

Comparación de la eficacia, la seguridad y la farmacocinética de los antivenenos antiofídicos: revisión de literatura

Comparison of the Effectiveness, the Safety, and the Pharmacokinetic of Snakebites Antivenoms: Review

KAREN SARMIENTO^a

Profesora del Departamento de Ciencias Fisiológicas,
Facultad de Medicina, Pontificia Universidad
Javeriana, Bogotá, Colombia

ARIADNA RODRÍGUEZ

Grupo de Investigación en Proteínas, Departamento de
Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional
de Colombia, Bogotá, Colombia

WILLIAM QUEVEDO-BUITRAGO

Profesor del Departamento de Toxicología,
Facultad de Medicina, Universidad Nacional
de Colombia, Bogotá, Colombia

IVONNE TORRES

Médica cirujana, Facultad de Medicina de la
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá,
Colombia

CAROLINA RÍOS

Médica cirujana, Facultad de Medicina de la
Pontificia Universidad, Bogotá, Colombia

LAURA RUIZ

Estudiante de la Carrera de Microbiología en
la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá,
Colombia

JULIÁN SALAZAR

Estudiante de Medicina, Pontificia Universidad
Javeriana, Bogotá, Colombia

PATRICIA HIDALGO-MARTÍNEZ

Profesora del Departamento de Medicina Interna, Facultad
de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana.
Unidad de Neumología, Hospital Universitario San Ignacio,
Bogotá, Colombia

HUGO DÍEZ

Profesor del Departamento de Microbiología, Facultad
de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá,
Colombia

Recepción: 26/04/2019 | Aceptación: 03/07/2019

^a Correspondencia: ksarmiento@javeriana.edu.co

Financiación: el presente estudio no contó con financiación externa.

Conflictos de interés: los autores declaramos que ninguno presentó conflictos de interés durante la elaboración del artículo.

Cómo citar: Sarmiento K, Rodríguez A, Quevedo-Buitrago W, Torres I, Ríos C, Ruiz L, Salazar J, Hidalgo-Martínez P. Comparación de la eficacia, la seguridad y la farmacocinética de los antivenenos antiofídicos: revisión de literatura. *Univ. Med.* 2020;61(1). <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed61-1.anti>

RESUMEN

Introducción: Anualmente, en Colombia se informan alrededor de 5000 casos de mordedura de serpiente, que producen un cuadro clínico de envenenamiento, cuya neutralización depende de inmunoglobulinas heterólogas. Comercialmente, en el país se pueden encontrar inmunoglobulinas completas de segunda generación y faboterápicos de tercera generación; sin embargo, muchos médicos

tratantes desconocen sus diferencias. **Objetivo:** Dar a conocer las principales características farmacocinéticas entre las diferentes generaciones de antivenenos, así como la frecuencia de reacciones adversas. **Materiales y métodos:** Se buscó literatura sobre el tema en diversas bases de datos, utilizando combinaciones de los descriptores y términos MeSH, en inglés y español. Se cotejaron parámetros farmacocinéticos en estudios preclínicos y los efectos adversos en estudios clínicos. **Resultados:** Según los estudios analizados, se encontró que las principales diferencias farmacocinéticas son consecuencia del tamaño de la fracción de la inmunoglobulina; así, los faboterápicos tienen una mayor distribución a los tejidos y una vida media más corta comparada con las inmunoglobulinas completas. En el ámbito clínico se encontraron estudios que evidenciaron de mayor a menor presentación de reacciones adversas a las inmunoglobulinas completas, seguida de los antivenenos F(ab')₂ y Fab, respectivamente. **Conclusión:** Existen grandes diferencias farmacológicas entre las generaciones de los antivenenos antiofídicos, las cuales se exponen en este artículo como una herramienta práctica para optimizar el adecuado tratamiento en la mordedura de serpiente.

Palabras clave

mordedura de serpiente; farmacocinética; veneno; Elapidae; Viperidae; antivenenos.

ABSTRACT

Introduction: In Colombia, around 5000 cases of snakebites are reported annually, producing a clinical poisoning whose neutralization depends on heterologous immunoglobulins. Commercially, second-generation complete immunoglobulins and third-generation fabotherapies can be found; however, their differences are unknown to many physicians. **Objective:** To present the main pharmacokinetic characteristics by comparing the different generations of antivenoms, as well as the frequency of side effects. **Materials and Methods:** A literature search was conducted in databases using a combination of descriptors and Mesh terms, in English and Spanish. Pharmacokinetic parameters were compared in preclinical studies and side effects in clinical studies. **Results:** From the researchers analyzed, we found that the main pharmacokinetic differences are a consequence of the size of the immunoglobulin fraction, so the fabotherapeutic have a greater distribution to the tissues and a shorter half-life, compared with the complete immunoglobulins. At a clinical level, studies were found that showed higher to lower presentation of side effects to complete immunoglobulins, followed by antivenoms F(ab')₂ and Fab respectively. **Conclusion:** There are big pharmacological differences between the generations of antivenoms, which are exposed in this document as a practical tool to optimize the adequate pharmacological treatment in snakebite.

Keywords

snakebites; pharmacokinetic; venoms; Elapidae; Viperidae; antivenoms.

Introducción

Los antivenenos son abordados desde el punto de vista del médico que debe instaurar un tratamiento contra la mordedura de serpiente o accidente ofídico, la industria farmacéutica que elabora el producto y los pacientes que son mordidos por serpientes venenosas y deben recibir el tratamiento. En el mundo, cada año se reportan cerca de cinco millones de personas mordidas por serpientes (1), y en Latinoamérica se han cuantificado cerca de cuatro mil muertes cada año por esta causa (2). Colombia ocupa el tercer lugar en biodiversidad ofídica en América (3); de ahí que anualmente se informe de más de cinco mil accidentes ofídicos, con una mortalidad del 5% al 9% y una discapacidad por eventos graves del 6% al 10% (4). En la actualidad se considera un problema de salud pública y su notificación es obligatoria desde el 2004 (5). En los informes del Instituto Nacional de Salud (INS) se encontró que el 94,6% corresponde a accidentes por serpientes del género *Bothrops*; el 3,30%, a accidentes ocasionados por el género *Micrurus*, y el 2,06%, a accidentes por *Crotalus* sp. (6).

Los medicamentos efectivos para contrarrestar el envenenamiento producido por la mordedura de serpiente son los antivenenos antiofídicos, producidos desde el siglo XIX, que corresponden fundamentalmente a inmunoglobulinas de plasma equino, obtenido bajo un esquema de inmunización con veneno de serpiente (7,8).

Teniendo en cuenta la importancia de los antivenenos antiofídicos para contrarrestar el envenenamiento por mordedura de serpiente, el objetivo de este artículo es dar a conocer los aspectos generales de su mecanismo de acción, parámetros farmacocinéticos y los efectos adversos de las diferentes generaciones de antivenenos, para comparar objetivamente sus diferencias clínica e *in vitro*.

La ganancia de conocer los diferentes antivenenos antiofídicos y sus generaciones radica en que el personal de salud pueda tener

las herramientas necesarias para seleccionar el antiveneno que requiere el paciente (9), basado en su especificidad, parámetros farmacocinéticos y seguridad (10). Además, se puede disminuir el costo de la atención a los pacientes al utilizar antivenenos con bajo peso molecular, debido a la evidencia de mayor seguridad, o altamente específicos, porque se disminuye el número de viales requeridas para la neutralización; sin embargo, idealmente todos los países deberían tener antivenenos que cumplan con ambos requisitos.

Materiales y métodos

Se buscó literatura sobre el tema en las bases de datos Toxicology Bibliographic Information (Toxline), una base de datos de Toxicology Data Network (Toxnet) de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos (<http://toxnet.nlm.nih.gov>) y Pubmed, utilizando combinaciones de los descriptores y términos MeSH, en inglés y español, para *antiveneno*, *mordedura de serpiente*, *siero antiotídico*, *faboterápico*, *F(ab')₂*, *inmunización*, *veneno*, *Viperidae*, *Elapidae*, *Micrurus*, *Bothrops*, *coral*. Se consideraron los documentos publicados posteriores al 2000 y la última búsqueda se realizó el 18 de enero del 2019. Se definieron como criterios de inclusión:

Artículos de revisión, ensayos preclínicos y clínicos publicados después del 2000.

Disponibilidad del documento completo, protocolos de producción de inmunoglobulinas, técnicas inmunoquímicas de producción y artículos de antivenómica.

Artículos sugeridos y enviados por los coautores directamente.

Se definieron como criterios de exclusión:

Artículos en idioma diferente al inglés y español.

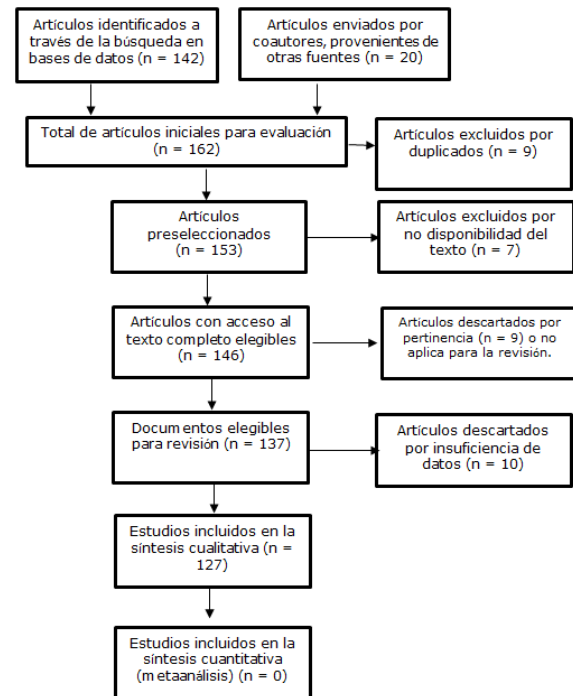
Artículos con datos insuficientes o bajo poder estadístico, incluyendo reportes de caso con un paciente.

De esta manera se obtuvieron un total de 162 artículos, que se evaluaron con los criterios mostrados en la figura 1 para un total de 127 documentos incluidos. No se realizó un análisis

estadístico cuantitativo de los datos encontrados en la revisión, dado que no son comparables en población y tipo de antiveneno utilizado entre ellos.

Figura 1

Flujograma de búsqueda de información



Resultados

De los 127 artículos revisados, 56 fueron estudios de tipo experimental, 26 revisiones sistemáticas de la literatura, 6 guías de práctica clínica, 5 guías de laboratorio, un acta médica, 28 estudios clínicos, 4 estudios epidemiológicos y el Plan de Desarrollo Nacional colombiano. De los estudios más relevantes para este artículo que se mencionan en la tabla 1, se encuentran 5 artículos de revisión llevados a cabo en países como Australia, México, Costa Rica, Estados Unidos y Brasil; 3 estudios experimentales realizados en Reino Unido, México-Venezuela y Colombia; un protocolo de elaboración de antivenenos realizado por la Organización Mundial de la Salud; 4 estudios de farmacocinética, efectividad y seguridad en clínica, uno de los cuales es un artículo

de revisión y tres de estudio experimental; además de 3 estudios clínicos y epidemiológicos realizados en Colombia. La mayoría de los artículos se encuentran escritos en inglés.

Tabla 1
Estudios relevantes para el objetivo de este artículo

Referencia	Año	Tipo de estudio	País	Idioma	Aporte
Isbister (9)	2010	Revisión	Australia	Inglés	Calidad y eficacia de los antivenenos
Espino-Solis et al (127)	2009	Revisión	México	Inglés	Hitos históricos de la fabricación de antivenenos
WHO (8)	2016	Guía	Suiza	Inglés	Reglamentación mundial en la producción de antivenenos
Pope (72)	1939	Experimental	Reino Unido	Inglés	Primeros aportes en la producción y digestión enzimática de proteínas para fabricación de anticuerpos
Gutiérrez et al. (91)	2003	Revisión	Costa Rica	Inglés	Parámetros farmacocinéticos encontrados para los antivenenos antiofídicos de acuerdo con el tipo de inmunoglobulina
Mora-Obando et al. (28)	2014	Experimental	Colombia	Inglés	Importancia de la proteómica para el entendimiento en la variación de efectividad de los antivenenos para una misma especie
Otero et al. (85)	2006	Ensayo clínico	Colombia	Inglés	Eficacia y seguridad de los antivenenos de acuerdo con su técnica de producción.
Vázquez et al. (57)	2013	Experimental	México, Venezuela	Inglés	Parámetros farmacocinéticos de los faboterápicos
Otero et al. (122)	2002	Estudio clínico y epidemiológico	Colombia	Español	Estudio de efectividad y seguridad clínica en Colombia
Fox y Serrano (128)	2008	Revisión	Estados Unidos, Brasil	Inglés	Importancia de la proteómica en el estudio de los venenos animales
Saifert y Boyer (92)	2001	Revisión	Estados Unidos	Inglés	Seguridad de los antivenenos faboterápicos en clínica
Sarmiento et al. (121)	2018	Estudio epidemiológico	Colombia	Inglés	Revisión de efectividad y seguridad en una cohorte de un hospital de Colombia

Fuente: elaborado por los autores.

Los venenos de serpientes

El veneno es el primer eslabón para buscar la especificidad en la producción de las inmunoglobulinas, dado que la respuesta del sistema inmune depende de los epítopes a los cuales se expone el animal destinado para la producción de anticuerpos (11,12).

La serpiente produce el veneno en una glándula exocrina especializada (13,14,15). La composición química es compleja y presenta diferencias inter e intraespecie, debido a variaciones ontogénicas y geográficas, polimorfismos en los componentes enzimáticos, edad del animal, alimentación y estado de salud, lo que redundará en un amplio espectro de actividades biológicas y farmacológicas del veneno, así como en su respuesta a los antivenenos (16,17,18,19).

Familia Viperidae

Dentro de los componentes del veneno de las serpientes de familia *Viperidae* se encuentran algunas sustancias inorgánicas, en su gran mayoría iones y péptidos libres (20). Se han

descrito trazas de minerales, zinc (asociado con la actividad anticolinesterasa) y calcio, que activa la fosfolipasa A₂ (PLA₂) (21). A nivel orgánico se encuentran aminoácidos libres como histidina, aspartato, glicina, glutamato, serina, alanina y péptidos ricos en prolina, glicoproteínas, fosfatidilcolina y aminos biogénicas (22,23), como histamina, bradicinina, serotonina y acetilcolina (24).

En cuanto a los compuestos proteicos, son de vital importancia las enzimas proteolíticas, las cuales se clasifican según el sustrato de acción en dos grandes grupos: específicas o inespecíficas (25). Las segundas son liasas tipo endopeptidasas que afectan tanto proteínas tisulares como células sanguíneas; además, tienen especial importancia a nivel clínico las peptidohidrolasas, peptidasas y proteasas, las cuales al actuar sobre proteínas de tejido causan lisis de tejidos, hemorragia y necrosis (22). Las enzimas específicas incluyen una serie de proteasas que tienen alto grado de afinidad y especificidad hacia los factores de coagulación, como serinas proteasas (SP), metaloproteinasas (SVMP), PLA₂ y L-aminoácido-oxidasas (26,27).

Gracias a los estudios de proteómica se han establecido tanto las familias de proteínas presentes como la abundancia relativa (28,29,30,31) y, con esto, algunas tendencias en su composición. Se evidencian tres tipos de proteínas predominantes pertenecientes a las familias de las fosfolipasas: PLA₂, SP y SVMP (26,32,33).

En general, las PLA₂ son enzimas que hidrolizan glicerofosfolípidos y liberan lisofosfolípidos y ácidos grasos. Este veneno muestra una variedad de efectos biológicos que incluyen miotoxicidad, inhibición de agregación plaquetaria, edema, hemólisis, hipotensión, coagulación intravascular diseminada y choque distributivo (34,35,36,37), además de un efecto nefrotóxico y cardiotoxico directo (38,39,40).

Las SP muestran actividad sobre las proteínas de la cascada de coagulación, actividad similar a la trombina sobre el fibrinógeno, activación del factor V de la proteína C, del plasminógeno, fibrinogenólisis e inducción de agregación plaquetaria. Además, algunas SP

ejercen actividad similar a calicreína, al liberar bradicinina o Lys-bradicinina, lo que promueve un aumento de la permeabilidad vascular e hipotensión (26,41,42).

Las SVMP, representadas con mayor actividad por las del tipo SVMP P-III, inducen sangrado sistémico por un mecanismo de hidrólisis inicial de enlaces peptídicos en la lámina basal. Ello debilita su estabilidad mecánica e interrumpe la integridad de las células endoteliales que finaliza en extravasación. Se encontró que este proceso es el principal mecanismo que promueve colapso cardiovascular por la pérdida masiva de sangre, secundaria a hemorragia local y sistémica (43,44).

Familia Elapidae

Por otra parte, los venenos de la familia *Elapidae*, cuyo género más importante es *Micrurus* (conocidas como corales), se caracterizan por propiciar neurotoxicidad, con mínimo efecto histotóxico y miotóxico y sin alterar los factores de coagulación (45). El resultado del cuadro clínico es una parálisis progresiva muscular hasta los músculos diafragmáticos, lo que lleva a la muerte por este efecto (46).

Conocida la predominancia neurotóxica de estos venenos, entre sus componentes proteicos principales se encuentran la familia de las PLA2 y las toxinas de 3 dedos (3FTx) (47,48). Estos grupos actúan sobre la placa neuromuscular de dos maneras: la primera altera la conducción en la terminal nerviosa mediante hidrólisis de fosfolípidos, lo que provoca descarga, depleción de las vesículas sinápticas de acetilcolina o interferencia en la fusión de las vesículas cargadas con el neurotransmisor y la membrana presináptica (β -neurotoxinas, que son del tipo PLA2), y la segunda bloquea la unión de la acetilcolina con el receptor postsináptico nicotínico (α -neurotoxinas, del tipo 3FTx), que causa parálisis flácida del músculo esquelético (49).

Estudios de proteómica y transcriptómica han permitido caracterizar los venenos (50,51) y relacionar los efectos miotóxicos (PLA2),

neurotóxicos, nefrotóxicos y cardiotoxicos (3FTx) de los diversos componentes (52,53). El conocer la composición de las toxinas presentes en los venenos es fundamental para el tratamiento del accidente ofídico y para seleccionar especímenes para la producción de antivenenos.

La complejidad de la fisiopatología del envenenamiento ofídico demanda un conocimiento sobre los componentes del veneno a partir de un abordaje bioquímico funcional, con el fin de evaluar su relevancia para el tratamiento más adecuado.

Los antivenenos antiofídicos

El antiveneno antiofídico se considera la terapia específica para el tratamiento del accidente ofídico o mordedura de serpiente (8,54,55), y es un producto biológico obtenido a través de la inducción de inmunidad en un animal hospedero, usualmente un caballo (56,57,58), para extraer el suero hiperinmunizado purificado y utilizarlo como antídoto en el paciente intoxicado con veneno de serpiente (59). A través de la historia de los antivenenos y la comercialización de estos, se han conocido cuatro generaciones de antivenenos de acuerdo con su proceso de fabricación (8).

El antiveneno de primera generación está compuesto de inmunoglobulinas G (IgG) completas de un peso aproximado de 150.000 Da, que incluye algunas fracciones de proteínas —la albúmina, por ejemplo— (59). Se conoce como antiveneno de segunda generación al compuesto por IgG purificadas sin proteínas séricas, que eliminan una gran proporción de albúmina; sin embargo, puede contener entre un 1% y un 5% de proteínas de mediano y alto peso molecular (60,61,62).

El antiveneno de tercera generación está compuesto por fracciones ab unidas, conocidas como F(ab')₂, las cuales tienen un peso aproximado de 100.000 Da; mientras que el antiveneno de cuarta generación se compone de fragmentos ab, monovalentes, conocidos como Fab, con un peso molecular aproximado de

50.000 Da (7,63). Comercialmente, son sueros antiofídicos preparados de inmunoglobulinas purificadas, es decir, primera y segunda generación; entre tanto, se denominan *faboterápicos* los antivenenos compuestos por fracciones F(ab')₂ o Fab, de tercera y cuarta generación, respectivamente (57).

Elaboración de los antivenenos

Para elaborar los antivenenos se requiere que haya una producción de anticuerpos inducida por inoculaciones seriadas de veneno de serpiente, teniendo en cuenta su dosis letal 50 (DL50) (64,65). El animal usado por excelencia como productor de inmunoglobulinas es el equino, dado su volumen sanguíneo, resistencia y capacidad para generar anticuerpos contra el veneno (56,58,66). Dentro de los estudios analizados se encontró que la inoculación directa del veneno crudo no es bien tolerada por el hospedero (66), por lo que es necesario utilizar coadyuvantes en el momento de la aplicación del veneno, para formar depósitos del antígeno y propiciar una liberación controlada que conserve la inmunogenicidad de los toxoides purificados y estimule la respuesta inmune (67).

El esquema de inmunización es variable, dependiendo de la DL50 del veneno (64), la especie utilizada para la producción de las inmunoglobulinas y la técnica para la purificación de las proteínas (68). Se debe analizar periódicamente un título de anticuerpos para evaluar la producción de las inmunoglobulinas de interés (57,69). Una vez obtenido el título de anticuerpos deseado, se realiza una sangría y se separa el plasma por centrifugación; después, se precipita con sulfato de amonio y se retornan glóbulos rojos y albúmina al animal a través de plasmáfesis, para disminuir el riesgo de anemia en el equino (8,70,71).

La metodología descrita por Pope es la base para la elaboración de los antivenenos (72,73). Los antivenenos de primera y segunda generación son inmunoglobulinas completas purificadas con sulfato de amonio o técnicas de precipitación con ácido caprílico (74,75). Para extraer las

fracciones F(ab')₂ se desarrollan métodos de digestión de las proteínas plasmáticas de IgG completa utilizando pepsina (proteasa aspártica), la cual hidroliza las cadenas pesadas a partir de su extremo C terminal y escinde el fragmento Fc de las inmunoglobulinas. Así se separa la fracción F(ab')₂ de la IgG (76,77). La fracción F(ab')₂ se purifica con sulfato de amonio (75,78,79).

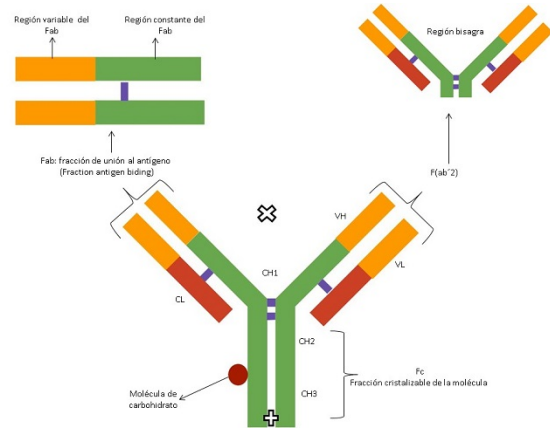
Así mismo, por medio del proceso llamado *desespeciación*, las moléculas reducen su tamaño por la digestión del Fc, debido al clivaje proteolítico, por medio del cual se digieren más del 50% de las porciones constantes de la IgG (80). El rendimiento durante este proceso puede afectarse dependiendo de la enzima utilizada y de la termocoagulación de la IgG (68,70). En ocasiones, se realizan procesos adicionales para la purificación de F(ab')₂ como la cromatografía de intercambio iónico y el uso de ácido caprílico para eliminar lipoproteínas (8).

Los fragmentos Fab, por lo general, se obtienen a través de la digestión con papaína a un pH neutro (76,81) y requieren incubación con un agente reductor para que los anticuerpos tengan un clivaje en la región bisagra, rompan los puentes disulfuro y generen tres partes: dos fragmentos Fab y un fragmento Fc (82). Estos últimos pueden eliminarse por métodos cromatográficos o en tratamiento con pepsina, lo que resulta en fragmentos Fab monovalentes purificados (77,83). La purificación se puede realizar por medio de cromatografía de intercambio iónico o cromatografía de afinidad (84). Los fragmentos Fab también se pueden obtener por medio de la reducción del F(ab')₂, mediante una "reducción suave" (*mild reduction*) con mercaptoetilamina (63,85). De esta reacción resultan dos fragmentos Fab que pueden tener el Fc del anticuerpo (86,87). Se encontró que, de acuerdo con el proceso de digestión enzimática o la técnica de ADN recombinante, se pueden obtener diversas conformaciones de los anticuerpos de acuerdo con el fin para lo cual se diseñan (88,89).

Una vez producido el antiveneno se realiza la primera verificación inmunocitoquímica de la inmunogenicidad por electroforesis en gel o por *Western blot* (68,86,90). Idealmente,

el antiveneno debe reaccionar con todas las fracciones de las proteínas del veneno después de la electrofóresis (73,91,92,93,94). Además, se debe controlar la calidad microbiológica y de efectividad midiendo la capacidad neutralizante del producto, utilizando la técnica de dosis efectiva 50 (DE50) (95,96,97). Una vez cumplidos los controles para evaluar la seguridad y la efectividad del antiveneno, este es envasado en viales en forma líquida o liofilizada (8,86,98). En la figura 2 se visualiza en un esquema las diferencias estructurales de la IgG, fragmentos F(ab')₂ y Fab.

Figura 2
Esquema de la inmunoglobulina G, fragmentos F(ab')₂ y Fab



Región variable del Fab: sitio que se une al antígeno; región constante del Fab: no se une al antígeno, estructural; X: extremo aminoterminal de la molécula; +: extremo carboxilo de la molécula; molécula de carbohidrato: relacionada con la cadena pesada de la inmunoglobulina; Fc: fracción cristalizable de la molécula, no se une al antígeno, pero posee los dominios a los que se fijan leucocitos y el complemento; F(ab'²): dos fracciones Fab, unidas por puentes disulfuro. Los anticuerpos tratados con pepsina dan este producto. Es la presentación farmacéutica que presentan la mayoría de los antivenenos para uso terapéutico en Argentina; C: dominio constante de las inmunoglobulinas. Hay tres para la cadena pesada (CH1, CH2 y CH3); uno para las livianas (CL); V: dominio variable de las inmunoglobulinas. Hay una para cada cadena (VL para la cadena liviana y VH para la cadena pesada); CH: dominio constante de la cadena pesada; VH: dominio variable de la cadena pesada; CL: dominio constante de la cadena liviana; VL: dominio variable de la cadena liviana.

Aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos

Se encontraron estudios que midieron algunos parámetros farmacocinéticos, como tiempo de vida media de distribución, tiempo de vida media de eliminación, volumen de distribución y depuración, comparando diferentes antivenenos (57,61,81,90,96,99). Los aspectos farmacocinéticos más relevantes se consignaron en la tabla 2.

Tabla 2
Parámetros farmacocinéticos de acuerdo con la generación de antiveneno antiofídico

Tipo de antiveneno	Sueros antiofídicos		Faboterápicos	
	Primera generación (IgG completas + fracciones proteicas)	Segunda generación (IgG completas purificadas)	Tercera generación (F(ab') ₂)	Cuarta generación (Fab)
Vd (ml/kg)	44-102	58-118	177-387	110
t(1/2) a (h)	0,14-5,2	0,22-5,62	0,2-2,31	2,7
t(1/2) B (h)	47-116	34-72	13,9-132	3-46,8
CL (ml/h/kg)	0,38-1,48	1,1-1,6	0,91-2,54	
Mecanismo de acción	Reconocimiento de epítomos de la toxina por los paratopos de los anticuerpos. Neutralización por impedimento estérico cuando el epítomo. Esta rodeando la toxina. Reducción de la capacidad de la toxina mediante unión del anticuerpo al epítomo. Formación de inmunocomplejos con toxinas de veneno.			
Reacción adversa al medicamento (%)	Reacciones de hipersensibilidad, anafilaxia y enfermedad del suero	Reacciones de hipersensibilidad, anafilaxia y enfermedad del suero (3-8,5 %)	Reacciones de hipersensibilidad (9-18 %)	Reacciones de hipersensibilidad < 5 %

CL: depuración; t (1/2) a(h): vida media de distribución; t (1/2) B(h): vida media de eliminación; Vd: volumen de distribución.

Fuente: elaborado por los autores.

Se encontró una vida media de distribución de aproximadamente una hora para los faboterápicos de cuarta generación y de hasta tres horas para los antivenenos compuestos con IgG completas (91). Se evidenció en los estudios de farmacocinética una adecuada distribución de los antivenenos faboterápicos (F(ab')₂ y Fab) en tejidos de difícil acceso como el lecho renal con disminución de la fagocitosis del fragmento, que le confieren mayor biodisponibilidad a esa molécula (57,82,100,101).

Con respecto a la vida media de eliminación, se encontró para los faboterápicos Fab una capacidad de eliminación del 50% en un lapso de 5 horas (91,102); mientras que para las IgG completas más de 100 horas (100). Además, para los F(ab')₂ y Fab una tasa de filtración renal más alta que para las IgG completas (57). Con respecto a la eliminación se encontró que los antivenenos con IgG completas tienen catabolismo en bazo e hígado con excreción por células inmunocompetentes con fijación al complemento; mientras que el catabolismo de los fragmentos Fab se efectúa a través del riñón (61,91,100).

Respecto al mecanismo de acción de los antivenenos, estos neutralizan las toxinas de los venenos a través de cuatro mecanismos: a) reconocimiento de epítomos de la toxina por parte de los paratopos de los anticuerpos; b) neutralización mediante impedimento estérico cuando el epítomo está localizado rodeando la toxina; c) reducción de la capacidad de la toxina

para interactuar con su objetivo mediante la unión del anticuerpo a un epítomo, y d) formación de inmunocomplejos con toxinas de veneno que limitan la interacción de las toxinas con su objetivo y propician su eliminación por el sistema mononuclear de fagocitos, únicamente para los antivenenos IgG y F(ab')₂ (103). Los dominios variables son los encargados de interactuar directamente con el antígeno; entre tanto, los dominios constantes conforman la porción Fc para activar la modulación de las células inmunitarias y la activación del complemento (104).

Una vez llega el antígeno a la sangre, la inmunoglobulina reconoce y se une al epítomo a través de la porción Fab, mediante enlaces débiles no covalentes, neutralizando el antígeno por precipitación y aglutinación; adicionalmente, se inicia la cascada inmunitaria activando macrófagos, polimorfonucleares y linfocitos *natural killer* (103).

Este proceso de activación de las células fagocíticas se conoce como *opsonización* e inicia con la modificación de la porción Fc de las inmunoglobulinas al unirse a los antígenos; ello une macrófagos con polimorfonucleares, y de esta manera se promueve la fagocitosis de los complejos antígeno-anticuerpo y las reacciones de hipersensibilidad (66,105).

Los antivenenos compuestos por fracciones monovalentes Fab tienen un único sitio de unión a los epítomos, los complejos son pequeños, irreversibles e inestables; mientras que los antivenenos con inmunoglobulinas completas y los compuestos por F(ab')₂ tienen dos sitios de unión al antígeno y forman inmunocomplejos más estables (92,106). Además, se encontró que el menor tamaño de los faboterápicos les permite realizar neutralización en un compartimento vascular y extravascular de difícil acceso para las IgG (42,92).

Seguridad

Para evaluar la seguridad es primordial la pureza de la preparación y la reducción de proteínas de mediano y alto peso molecular

(8,66,107). A nivel clínico se evalúa la seguridad con la presencia de reacciones adversas medicamentosas (RAM), entre las que son frecuentes las reacciones de hipersensibilidad de tipo inmediato, como la anafilaxia, y las de tipo tardío, como la enfermedad del suero (85,108). La fracción constante (Fc) de las IgG y las proteínas de alto peso molecular, como la albúmina, cumplen un papel importante en la generación de anafilaxia en los pacientes (109). No se han reportado reacciones tóxicas con el uso de estos medicamentos.

La RAM puede tener presentación cutánea leve o grave, como erupción cutánea, prurito, habones, edema facial, angioedema laríngeo, edema en miembros inferiores y reacciones de hipersensibilidad (77,110,111,112). Además, puede estar asociada a un proceso de sensibilización previo al medicamento (pacientes con uso de antivenenos en un accidente ofídico previo), incluso reacciones de tipo anafiláctico. Esta diversidad en la expresión de RAM es independiente del tipo de inmunoglobulina utilizada (IgG completa o F(ab')₂), debido a que todos los antivenenos hasta el momento son proteínas heterólogas y su respuesta depende también del sistema inmunológico del paciente. Sin embargo, las investigaciones muestran que entre más pequeña sea la fracción de la inmunoglobulina existe menos probabilidad de generar RAM (77,113). Los faboterápicos con fracciones Fab son los que tienen menos reportes de RAM, seguido de los antivenenos compuestos con F(ab')₂, debido a su capacidad para activar el complemento por la vía clásica a través de la porción bisagra, relacionada estrechamente con la inmunogenicidad y activación del complemento; mientras que el antiveneno con mayor probabilidad de RAM continúa siendo el compuesto de IgG completa (68,77,85,111,113,114,115).

En la tabla 3 se muestra una recopilación corta de ensayos clínicos en la que se compara la frecuencia de RAM observadas de acuerdo con el antiveneno utilizado. Se encontró que a nivel clínico los autores informaron sobre la eficacia neutralizante de los antivenenos en el manejo del paciente con ofidiotoxicosis;

también se reportó en la mayoría de los artículos una adecuada neutralización de los efectos miotóxico e histolítico de los venenos, con ligera disminución de RAM con el uso de faboterápicos de tercera y cuarta generación (77,85,110,113,116,117,118,119,120,121,122).

Tabla 3
Frecuencia de la reacción adversa medicamentosa con antivenenos antiofídicos

Estudio	Pacientes con antiveneno (n)	Tipo de antiveneno	pacientes con RAM n (%)	Total, pacientes con RAM n (%)
Otero et al, 1996 (112)	39	Monovalente, Anti B. atrox, ICP	ND	14 (36)
		Polivalente, anticrotálico, ICP	ND	
Otero et al, 1998 (110)	67	Polivalente, digestión con pepsina, anti-Bothrops, IB	11 (16)	32 (47)
		Polivalente, IgG completas, anti-Bothrops, IB	3 (4)	
		Monovalente, IgG completas, anti-Bothrops, INS	18 (27)	
Otero et al, 1999 (114)	53	Polivalente, ICP, IgG completas, fraccionamiento con ácido caprílico	13 (24)	20 (37)
		Monovalente, ICP, IgG completas, fraccionamiento con sulfato de amonio	7 (13)	
Otero et al, 2002 (122)	39	Polivalente, Probiol, Colombia	9 (23)	14 (35)
		Polivalente, IBM	1 (2)	
		Polivalente, INS	4 (10)	
Pardal et al., 2004 (116)	74	Antiveneno faboterápico anti-Bothrops-Lachesis, IB	7 (9)	14 (18)
		Antiveneno faboterápico anti-B. atrox-Lachesis, FED	7 (9)	
Smalligan et al., 2004 (120)	178	Suero antiofídico LIP	7 (3)	100 (56)
		Suero antibotrópico, IB	37 (20)	
		Antiveneno polivalente, INS	56 (33)	
Otero et al., 2006 (83)	67	IgG completas, fraccionado con ácido caprílico y precipitación	ND	13 (19)
		IgG completas, fraccionado con ácido caprílico. Tratado con b-propiolactone	ND	
Otero et al., 2007 (113)	53	Antiveneno faboterápico polivalente Antivipmyn-Tr®, IBM	10 (18)	10 (18)
Otero et al, 2012 (77)	72	Faboterápico, digestión con pepsina y precipitación con ácido caprílico	10 (14)	18 (25)
		IgG completas, precipitación con ácido caprílico	8 (11)	
Iran Mendonca-da-Silva et al., 2017 (108)	114	Antiveneno trivalente liofilizado, IB	11 (9)	23 (20)
		Antiveneno anti-Bothrops, Bothrops-Lachesis y Bothrops-Crotalus MoH (SLAV), INSB	12 (11)	
Sarmiento et al., 2018 (121)	42	Polivalente, INS, Colombia	34 (85)	34 (85)

n: dato numérico; ICP: Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica; IB: Instituto Butantan, Brasil; INS: Instituto Nacional de Salud, Colombia; FED: Fundación Ezequiel Dias del Estado de Minas Gerais, Brasil; LIP: Leopoldo Izquieta Pérez, Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical, Guayaquil, Ecuador; IBM: Instituto Bioclón, México; INSB: Instituto Nacional de Salud de Brasil; ND: el dato no está disponible.

Fuente: Elaborado por los autores.

Antivenenos comercializados en Colombia

En Colombia se declaró la mordedura de serpiente como una enfermedad huérfana desatendida y al antiveneno antiofídico como un medicamento vital no disponible, lo que permite la importación de antiveneno para ambas familias

desde otros países. De la misma forma que ocurre para el suero antiarácnido, antiescorpión y antilonómico.

Los antivenenos antiofídicos comerciales en Colombia están planteados para ser polivalentes, diseñados con veneno de varias especies de serpientes de una misma familia. Un antiveneno polivalente para la familia *Viperidae* y un antiveneno polivalente para la familia *Elapidae*:

El suero antiofídico polivalente para familia *Viperidae* producido por el INS, se ofrece en una presentación comercial, una caja con dos viales de 10 mL, conteniendo solución inyectable de inmunoglobulina G (IgG) específica purificada proveniente de plasmas hiperinmunes de ejemplares equinos inmunizados con venenos de serpientes de los géneros *Bothrops* y *Crotalus*. Cada 10 mL de suero neutralizan mínimo: 10 mg de veneno *Crotalus* y 70 mg de veneno *Bothrops*. Por reacción cruzada, cada vial neutraliza como mínimo 15 mg de veneno *Lachesis muta* (Ecorregión Amazónica) y 50 mg de *Lachesis acrochorda* (Ecorregiones Pacífica y Valles Interandinos). (123)

El antiveneno polivalente para familia *Elapidae* del INS, a la fecha, se encuentra en trámite de aprobación por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima):

El antiveneno anticoral polivalente del INS, se presenta en un vial de 10 mL que contiene una solución inyectable de inmunoglobulina G (IgG), específica y no específica, purificada, proveniente de equinos inmunizados con venenos de serpientes pertenecientes a la familia *Elapidae* (Elápidos o corales verdaderas). Cada 10 mL de antiveneno, neutralizan cómo mínimo: 3 mg de veneno de *Micrurus dumerilii*, 8 mg de veneno de *Micrurus mipartitus*, 20 mg de veneno de *Micrurus isozonus* y 3 mg de veneno de *Micrurus surinamensis*. (124)

A la fecha, el Invima aprobó al Instituto Bioclón, de México, para la comercialización del antiveneno polivalente para serpientes de la familia *Viperidae*, antiveneno polivalente para serpientes de la familia *Elapidae* y el polivalente antialacrán. De la misma forma, autorizó al Instituto Clodomiro Picado, de Costa Rica, para

comercializar antiveneno polivalente para la familia *Viperidae*.

El antiveneno Antivipmyn, producido por el Laboratorio Bioclón de México, se ofrece en una presentación comercial de caja con un frasco ampolla liofilizado con solución inyectable. El frasco o ampolla con liofilizado contiene faboterápico F(ab')₂ polivalente antiofídico con capacidad neutralizante de 30 mg de *Bothrops* sp., 7 mg de veneno de *Crotalus* sp. y 15 mg de veneno de *Lachesis* sp. (125).

El antiveneno Polival-ICP, producido por el Instituto Clodomiro Picado de Costa Rica, se ofrece en una presentación comercial de caja con un frasco de 10 ml con solución inyectable liofilizado:

El frasco o ampolla con liofilizado contiene inmunoglobulinas IgG equinas purificadas con capacidad para neutralizar al menos 3 mg de veneno de *Bothrops asper*, 2 mg de veneno de *Crotalus simus* y 3 mg de veneno de *Lachesis stenophrys* Los ensayos clínicos y preclínicos desarrollados por el ICP demuestran que es eficaz para neutralizar en Colombia veneno de serpiente *Bothrops asper* y *Bothrops atrox* y no es efectivo contra el veneno de Cascabel sudamericanas. (126)

Discusión

La literatura revisada destaca la importancia de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de los antivenenos, teniendo en cuenta que dichas propiedades pueden diferir de acuerdo con el método de elaboración (8,91).

De esta manera, el volumen de distribución de los faboterápicos es mayor en comparación con el de las IgG completas, probablemente debido al menor peso molecular de los primeros, que le confieren la capacidad de difundir al compartimiento extravascular con mayor rapidez para efectuar su acción neutralizante y favorecer un aclaramiento renal más veloz (61,91).

La biodisponibilidad del suero antiofídico mejora su efectividad; sin embargo, dado que todos los antivenenos se aplican vía intravenosa, su biodisponibilidad es alta, independiente de su generación (61).

La efectividad de los antivenenos depende de su mecanismo de acción, el cual mejora con la afinidad para neutralizar los epítopes de los venenos. Entre más afinidad exista entre el antígeno y el anticuerpo, más efectivos son los antivenenos, independiente del peso de la inmunoglobulina (91,94,122). Adicionalmente, los fragmentos con menor masa molecular como los Fab poseen un solo sitio de unión específico con el antígeno (parátipo); mientras que los $F(ab')_2$ y las IgG tienen dos cada uno. Ello favorece la formación de inmunocomplejos estables, lo que les procura un gran peso molecular con la posibilidad de hacer depósitos en los vasos sanguíneos que, a su vez, incrementan la respuesta inflamatoria y la producción de radicales libres. Así se acrecienta la lesión vascular sobre diversos órganos. Lo anterior, junto con la especificidad propia de cada antiveneno, debe tenerse en cuenta al momento de la selección del tratamiento (22,29,115,116).

Entre los parámetros más discutidos está la vida media de eliminación de los antivenenos. Los fragmentos Fab tienen vida media más corta, dado su menor peso molecular (50 KDa), se eliminan rápidamente por excreción renal y son una de las causas por las cuales son más seguros (61,99,101). Por su parte, los fragmentos $F(ab')_2$ y las IgG completas (100-150 KDa), dado su mayor peso molecular, poseen semividas más prolongadas. Sin embargo, también se ha discutido la posibilidad de ser esta la causa de algunas reacciones inmunológicas como reacción alérgica y anafiláctica, dado que son inmunoglobulinas equinas expuestas por mayor tiempo al sistema del complemento, lo que facilita la potenciación de la respuesta inflamatoria (103).

En este aspecto, las inmunoglobulinas completas activan toda la respuesta inmune y tienen el mayor número de reacciones adversas; no obstante, algunos estudios muestran que los faboterápicos de tercera generación $F(ab')_2$ también activan la cascada de complemento por la región bisagra, aunque en menor proporción que las IgG (79,106). En los ensayos clínicos, el antiveneno que menos tiene reacciones adversas

en los pacientes son los faboterápicos de cuarta generación con Fab (107,110,113,114,121).

Es pertinente el estudio proteómico de los venenos, en búsqueda de la especificidad y afinidad molecular con los antivenenos que están incursionando en Colombia; además, se hace pertinente la implementación de tecnologías necesarias para desarrollar medicamentos más seguros, lo cual es parte de la responsabilidad social de las empresas farmacéuticas, de acuerdo con los parámetros de la Organización Mundial de la Salud (8).

Conclusiones

La elaboración de los antivenenos antiofídicos ha evolucionado conforme aumentan las metodologías analíticas de los venenos y los procesos de manufactura farmacéutica. La especificidad de los antivenenos incrementa cuando su fabricación implica el veneno de la especie relacionada; sin embargo, la reacción cruzada con especímenes de ancestros comunes ejerce una tarea suplementaria para solventar dificultades como la consecución de ciertos tipos de veneno.

Las farmacéuticas han modificado paulatinamente la fracción de la inmunoglobulina de los antivenenos para hacerla cada vez más pequeña y cambiar así sus características farmacocinéticas. Las primeras dos generaciones se componen de la inmunoglobulina completa; mientras que la tercera y cuarta generación, conocidas como faboterápicos, contienen porciones $F(ab')_2$ y Fab, respectivamente.

Con respecto a la seguridad de este medicamento, hay que tener en cuenta que los antivenenos antiofídicos son proteínas heterólogas, y al aplicarlos se generará una respuesta dependiendo del sistema inmunológico del paciente.

El peso molecular de los antivenenos afecta el volumen de distribución y la vida media. En este aspecto, las inmunoglobulinas completas son las que tienen mayor peso molecular, lo cual disminuye su volumen de distribución y

aumenta su vida media. Al permanecer más tiempo en la circulación sanguínea central, se exponen durante un periodo más largo al sistema inmunológico del paciente, activando las cascadas proinflamatorias, lo cual es evidenciado al tener el mayor porcentaje de RAM de todos los antivenenos. Con respecto a su bajo volumen de distribución, el medicamento no cruza a nivel microvascular, lo que impide la neutralización directa en el lecho renal, cardiovascular y distal.

Por su parte, los faboterápicos —debido a su bajo peso molecular— tienen un alto volumen de distribución que les permite llegar a la vasculatura distal y microvasculatura, con lo cual disminuye la frecuencia de falla renal y cardiovascular. Además, tienen una vida media corta, se eliminan más fácil que las inmunoglobulinas completas y disminuyen el tiempo de exposición al sistema inmunológico del paciente.

Los faboterápicos de cuarta generación no activan el sistema de complemento, por lo que se consideran más seguros, comparados con los otros tipos de antivenenos; mientras que los de tercera generación F(ab')₂, aunque tienen una reducción significativa de RAM, continúan activando el complemento por su región bisagra y, por lo tanto, presentan RAM a un nivel intermedio entre las inmunoglobulinas completas y los Fab.

Con respecto a la farmacodinamia de los antivenenos antiofídicos, no se han realizado modificaciones; las cuatro generaciones se basan en el acoplamiento del epítipo a la porción Fab de la inmunoglobulina de manera específica, dependiendo del veneno con el que se inmunizaron los animales productores de las inmunoglobulinas. Por esta razón, se hace hincapié en la necesidad de generar antivenenos antiofídicos con venenos de diferentes especies y regiones de un mismo país, con el fin de afinar la neutralización.

En general, se considera, y como recomendación de la Organización Mundial de la Salud, que la producción de los antivenenos debe actualizarse para mejorar su eficacia, especificidad, efectividad y seguridad en el

momento de usarse en los pacientes con ofidiotoxicosis.

Agradecimientos

A la Maestría en Toxicología de la Universidad Nacional de Colombia. Este documento se generó durante el transcurso de las actividades académicas como ejercicio de investigación de Karen Sarmiento cuando era candidata de maestría en Toxicología bajo la orientación y colaboración de algunos de sus docentes.

Referencias

1. Williams D, Gutiérrez JM, Harrison R, Warrell DA, White J, Winkel KD, et al. The Global Snake Bite Initiative. *Lancet* [Internet]. 2010;375:89-91. Disponible en: https://ac.els-cdn.com/S0140673609611594/1-s2.0-S0140673609611594-main.pdf?_tid=0e0b0610-c3c4-11e7-bb2f-00000aacb360&acdnat=1510063428_1f11546e79daf47fd5f9b0e0eb0b04a1
2. Gutiérrez JM, Williams D, Fan HW, Warrell DA. Snakebite envenoming from a global perspective: Towards an integrated approach. *Toxicon*. 2010;56(7):1223-35.
3. Ministerio de Medio Ambiente de Colombia. Programa Nacional para la Conservación de Serpientes en Colombia [Internet]. Bogotá: Ministerio; 2013. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/259648313>
4. León Núñez LJ. Informe final del evento accidente ofídico, Colombia, año 2014 [Internet]. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2014. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/informe-final-evento-ofidico-2014.pdf>

5. Instituto Nacional de Salud. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública: accidente ofídico [Internet]. Bogotá: Instituto; 2014. Disponible en: <https://www.clinicamedihelp.com/documentos/protocolos/PRO%20Accidente%20Ofidico.pdf>
6. Instituto Nacional de Salud. Informe del evento accidente ofídico hasta el periodo epidemiológico XIII Colombia, 2017 [Internet]. Bogotá: Instituto; 2017. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/ACCIDENTEOFÍDICOPEXIII2017.pdf>
7. Gutiérrez JM, León G, Lomonte B, Angulo Y. Antivenoms for snakebite envenomings. *Inflamm Allergy Drug Targets* [internet]. 2011;10(5):369-80. Disponible en: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1871-5281&volume=10&issue=5&page=369>
8. Chippaux JP. Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. *Biol Aujourd'hui* [Internet]. 2010;204(1):87-91. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20950580>
9. Isbister GK. Antivenom efficacy or effectiveness: The Australian experience. *Toxicology*. 2010;268:148-54.
10. Ministerio de Salud de Colombia. Guía para el manejo de emergencias toxicológicas [Internet]. 2016. Disponible en: <http://www.atoxicologiacc.org.co/guia-para-el-manejo-de-urgencias-toxicologicas/>
11. Poggi D. Veneno de serpiente en la industria e investigación farmacológica: plan estratégico de desarrollo de la bioindustria en el eje Amazonas-Marañón [Internet]. BioUnido-IIAP; 2002. Disponible en: http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/CD_PEBIAM/documentos/BIO%203/BIO3-A.pdf
12. Lomonte B. Venenos de serpiente: de la investigación al tratamiento. *Acta Med Costarric* [Internet]. 2012;54(2):86-96. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0001-60022012000200004&script=sci_arttext
13. Theakston RDG, Lalloo DG. Venomous bites and stings. *Princ Pract Travel Med Second Ed*. 2013;26(2):415-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2012.03.006>
14. Soler D, Rodríguez DP. Aspectos toxicológicos y clínicos de la mordedura por serpientes venenosas en animales domésticos. *Rev Med Vet Zootec* [Internet]. 2006;53(1):105-15. Disponible en: <http://www.bdigital.una.edu.co/21427/1/17815-57186-1-PB.pdf>
15. Dutta TK, Mukta V. Snakebite. *J Indian Med Assoc*. 2006 May;104(5):252-4.
16. Ortiz C, Lazo F, Bellido C, Gonzales E, Yarlequé A. Variaciones en las actividades enzimáticas del veneno de la serpiente *Bothrops atrox* "Jergón", de tres zonas geográficas del Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2012;29(2):198-205.
17. Chippaux JP, Goyffon M. Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon*. 1998;36(6):823-46.
18. Pérez M, Rojo C, Ruiz M, Encinas M: estudio del veneno de serpientes: tipos y tratamientos. *Rev Complut Ciencias Vet* [Internet]. 2008;2(2):100-4. Disponible en: <http://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/view/RCCV0808220100A>
19. Sarmiento K. Aspectos biomédicos del accidente ofídico. *Univ Méd*. 2012;53(1):68-85.

20. Gutiérrez JM. Comprendiendo los venenos de serpientes: 50 años de investigaciones en América Latina. *Rev Biol Trop.* 2002;50(2):377-94.
21. Murillo J, Prada E. Estudio químico y de toxicidad del veneno de serpientes de la familia viperidae *Bothrops atrox* mantenidas en cautiverio en el serpentario de la Universidad de la Amazonia. Leticia: Universidad de la Amazonía; 2009.
22. Duque-Zerpa CT, Vargas A. Caracterización toxinológica del veneno de la serpiente *Bothrops colombiensis* de Paracotos, estado Miranda, Venezuela. *Rev Científica.* 2015;XXV(3):239-47.
23. Yarlequé M, Ortiz C, Morante Y, Yarlequé A. Estudio comparativo de algunas propiedades bioquímicas de venenos de serpientes de diferentes regiones. *Rev Soc Quím Perú.* 2012;78(1):27-36.
24. Castrillón-Estrada DF, Acosta Vélez JG, Hernández-Ruiz EA, Alonso Palacio LM. Envenenamiento ofídico. *Salud Uninorte.* 2007;23(1):96-111.
25. Sandoval G. Propiedades bioquímicas e inmunológicas de una enzima similar a trombina aislada del veneno de la serpiente peruana *Bothrops atrox* ("jergón"). Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009.
26. Felicori LF, Souza CT, Velarde DT, Magalhaes A, Almeida AP, Figueiredo S, et al. Kallikrein-like proteinase from bushmaster snake venom. *Protein Expr Purif.* 2003;30(1):32-42.
27. Hung CC, Chiou SH. Fibrinolytic proteases isolated from the snake venom of Taiwan Habu: Serine proteases with kallikrein-like and angiotensin-degrading activities. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;281(4):1012-8.
28. Mora-Obando D, Guerrero-Vargas JA, Prieto-Sánchez R, Beltrán J, Rucavado A, Sasa M, et al. Proteomic and functional profiling of the venom of *Bothrops ayerbei* from Cauca, Colombia, reveals striking interspecific variation with *Bothrops asper* venom. *J Proteomics.* 2014;96:159-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2013.11.005>
29. Calvete JJ, Sanz L, Pla D, Lomonte B, Gutiérrez JM. Omics meets biology: application to the design and preclinical assessment of antivenoms. *Toxins (Basel).* 2014 Dec;6(12):3388-405.
30. Alape-Girón A, Flores-Díaz M, Sanz L, Madrigal M, Escolano J, Sasa M, et al. Studies on the venom proteome of *Bothrops asper*: Perspectives and applications. *Toxicon.* 2009;54(7):938-48.
31. Calvete J, Sanz L, Cid P, De La Torre P, Flores-Díaz M, Dos Santos C, et al. Snake venomomics of the Central American rattlesnake *Crotalus simus* and the South American *Crotalus durissus* complex points to neurotoxicity as an adaptive paedomorphic trend along *crotalus* dispersal in South America. *J Proteome Res.* 2010;9:528-44.
32. Chacur M, Milligan ED, Sloan EM, Wieseler-Frank J, Barrientos RM, Martin D, et al. Snake venom phospholipase A2s (Asp49 and Lys49) induce mechanical allodynia upon periscaptic administration: involvement of spinal cord glia, proinflammatory cytokines and nitric oxide. *Pain.* 2004 Mar;108(1-2):180-91.
33. Sánchez A, Herrera M, Villalta M, Solano D, Segura Á, Lomonte B, et al. Proteomic and toxinological characterization of the venom of the South African Ringhals cobra *Hemachatus haemachatus*. *J Proteomics.* 2018;181.

34. Costa EP, Clissa PB, Teixeira CFP, Moura-da-Silva AM. Importance of metalloproteinases and macrophages in viper snake envenomation-induced local inflammation. *Inflammation*. 2002 Feb;26(1):13-7.
35. Kemparaju K, Girish KS, Nagaraju S. Hyaluronidases, a neglected class of glycosidases from snake venom. Beyond a spreading factor. En: Mackessy SP, editor. *Handbook of venoms and toxins of reptiles*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2010. p. 237-58.
36. Maduwage K, Buckley NA, de Silva HJ, Lalloo DG, Isbister GK. Snake antivenom for snake venom induced consumption coagulopathy. *Cochrane database Syst Rev*. 2015 Jun; (6):CD011428-CD011428.
37. Kamiguti AS, Cardoso JL, Theakston RD, Sano-Martins IS, Hutton RA, Rugman FP, et al. Coagulopathy and haemorrhage in human victims of *Bothrops jararaca* envenoming in Brazil. *Toxicon*. 1991;29(8):961-72.
38. Gutiérrez JM, Escalante T, Rucavado A. Experimental pathophysiology of systemic alterations induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon*. 2009;54:976-87.
39. Sánchez A, Herrera M, Villalta M, Solano D, Segura Á, Lomonte B, et al. Proteomic and toxinological characterization of the venom of the South African Ringhals cobra *Hemachatus haemachatus*. *J Proteomics [Internet]*. 2018 Jun 15 [citado 2018 Sep 30];181:104-17. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874391918301660?via%3Dihub>
40. Amaral CF, Da Silva OA, Goody P, Miranda D. Renal cortical necrosis following *Bothrops jararaca* and *B. jararacussu* snake bite. *Toxicon*. 1985;23(6):877-85.
41. Gocmen B, Arıkan H, Özbel Y, Mermer A, Cicek K. Clinical, physiological and serological observations of a human following a venomous bite by *Macrovipera lebetina lebetina* (Reptilia: Serpentes). *Turkiye parazitolojii Derg*. 2006;30(2):158-62.
42. Fazelat J, Teperman SH, Touger M. Recurrent hemorrhage after western diamondback rattlesnake envenomation treated with crotalidae polyvalent immune fab (ovine). *Clin Toxicol (Phila)*. 2008 Nov;46(9):823-6.
43. Patiño AC, Pereañez JA, Gutiérrez JM, Rucavado A. Biochemical and biological characterization of two serine proteinases from Colombian *Crotalus durissus cumanensis* snake venom. *Toxicon*. 2013;63(1):32-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.11.010>
44. Salazar A, Aguilar I, Guerrero B, Girón M, Lucena S, Sánchez E, et al. Intraspecies differences in hemostatic venom activities of the South American rattlesnakes, *Crotalus durissus cumanensis*, as revealed by a range of protease inhibitors. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2008;19:525-30.
45. Tanaka GD, Sant'anna OA, Marcelino JR, Lustoza Da Luz AC, Teixeira Da Rocha MM, Tambourgi D V. *Micrurus* snake species: Venom immunogenicity, antiserum cross-reactivity and neutralization potential. *Toxicon*. 2016;117:59-68.
46. Yang D, Dobson J, Cochran C, Dashevsky D, Arbuckle K, Benard M, et al. The bold and the beautiful: a neurotoxicity comparison of new world coral snakes in the *micruroides* and *micrurus* genera and relative neutralization by antivenom. *Neurotox Res*. 2017;32(3):487-95.
47. Guerrero J, Bénard-Valle M, Restano R, Corzo F, Alagón A, Olvera

- A. Cloning and sequencing of three- finger toxins from the venom glands of four *Micrurus* species from Mexico and heterologous expression of an alpha-neurotoxin from *Micrurus diastema*. *Biochimie*. 2018;147:114-21.
48. Bénard-Valle M, Carbajal-Saucedo A, De Roodt A, López-Vera E, Alagón A. Biochemical characterization of the venom of the coral snake *Micrurus tener* and comparative biological activities in the mouse and a reptile model. *Toxicon*. 2014;77:6-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.10.005>
49. Heller J, Mellor DJ, Hodgson JL, Reid SWJ, Hodgson DR, Bosward KL. Elapid snake envenomation in dogs in New South Wales: a review. *Aust Vet J*. 2007 Nov;85(11):469-79.
50. Monje-Belmonte S. Determinación de la dosis letal media (DL 50) de cinco especies del género *micrurus* en estado de cautiverio en Nilo-Cundinamarca (Colombia). Tesis de maestría. Florencia, Caquetá: Universidad de la Amazonia; 2007.
51. Calvete JJ. Snake venomics: From the inventory of toxins to biology. *Toxicon*. 2013;75:44-62.
52. Silveira de Oliveira J, Rossan de Brandão Prieto da Silva A, Soares MB, Stephano MA, de Oliveira Dias W, Raw I, et al. Cloning and characterization of an alpha-neurotoxin-type protein specific for the coral snake *Micrurus corallinus*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;267:887-91.
53. Gutiérrez JM, Rojas G, da Silva Jr NJ, Núñez J. Experimental myonecrosis induced by the venoms of South American *Micrurus* (coral snakes). *Toxicon*. 1992;30(10):1299-302.
54. Hurtado Zuluaga OA, Urán Arboleda JE, Villa Arango JE. Protocolo de atención prehospitalaria para el manejo integral del accidente ofídico bothrópico en Colombia. Medellín: Universidad CES; 2013.
55. Ministerio de Salud de Colombia. Guías para el manejo de urgencias toxicológicas [Internet]. Bogotá: Ministerio; 2008. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/Documentos y Publicaciones/Guía de Manejo de Urgencias Toxicológicas.pdf>
56. Estrada R, Gutiérrez JM, Alvarado J, Robles A, Ávila C, González N. Desarrollo de la respuesta de anticuerpos anti-fosfolipasa A2 en caballos inoculados con veneno para la producción de suero antiofídico polivalente en Costa Rica. *Rev Biol Trop*. 1989;37(2):187-91.
57. Vázquez H, Olvera F, Alagón A, Sevcik C. Production of anti-horse antibodies induced by IgG, F(ab')₂ and Fab applied repeatedly to rabbits. Effect on antivenom pharmacokinetics. *Toxicon*. 2013;76:362-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.09.004>
58. Bogado F, Núñez S, Mussart NB, Leiva L, Acosta OC. Cambios clínicos, hemáticos y coagulativos consecuentes al aumento de anticuerpos en equinos productores de suero antiofídico. *Rev Vet*. 2013;24(1):3-9.
59. De Roodt AR, García SI, Gómez CM, Estévez J, Alagón A, Gould EG, Paniagua-Solís JF, Dolab JA. Curci OH: antitoxinas y antivenenos para uso terapéutico. *Acta Toxicol Argent*. 2004;12(2).
60. Mendoza Fernández JC. Producción de anticuerpos policlonales inmunoglobulina Y, en huevos de gallinas inmunizadas con el veneno de la serpiente peruana *Bothrops atrox* (jergón) [tesis de pregrado]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos; 2010.

61. Díaz P, Malavé C, Zerpa N, Vázquez H, D'Suze G, Montero Y, et al. IgY pharmacokinetics in rabbits: Implications for IgY use as antivenoms. *Toxicon*. 2014;90:124-33.
62. Alagón A. Anticuerpos terapéuticos: el caso de los antivenenos [Internet]. Mexico; 2001. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/304497980/ALAGON-ANTICUERPOS-TERAPEUTICOS>
63. G-Biosciences. Fab fragmentation, for the generation of Fab fragments from IgG. [Internet]. 2013. Disponible en: technical@GBiosciences.com
64. Sanjuán-Galíndez J, Vargas J, Ortiz F, González-Herrera L, Watanabe-Minto B, Granja-Salcedo Y. Determinación de la DL50 del veneno de serpientes adultas de la especie. *Momentos Cienc*. 2012;9(2):147-52.
65. Duque-Zerpa CT, Fernández I, Vargas A, López-Johnsthor JC, Scannone-Tempone H. Caracterización toxinológica del veneno de *Bothrops atrox* de puerto ayacucho, edo. Amazonas (Venezuela) y su neutralización por un antiveneno venezolano. *Rev Científica* [Internet]. 2014;24(4):355-62. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/959/95931404004.pdf>
66. Valverde D, Lai T, Estrada R. Productividad antiofídica de equinos destinados a la industria inmunobiológica en Costa Rica. *Nutr Anim Trop*. 2014;8(1):44-54.
67. Fusco L, Acosta O, Leiva L. Comparación de protocolos de inmunización en la producción de antiveneno crotálico [Internet]. Documento procedente de las II Jornadas de Investigación en Ingeniería del Nea y Países Limítrofes, Argentina; 2010. Disponible en: <http://frre.utn.edu.ar/IIJCyT/clean/files/get/item/2163>
68. Segura Á, Herrera M, Villalta M, Vargas M, Gutiérrez JM, León G. Assessment of snake antivenom purity by comparing physicochemical and immunochemical methods. *Biologicals*. 2013;41(2):93-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2012.11.001>
69. Waghmare AB, Salvi NC, Deopurkar RL, Shenoy PA, Sonpetkar JM. Evaluation of health status of horses immunized with snake venom and montanide adjuvants, IMS 3012 (nanoparticle), ISA 206 and ISA 35 (emulsion based) during polyvalent snake antivenom production: Hematological and biochemical assessment. *Toxicon*. 2014;82:83-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.02.012>
70. De Roodt AR, Litwin S, Estévez J, Gould E, Dolab J, Gould J. Comparación entre dos métodos de producción para la elaboración de antivenenos ofídicos. *Acta Toxicol Argent*. 2010;18(1):10-20.
71. Pierce chemical technical library: Antibody fragmentation. 2017. Disponible en <https://www.piercenet.com>.
72. Pope CG. The action of proteolytic enzymes on the antitoxins and proteins in immune sera: I. True digestion of the proteins. *Br J Exp Pathol*. 1939;20(2):132.
73. Krifi MN, El Ayeb M, Dellagi K. The improvement and standardization of antivenom production in developing countries: comparing antivenom quality, therapeutic efficiency, and cost. *J Venom Anim Toxins* [Internet]. 1999;5(2): 128-41. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-7930199900020002&lng=en&nrm=iso&tlng=en
74. Rojas G, Jiménez JM, Gutiérrez J. Caprylic acid fractionation of hyperimmune horse plasma:

description of a simple procedure for antivenom production. *Toxicon*. 1994;32(3):351-63.

75. Simsiriwong P, Eursakun S, Ratanabanangkoon K. A study on the use of caprylic acid and ammonium sulfate in combination for the fractionation of equine antivenom F(ab')₂. *Biologicals*. 2012;40(5):338-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2012.05.002>

76. Andrew SM, Titus JA. Fragmentation of immunoglobulin G. *Curr Protoc Immunol*. 2001;1-10.

77. Otero-Patiño R, Segura Á, Herrera M, Angulo Y, León G, Gutiérrez JM, et al. Comparative study of the efficacy and safety of two polyvalent, caprylic acid fractionated [IgG and F(ab')₂] antivenoms, in *Bothrops asper* bites in Colombia. *Toxicon*. 2012;59(2):344-55.

78. Daswani BR, Chandanwale AS, Kadam DB, Ghongane BB, Ghorpade VS, Manu HC. Comparison of different dosing protocols of anti-snake venom (ASV) in snake bite cases. *J Clin Diagn Res* [Internet]. 2017 Sep;11(9):FC17-21. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29207729>

79. Pla D, Gutiérrez JM, Calvete JJ. Second generation snake antivenomics: comparing immunofluorescence and immunodepletion protocols. *Toxicon*. 2012;60(4):688-99. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.04.342>

80. Andrew SM, Titus JA. Purification of immunoglobulin G BT - current protocol in cell biology. *Curr Protoc Cell Biol* [Internet]. 2001;Chapter 16:Unit 16.3. Disponible en: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=18228335&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/doi/10.1002/0471143030.cb1603s05>

81. Grisham C. Fragmentation of IgG using papain [Internet]. Virtual Amrita Laboratories Universalizing Education; 2014. Disponible en: <http://amrita.vlab.co.in/?sub=3&branch=70&sim=1349&cnt=1>

82. Ismail M; Abd-Elsalam A. Pharmacokinetics Of 125 I-Labelled IgG , F(ab')₂ and fab fractions of scorpion and snake antivenins: merits and potential for therapeutic use. *Toxicon*. 1998;36(11):1523-8.

83. Stowers RS, Callihan JA, Bryers JD. Optimal conditions for F(ab')₂ antibody fragment production from mouse IgG2a. *J Undergrad Res Bioeng* [Internet]. 2008;16-20. Disponible en: <http://www.uweb.engr.washington.edu/education/pdf/stowers.pdf>

84. León G, Vargas M, Segura Á, Herrera M, Villalta M, Sánchez A, et al. Current technology for the industrial manufacture of snake antivenoms. *Toxicon*. 2018;151(March):63-73. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.06.084>

85. Otero R, León G, Gutiérrez JM, Rojas G, Toro MF, Barona J, et al. Efficacy and safety of two whole IgG polyvalent antivenoms, refined by caprylic acid fractionation with or without β-propiolactone, in the treatment of *Bothrops asper* bites in Colombia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006;100(12):1173-82.

86. Lomonte B. Manual de métodos inmunológicos [Internet]. 4a ed. San José: Universidad de Costa Rica; 2007. Disponible en: http://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/9244/2007_Manual_Metodos_Inmunologicos_completo_web.pdf?sequence=1&isAllowed=y

87. Käsermann F, Boerema DJ, Rügsegger M, Hofmann A, Wymann S, Zuercher AW, et al. Analysis and functional consequences of

increased fab-sialylation of intravenous immunoglobulin (IVIg) after lectin fractionation. *PLoS One*. 2012;7(6).

88. Mendes TM, Oliveira D, Figueiredo LFM, Machado-de-Avila RA, Duarte CG, Dias-Lopes C, et al. Generation and characterization of a recombinant chimeric protein (rCpLi) consisting of B-cell epitopes of a dermonecrotic protein from *Loxosceles intermedia* spider venom. *Vaccine*. 2013;31(25):2749-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.03.048>

89. Gutiérrez JM, León G, Burnouf T. Antivenoms for the treatment of snakebite envenomings: The road ahead. *Biologicals*. 2011;39(3):129-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2011.02.005>

90. Lomonte B. Electroforesis en gel de poliacrilamida. *Inmunol Gen Man Lab [Internet]*. 2007;90-9. Disponible en: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/lab-bioq-gen/archivos/Lomonte-Cap13PAGE.pdf>

91. Gutiérrez JM, León G, Lomonte B. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of immunoglobulin therapy for envenomation. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(8):721-41. <https://doi.org/10.2165/00003088-200342080-00002>

92. Seifert SA, Boyer L V. Recurrence phenomena after immunoglobulin therapy for snake envenomations: Part 1. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of immunoglobulin antivenoms and related antibodies. *Ann Emerg Med*. 2001;37(2):189-95.

93. Núñez V, Cid P, Sanz L, De La Torre P, Angulo Y, Lomonte B, et al. Snake venomomics and antivenomics of *Bothrops atrox* venoms from Colombia and the Amazon regions of Brazil, Perú and Ecuador suggest the occurrence of geographic variation of venom phenotype by a trend

towards paedomorphism. *J Proteomics*. 2009;73:57-78.

94. Gutiérrez JM, Lomonte B, León G, Alape-Girón A, Flores-Díaz M, Sanz L, et al. Snake venomomics and antivenomics: Proteomic tools in the design and control of antivenoms for the treatment of snakebite envenoming. *J Proteomics*. 2009;72(2):165-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2009.01.008>

95. Maria WS, Cambuy MO, Costa JO, Velarde DT, Chávez-Olórtegui C. Neutralizing potency of horse antithrotopropic antivenom. Correlation between in vivo and in vitro methods. *Toxicon*. 1998;36(10):1433-9.

96. Fernandes I, Assumpcao GG, Silveira CRE, Faquim-Mauro EL, Tanjoni I, Carmona AK, et al. Immunochemical and biological characterization of monoclonal antibodies against BaP1, a metalloproteinase from *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon*. 2010 Nov;56(6):1059-65.

97. Casewell NR, Cook DAN, Wagstaff SC, Nasidi A, Durfa N, Wuster W, et al. Pre-clinical assays predict pan-African *Echis viper* efficacy for a species-specific antivenom. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 Oct;4(10):e851-e851.

98. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, Watts J. Clarke's analysis of drugs and poisons. 4th ed. Pharmaceutical Press; 2011.

99. Ho M, Silamut K, White NJ, Karbwang J, Looareesuwan S, Phillips RE, Warrell DA. Pharmacokinetics of three commercial antivenoms in patients envenomed by the Malayan pit viper, *Calloselasma rhodostoma*, in Thailand. *Am J Trop Med Hyg*. 1990;42(3):260-6.

100. Ismail M. A three-compartment open pharmacokinetic model can

explain variable toxicities of cobra venoms and their alpha toxins. *Toxicon*. 1996;34(9):1011-26.

101. Mui S, Saremi K, Hong N, Yee S. International immunopharmacology pharmacokinetics of cryptelytrops purpureomaculatus (mangrove pit viper) venom following intravenous and intramuscular injections in rabbits. *Int Immunopharmacol*. 2013;17(4):997-1001. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2013.10.007>

102. Bush SP, Seifert SA, Oakes J, Smith SD, Phan TH, Pearl SR, et al. Continuous IV crotalidae polyvalent immune fab (ovine) (FabAV) for selected North American rattlesnake bite patients. *Toxicon*. 2013;69:29-37.

103. Schroeder HWJ, Cavacini L. structure and function of immunoglobulins (author manuscript). *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:S41-52.

104. Squaiella-Baptista CC, Marcelino JR, Ribeiro Da Cunha LE, Gutiérrez JM, Tambourgi DV. Anticomplementary activity of horse IgG and F(ab')₂ antivenoms. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;90(3):574-84.

105. Aschermann S, Lux A, Baerenwaldt A, Biburger M, Nimmerjahn F. The other side of immunoglobulin G: Suppressor of inflammation. *Clin Exp Immunol*. 2010;160(2):161-7.

106. Pla D, Rodriguez JC. Third generation antivenomics: pushing the limits of the in vitro preclinical assessment of antivenoms. *Toxins (Basel)*. 2017;9(168):12.

107. Williams DJ, Habib AG, Warrell DA. Clinical studies of the effectiveness and safety of antivenoms. *Toxicon*. 2018;150(March):1-10.

108. Mendonça-da-Silva I, Magela Tavares A, Sachett J, Sardinha JF,

Zaparolli L, Gomes Santos MF, et al. Safety and efficacy of a freeze-dried trivalent antivenom for snakebites in the Brazilian Amazon: An open randomized controlled phase IIIb clinical trial. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(11):1-21.

109. Gutierrez JM, León G, Lomonte B. Relationships of immunoglobulin therapy for envenomation. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(8):721-41.

110. Otero R, Cardoso JLC, Higashi HG, Núñez V, Díaz A, Toro MF, et al. A randomized, blinded, comparative trial of one pepsin-digested and two whole IgG antivenoms for Bothrops snake bites in Uraba, Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 1998;58(2):183-9.

111. Sotelo N. Review of treatment and complications in 79 children with rattlesnake bite. *Clin Pediatr (Phila)*. 2008;47(5):483-9.

112. Otero R, Gutiérrez JM, Núñez V, Robles A, Estrada R, Segura E, Toro MF, García ME, Díaz A, Ramírez EC, Gómez G, Castañeda J MM. A randomized double-blind clinical trial of two antivenoms in patients bitten by Bothrops atrox in Colombia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1996;90(6):696-700.

113. Otero-Patiño R, Silva-Haad J, Barona M et al. Accidente bothrónico en Colombia: estudio multicéntrico de la eficacia seguridad de Antivipmyn-Tri®, un antiveneno polivalente producido en México. *Iatreia [Internet]*. 2007;20(3):244-62. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v20n3/v20n3a02.pdf>

114. Otero R, Gutiérrez JM, Rojas G, Núñez V, Díaz A, Miranda E, et al. A randomized blinded clinical trial of two antivenoms, prepared by caprylic acid or ammonium sulphate fractionation of IgG, in Bothrops and Porthidium snake bites in Colombia: Correlation

- between safety and biochemical characteristics of antivenoms. *Toxicon*. 1999;37(6):895-908.
115. Boyer LV, Chase PB, Degan JA, Figge G, Buelna-Romero A, Luchetti C, et al. Subacute coagulopathy in a randomized, comparative trial of Fab and F(ab')₂ antivenoms. *Toxicon*. 2013;74:101-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.07.018>
116. Pardal P, Medeiro S, Al E. Clinical trial of two antivenoms for the treatment of Bothrops and Lachesis bites in the north eastern Amazon region of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2004;98(1):28-42.
117. León G, Rojas G, Lomonte B, Gutiérrez JM. Immunoglobulin G and F(ab')₂ polyvalent antivenoms do not differ in their ability to neutralize hemorrhage, edema and myonecrosis induced by Bothrops asper (terciopelo) snake venom. *Toxicon*. 1997 Nov;35(11):1627-37.
118. Sánchez LV, Pla D, Herrera M, Chippaux JP, Calvete JJ, Gutiérrez JM. Evaluation of the preclinical efficacy of four antivenoms, distributed in sub-Saharan Africa, to neutralize the venom of the carpet viper, *Echis ocellatus*, from Mali, Cameroon, and Nigeria. *Toxicon*. 2015;106.
119. Ariaratnam CA, Sjostrom L, Raziak Z, et al. An open, randomized comparative trial of two antivenoms for the treatment of envenoming by Sri Lankan Russell's viper (*Daboia russelii russelii*). *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2001;95:74-80.
120. Mendonça-da-Silva I, Magela Tavares A, Sachett J, Sardinha JF, Zapparoli L, Lacerda M, Monteiro WM. Crotaline snake bite in the Ecuadorian Amazon: randomised double blind comparative trial of three South American polyspecific antivenoms. *Bmj* [Internet]. 2004;329(7475):1129-0. Disponible en: <http://www.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bmj.329.7475.1129>
121. Sarmiento K, Torres I, Guerra M, Ríos C, Zapata C, Suárez F. Epidemiological characterization of ophidian accidents in a Colombian tertiary referral hospital. Retrospective study. *459 Rev Fac Med*. 2017;66(2):153-8.
122. Otero R, Núñez V, Barona J, Díaz A, Saldarriaga M. Características bioquímicas y capacidad neutralizante de cuatro antivenenos polivalentes frente a los efectos farmacológicos y enzimáticos del veneno de *Bothrops asper* y *Porthidium nasutum* de Antioquia y Chocó. *Iatre* [Internet]. 2002;15(1):5-15. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932002000100001
123. Instituto Nacional de Salud. Inserto suero antiofídico polivalente VI:06 [Internet]. Vol. 06. 2017. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Produccion/SiteAssets/Paginas/suero-antiofídico-polivalente/Inserto%20Suero%20Antiof%C3%ADico%20Polivalente.pdf>
124. Instituto Nacional de Salud. Inserto antiveneno anticoral polivalente [Internet]. Vol. 00. 2016. p. 0-2. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Produccion/SiteAssets/Paginas/suero-antiofídico-polivalente/Inserto Antiveneno Anticoral Polivalente.pdf>
125. Bioclon. Faboterápico polivalente antiofídico Antivipmyn. México; 2017. p. 4.
126. Instituto Clodomiro Picado. Suero antiofídico polivalente liofilizado. San José; 2018.

127. Espino-Solis GP, Riaño-Umbarila L, Becerril B, Possani L. Antidotes against venomous animals: State of the art and prospectives. *J Proteomics*. 2009;72(2):183-99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2009.01.020>
128. Fox JW, Serrano SMT. Exploring snake venom proteomes: Multifaceted analyses for complex toxin mixtures. *Proteomics*. 2008;8(4):909-20.