPGM:

Dosis Limite: Numero de dosis limite que puede ser empleada, estas dosis son generadas por el programa y tiene un mínimo de 2000 dosis hasta las 5000 progresiones geométricas

DL50 Asumida: Dosis conocida o de partida, que es generada por el investigador y en este caso en el numeral 8.6 están especificadas las dosis a emplear.

Sigma: Es el mejor valor de desviación estándar en la escala logarítmica para la progresión de las dosis a emplear, al iniciar el ensayo se emplea la dosis letal conocida y el próximo dato va a ser la dosis mas un sigma de 3.2 que equivale al valor mas pequeño que puede seguir la dosis a emplear el siguiente dato, esto proyecta tres valores de los cuales automáticamente se ajustara a uno de estos dependiendo del resultado (si el animal de experimentación vive o muere) del animal anterior. Esta sigma se basa en la prueba de Dixon de máxima probabilidad donde:

$$L = L_1 L_2 \dots L_n,$$

L: Es la probabilidad del resultado experimental, sigma, y n el número total de los animales probados.

$L_i = 1 - F(Z_i)$ si el animal sobrevivió

$L_i = F(Z_i)$ si el animal se murió,

Donde

F = la distribución normal acumulativa,

$Z_i = [\log(d_i) - \mu] / \sigma$

El d_i = dosis dada al animal

Con los datos obtenidos del ajuste del sigma el programa genera partiendo de las dosis limite una progresión geométrica a partir de un máximo 15 datos o si los datos que se van obteniendo a medida que avanza el experimento generan características para no realizar mas pruebas con animales el programa automáticamente se detiene y genera los datos de las progresiones que considera que continúan los datos que se han obtenido y no se requerirá la utilización de mas animales de experimentación. Y el resultado de la dosis letal será el resultado de la progresión basada en la prueba de máxima probabilidad de Dixon.

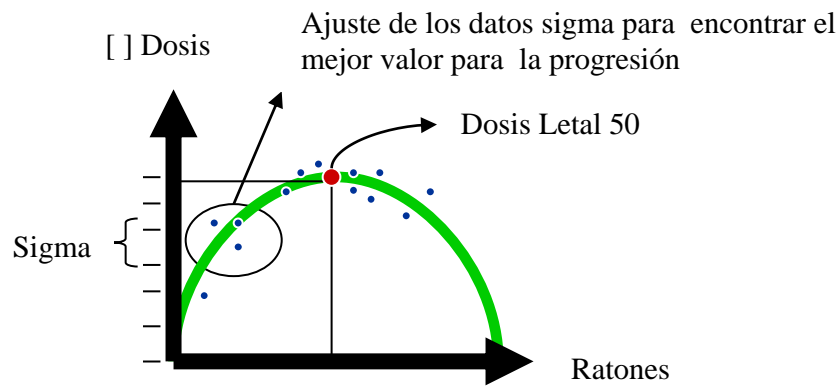


Figura 11. Características del programa AOT425 StatPgm, para la determinación de la Dosis Letal 50.

8.5. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se emplearon ratones *Mus musculus* cepa ICR, esta es una cepa de ratones puros empleados para la investigación, pero fueron desarrollados inicialmente para el estudio de cáncer y en la actualidad se emplea para otro tipo de investigaciones. Se emplearon ratones machos (Figura 12), con peso entre 16 y 18 g suministrados por el Bioterio de la Universidad del Valle, los cuales fueron mantenidos en condiciones

similares de luz temperatura y humedad, proporcionando alimentación (Rodentina) a diario en iguales condiciones (*ad limitum*).



Figura 12. Ratones Cepa ICR.

Fuente: Rodrigo Navia.

Para la DL_{50} se destinaron 15 ratones por dosis, teniendo en cuenta que éste es el número máximo de individuos que emplea el paquete estadístico (AOT425 StatPgm), sin embargo puede darse el caso que según las respuesta a la dosis empleada no se requiera de 15 ratones por dosis sino de un menor numero.

8.6. DOSIS EMPLEADAS

Se partió de una dosis letal 50 conocida de $5.68 \mu\text{g/g}$ que para este caso fue la obtenida por Saravia, *et al.* (2001), para el veneno de *Bothrops asper* de Guatemala. Teniendo en cuenta que la concentración de proteínas presentes en los venenos varia según el lugar de procedencia de las serpientes se decidió emplear tres dosis así:

Dosis 1 ($8.52 \mu\text{g/g}$): dosis letal 50 conocida mas 50% de la misma.

Dosis 2 ($5.68 \mu\text{g/g}$): dosis letal 50 conocida.

Dosis 3 ($2.84 \mu\text{g/g}$): 50% de la dosis letal 50 conocida.

Estas dosis fueron empleadas para la evaluación de la DL₅₀ del veneno de cada población, y con la ayuda del programa AOT425 StatPgm de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de Norte América, se obtuvieron las subsiguientes dosis a utilizar en cada caso y que variaron de acuerdo a si el ratón moría o vivía.

8.7. VIA DE INOCULACIÓN DEL VENENO

La inoculación del veneno se llevo a cabo por vía intraperitoneal, debido a que es una vía de inoculación de absorción rápida y nos permite apreciar efectos inducidos por el veneno de las serpientes, además es un método empleado y descrito en publicaciones internacionales lo cual hace comparable los resultados.

Esta inoculación se llevo a cabo con jeringas de insulina de 1ml. Para este procedimiento se tomo al ratón por el cuello y con la misma mano se aprisionó la cola para evitar que el ratón se mueva a la hora de inyectarlo, teniendo libre el abdomen se dividió éste en cuatro cuadrantes colocando la inyección de veneno en el cuadrante inferior izquierdo del ratón, este procedimiento se llevó a cabo con todos los ratones (Figura 13).



Figura 13. Inoculación Intraperitoneal de Veneno.

Fuente: Rodrigo Navia

8.8. TIEMPO DE OBSERVACIÓN

Se determinaron dos tiempos de observación post inoculación según lineamientos internacionales acogidos en el programa estadístico AOT425 StatPgm para la determinación de la DL_{50} . Estos tiempos son denominados como Observación a Corto Plazo que por las características del veneno se fijó a 30 min. y Observación a Largo Plazo que se fijó en un periodo de 31 min. a 48 horas, Pasadas las 48 horas tiempo máximo de observación se realizó la eutanasia de los individuos sobrevivientes mediante la inhalación de éter. Durante este tiempo de observación los animales de experimentación fueron alimentados con Rodentina y se les suministró agua, estos procedimientos fueron realizados bajo la supervisión de Heiner Lozano Médico Veterinario, Estudiante de Maestría en Farmacología de la Universidad del valle.

8.9. DETERMINACIÓN EPIDEMIOLOGICA DEL ACCIDENTE OFIDICO CAUSADO POR LAS POBLACIONES Ba - 1, Ba- 2 Y Ba - 3 DE *Bothrops asper*.

Se revisaron los expedientes clínicos de pacientes que egresaron con diagnóstico de mordedura de serpiente en el Hospital Universitario “San José” (HUSJ) entre 1998 y el 2003, se consignó la información en un formato que incluía las siguientes variables epidemiológicas y clínicas:

Sexo del paciente, edad, sitio de procedencia, hora de la mordedura, sitio anatómico de la mordedura, mordeduras previas, grado de envenenamiento, exámenes Paraclínicos (cuadro Hemático [CH], niveles de Fibrinógeno [FI], Productos de degradación del Fibrinógeno [PDF], recuento de plaquetas [Plq], tiempo de Pro trombina [TP], tiempo parcial de Tromboplastina [TPT]), tipo y cantidad de suero antiofídico (SAO) empleado.

El análisis de estos datos se realizó mediante estadística descriptiva, representándolos por medio de gráficos de barras y “pasteles” en donde se emplearon datos tanto en valores como en porcentajes comparativos.

9. RESULTADOS

9.1. POBLACIÓN 1 DE *Bothrops asper* (Ba-1)

Esta población tiene su rango de acción en la Cuenca del Pacífico (C.P). Forma parte del Chocó biogeográfico y tiene alturas que van desde el nivel del mar hasta los 3000 msnm. Al Norte limita con el Departamento del Valle, al Oriente limita con la cima de la Cordillera Occidental, al Oeste con el Océano Pacífico, Islas de Gorgona Gorgonilla y al Sur con el Departamento de Nariño (IGAC 1993).

Esta Cuenca Hidrográfica está constituida por la faja costera inmediata al Océano Pacífico y comprende la costa propiamente dicha, las llanuras y colinas que se extienden entre el Océano Pacífico y la vertiente occidental de la Cordillera Occidental. Esta área es una zona típica de tierras ecuatoriales cuyas características más sobresalientes son: topografía baja, en general clima muy húmedo y cálido y una cobertura vegetal densa en su mayor parte (IGAC 1993).

Geológicamente está constituida por depósitos sedimentarios de la era terciaria, depósitos marinos recientes y terrazas aluviales, conformadas por arenas y limos localizados a lo largo de los grandes ríos. En términos generales la región esta constituida por dos grandes unidades fisiográficas que son las llanuras y las colinas, las llanuras se encuentran conformadas a su vez, por dos unidades: formas marinas o de litoral y formas aluviales (IGAC 1993).

La Red hidrográfica de la Vertiente Pacífico esta conformada principalmente por los ríos Guapi, Timbiquí, Saija y Micay; cada uno con sus cuencas independientes, desemboca en el Océano Pacífico. Una característica sobresaliente de la hidrografía de esta cuenca es la existencia de ríos con cauces relativamente cortos pero muy caudalosos, debido a la gran pluviosidad (IGAC 1993).

La población se ha establecido a lo largo de las márgenes de los ríos, por donde son movilizados un sinnúmero de productos agrícolas a diferentes centros de distribución.

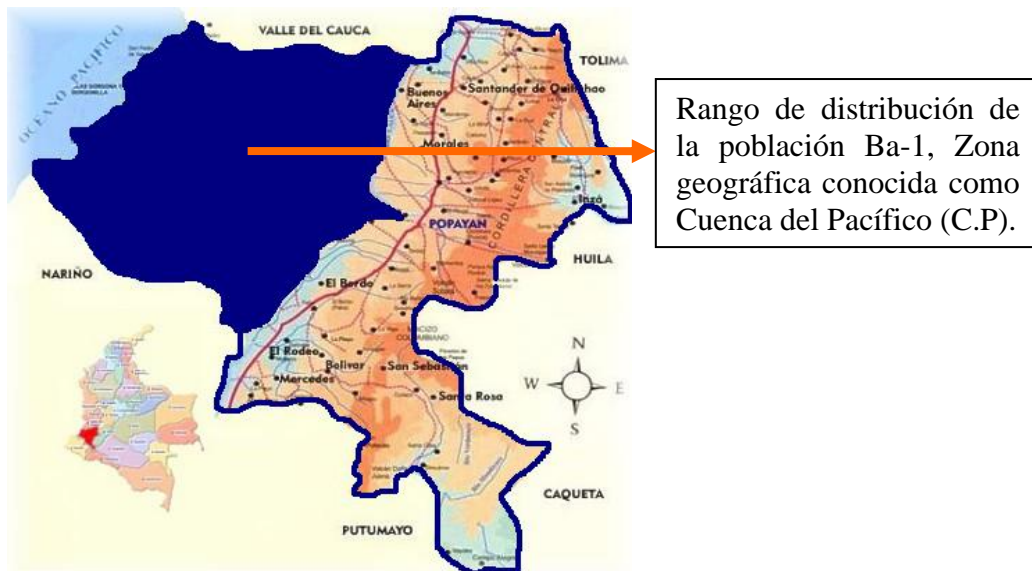


Figura 14. Distribución Espacial Población 1 de *Bothrops asper* (Ba-1), en el Departamento del Cauca.

De acuerdo a lo anterior el rango de distribución de esta población se presenta en los municipios de: Argelia, El Tambo, Guapi, López de Micay, Morales y Timbiquí.

La población de *B. asper* que se encuentra en esta zona es conocida vulgarmente como “Equis Negra”, “Terciopelo” o “Cuatro Narices”.

Según la revisión de que se realizó a la colección de referencia de herpetología del Museo de Historia Natural, se encontró un total de 37 especímenes provenientes de

ésta región, 33 hembras y 4 machos, de un total de 55 individuos de *B. asper* colectados en el Departamento del Cauca.



Figura 15. *Bothrops asper* Población Ba – 1, Localidad: Huisitó (350msnm), El Tambo, Cauca, Colombia.

Fuente: Alejandro Martínez, Rodrigo Navia. Espécimen: Serpentario CIBUC.

9.1.1. RESULTADOS TOXINOLÓGICOS

Se extrajo veneno del espécimen mantenido en el Serpentario del CIBUC, con número de terrario 11, procedente de la Cuenca del Pacífico (Tabla 7).

Tabla 7. Veneno Obtenido, Concentración a 280 nm y Concentraciones de Soluciones.

Población de <i>Bothrops asper</i> Ba – 1	Cantidad de Veneno Obtenida (ml)	Concentración Veneno Puro(mg/ml)	Concentración de las Soluciones (mg/ml)	
			Solución Madre	Solución de Trabajo
	0.25	194.2685	60.62	0.6062

9.1.1.1. DL₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-1, DOSIS 1

Resultados Arrojadados por el Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-1, dosis 1.

Dosis Límite ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000

DL50 Asumida ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2.8

Sigma Asumido ($\mu\text{g/g}$): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000, 1420, 1130, 900, 710, 570, 450, 360, 280, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179. Aquí se muestran solo las primeras 40 dosis.

Tabla 8. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-1, dosis 1, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada ($\mu\text{g/g}$)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	2.2	0	0
2	2.8	0	0
3	3.6	0	0
4	4.5	0	X
5	5.7	0	0
6	7.1	X	X
7	5.7	0	X
8	7.1	X	X
9	5.7	0	0

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 9. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-1, Dosis 1, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
2.2	1	0	1
2.8	1	0	1
3.6	1	0	1
4.5	0	1	1
5.7	2	1	3
7.1	0	2	2
Total Dosis	5	4	9

DL₅₀ Estimada = 6.727 (µg/g peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 57 a 71 (µg/g peso corporal).

9.1.1.2. DL₅₀ VENENO POBLACION Ba-1, DOSIS 2

Resultados del Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-1, dosis 2.

Dosis Límite (µg/g peso corporal): 2000

DL₅₀ Asumida (µg/g peso corporal): 5.68

Sigma Asumido (µg/g): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa (µg/g peso corporal): 2000, 1430, 1130, 900, 720, 570, 450, 360, 280, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180. Aquí se muestran solo las primeras 40 dosis.

Tabla 10. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-1, Dosis 2, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada (µg/g)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	4.5	O	O
2	5.7	O	O
3	7.2	O	X
4	9.0	X	X
5	7.2	X	X
6	5.7	O	O
7	7.2	X	X

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 11. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-1, Dosis 2, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
4.5	1	0	1
5.7	2	0	2
7.2	0	3	3
9.0	0	1	1
Total Dosis	3	4	7

DL₅₀ Estimada = 6.155 (µg/g peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 57 a 72. (µg/g peso corporal).

9.1.1.3. DL₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-1, DOSIS 3

Resultados del Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-1, dosis 3

Dosis Límite (µg/g peso corporal): 2000

DL50 Asumida ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 8.52

Sigma Asumido ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000, 1700, 1350, 1070, 850, 680, 540, 430, 340, 270, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214. Aquí se muestran solo las primeras 40 dosis.

Tabla 12. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-1, Dosis 3, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada ($\mu\text{g/g}$)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	6.8	O	X
2	8.5	X	X
3	6.8	X	X
4	5.4	O	O
5	6.8	X	X

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 13. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-1, Dosis 3, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
5.4	1	0	1
6.8	0	3	3
8.5	0	1	1
Total Dosis	1	4	5

DL₅₀ Estimada = 5.318 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 54 a 68. ($\mu\text{g/g}$ peso corporal).

Tabla 14. Dosis Empleadas y Encontrada para la Población de *B. asper* Ba-1

Dosis de Veneno Empleadas ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)	DL₅₀ por Dosis Experimentales ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)	DL₅₀ <i>Bothrops asper</i> Población Ba-1	Intervalo de Confianza 95%
2.84	6.727	6.066$\mu\text{g/g}$	5.6 – 7.03
5.68	6.155		
8.52	5.318		

9.1.2. RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Entre 1998 y 2003 en la población Ba - 1 se presentaron 15 casos (18.3%) de los 82 accidentes causados por las tres poblaciones de *B.asper*, encontrando su pico mas alto en el año 2002 con 4 accidentes, seguido por los años 1998 y 1999 con tres accidentes por año, los años 2000 y 2003 con 2 accidentes por año y por ultimo el año 2001 con un caso (Figura 16).

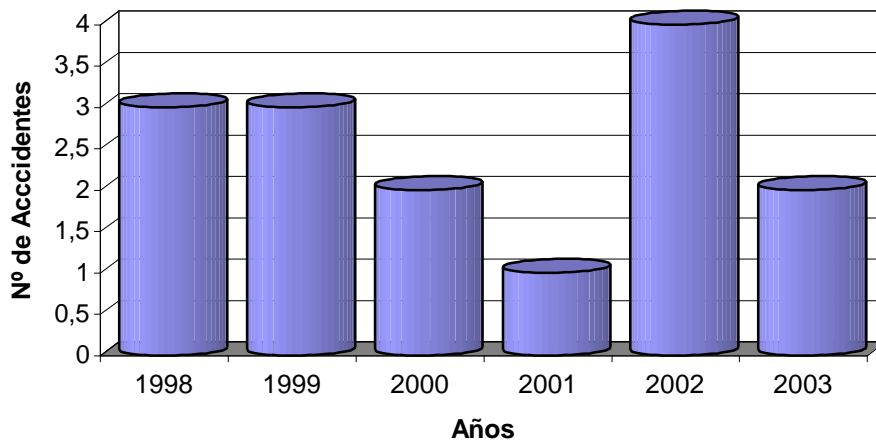


Figura 16. Incidencia de Accidentes Ofídicos Causados por la Población Ba – 1, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

Los Municipios en los cuales se registraron estos accidentes fueron el Municipio de EL Tambo con un total de 14 accidentes (93%) en el periodo de tiempo de estudio y el Municipio de Argelia con 1 caso (7%), para un total de 15 casos ocasionados por esta población de serpientes en la Cuenca del Pacífico.

Se encontró en la población Ba-1 un mayor número de casos en los hombres con 10 accidentes y una menor proporción para las mujeres con 5 casos (Tabla 9).

Tabla 15. Proporción de Accidentes Según el Género.

Población <i>B. asper</i>	Sexo	
	Masculino (%)	Femenino (%)
Ba - 1	66.7	33.3

La incidencia de accidentes de acuerdo al grupo de edad de los afectados presentó un rango que oscila entre los 2 y 62 años, siendo el grupo de personas con rango etéreo entre 46 y 60 años con 4 casos (27%) los mas afectados, seguidos por los grupos etéreos de 16 a 30, 31 a 45 y de más de 61 años con 3 casos cada uno (20% c/u) y por último se encontró el grupo de menores de 15 años con 2 (13%) accidentes (Figura 17).

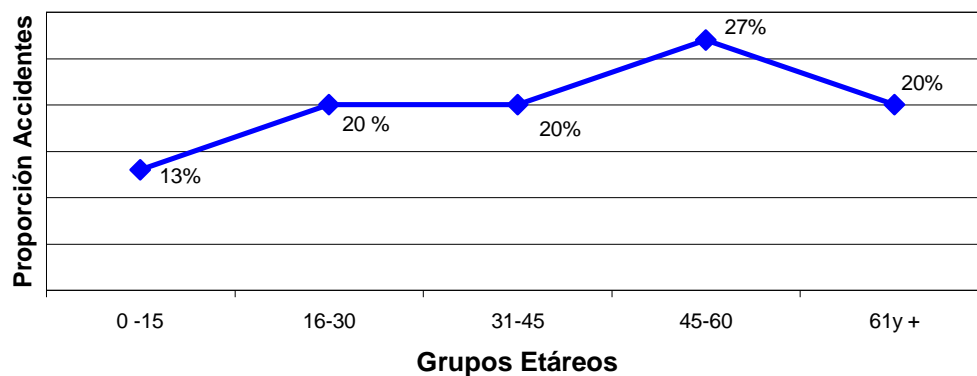


Figura 17. Incidencia de Accidentes Causados por la Población Ba-1 Según Grupos Etéreos, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

Las áreas corporales más comprometidas fueron los miembros superiores con un total de 8 casos, donde miembro superior derecho fue el más afectado en un 45.45% de los casos. Al igual que con los miembros superiores en los miembros inferiores se dió que el más afectado fue el miembro inferior derecho con una proporción de 18.18% de los casos (figura 18).

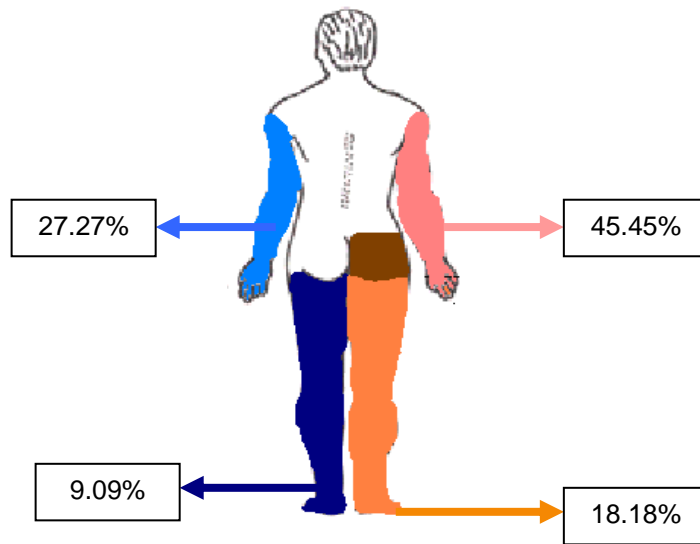


Figura 18. Áreas Corporales Comprometidas en Accidentes Ofídicos por Ba – 1, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

El tiempo transcurrido desde el momento del accidente hasta el arribo del paciente a un centro médico osciló entre 1 hora y 4 días.

Los exámenes Paraclínicos no fueron realizados en la mayoría de los casos de esta serie, teniendo entonces que el Tiempo de Pro trombina (TP) y el Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT) fueron los más solicitados con un 73.3% (11 casos) y 66.6% (10 casos) respectivamente del total de los casos y el resto de pruebas se realizaron en una menor proporción como se puede observar en la Tabla 16.

Tabla 16. Proporción de Pruebas Paraclínicas Tomadas

Prueba Paraclínica	Población <i>B. asper</i> Ba – 1 (%)
Tiempo de Pro trombina	73.3
Tiempo parcial de Tromboplastina	66.6
Niveles de Fibrinógeno	26.6
Creatinina	33.3
Hemoglobinuria	20
Hematuria	13.3

Teniendo en cuenta las pruebas paraclínicas realizadas, se clasificaron los valores de los resultados como normales y alterados como se muestra en la Tabla 11.

Tabla 17. Exámenes Paraclínicos Normales y Alterados Tomados

Prueba Paraclínica	Población <i>B. asper</i> Ba-1	
	Normal	Alterado
Tiempo de Pro trombina (TP) (Norm. 11 - 13 Seg. Aprox.)	3	8
Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT) (Norm. 30 - 40 Seg. Aprox.)	3	7
Niveles de Fibrinógeno (Norm. 200 - 400 mg/dl Aprox.)	0	4
Creatinina (Norm 0.5 - 1.3 mg/dl Aprox)	5	0
Hemoglobinuria (Norm 11.0 – 16.5 g/dl aprox.)	2	1
Total	13	20

De acuerdo al grado de envenenamiento causado por las serpientes de esta población (Figura 19) se encontró un caso en el Grado 0, en el Grado I se registraron tres accidentes, en el Grado II hubo Siete casos, en el Grado III se reportaron Tres casos y en el Grado IV se encontró un accidente, el cual tuvo un desenlace fatal donde un paciente de 62 años proveniente de la Vereda los Anayes, Municipio de El Tambo

Cauca, muere y no fue propiamente por la acción tóxica del veneno sino por un paro cardíaco ocurrido días después de haberse sobrepuesto al accidente ofídico, este paciente al ingresar al HUSJ se determina que había sido mordido por una serpiente propia de esta población, en 4 ocasiones en el miembro superior izquierdo, las pruebas de laboratorio TP y TPT registraron tiempos infinitos, diagnosticándose como grado IV de envenenamiento, el cual fue neutralizado con tres ampollas de SAO, pero encontrándose hospitalizado después de estar restablecido y listo para darle de alta le sobrevino una crisis asmática lo cual lo llevó a un paro cardíaco fulminante a los 10 días de haber ingresado al centro hospitalario.

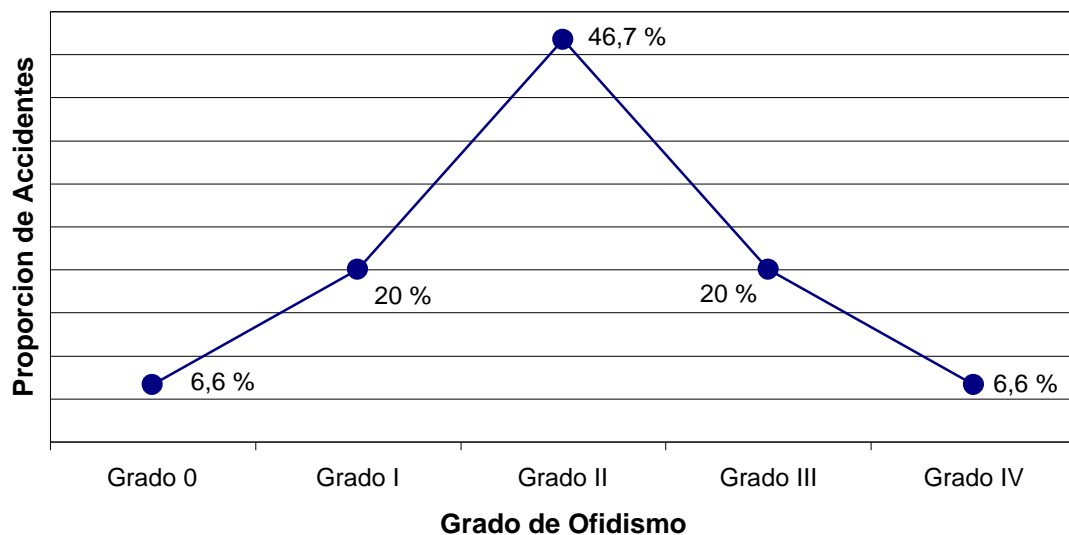


Figura 19. Proporción de los Grados de Ofidismo Causados en los Accidentes por la Población Ba -1, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

En los accidentes causados por la población Ba – 1 se empleó suero antiofídico polivalente a excepción, de los casos con Grado de Ofidismo O (Tabla 18), donde no es necesario el uso y algunos casos en el grado I donde se ha dejado que el paciente

genere sus propios anticuerpos para contrarrestar el efecto del veneno, esto se hace con toda la supervisión médica y teniendo en cuenta que en las condiciones que ingresa el paciente es posible este procedimiento. En otros casos ha sido un envenenamiento tardío por lo cual el veneno ya ha sido neutralizado por el organismo, pero algunas reacciones secundarias son visibles, por lo cual se debe aplicar otro tipo de tratamiento, que en estos caso se realizó con antibióticos. Los pacientes provenientes de esta cuenca se encontraron en el centro hospitalario entre 1 y 10 días, dándoles de alta cuando se encontraron totalmente restablecidos, aunque en esta serie se encuentra una estadía hospitalaria elevada de 10 días perteneciente al caso mencionado anteriormente del paciente que sufrió crisis asmática después de estar restablecido por el accidente ofídico y muere, dato que eleva el rango de la estadía hospitalaria.

Tabla 18. Grado de Ofidismo, Número de Ampolletas Según Tipo de Suero y Estadía Hospitalaria.

	Población de <i>B.asper</i> Ba – 1			Estadía
	Suero antiofídico			
Grado	N ^a Casos	Polivalente	Monovalente	Días / Hosp.
0	1	0	0	1
I	3	1	0	1.3
II	7	8	0	3.4
III	3	4	0	5.3
IV	1	3	0	10
Total	15	16	0	21

En los casos en los cuales se requirió el uso de suero antiofídico, se empleó el suero antiofídico polivalente, de los 15 casos de esta población se emplearon en promedio una ampolleta por caso.

9.2. POBLACIÓN 2 *Bothrops asper* (Ba -2)

El rango de acción de esta población está delimitado por la Cuenca del Río Patía presentando sus límites al Norte con el divorcio de aguas de la Cuenca del río Cauca, al Este con la cima de la Cordillera Central y el Macizo Colombiano, al Oeste con la cima de la Cordillera Occidental y su Pie de Monte Oriental y al Sur con el Departamento de Nariño (IGAC 1993).

El levantamiento que dió origen a la formación de las cordilleras Occidental y Central no fue uniforme y produjo un hundimiento de un bloque intermedio que dió paso a la formación del Valle del Patía, el cual es una extensión plana con una altura promedio de 600 msnm, conformado por materiales sedimentarios heterogéneos provenientes de las formaciones geológicas que lo circundan y que han sido transportados por la acción de las lluvias hacia el cauce de la Hoya del río Patía (IGAC 1993).

La Red Hidrográfica del Río Patía esta conformado por la confluencia del río Timbío y el río Quilcacé. Como tributarios principales del río Patía se encuentran el río Guachicono, conformado por los ríos Mazamurras, Blanquita y Blanco, el río Esmita, el Bojoleo, el San Jorge, el Guabal, el Sambingo y el Mayo, este último sirve como limite entre el departamento del Cauca y Nariño(IGAC 1993).

Los municipios que se encuentran bajo la influencia de esta población de serpiente son: Almaguer, Balboa, Bolívar, Florencia, El Patía, el sudoeste de El Tambo, La Sierra, La Vega, Mercaderes, Rosas, San Sebastián, Sotará, Sucre, sur de Popayán y Timbío.

De acuerdo a la revisión de especímenes realizada a la colección de referencia de Herpetología del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca se encontró

un total de 8 individuos de *B. asper* pertenecientes a esta región de los cuales 6 son hembras y 2 machos.

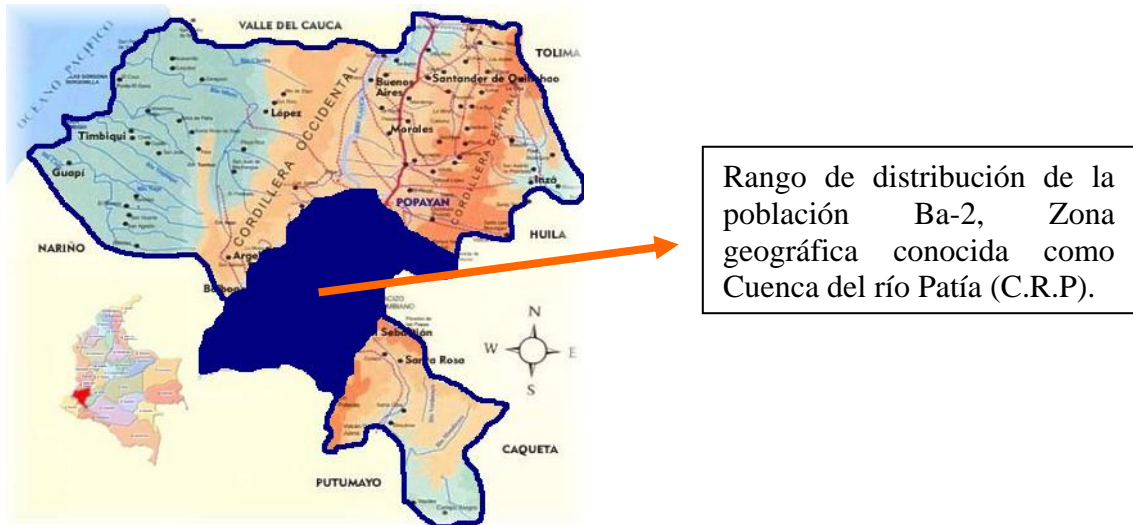


Figura 20. Distribución Espacial Población 2 de *Bothrops asper* (Ba-2), en el Departamento del Cauca.

Esta población de *B. asper* es conocida vulgarmente en la Cuenca del río Patía como “Equis Gris o Equis Patiana”.



Figura 21. *Bothrops asper* Población Ba-2, Localidad: Río Quilcacé (1400msnm), Rosas, Cauca, Colombia.
Fuente: Alejandro Martínez, Rodrigo Navia. Espécimen: Serpentario CIBUC.

9.2.1. RESULTADOS TOXINOLÓGICOS

Se extrajo veneno del espécimen mantenido en el Herpetario del CIBUC con número de terrario número 16, procedente de la Cuenca del Río Patía.

Tabla 19. Veneno Obtenido, Concentración a 280 nm y concentraciones de soluciones.

Población de <i>Bothrops asper</i> Ba – 2	Cantidad de Veneno Obtenida	Concentración Veneno Puro (mg/ml)	Concentración de las Soluciones (mg/ml)	
			Solución madre	Solución de trabajo
	0.26ml	194.2576	58.66	0.5866

9.2.1.1. DL₅₀ VENENO POBLACION Ba-2, DOSIS 1

Resultados del Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-2, dosis 1.

Dosis Límite ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000

DL50 Asumida ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2.8

Sigma Asumido ($\mu\text{g/g}$): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000, 1420, 1130, 900, 710, 570, 450, 360, 280, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179. Aquí se muestran solo las primeras 40 dosis.

Tabla 20. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-2, Dosis 1, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada ($\mu\text{g/g}$)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	2.26	O	O
2	2.8	O	O
3	3.6	O	O
4	4.5	O	O
5	5.7	O	X
6	7.1	X	X
7	5.7	O	X
8	7.1	X	X
9	5.7	O	O

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 21. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-2, Dosis 1, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
2.26	1	0	1
2.8	1	0	1
3.6	1	0	1
4.5	1	0	1
5.7	1	2	3
7.1	0	2	2
Total Dosis	5	4	9

DL₅₀ Estimada = 5.7 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 4.795 a 7.68 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal).

9.2.1.2. DL₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-2, DOSIS 2

Resultados del Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-2, dosis 2.

Dosis Límite ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000

DL50 Asumida ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 5.68

Sigma Asumido ($\mu\text{g/g}$): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000, 1430, 1130, 900, 720, 570, 450, 360, 280, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180. Aquí se muestran solo las primeras 40 dosis.

Tabla 22. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-2, Dosis 2, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada ($\mu\text{g/g}$)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	4.5	O	O
2	5.7	O	O
3	7.2	X	X
4	5.7	O	O
5	7.2	O	X
6	9.0	X	X

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 23. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-2, Dosis 2, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
4.5	1	0	1
5.7	2	0	2
7.2	0	2	2
9.0	0	1	1
Total Dosis	3	3	6

DL₅₀ Estimada = 6.399 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 5.7 a 7.2 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal).

9.2.1.3. DL₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-2, DOSIS 3

Resultados del Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-2, dosis 3.

Dosis Límite ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000

DL₅₀ Asumida ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 8.52

Sigma Asumido ($\mu\text{g/g}$): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000, 1700, 1350, 1070, 850, 680, 540, 430, 340, 270, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214. Aquí se muestran solo las primeras 40 dosis.

Tabla 24. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-2, Dosis 3, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada ($\mu\text{g/g}$)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	6.8	X	X
2	5.4	O	O
3	6.8	X	X
4	5.4	O	O
5	6.8	X	X

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 25. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-2, Dosis 3, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
5.4	2	0	2
6.8	0	3	3
Total Dosis	2	3	5

DL₅₀ Estimada = 5.786 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 5.4 a 6.8 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal).

Tabla 26. Dosis Empleadas y Encontrada para la Población de *B. asper* Ba-2

Dosis de Veneno Empleadas ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)	DL₅₀ por Dosis Experimentales ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)	DL₅₀ <i>Bothrops asper</i> Población Ba-2	Intervalo de Confianza 95%
2.84	5.7	5.961 $\mu\text{g/g}$	5.298 – 7.226
5.68	6.399		
8.52	5.786		

9.2.2. RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Se encontró que la población Ba – 2 ocasionó 51 (62.2%) casos de los 82 accidentes causados por las tres poblaciones, hallando el pico de accidentalidad mas alto en el año 2003 con 12 casos, seguido por los años 1998, 2002 y 1999 con 11, 10 y 9 casos respectivamente y con la mas baja incidencia para los años de 2000 y 2001 con 6 casos respectivamente (Figura 22).

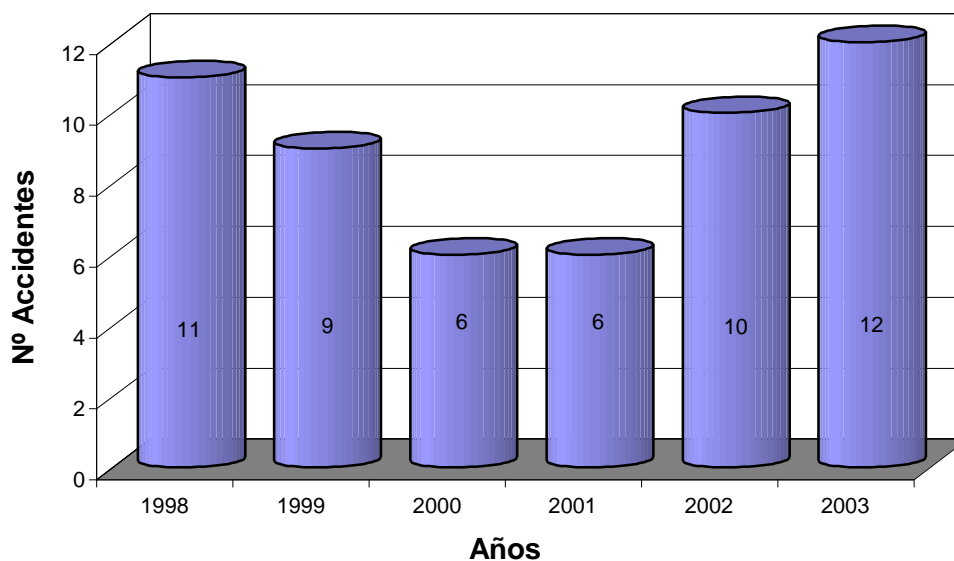


Figura 22. Incidencia de Accidentes Causados por la Población Ba-2, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

De un total de 15 municipios pertenecientes a la Cuenca del Río Patía, se encontraron 12 de estos afectados por accidentes ofídicos por la población de *B.asper* Ba-2, encontrando al municipio de la Sierra y Bolívar con el mayor numero de casos (10 c/u), seguidos por los municipios de Rosas y la Vega con 7 casos respectivamente, los municipios de Timbío, el Bordo con 5 y 3 casos respectivamente, los municipios de Sucre, Mercaderes y Balboa con 2 accidentes cada municipio y por último los municipios de San Sebastián y Florencia con 1 accidente cada uno (Figura 23).

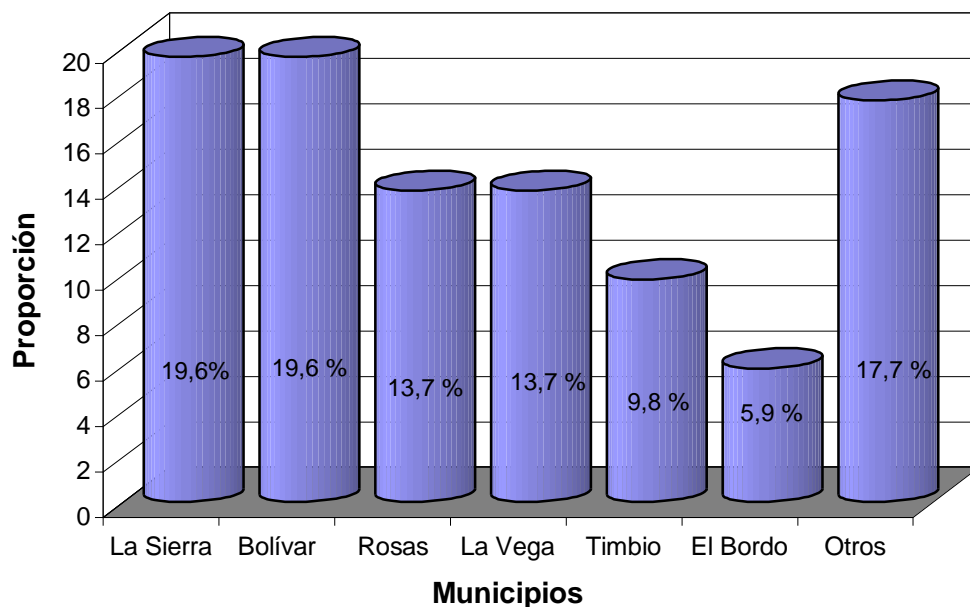


Figura 23. Proporción de Accidentes Ofídicos Causados por la Población Ba-2 Según Municipios de Incidencia en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

El genero más afectado por los accidentes ofídicos fue el masculino reportándose un total de 37 casos y 14 casos para el genero femenino (Tabla 27).

Tabla 27. Proporción de Accidentes Según el Género.

Población <i>B. asper</i>	Sexo	
	Masculino (%)	Femenino (%)
Ba - 2	72.54	27.46

El rango de edad de las personas afectadas va desde los 3 hasta los 72 años, donde el grupo de personas más afectado fue el de menores de 15 años con 15 casos (24.9%), seguido por el rango de edad entre los 31 a 45 años con 12 casos (23.5%), el grupo etáreo entre los 16 a 30 y 46 a 60 con 9 casos cada grupo (17.6%) y por ultimo el rango de edad de mayores de 61 años con 6 casos (11.8%) (Figura 24).

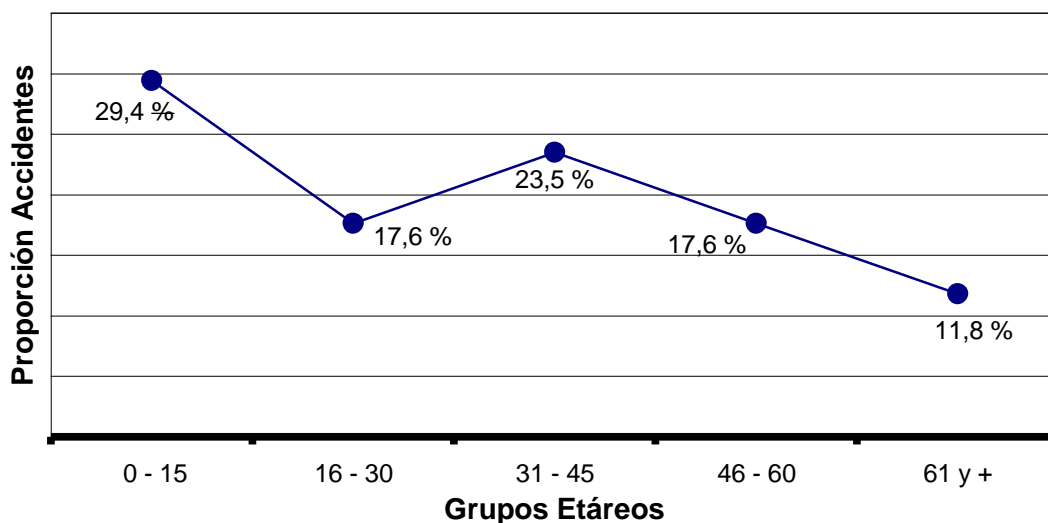


Figura 24. Incidencia de Accidentes Causados por la Población Ba-2, Según Grupos Etáreos, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

Según el área corporal comprometida en los accidentes causados por esta población de *B. asper* se encontró que el miembro superior derecho fue el más afectado entre con 15 casos, seguido por el miembro inferior derecho con 12 casos (Figura 25).

Se encontró un caso muy particular de un paciente con el sitio de envenenamiento en el glúteo derecho, es de aclarar que no fue por causa de la mordedura de una serpiente, sino por la manipulación inadecuada del veneno de una serpiente de esta población, pues el paciente recurrió a un tegua de su zona para que le curara una afección para lo cual el tegua sugirió la aplicación del veneno de una “Equis” en el glúteo para solucionar su problema, por lo cual decidió realizarse dicho tratamiento que después de ir en varias ocasiones donde el tegua no dio resultado, por lo que decidió aplicarse personalmente una dosis considerable de veneno de *B. asper* (Ba - 2) por medio de una jeringa en el glúteo derecho, como resultado obtuvo un Grado III de envenenamiento, este paciente fue valorado en el Hospital Universitario nivel III “San José” de Popayán donde se dió su atención y recuperación.

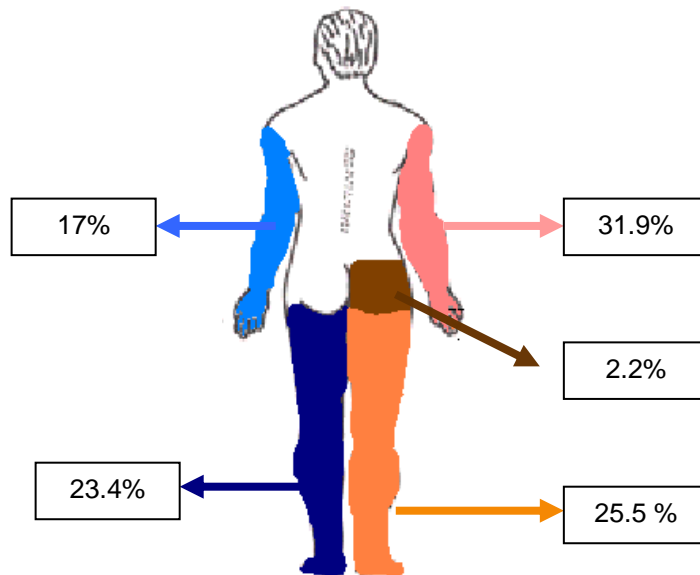


Figura 25. Áreas Corporales Comprometidas en Accidentes Ofídicos por Ba - 2.

En el Hospital Universitario Nivel III “San José” a los pacientes que llegaron con diagnóstico o sintomatología de accidente ofídico se les realizaron algunas pruebas básicas para su diagnóstico, se encontraron un total de 7 pruebas que fueron realizadas constantemente y que pueden ser comparables con las demás poblaciones como se muestra en la Tabla 28, de estas pruebas las mas solicitadas por los médicos

fueron Tiempo de Pro trombina (41 casos), Tiempo Parcial de Tromboplastina (37 Casos) y Creatinina (32 Casos), el resto de pruebas fue realizada en menos del 50% de los accidentes.

Tabla 28. Proporción de Pruebas Paraclínicas Tomadas.

Prueba Paraclínica	Población <i>B. asper</i>
	Ba – 3 (%)
Tiempo de Protrombina	80.4
Tiempo parcial de Tromboplastina	72.5
Niveles de Fibrinógeno	11.7
Creatinina	62.7
Hemoglobinuria	45
Hematuria	43.1
Proteinuria	7.8

De las pruebas paraclínicas solicitadas por los médicos se encontró que en el 51 % de los casos en los que se solicitó examinar el TP, este dio un resultado normal, algo similar a lo ocurrido con la prueba de TPT donde el 51 % de los resultados fueron normales (Tabla 17).

Tabla 29. Exámenes Paraclínicos Normales y Alterados Tomados

Prueba Paraclínica	Población de <i>B. asper</i> Ba-2	
	Normal	Alterado
Tiempo de Protrombina (TP) (Norm. 11 - 13 Seg. Aprox.)	21	20
Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT) (Norm. 30 - 40 Seg. Aprox.)	19	18
Niveles de Fibrinógeno (Norm. 200 - 400 mg/dl Aprox.)	2	4
Creatinina (Norm 0.5 - 1.3 mg/dl Aprox)	32	0
Hemoglobinuria (Norm 11.0 – 16.5 g/dl aprox.)	19	4

En esta población de *Bothrops asper* se encontraron accidentes con diagnóstico para todos los grados de envenenamiento (Figura 26), estos fueron manejados según protocolos establecidos para el HUSJ por Ayerbe (2002).

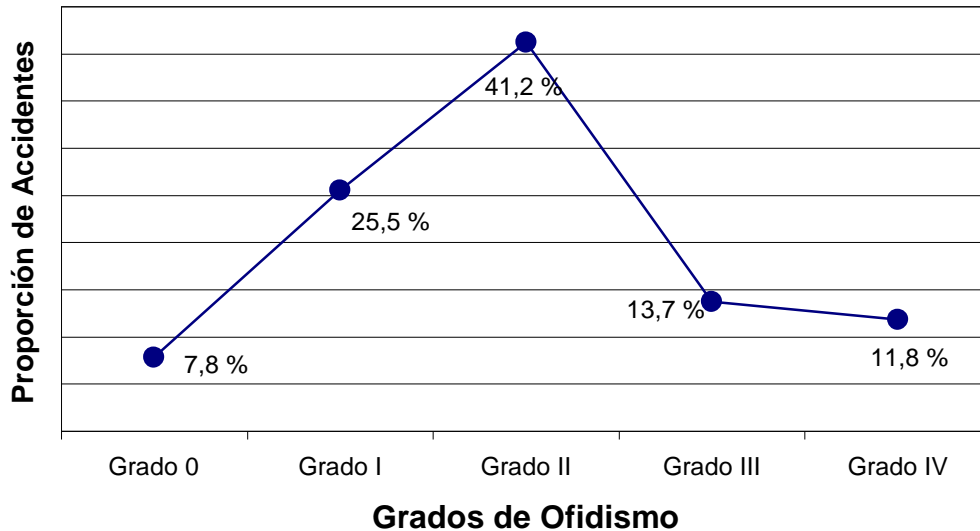


Figura 26. Proporción de los Grados de Ofidismo Causados en los Accidentes por la Población Ba -2, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003

Según los expedientes analizados se encontraron (Tabla 30); cuatro accidentes para el Grado 0, los cuales no revistieron gravedad pues en su mayoría fueron mordeduras “de aviso ó en seco” donde no se da la inoculación de veneno por parte de la serpiente.

En el Grado I se registraron Trece casos de los cuales en un 90% fueron rápidamente evacuados. Un 61% de los casos no requirió tratamiento con suero antiofídico optando por la profilaxis antitetánica y antibiótica. Uno de los casos ocurrido en un paciente de 55 años proveniente de la Sierra - Cauca, con antecedentes de dos accidentes ofidicos en los cuales en una ocasión se le había dado tratamiento con suero antiofídico, llega al HUSJ después de 4 horas de haber transcurrido el accidente, fue diagnosticado con Ofidismo grado I teniendo como área lesionada el

dedo índice de la mano derecha, en este caso el paciente empeoró su condición al emplear dos torniquetes; uno en el dedo índice y el otro en el antebrazo, lo cual produjo una necrosis y como resultado final la amputación del dedo índice. Con este paciente no se empleó suero antiofídico, para su estabilización se utilizó tetanol, Prostaflina, Acetaminofen, Lisalgil, Cefalexina, Gentamicina y su salida fue dada a los 6 días de su ingreso al hospital.

En el Grado II se encontraron veintiún casos, los cuales por revestir un mayor comprometimiento tanto a nivel local como sistémico se empleó un promedio de 1.2 ampolletas de suero antiofídico polivalente por paciente para contrarrestar el efecto del veneno de esta población, además se realizó profilaxis antitetánica y antibiótica y en algunos casos se recomendó el uso de *Poligala* spp (Figura 24) conocida vulgarmente como “mentol de monte” para la desinflamación del miembro afectado, Un paciente de 38 años proveniente de la Vega Cauca, fue mordido en una ocasión en el pie izquierdo, a este paciente como medida inicial preparó un brebaje de agua melada con curarina para su ingesta y lavó el área afectada con la planta conocida como “mallorquín” y petróleo, este paciente llegó a las 20 horas de transcurrido el accidente con tiempos de coagulación medianamente alterados, para su tratamiento se le aplicaron dos ampolletas de SAO polivalente, además de la utilización de tetanol y penicilina cristalina y como desinflamatorio se le sugirió la utilización tópica del extracto de mentol de monte *Polygala* spp.(Figura 27) Fue dado de alta a los 2 días de ser hospitalizado.



Figura 27. *Polygala* spp. Fuente: Santiago Ayerbe MD.

En el Grado III se registraron siete casos encontrando que el tiempo transcurrido desde el momento del accidente hasta el arribo del afectado a un centro médico fue de 5 a 11 horas, empleando un promedio de 2 ampollitas de suero antiofídico. Es de anotar que en este grado de ofidismo fue el único en el cual se empleó el suero polivalente (8 ampollitas) y suero monovalente (6 ampollitas), en todos los casos se realizó profilaxis antitetánica y antibiótica.

En el Grado IV se registraron seis casos, empleando en promedio 1.8 ampollitas de suero antiofídico polivalente por paciente para la neutralización del veneno, se presentó en uno de los casos como resultado final la amputación del quinto dedo de la mano derecha, esto debido a que el paciente cuando fue mordido por la serpiente empleó el torniquete como medida inicial, lo cual generó en el paciente necrosis del miembro razón por la cual se le sugirió al paciente que tenían que amputar el área afectada a lo que se rehusó y solicitó se le diera de alta, al mes de haber salido del centro hospitalario regresó y en esta oportunidad presentaba un ofidismo grado IV tardío y complicado, para el cual no se le aplicó SAO pero fue tratado con tetanol, Prostaflina, Acetaminofen, Lisangil, Cefalexina, Gentamicina y se realizó la amputación del artejo para que se diera pronta recuperación. Este paciente fue dado de alta a los 4 días.

Se encontró que para 51 accidentes fueron empleados en total 57 ampollitas de suero antiofídico (51 polivalente y 6 monovalente), con un total de 15.8 días en promedio por grado de envenenamiento requerido para la atención y restablecimiento de los pacientes.

Tabla 30. Grado de Ofidismo, Número de Ampolletas Según Tipo de Suero y Estadía Hospitalaria

	Población de <i>B. asper</i> Ba - 2			
	Suero antiofídico			Estadía
Grado	Nº Casos	Polivalente	Monovalente	Días / Hosp.
0	4	0	0	1.5
I	13	5	0	2.3
II	21	27	0	2.7
III	7	8	6	3.2
IV	6	11	0	6.1
Total	51	51	6	15.8

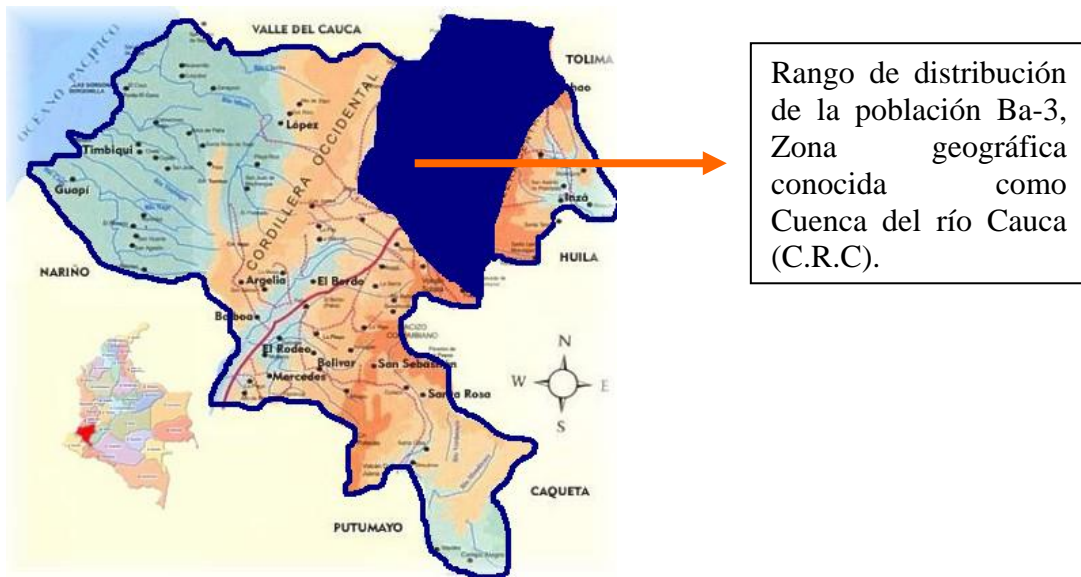
9.3. POBLACIÓN 3 DE *Bothrops asper* (Ba-3)

Esta población se encuentra dentro de la Cuenca del Río Cauca, ubicada entre el centro y norte del Departamento del Cauca. Limita al norte con el Departamento del Valle y forma la parte alta del Valle del Río Cauca, con altitudes que van de los 1000 hasta más de 3000 msnm, al oeste limita con la cima de la Cordillera Occidental, al este con la cima de la Cordillera Central y hacia el sur con el divorcio de aguas de los ríos Cauca y Patía en los municipios de El Tambo y Timbío (IGAC 1993).

Geológicamente es una formación sedimentaria, compuesta por capas de arcilla, areniscas y conglomerados. Esta extensa zona fue recubierta por diferentes mantos de ceniza provenientes de las erupciones de los volcanes Puracé y Sotará (IGAC 1993).

Los afluentes de esta cuenca son los ríos Palo, Guengue, Negro, Teta, Desbaratado, Quilichao, Mondomo, Ovejas. Cofre, Cajibío, Piendamó, Tunía. Estos afluentes tienen su nacimiento en la parte alta de la Cordillera Central y drenan por el flanco Occidental de la misma (IGAC 1993).

Figura 28. Distribución Espacial de la Población 3 de *Bothrops asper* (Ba-3), en el Departamento del Cauca.



El rango de distribución de esta población de *B. asper* esta dado por los municipios de Buenos Aires, Cajibío, Caldono, Caloto, Corinto, Noreste de El Tambo, Jambaló, Miranda, Morales, Padilla Piendamó, centro y norte de Popayán, Puracé, Santander de Quilichao, Silvia, Toribío, Totoró y Villa Rica.

Según la revisión realizada a la colección de referencia del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca se encontró un total de 9 especímenes de los cuales 7 son hembras y 2 machos.

En la Cuenca del Río Cauca esta población de *B. asper* es conocida como “Equis pelo de Gato, Equis Gata”.



Figura 29. *Bothrops asper* Población Ba-3, Localidad: Morales (1500msnm), Cauca, Colombia.

Fuente: Alejandro Martínez, Rodrigo Navia. Especimen: Serpentario CIBUC.

9.3.1. RESULTADOS TOXINOLÓGICOS

Se extrajo veneno del espécimen mantenido en el Herpetario del CIBUC con número de terrario número 34, procedente de la Cuenca de río Cauca.

Tabla 31. Veneno Obtenido, Concentración a 280 nm y concentraciones de soluciones.

Población de <i>Bothrops asper</i> Ba – 3	Cantidad de Veneno Obtenida (ml)	Concentración Veneno Puro (mg/ml)	Concentración de las Soluciones (mg/ml)	
			Solución madre	Solución de trabajo
	0.20	177.6538	63.72	0.6372

9.3.1.1. DL₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-3, DOSIS 1

Resultados del Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-3, dosis 1.

Dosis Límite ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000

DL50 Asumida ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2.84

Sigma Asumido ($\mu\text{g/g}$): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000, 1420, 1130, 900, 710, 570, 450, 360, 280, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179, 142, 113, 90, 71, 57, 45, 36, 28, 226, 179. Aquí se muestran las primeras 40 dosis.

Tabla 32. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-3, Dosis 1, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada ($\mu\text{g/g}$)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	2.26	O	O
2	2.8	O	O
3	3.6	O	O
4	4.5	O	O
5	5.7	O	X
6	7.1	X	X
7	9.0	X	X
8	7.1	X	X
9	5.7	O	O
10	7.1	O	O

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 33. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-3, Dosis 1, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
2.26	1	0	1
2.8	1	0	1
3.6	1	0	1
4.5	1	0	1
5.7	1	1	2
7.1	1	2	3
9.0	0	1	1
Total Dosis	6	4	10

DL₅₀ Estimada = 7.1 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 6.23 a 9.3 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal).

9.3.1.2. DL₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-3, DOSIS 2

Resultados del Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-3, dosis 2.

Dosis Límite ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000

DL50 Asumida ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 5.68

Sigma Asumido ($\mu\text{g/g}$): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000, 1430, 1130, 900, 720, 570, 450, 360, 280, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180, 143, 113, 90, 72, 57, 45, 36, 28, 226, 180. Aquí se muestran las primeras 40 dosis.

Tabla 34. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-3, Dosis 2, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada (µg/g)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	4.5	O	O
2	5.7	O	O
3	7.2	X	X
4	5.7	O	O
5	7.2	X	X
6	5.7	O	X

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 35. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-3, Dosis 2, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
4.5	1	0	1
5.7	2	1	3
7.2	0	2	2
Total Dosis	3	3	6

DL₅₀ Estimada = 6.762 (µg/g peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 5.7 a 7.2 (µg/g peso corporal).

9.3.1.3. DL₅₀ VENENO POBLACIÓN Ba-3, DOSIS 3

Resultados del Programa Estadístico AOT 425 StatPgm Program

Sustancia Analizada: Veneno *Bothrops asper* población Ba-3, dosis 3.

Dosis Límite (µg/g peso corporal): 2000

DL50 Asumida (µg/g peso corporal): 8.52

Sigma Asumido (µg/g): 0.1

Progresión de dosis recomendadas por el programa ($\mu\text{g/g}$ peso corporal): 2000, 1700, 1350, 1070, 850, 680, 540, 430, 340, 270, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214, 170, 135, 107, 85, 68, 54, 43, 34, 27, 214. Aquí se muestran solo las primeras 40 dosis.

Tabla 36. Resultados Obtenidos del Ensayo de Dosis - Respuesta del Veneno de Ba-3, Dosis 3, Basados en el Programa AOT425 StatPgm.

Animal ID	Dosis aplicada ($\mu\text{g/g}$)	Obs. Corto Plazo (30 min.)	Obs. Largo Plazo (31 min.-48h)
1	6.8	O	O
2	8.5	X	X
3	6.8	O	O
4	8.5	O	X
5	10.7	X	X

(X = Muere, O = Vive)

Tabla 37. Resultados de la Respuesta a la Dosis de Veneno de Ba-3, Dosis 3, en la Observación a Largo Plazo.

Dosis	Vive	Muere	Total
6.8	2	0	2
8.5	0	2	2
10.7	0	1	1
Total Dosis	2	3	5

DL₅₀ Estimada = 7.495 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)

Intervalo de Confianza al 95% es 6.8 a 8.5 ($\mu\text{g/g}$ peso corporal).

Tabla 38. Dosis Empleadas y Encontrada para la Población de *B. asper* Ba-3.

Dosis de Veneno Empleadas ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)	DL₅₀ por Dosis Experimentales ($\mu\text{g/g}$ peso corporal)	DL₅₀ <i>Bothrops asper</i> Población Ba-3	Intervalo de Confianza 95%
2.84	7.1	7.119$\mu\text{g/g}$	6.23 – 8.33
5.68	6.762		
8.52	7.495		

9.3.2. RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS

De los 82 accidentes causados por las tres poblaciones de *Bothrops asper* en estudio, la población Ba - 3 represento un 19.5% (16 casos) de los accidentes, encontrando su pico más alto en el año 2000 con 4 accidentes, seguido por los años 1998, 2001 y 2003 con tres accidentes por cada año y por último el año 1999 con un caso (Figura 30).

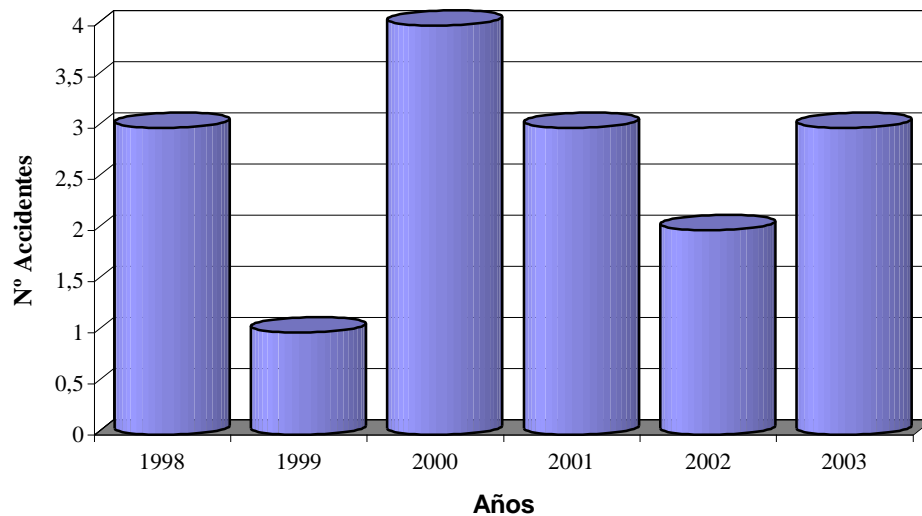


Figura 30. Incidencia de Accidentes Causados por la Población Ba-3, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

En esta cuenca se encontraron con incidencia por accidentes ofídicos 7 municipios, presentándose en el municipio de Popayán y Cajibío el mayor número de casos (4) para cada municipio que representan el 50% de los accidentes en esta cuenca, los restantes ocho accidentes se encuentran; tres en el municipio de Caldono, dos en el municipio de Piendamó y los tres restantes se dieron en los municipios de Morales, Santander de Quilichao y Jambaló con un accidente cada municipio (Figura 31).

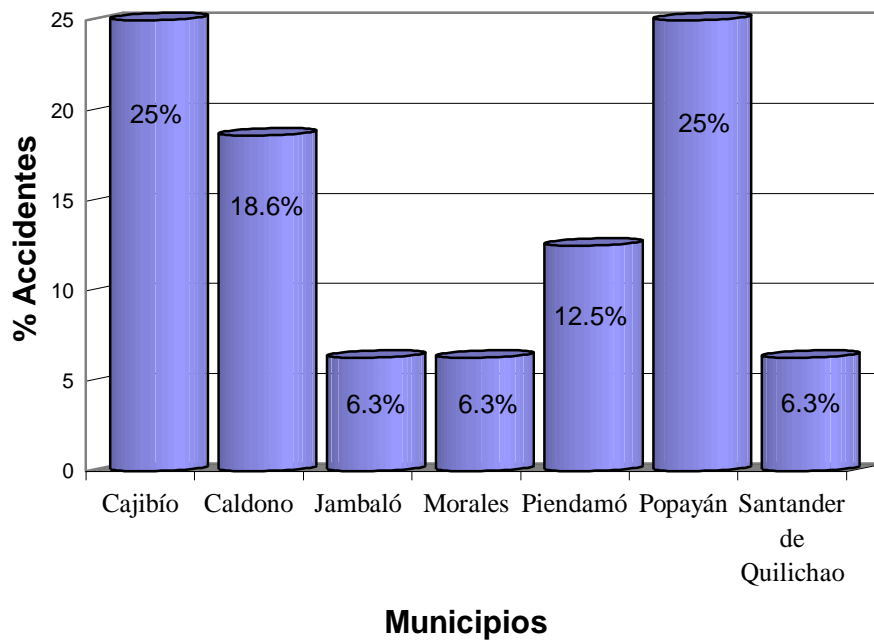


Figura 31. Proporción de Accidentes Causados por la Población Ba-3 según Municipios de Incidencia en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

El género masculino fue el más afectado en los accidentes ofídicos ocasionados por la población de *B.asper* Ba – 3, encontrándose un total de 11 casos para el género masculino y para el género femenino un total de 5 casos (Tabla 39).

Tabla 39. Proporción de Accidentes Según el Género.

Población	Sexo	
	Masculino (%)	Femenino (%)
<i>B. asper</i>		
Ba – 3	68.75	31.25

El rango de edades de las personas afectadas por esta población de *B.asper* fluctúa entre los 2 y 65 años, encontrando al grupo etáreo con mas accidentes en el rango de menores de 15 años con un total de 7 (43.8%) casos, seguido por el grupo de edad entre los 31 y 45 años con 5 (31.2%) casos, el grupo etáreo entre 46 y 60 años con 2 (12.5%) casos, y por último los grupos etéreos entre 16 y 30 años y mayores de 61 años con 1(6.2%) caso cada grupo (Figura 32).

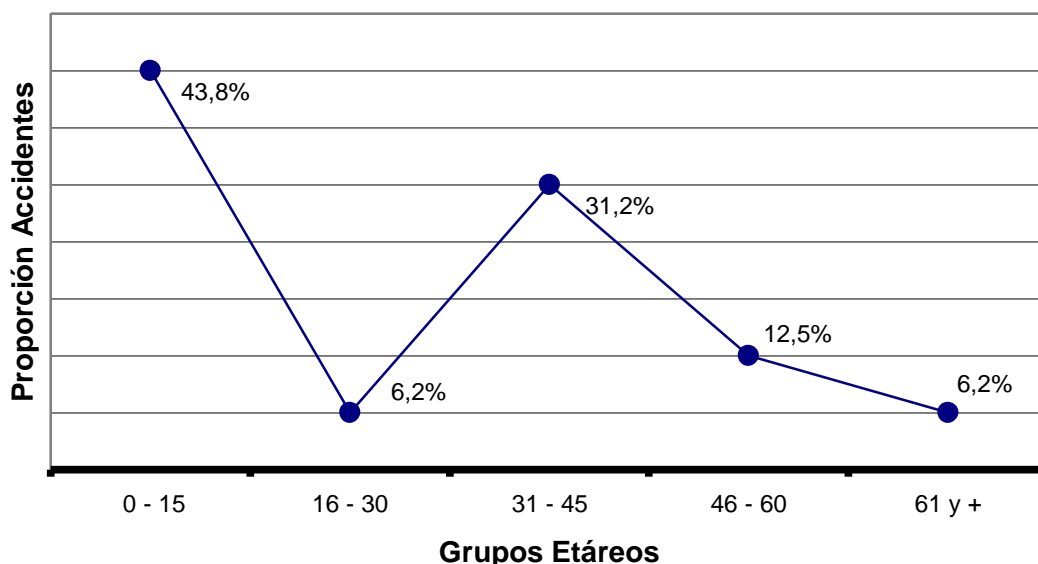


Figura 32. Incidencia de Accidentes Causados por la Población Ba-3, Según Grupos Etéreos, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

Se encontró que el área corporal mas comprometida por los accidentes de esta población de *B.asper* fue el miembro inferior izquierdo con 5 (41.6%) casos, seguido por el miembro superior derecho con 3 (25%) casos, y por último los miembros inferior derecho y superior izquierdo con 2 (16.7%) casos para cada uno (Figura 33).

Se encontró que el tiempo transcurrido entre la hora de la mordedura o accidente hasta la llegar del paciente a un centro médico osciló entre 1 hora y 8 días.

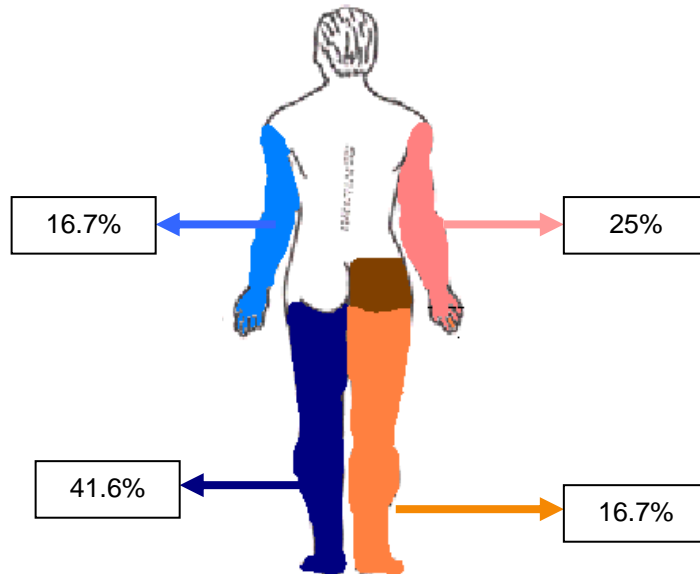


Figura 33. Áreas Corporales Comprometidas en Accidentes Ofídicos por Ba - 3.

La mayoría de exámenes Paraclínicos solicitados por los médicos fueron; Tiempo de Protrombina en 13 (81.2%) ocasiones, Tiempo Parcial de Tromboplastina en 11(68.75%) ocasiones, el resto de pruebas fue tomada en cuenta en menos del 40% de los casos (Tabla 40).

Tabla 40. Proporción de Pruebas Paraclínicas Tomadas.

Prueba Paraclínica	Población <i>B. asper</i> Ba – 3 (%)	Prueba Paraclínica	Población <i>B. asper</i> Ba – 3 (%)
Tiempo de Protrombina	81.2	Hemoglobinuria	37.5
Tiempo parcial de Tromboplastina	68.75	Hematuria	37.5
Niveles de Fibrinógeno	18.7	Creatinina	37.5

Según la información anterior se encontró que algunas de estas pruebas resultaron alteradas lo cual se muestra en la Tabla 41.

Tabla 41. Exámenes Paraclínicos Normales y Alterados Tomados

Prueba Paraclínica	Población Ba- 3	
	Normal	Alterado
Tiempo de Protrombina (TP) (Norm. 11 - 13 Seg. Aprox.)	6	7
Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT) (Norm. 30 - 40 Seg. Aprox.)	5	6
Niveles de Fibrinógeno (Norm. 200 - 400 mg/dl Aprox.)	0	3
Creatinina (Norm 0.5 - 1.3 mg/dl Aprox)	6	0
Hemoglobinuria (Norm 11.0 – 16.5 g/dl aprox.)	4	2

Según las pruebas paraclínicas realizadas y los síntomas locales con los que llegaron los pacientes se pudo determinar en que grado de ofidismo llegaron al Hospital, encontrando:

Un accidente con Grado 0 en el cual se realizó el manejo propio de este grado, En el Grado I se registraron seis accidentes, uno de los cuales ocurrió en un paciente de 5 años proveniente de la vereda Carrizal, municipio de Cajibío - Cauca, ingresó al HUSJ con la sintomatología por un accidente ofídico con signos de mordedura en el pie izquierdo, con tiempo de coagulación ligeramente alterados, además se encontró una incisión en cruz realizada en el pie derecho por el padre del paciente para succionar el veneno, lo que no fue posible pues a pesar de realizar este procedimiento el individuo resultó intoxicado por el veneno de la serpiente. Para su tratamiento se le

aplicó una ampollita de SAO polivalente para la neutralización del veneno y se dio de alta después de cuatro días de haber ingresado al HUSJ.

En el Grado II hubo cinco accidentes, y para neutralizar el efecto tóxico del veneno se emplearon en promedio 1.2 ampollitas de SAO, siguiendo parámetros establecidos para el tratamiento.

En el Grado III se reportaron dos accidentes en donde uno de los casos el paciente de 37 años proveniente de la vereda Sta Elena municipio de Piendamó Cauca fue mordido en el dorso del pie derecho, recurriendo en primera instancia a la medicina tradicional (Tegua), el tipo de tratamiento empleado por el tegua no fue especificado. Al pasar ocho días del accidente aun se sentía mal y decidió consultar al centro médico en donde fue diagnosticado con un grado de ofidismo III (Tardío) presentando una úlcera en el dorso del miembro inferior derecho. Para la neutralización del veneno se tuvieron que emplear 2 ampollitas de SAO y fue dado de alta al cuarto día de haber ingresado al centro medico.

En el Grado IV se encontraron dos casos que fueron tratados satisfactoriamente, uno de los cuales fue en un paciente de 11 años proveniente de la Vereda Jerusalén municipio de Santander de Quilichao, Cauca quien fue mordido en la pierna izquierda y transcurridas 49 horas recurrió a un centro médico, encontrándose sus pruebas de coagulación alteradas por lo que se le aplicaron 2 ampollitas de suero antiofidico monovalente para su neutralización y fue dado de alta a los 4 días de ingresar al HUSJ.

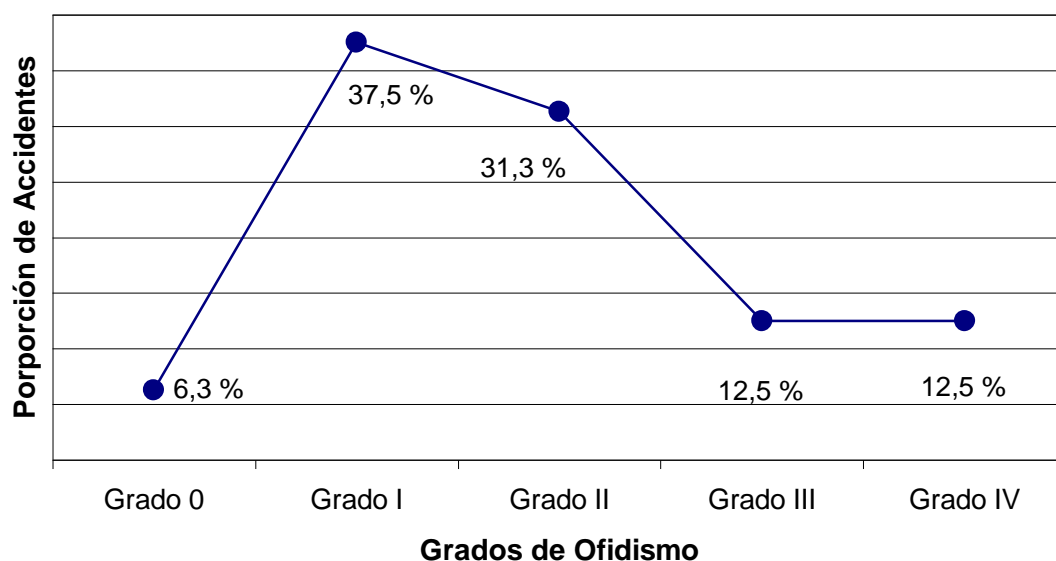


Figura 34. Proporción de los Grados de Ofidismo Causados en los Accidentes por la Población Ba-3, en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

Se encontró que los pacientes estuvieron reestablecidos y fueron dados de alta en un periodo de tiempo entre 1 y 2.5 días en promedio y habiendo empleado un mínimo tratamiento donde no fue necesaria la aplicación de suero antiofídico hasta los pacientes con sintomatología complicada donde fue necesario la aplicación de hasta cinco ampolletas de SAO (Tabla 42).

De un total de 16 casos, en 3 de estos no se empleó suero antiofídico (SAO), para los 13 casos restantes se emplearon 11 ampolletas de (SAO), de las cuales 9 eran de suero antiofídico Polivalente y 2 de suero antiofídico Monovalente. En promedio por paciente se emplearon 1.5 ampolletas de SAO (Tabla 42).

Tabla 42. Grado de Ofidismo, Número de Ampolletas Según Tipo de Suero y Estadía Hospitalaria.

	Población de <i>B. asper</i> Ba – 3			Estadía
	Suero antiofídico			
Grado	Nº Casos	Polivalente	Monovalente	Días / Hosp.
0	1	0	0	1
I	6	4	0	1.8
II	5	4	0	1.6
III	2	5	0	3.5
IV	2	0	2	2.5
Total	16	9	2	10.4

10. ANÁLISIS DE RESULTADOS

De acuerdo a datos obtenidos de la colección de referencia de Herpetología del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca, resultado de colectas realizadas por diferentes investigadores en cada una de las Cuencas presentes en el Departamento del Cauca confirman el hecho de la existencia de tres poblaciones de la especie *Bothrops asper*, aunque se han encontrado algunos registro de intergradación donde individuos de una población se encuentran en cuencas diferentes, como es el caso de individuos de la población Ba-2 intergradados con individuos de la población Ba-3, en el municipio de El Tambo, cerca al Pié de Monte de la Cordillera Occidental.

Este hecho es entendible de acuerdo a la geomorfología presentada en el departamento de Cauca por la presencia de las Cordillera Occidenta, Central y Oriental (Originadas desde finales de la Era Primaria), sumadas a las cinco Cuencas hidrográficas presentes en esta región, lo cual ha establecido unos limites naturales que por la naturaleza fisiológica de ésta especie de serpiente y en general de todas las serpientes venenosas (a excepción de las serpientes acuáticas) sería imposible traspasar. Estos limites estan dados por altitudes mayores de 3000msnm en los cuales aún no se dan registros de serpientes venenosas y una explicación es por la característica ectotérmica de estos individuos. Otro de los limites son los cauces de los rios en este caso el Río Cauca es uno de los limites naturales entre las tres poblaciones, explicable pues aunque todas las serpientes son buenas nadadoras no lo pueden atravesar dada la contaminación natural de este río con Acido Sulfúrico (H_2SO_4), en los primeros kilómetros de su recorrido desde Popayán hacia el Pié de Monte de la Cordillera Occidental (Ayerbe 1990).

La metodología empleada para la determinación de la concentración de proteínas en esta investigación fue la empleada por Yasnó (2005), encontrándose que los datos obtenidos son similares a pesar de que Yasnó encontró una concentración de 193mg/mL de un “pool” de veneno de tres *Bothrops asper* del departamento del Cauca, lo cual corrobora el hecho de que estas poblaciones de serpientes están ligadas entre sí y las diferencias poco significativas en la concentración de proteínas puede deberse al tipo de presa que consumen cada una de estas, además la baja concentración puede estar estrechamente ligado con la afirmación de Chippaux (1993), de que a mayor tamaño corporal y desarrollo de una serpiente menor va a ser la concentración de veneno en ésta.

La concentración de proteínas presente en el veneno de cada una de las poblaciones (Tabla 43) presentó diferencias entre cada espécimen, diferencias que no resultan significativas y se encuentran dentro del rango de la concentración de proteínas promedio para esta especie que está entre 100 y 310 mg/ml.

Tabla 43. Concentración del veneno puro de las poblaciones Ba-1, Ba-2 y Ba-3 de *B. asper*.

Concentración Veneno Puro (mg/ml) de <i>Bothrops asper</i>		
Población Ba-1	Población Ba-2	Población Ba-3
194.2415	194.2876	177.6538

El análisis de los venenos de las poblaciones Ba-1, Ba-2 y Ba-3 de *B.asper* registrados en la Tabla 26, indican la posibilidad del cálculo de la DL₅₀ mediante el programa estadístico AOT 425 StatPgm, empleando para tal fin dosis escalonadas de veneno, partiendo de una DL₅₀ conocida para la obtención de resultados que guardan íntima relación entre las dosis y sus efectos en cuanto a letalidad del veneno sobre la población de experimentación. Se demostró la reproducibilidad del método empleado

como puede ser verificado a través de los resultados de repetidos ensayos realizados, los cuales están contenidos dentro en los intervalos de confianza al 95% de cada uno de estos ensayos.

Los resultados obtenidos permiten definir la DL₅₀ del veneno de las poblaciones Ba-1, Ba-2 y Ba-3 de *B.asper* (Tabla 44) utilizado como la cantidad de veneno que al ser inoculado por vía intraperitoneal en ratones con peso entre 16 y 18 gramos de peso vivo, provocó la muerte del 50% de la población inoculada en un período de observación de 48 horas.

El valor de la dosis letal 50 encontrado (Tabla 44), presenta diferencias entre las tres poblaciones, datos que no son significativos para corroborar el hecho de que estas poblaciones de serpientes presentan diferente toxicidad (DL₅₀), los valores de estas dosis se contienen unas en otras de acuerdo a los intervalos de las medias.

Tabla 44. DL₅₀ Encontradas para cada una de las poblaciones de *B. asper*

Dosis Letal 50 (DL₅₀) del Veneno Crudo de Tres Poblaciones de <i>Bothrops asper</i>		
Población Ba-1	Población Ba-2	Población Ba-3
6.06µg/g (5.6-7.03)	5.96 µg/g (5.29-7.22)	7.12 µg/g (6.23-8.33)

La dosis letal 50 encontrada en esta investigación para el veneno de un individuo de la población Ba-1 (Tabla 44), concuerda con la dosis letal 50 encontrada por Yasnó en (2005), el cual reportó para un “pool” de veneno de *Bothrops asper* de la Cuenca del Pacífico una dosis de 6.52 µg/g, estos resultados nos llevan a pensar que las características de los venenos varían en una muy mínima proporción. Si tenemos en cuenta que en la presente investigación se realizó la extracción de veneno de un individuo y en la investigación de Yasnó (2005) de tres serpientes observamos que

los resultados no difieren en mucho lo cual corrobora el hecho de que la composición de proteínas no varía significativamente en un mismo grupo de serpientes adultas.

Es de anotar que los valores de concentración de proteínas y la respectiva determinación de la DL₅₀ encontradas tiene concordancia pues a mayor concentración de proteínas menor valor de dosis letal, datos que ratifican el hecho de que la DL₅₀ que se emplea para provocar la muerte al 50% de una población es inversamente proporcional con el valor de concentración de las proteínas, pues a mayor DL₅₀ menor es la letalidad del veneno evaluado. En este caso la población con mayor letalidad es la Ba-2, seguida por la población Ba-1 y Ba-3 (Tabla 44).

En el Departamento del Cauca se han llevado a cabo investigaciones a nivel epidemiológico desde mediados de los setenta, tendientes a determinar la incidencia del ofidismo sobre la población humana del Departamento. En los estudios retrospectivos llevados a cabo por Ayerbe *et. al* 1979 y Ayerbe 2001 se han analizados variables epidemiológicas dependientes de los accidentes ocasionados por la población ofídica, en esta oportunidad se ha realizado el análisis de una de las especies más importantes registradas en estas series como es la *B. asper* la cual genera en el Cauca aproximadamente un 80% de los accidentes ofídicos.

Tabla 45. Estudios Retrospectivos sobre Ofidismo en el Departamento del Cauca

	<i>Ayerbe et.al</i> 1979	Ayerbe 2001	Presente Investigación
Accidentes Totales (#)	48	66	119
Accidentes Causados por <i>B.asper</i> (#)	Sin dato	58	82

Según la Tabla 45, se aprecia que a medida del paso del tiempo se aumentan significativamente en el número de accidentes ofídicos totales (ocasionados por diferentes especies de ofidios venenosos) en el Departamento del Cauca, dato que es directamente proporcional al número de accidentes ocasionados por *B.asper*, sin embargo no se ve un aumento significativo en la proporción de casos ocasionados por *B. asper* entre la investigación de Ayerbe (2001) y la presente, Pues al comparar las proporciones de los accidentes ocasionados por *B.asper* se puede apreciar una disminución del 3.8% de los casos para la presente investigación.

La tasa de mortalidad por accidentes ofídicos en el Departamento del Cauca en esta serie es cero, gracias a la preparación de los galenos, la adecuada y oportuna reacción de los afectados ante los síntomas.

La incidencia de accidentes ofídicos registrados abarcó 20 municipios de 42 existentes en el Departamento del Cauca (Tabla 46), en los cuales se encontraron accidentes ocasionados por alguna de las tres poblaciones de *B.asper* que al compararlos con resultados obtenidos por Ayerbe en 2001 se observa que se tienen en común 17 municipios aumentando en la presente investigación este dato con 3 municipios más, explicable pues en Ayerbe 2001 no existían dos divisiones territoriales con las que se cuenta en este momento como son el Municipio de Sucre y Florencia, en los cuales no se habían registrado accidentes. Es de tener en cuenta que los datos obtenidos por Ayerbe (2001) pertenecen a los accidentes causados por diferentes géneros y especies de serpientes que tienen su rango de acción en el Departamento del Cauca y en el presente estudio se están manejando datos de tres poblaciones de una sola especie.

La población de *B. asper* Ba – 2 registro el mayor número de casos (Figura 35), que en su gran mayoría se deben a la antropización del medio en que se sitúa esta población, lo cual le resta ambiente natural a las especies y genera una problemática

en donde el ser humano actúa como invasor de un espacio utilizado por las serpientes, dándose una defensa de su territorio y produciendo una alta accidentalidad.

Tabla 46. Incidencia de ofidismo por municipios Departamento del Cauca 1998 - 2003.

Municipios	Población de <i>B. asper</i>			Municipios	Población de <i>B. asper</i>		
	Ba - 1	Ba - 2	Ba - 3		Ba - 1	Ba - 2	Ba - 3
El Tambo	14			Rosas		7	
Argelia	1			La Vega		7	
Popayán		1	4	Bolívar		10	
Cajibío			4	Timbio		5	
Piendamó			2	El Bordo		3	
Caldono			3	Sucre		2	
Morales			1	Mercaderes		2	
Santander de Quilichao			1	San Sebastián		1	
Jambaló			1	Florencia		1	
La Sierra		10	0	Balboa		2	
Sub Total					15	51	16
Total					82		

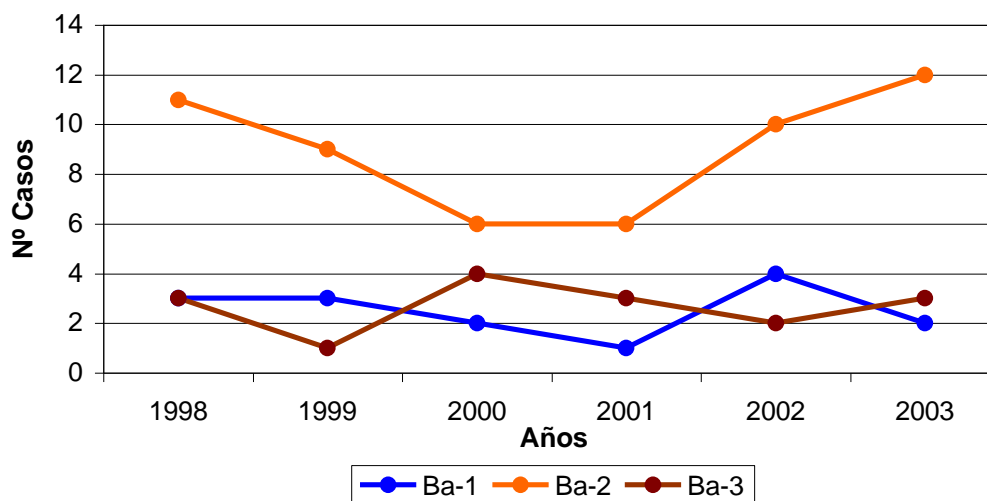


Figura 35. Incidencia de Ofidismo por las Poblaciones Ba-1, Ba-2 y Ba-3 de *B. asper* en el Departamento del Cauca, entre 1998 y 2003.

Además este número de casos puede ser más apreciable gracias a que los municipios en los que tiene su rango de acción esta población, presentan mejores vías de comunicación y un sistema de transporte continuo hacia la capital del departamento. Razón por la cual algunos municipios situados en la vertiente Pacífico del Departamento del Cauca, rango de acción de la población Ba – 1, no pueden tener una atención rápida recurriendo en muchos casos a la medicina tradicional (Manejo tegua), empeorando en muchas ocasiones su situación.

El municipio con mas accidentalidad fue El Tambo rango de acción de la población Ba -1 con un 17.1% de los pacientes, que al paso del tiempo se ha convertido en uno de los municipios con más incidencia de accidentes ofídicos, pues en estudios anteriores (Ayerbe 2001 y Ayerbe *et. al* 1979) este municipio reporto un 6.5% de los casos ocupando el tercer lugar en incidencia de accidentes y un 28.8% de los casos ocupando el primer lugar respectivamente, lo cual hace observable el efecto y posicionamiento de un conglomerado herpetológico de importancia en la zona.

Ayerbe *et.al* (1979) y Ayerbe (2001) reportó un rango de edad de los pacientes que egresaron con diagnostico de ofidismo entre los 2 y 90 años y entre los 6 y 63 años respectivamente, en esta investigación se encontró un rango de edad que varía entre los 2 y 72 años, lo cual corrobora en parte el hecho de que en el Departamento del Cauca aun se presenta un rango de accidentalidad que abarca la mayoría de grupos etéreos, dato que coincide con investigaciones en otros departamentos como el Amazonas, Chocó y Antioquia en donde se encontraron registros que agrupan desde personas menores de 15 años hasta mayores de 60 años y registraron al grupo etéreo entre los 15 y 44 años como el mas afectado, la presente investigación difiere de los reportes encontrados para Amazonas, Chocó y Antioquia en Pineda y Renjifo (2002) con el hecho de que el grupo de edad mas afectado en el Departamento del Cauca por

los accidentes ocasionados por las tres poblaciones de serpientes es el de menores de 15 años.

Por otra parte se encuentran diferencias en las proporciones de los accidentes causados entre las poblaciones de *B.asper* (Tabla 47), según el grupo etáreo, pues la población Ba-1 tiene mas incidencia sobre la población con edades entre los 46 a 60 años debido a su labor agrícola, la población Ba-2 y Ba-3 presentan mas incidencia sobre la población de menores de 15 años.

Tabla 47. Proporción de Accidentes Según Grupo Etáreo

Grupos Etéreos	Poblaciones <i>B. asper</i>			
	Ba – 1 (%)	Ba – 2 (%)	Ba – 3 (%)	Total (%)
0 - 15	2,4	8,5	18,3	29.2
16 - 30	3,6	1,2	11	15.8
31 - 45	3,6	6,1	14,6	24.3
46 - 60	4,9	2,4	11	18.3
61 y +	3,6	1,2	7,3	12.1

Se encontró que la mayor proporción de accidentes (82.2%) se dieron en las horas diurnas lo cual coincide con estudios realizados anteriormente por Ayerbe (2001) y Ayerbe *et. al* (1979) donde se encontró un registro de 88.5% y 68.7% de los accidentes en horas diurnas, dato que al paso del tiempo ha ido incrementándose como se puede observar, pues aunque el dato de la presente investigación es más bajo que el relacionado por Ayerbe en 2001 se debe tener en cuenta que en el presente estudio registra datos de una especie por lo cual esta proporción es un dato bastante elevado.

Pineda y Renjifo (2002) reporta que en regiones como la Amazonía, Antioquia y Chocó la mayoría de los casos de accidentes ofídicos por diferentes especies de serpientes se dan en hombres con porcentajes entre 56.6% y 76% respectivamente, en el Cauca. Ayerbe en (2001) encontró una proporción del 63.6 %de accidentes ocasionados por serpientes de diferente especie en pacientes del genero masculino. En la presente investigación se ratifica el hecho de que el género mas afectado en este caso por la acción de las tres poblaciones *B. asper* es el masculino con un 70.7% de los casos y en la población que mas fue afectado este género fue la Ba – 2 con una proporción del 72.54% (Tabla 48), aunque en gran parte de expedientes clínicos no se referencia la ocupación especifica de los pacientes se pudo apreciar que en su mayoría eran de zonas rurales lo cual lleva a concluir que son personas que desarrollan sus actividades en el campo que es de donde derivan su sustento.

Tabla 48. Proporción de Accidentes por Género, Ocasionado por las Poblaciones Ba-1, Ba-2, Ba-3 de *B. asper*.

Población	Sexo	
	Masculino (%)	Femenino (%)
<i>B. asper</i>		
Ba - 1	66.66	33.34
Ba - 2	72.54	27.46
Ba - 3	68.75	31.25

Según los datos encontrados sobre área corporal afectada por la mordedura de serpiente, se encuentra que los miembros inferiores son los mas comprometidos con un 52.8% de los casos, seguidos por los miembros superiores con un 47.2% de los casos (Tabla 49), debido a que los planes de concientización realizado con algunas poblaciones vulnerable sobre las precauciones que se deben tener al laborar y transitar en el campo no han surtido el mejor efecto, debido muy probablemente a que

la protección (botas) y metodología de trabajo (uso de ganchos a la hora de apartar la hierba para ser cortada), no se ha podido implementar por la cultura y metodologías que se tienen en estas comunidades.

Tabla 49. Proporción de Accidentes Según el Área Lesionada por Población de *B. asper* Causante del Accidente.

Área Lesionada	Población <i>B. asper</i>		
	Ba-1 (%)	Ba-2 (%)	Ba-3 (%)
Miembro Inferior Derecho	18,2	25,5	16,7
Miembro Superior Derecho	9,1	31,9	25
Miembro Inferior Izquierdo	45,4	23,4	41,6
Miembro Superior Izquierdo	27,3	17	16,7
Glúteo derecho	0	2,2	0

El grado de envenenamiento causado por las diferentes poblaciones de *B. asper* puede ser relacionado con la letalidad del veneno de las serpientes de la población, en este caso como se puede apreciar en la Figura 36, y teniendo en cuenta el valor de letalidad de las poblaciones, existe relación entre la dosis letal de la poblaciones Ba-2 con los datos de ofidismo causado, pues siendo esta población la que presenta una mayor letalidad, presenta el mayor número de casos en cada uno de los grados de envenenamiento, encontrándose el grado II como el ofidismo mas recurrente en esta serie.

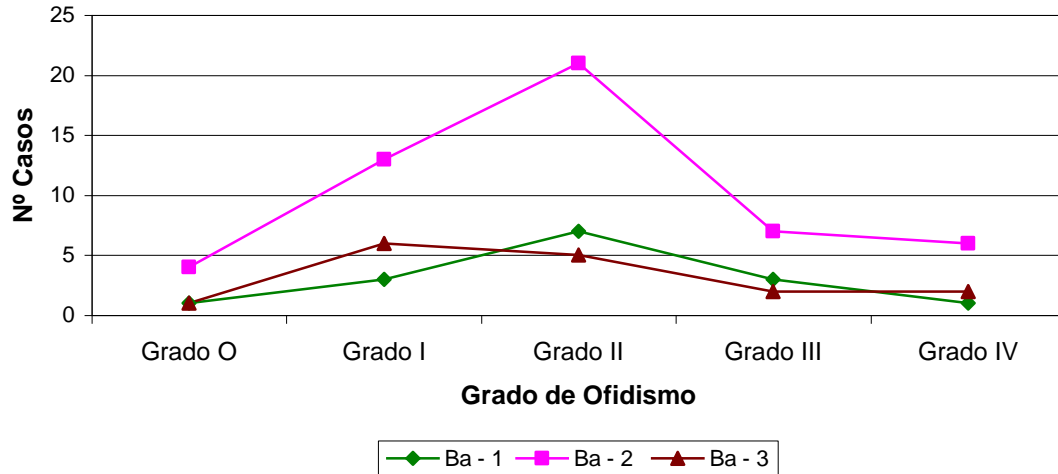


Figura 36. Grados de Ofidismo de los Accidentes por Población Causante.

Es de anotar que la experiencia que se tienen en el HUSJ en la casuística ocasionada por este grupo de cordados ha llevado que en muchos casos se den tratamientos alternativos para que los pacientes se puedan mejorar sin recibir suero antiofidico y adquieran defensas que en el futuro le servirán para su protección natural. Hecho que se corrobora con la estadística pues en el 30.5% de los pacientes no se utilizó suero antiofidico, 65.8% recibieron algún tipo de suero y en el 3.6% de expedientes investigados no presentaban información sobre este tópico (Tabla 50).

En esta serie se encontró que los grados de Ofidismo I y II se empleo en el 100% de los casos el suero antiofidico polivalente, con una estadía hospitalaria de los pacientes entre 1.9 y 2.5 días, en el grado III y IV se empleo en un 63.6% (SAO monovalente) y 80% (SAO polivalente) con una estadía hospitalaria entre 4 y 6.2 días (Tabla 50), lo cual ratifica el hecho propuesto por Ayerbe (2002) de que el suero antiofidico polivalente es mas efectivo en el caso de contrarrestar el envenenamiento por el veneno de esta especie que el suero antiofidico monovalente

Los exámenes Paraclínicos en su mayoría no fueron realizados a excepción del TP y TPT, en muchos de los casos esto ocurrió debido a que no se encontraban disponibles los reactivos o simplemente no se podía contar en el momento que se requería (muchas veces a la madrugada) con el laboratorio, debido a esto en algunas ocasiones se le pidió a los pacientes que se realizaran las pruebas en laboratorios privados. En otros casos por conocimiento práctico del médico no se hizo necesaria la toma de estos exámenes y se procedió a diagnosticar.

Tabla 50. Correlación entre el Grado de Ofidismo, Seroterapia y Estadía Hospitalaria.

	Población de <i>B. asper</i>								
	Ba – 1			Ba – 2			Ba – 3		
	Suero antiofídico		Estadía	Suero antiofídico		Estadía	Suero antiofídico		Estadía
Grado	Polivalente	Monovalente	Días / Hosp.	Polivalente	Monovalente	Días / Hosp.	Polivalente	Monovalente	Días / Hosp.
0	0	0	1	0	0	1	0	0	1.5
I	1	0	1.3	4	0	1.8	5	0	2.3
II	8	0	3.4	4	0	1.6	27	0	2.7
III	4	0	5.3	5	0	3.5	8	6	3.2
IV	3	0	10	0	2	2.5	11	0	6.1

Los tratamientos adicionales como la profilaxis antitetánica fue empleada en un (69.5%) de los casos, en 64 casos (78.5%) se registró el uso de profilaxis antibiótica, utilizando como medicamentos aplicados más constantemente la Penicilina cristalina,

Gentamicina, Clindamicina, Acetaminofen, Ranitidina, como analgésico se empleó Dipirona, como antihistaminico la clemastina (Tavegyl ®).

El empleo del “Mentol de Monte” o “Sarpoleta” como tratamiento alternativo del edema ocasionado por el ofidismo Bothrópico, fue recomendado en la mayoría de los casos pero solo en 4 de estos se tuvo referencia escrita de su medicación directa para su uso después de que se le diera de alta a los pacientes.

11. CONCLUSIONES

La determinación de la concentración del veneno puro mediante la lectura espectrofotométrica a 280 nm, resulta eficaz al compararla con otros trabajos, por lo cual tiene una alta tasa de reproducibilidad.

La Dosis Letal 50 (DL₅₀) del veneno de la Población Ba-1, Ba-2 y Ba-3 de *Bothrops asper* puede ser determinada a través de inoculaciones por vía intraperitoneal en ratones albinos entre 16 y 18 g, mediante el paquete estadístico OAT425 Satapgm.

La determinación de la DL₅₀ mediante ensayos con dosis escalonadas de veneno aseguran un resultado satisfactorio demostrado en este experimento tanto en sensibilidad como en reproducibilidad.

El valor encontrado de DL₅₀ para la población Ba-1, Ba-2 y Ba-3 de *B.asper* corresponden a 6.06 µg/mL, 5.96 µg/mL y 7.11 µg/mL respectivamente.

De las tres poblaciones evaluadas de *B. asper* la que presenta un veneno con mayor letalidad es la población Ba-2.

Las diferencias encontradas entre la DL₅₀ de las tres poblaciones de *B.asper* no sugieren diferencias significativas para precisar la presencia de diferentes especies y no de poblaciones.

La letalidad del veneno de la población Ba-2 se vio reflejada en los datos de epidemiología encontrados de pacientes provenientes de su cuenca. Sin embargo no se puede asegurar que debido a esta característica toxinológica se deba el número de pacientes encontrados, debemos sumar algunas variables como; accesibilidad a un centro médico, fuentes de transporte y vías de comunicación.

Entre 1998 y 2003 se presentaron un total de 119 accidentes ofídicos en el departamento del Cauca, presentando una incidencia de 23.8 casos/año, de los cuales 82 (68.90%) casos fueron causados por las tres poblaciones de *Bothrops asper* en estudio. Los 37 casos restantes fueron ocasionados por las especies *Bothrops atrox*, *Bothrops punctatus*, *Bothrocophias colombianus*, *Bothriechis schlegelii*, *Micrurus mipartitus popayanensis* y se encontró casos por accidentes con colúbridos pertenecientes a los géneros *Clelia*, *Rhadinea*, *Spilotes*, *Sibon*, los cuales no representaron ningún grado de envenenamiento en los accidentes causados.

La difusión de la prevención y tratamiento ante un accidente ofídico han llevado a que los afectados consulten mas a un especialista y eviten el manejo tegua que en muchas ocasiones empeora su condición, hecho reflejado en el número de accidentes registrados, en comparación con años anteriores.

El conocimiento y manejo de los accidentes ofidicos en el departamento del Cuaca, han llevado a que el porcentaje mortalidad sea cero, demostrándose la efectividad de los procedimientos empleados para el tratamiento del accidente ofídico en el departamento.

12. RECOMENDACIONES

Para hacer aun más precisa la determinación de la dosis letal 50 y poder evaluar diferencias en la letalidad del veneno de estas poblaciones se recomienda realizar la determinación de las DL_{50} con por lo menos 30 muestras de veneno con cada población para determinar la variación de la dosis letal 50 en estas poblaciones.

Para la determinación de diferencias mas significativas se recomienda plantear investigaciones desde el punto de vista molecular lo cual sumado a otras variables de como letalidad y el recuento de escamas traerán bases concretas para llegar a esta determinación.

En el caso del registro epidemiológico se recomienda la adopción de la ficha propuesta por el Ministerio de Salud, lo cual almacenaría de una manera mas concisa, ordenada y confiable datos que se requieren a la hora de hacer una evaluación epidemiológica.

13. BIBLIOGRAFIA

AYERBE, S. Tratamiento del Ofidismo en el Departamento del Cauca, Colombia. En: Rev. Fac. Cien. Univ. Cauca. Vol. 3. N° 1. Marzo 2001. p. 20-26.

_____, Ofidismo en el Departamento del Cauca, Colombia. Epidemiología, Etiología, Clínica y Complicaciones. En: Rev. Fac. Cien. Univ. Cauca. Vol. 2. N° 4. Diciembre. 2000. p. 21-27.

_____, Pautas para el Manejo de las Mordeduras de Serpiente. En: Temas de Pediatría, Nestlé. Número 133. 1995. p 3-10.

_____, Ofidiotoxicosis Micrúrica en el Cauca. Reporte de un Caso Fatal. En: Cuadernos de Medicina Popayán (Col), Vol. 7, N° 1. 1982. 9 p.

_____, Ofidismo en Colombia. Enfoque Diagnostico y Tratamiento. Capitulo 52, pp. 757-768 En: Ordóñez, C.A, Ferrada, R y Buitrago, R (Eds) 2002. Cuidado Intensivo y Trauma, Bogota 880p.

_____, OTERO, L.M., GÁLVEZ, D. y PAREDES, A. Estudio Retrospectivo sobre Ofidiotoxicosis en el Departamento del Cauca. 1ª Parte. Aspectos Herpetológicos, Clasificación de las Ofidiotoxicosis, Aspectos Clínicos. En: Cuadernos de Medicina Popayán (Col), Vol. 2, N° 3. 1977. p. 1-8.

_____, PAREDES, A y GÁLVEZ, D. Estudio Retrospectivo sobre Ofidiotoxicosis en el Departamento del Cauca. 2ª Parte. Aspectos Clínicos, Epidemiológicos y Complicaciones. En: Cuadernos de Medicina Popayán (Col), Vol. 4, N° 1-2. 1979. p. 33-45.

_____, TIDWELL, M y TIDWELL M. Observaciones sobre la Biología y Comportamiento de la Serpiente Coral “Rabo de Ají” (Elapidæ: *Micrurus mipartitus*); Descripción de una Subespecie Nueva. En: Novedades Colombianas, Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca, Popayán Vol. 2 .1990. p. 30-41.

_____, NAVIA, R. y CAMACHO, L. Aproximación al Conocimiento de los Ofidios (Serpentes) en el Departamento del Cauca. En: Memorias Seminario Taller Presentado a Smurffit-Cartón Colombia, S.A. 2004. p. 5-9.

BARRANTES, A., SOLIS, V. y BOLAÑOS, R. Alteración de los mecanismos de Coagulación en el Envenenamiento por *Bothrops asper* (Terciopelo). En: Toxicon 23. 1985.p. 399-407

BARRAVIERA, B. y MARQUES, P. Accidentes por Serpentes do Genero *Bothrops*. En: Venenos: Barraviera, B.: Aspectos Clínicos e Terapêuticos dos Accidentes por Animais Peçonhentos. Río de Janeiro En: EPUB. 1º Ed. 1999. p. 261.

BELLAIRS, A. y ATTRIDGE, J. Reptiles. London. Hutchinson Co. 1975. 135 p

CAMPBELL, JA., y WW. LAMAR. The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere. Vol. I. Ithaca and London: Comstock Publ. Assoc. Div. Cornell Univ. Press; 2004. p.378.

CAMPBELL, JA., y WW. LAMAR. The Venomous Reptiles of Latin America. Ithaca. Cornell Univ. Press; 1989.

CEBALLOS, J; LEONARDI, F Y DALÓ, N. Falta de Protección del Suero Obtenido del Gavilán, Chivo y Cerdo a la Acción Letal del Veneno de *Bothrops jararaca* en Ratones. En: Act. Cient. Venezolana. Vol. 48 Supl. 1. 1997. p. 210.

CHIPPAUX, J.P., Snake-bites: Appraisal of the Global Situation. En: Bull. World Health Organization. Vol. 76. 1998. p. 515-524.

DA SILVA, RJ. As Serpentes. En: Jaboticabal. Funep; 2000.

DE SIQUIERA, FO; FAN, HW. Accidente Bothrópico En: Sachvartsman S. Plantas e Animais Peçonhentos. 2da ed. Sao paulo: sarvier 1999. p 149-160.

FURTADO, M; SANTOS, M y KAMIGUTI, A. Age-related Biological Activity of South American Rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*). En: Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases. Vol. 9 N° 2. 2003. p. 186-201.

GARCÍA, E. Los Ofidios Venenosos del Cauca. París: Librería e Imprenta de la Vda. De Ch. Bouret. 1896. 102 p.

GUTIÉRREZ, JM. Local Pathological Effects Induced by Bothrops Snake Venom. En: Mem Inst Butantan. Supl 52. 1990.p. 37,38.

_____, LOMONTE, B. Local Tissue damage Induced by Bothrops Snake venom. En: Mem Inst Butantan. Supl 51. 1989.p. 211-223.

_____, CHÁVES, F y BOLAÑOS, R. Estudio Comparativo de Venenos de Ejemplares Recién Nacidos y Adultos de *Bothrops asper*. En: Revista de Biología Tropical. Vol. 28 N° 2. 1980. pp. 341-351.

GUTBERLET, Jr y CAMPBELL, JA. Generic Recognition for a Neglected Lineage of South American Pitvipers (Squamata: Viperidæ: *Crotalinæ*) with the Description of a New Species from the Colombian Chocó. En: Amer. Mus. Novitates. N° 3316. 2001. pp. 1-15.

GERRERO V. J. Aislamiento, Purificación y Evaluación de Neurotoxinas del Escorpión *Centruroides margaritatus* (Buthidae) del Municipio del Patía, Departamento del Cauca, Colombia. Popayán, 2002, 100p. Trabajo de grado (Biólogo) Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de Biología

INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTÍN CODAZZI (IGAC). Características Geográficas del Cauca. Santafé de Bogotá, 1.993.

KAMAGUTI, AS; CARDOSO, JLC. Homeostatic Changes Caused by the Venoms of South America Snakes. En: Toxicon 27. 1989.p. 955-963.

KARDONG K. The Evolución of the Venom Apparatus in Snake from Colubrids to Viperids & elapids. En: Mem Inst. Butantan. 46: pp105-108. 1982.

KUCH, U., MEBS, D., GUTIERREZ JM. y FREIRE, A. Biochemical and biological characterization of Ecuadorian Pitviper Venoms (genera *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrops* and *Lachesis*). En: Toxicon 34. 1996. p. 714-717.

MANDELBAUM, FR. Snake Venom Hemorrhagins. En: Mem Inst. Butantan. 52 (Supl.): 35-6. 1990.

MATTISON, C. The Encyclopedia of Snakes. Checkmark Books. An Imprint of Facts on File, Inc. 11 Penna. Plaza, New York, NY 10001. 1995. 256. p.

MEIER, J. Venomous Snakes. Chapter 1, pp 1-32. En: Stocker, Kurt F. (ed.). Medical Use of Snake Venom Proteins. Boston: CRC Press, 1990. 272 p.

MINAMBIENTE. Biodiversidad. En Línea www.minambiente.gov.co. 1999.

MONTILLA, J; ALVARES, M. Determinación de la DI_{50} del Veneno de Serpientes *Bothrops colombiensis*. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Unidad de Investigaciones Ofidológicas. 1998. p. 1-7. En Línea www.zulia.infoagro.info.ve/OTROS%20TEMAS/SERPIENTES.doc.

OTERO R; TOBON, GE y GÓMEZ, LF. Accidente Ofídico en Antioquia y Chocó. En: Acta Médica Colomb. 1992. Vol 17: 229-49.

PALACIOS, C. Ministerio de salud de Nicaragua, Boletín Epidemiológico. Situación Epidemiológica Lesionados por Mordedura de Serpientes. Nicaragua. 2004. p. 1-4.

PINEDA, D y JM, RENJIFO. Accidente Ofídico. pp.: 17-69. En: Pineda, D (ed.). Accidentes por Animales Venenosos. División de Biblioteca y Publicaciones, Instituto Nacional de Salud. Bogotá, D.C. 2002. 194 p.

RENJIFO, J.M y M. LUNDBERG. Anfibios y Reptiles de Urrá. Editorial Colina, Medellín, Colombia 1999. p. 53-93.

ROZE, J. Coral Snakes of the Americas. Biology, Identification, and Venoms. Krieger Publ. Co., Malabar Florida; 1996. p. 328.

SÁNCHEZ, H., CASTAÑO, O y CÁRDENAS, G. Diversidad de los Reptiles en Colombia. En: Rangel J O (ed.). Diversidad Biótica I. Santafé de Bogotá: Guadalupe, 1995. p. 277-326.

SANO MARTIS, IS. Hematological Disturbances Induced by Bothrops Venom. En: Mem Inst Butantan. Supl 52. 1990.p. 39,40.

SARAVIA, P.S., ROJAS, E., ESCALANTE, T., ARCE, V., CHAVES, E., VELÁSQUEZ, R., LOMONTE, B., ROJAS, G., y GUTIÉRREZ JM. The venom of *Bothrops asper* from Guatemala: toxic activities and neutralization by antivenoms. En: Toxicon. Vol. 39. 2000. p. 401-405.

SOLÓRZANO, A y L CERDAS. Ciclos Reproductivos de la Serpiente Coral *Micrurus nigrocinctus* (Serpentes: Elapidae) en Costa Rica. 1987. En: Rev. Biol. Trop., Vol. 36 N° 2A. 1988. p. 235-239.

STOCKER, K F. Composition of Snake Venoms. Chapter 2, Chapter 5pp: 34, 44, 46 and 127, 139In: Stocker, Kurt F (ed.). Medical Use of Snake Venom Proteins. Boston: CRC Press. 1990. 272 p.

KEOGH, J; BRANCH, W; SHINE, R. Feeding Ecology, Reproduction and Sexual Dimorphism in the Colubrid Snake *Crotaphopeltis hotamboeia*. En: Southern Africa. African Journal of Herpetology. Vol. 49 N° 2. 2000. p. 129-137.

YASNO, F. Determinación del Efecto Citotóxico y Genotóxico del Veneno de Serpiente *Bothrops asper* (VIPERIDÆ) en Eritrocitos de Sangre Periférica de Ratonés (*Mus musculus*) Mediante la Prueba de Micronúcleos. 2005. 65p. Trabajo de grado (Biólogo) Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de Biología.