


Bulletin de la Société Herpétologique de France

3^e trimestre 2007

N° 123



Eng. Lécou  Auguste Claire Phisalix, assistant au Muséum d'histoire naturelle de Paris, de 1888 à 1900. *s. Boud. St. Germain*

ISBN 0754-9962

Bull. Soc. Herp. Fr. (2007) 123

Bulletin de la Société Herpétologique de France N° 123

Directeur de la Publication/Editor : Ivan INEICH

Comité de rédaction/Managing Co-editors :

Max GOYFFON, Jean LESCURE, Claude MIAUD, Claude PIEAU, Jean Claude RAGE, Roland VERNET

Comité de lecture/Advisory Editorial Board :

Robert BARBAULT (Paris, France) ; Aaron M. BAUER (Villanova, Pennsylvania) ;
Liliane BODSON (Liège, Belgique) ; Donald BRADSHAW (Perth, Australie) ;
Corinne BOUJOT (Paris, France) ; Maria Helena CAETANO (Lisbonne, Portugal) ;
Max GOYFFON (Paris, France) ; Robert GUYETANT (Chambéry, France) ;
Ulrich JOGER (Darmstadt, Allemagne) ; Benedetto LANZA (Florence, Italie) ;
Raymond LECLAIR (Trois-Rivière, Canada) ; Guy NAULLEAU (Chizé, France) ;
Saïd NOUIRA (Tunis, Tunisie) ; V. PEREZ-MELLADO (Salamanque, Espagne) ;
Armand DE RICQLES (Paris, France) ; Zbynek ROCEK (Prague, Tchécoslovaquie).

Instructions aux auteurs / Instructions to authors :

Des instructions détaillées ont été publiées dans le numéro 91 (3^e trimestre 1999). Les auteurs peuvent s'y reporter. S'ils ne le possèdent pas, ils peuvent en obtenir une copie auprès du responsable du comité de rédaction.

Elles sont également consultables sur le site internet de l'association :

<http://www.societeherpetologiquedefrance.asso.fr>

Les points principaux peuvent être résumés ainsi : les manuscrits sont dactylographiés en double interligne, au recto seulement. La disposition du texte doit respecter la présentation de ce numéro. L'adresse de l'auteur se place après le nom de l'auteur (en première page), suivie des résumés et mots-clés en français et en anglais. Les figures sont réalisées sur documents à part, ainsi que les légendes des planches, figures et tableaux. Les références bibliographiques sont regroupées en fin d'article.

Exemple de présentation de référence bibliographique :

Bons J., Cheylan M. & Guillaume C.P. 1984 - Les Reptiles méditerranéens. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 29 : 7-17.

Tirés à part / reprints : Les tirés à part (payants) ne sont fournis qu'à la demande des auteurs (lors du renvoi de leurs épreuves corrigées) et seront facturés par le service d'imprimerie. Tous renseignements auprès du trésorier.

La rédaction n'est pas responsable des textes et illustrations publiés qui engagent la seule responsabilité des auteurs. Les indications de tous ordres, données dans les pages rédactionnelles, sont sans but publicitaire et sans engagement.

La reproduction de quelque manière que ce soit, même partielle, des textes, dessins et photographies publiés dans le Bulletin de la Société Herpétologique de France est interdite sans l'accord écrit du directeur de la publication. La SHF se réserve la reproduction et la traduction ainsi que tous les droits y afférant, pour le monde entier. Sauf accord préalable, les documents ne sont pas retournés.

ENVOI DES MANUSCRITS / MANUSCRIPT SENDING

Ivan INEICH, Département de Systématique et Évolution - Section Reptiles, Muséum national d'Histoire naturelle, CP 30, 25 rue Cuvier, 75231 Paris CEDEX 05. 3 exemplaires pour les manuscrits soumis par la poste, ou bien en fichier attaché à : ineich@mnhn.fr

Abonnements 2007 (hors cotisations) / Subscriptions to SHF Bulletin (except membership)

France, Europe, Afrique : 50 €uros

Amérique, Asie, Océanie : 70 US \$

To our members in America, Asia or Pacific area : The SHF Bulletin is a quarterly. Our rates include airmail postage in order to ensure a prompt delivery.

N° 123

Photo de couverture : Césaire Phisalix (1852-1906), né à Mouthier Haute Pierre (Doubs), a découvert en 1894, avec Gabriel Bertrand, le premier sérum antivenimeux neutralisant le venin de *Vipera aspis*.

N° commission paritaire : 59374

Imprimeur : S.A.I. Biarritz

Z.I. de Mayonnabe, 18 allée Marie-Politzer,

64200 Biarritz

Mise en page : Valérie GAUDANT (SFI)

Dépôt légal : 3^e trimestre 2007

Société Herpétologique de France

Association fondée en 1971, agréée
par le ministère de l'Environnement le 23 février 1978
Siège social : Université Paris VII, Laboratoire d'anatomie comparée
2 place Jussieu, 75251 PARIS CEDEX 05

CONSEIL D'ADMINISTRATION (2006-2007)

Président : Claude PIEAU, 70 bis rue de la Station, 95130 Franconville . *claud.pieau@free.fr*
Vice-Présidents : Max GOYFFON, 71 rue du Théâtre 75015 Paris. *mgoyffon@mnhn.fr*
Robert GUYÉTANT, 21 rue de Vézelay, 21240 Talant. *robertguyetant@wanadoo.fr*
Secrétaire général : Franck PAYSANT, Le Bourg, Place de l'Église, 35133 Le Châtelier.
Franck.Paysant@ac-remnes.fr
Secrétaire adjointe : Michelle GARAUDEL, Impasse de l'Église, 35450 Mécé
Trésorière : Marianne BILBAUT, Réserve africaine 11130 Sigean. *ra.sigean@wanadoo.fr*
Trésorier adjoint : Frédéric TARDY, Réserve africaine 11130 Sigean. *ra.sigean@wanadoo.fr*
Autres membres du Conseil : Pascal ARLOT, Max GOYFFON, Robert GUYETANT, Olivier LOURDAIS, Fabrice THETE, Jean-Pierre VACHER
Membres d'honneur : Guy NAULLEAU, Président fondateur, Gilbert MATZ, Secrétaire fondateur et Jean LESCURE

ADRESSES UTILES

Responsable de la rédaction : Ivan INEICH, Département de Systématique et Évolution - Section Reptiles, Muséum national d'Histoire naturelle, CP 30, 25 rue Cuvier, 75231 Paris CEDEX 05. *ineich@mnhn.fr*
Responsable de la commission Répartition : Jean LESCURE, Laboratoire amphibiens-reptiles, Muséum national d'Histoire naturelle, 25 rue Cuvier, CP 30, 75005 Paris. *lescure@mnhn.fr*
Responsable de la commission Conservation : Laurent GODE, PNRL, Rue du Quai, BP 35, 54702 Pont-à-Mousson. *laurent.gode@pnr-lorraine.com*, Olivier LOURDAIS, CEBAS/CNRS, 79360 Chize. *lourdais@cebc.cnrs.fr* et Jean-Pierre VACHER, 10 rue du Vieil Hôpital, 67000 Strasbourg. *jpvacher@gmail.com*
Responsable de la commission Terrariophilie : Fabrice THETE, Le Cassans, 01090 Genouilleux. *fabricethete@wanadoo.fr*
Responsable de la commission DOM-TOM : Jean-Christophe de MASSARY, Muséum national d'Histoire naturelle, Service du patrimoine naturel, 36 rue Geoffroy Saint-Hillaire, Case postale 41, 75231 Paris CEDEX 05. *massary@mnhn.fr*
Responsable du groupe Cistude : André MIQUET, Conservatoire du patrimoine naturel de la Savoie, BP 51, 73372 Le Bourget-du-Lac. *a.miquet@patrimoine-naturel-savoie.org*
Responsable des archives : Claude MIAUD, Université de Savoie, UMR CNRS 5553, Laboratoire d'écologie alpine, 73376 Le Bourget-du-Lac. *claud.miaud@univ-savoie.fr*
Responsable de la bibliothèque : Alain PAGANO, Université d'Angers, Laboratoire de biologie animale, Boulevard Lavoisier 49045 Angers CEDEX. *pagano@sciences.univ-angers.fr*
Responsable du Groupe Communication-Information : Yvan DURKEL, Le Maria, 15 montée de Costebelle, 83400 Hyères. *ivan.durkel@wanadoo.fr*

Site internet : <http://www.societeherpetologiquedefrance.asso.fr>

ADMISSIONS : Les admissions à la SHF sont décidées par le Conseil d'administration sur proposition de deux membres de la Société (art. 3 des statuts). N'envoyez votre cotisation au secrétaire général qu'après avoir reçu l'avis d'admission du Conseil.

COTISATIONS 2007 (Adhésion + Bulletin) / MEMBERSHIPS (Membership + Bulletin)

Tarifs (France, Europe, Afrique)	Taux annuel		Bulletin		Total
adhérents de moins de 25 ans*	16,00	+	17,00	=	33,00 €uros
adhérents de plus de 25 ans	21,00	+	21,00	=	42,00 €uros
bienfaiteurs : minimum				=	60,00 €uros
membre conjoint				=	24,00 €uros
Tarifs (Amérique, Asie, Océanie)	31,00	+	31,00	=	62,00 US \$

* et demandeurs d'emploi

Le service de la revue est assuré aux membres à jour de la cotisation.

Modalités de paiement : 1. Chèque postal à l'ordre de la SHF, CCP 3796-24 R PARIS,
2. Chèque bancaire à l'ordre de la SHF : envoi direct au secrétaire général
(adresse ci-dessus)

Directeur de la Publication/Editor : Ivan INEICH

Le *Bulletin de la Société Herpétologique de France* est indexé dans les bases suivantes : BIOSIS PREVIEW, CURRENT CONTENTS (Agriculture, Biology & Environmental Sciences), PASCAL & ZOOLOGICAL RECORD.

ISSN : 0754-9962

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

3^e trimestre 2007

N° 123

SOMMAIRE

- **Avant-Propos**
Max GOYFFON5-7
- **Auguste Césaire Phisalix (1852-1906) : un savant au pays de Courbet**
Christophe CUPILLARD9-13
- **L'œuvre scientifique de Césaire Phisalix (1852-1906), découvreur du sérum antivenimeux**
Rosany BOCHNER & Max GOYFFON15-46
- **Les amphibiens venimeux**
Jean LESCURE47-66
- **Épidémiologie des envenimations**
Jean-Philippe CHIPPAUX67-79
- **Actualités sur les sérums antivenimeux et la sérothérapie**
Jean-Philippe CHIPPAUX81-88

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

3rd quarter 2007

No 123

CONTENTS

- **Foreword**
Max GOYFFON5-7
- **Auguste Césaire Phisalix, a scientist from the country of Courbet**
Christophe CUPILLARD9-13
- **The scientific work of Césaire Phisalix (1852-1906), discoverer of antivenomous sera**
Rosany BOCHNER & Max GOYFFON15-46
- **Venomous amphibians**
Jean LESCURE47-66
- **Epidemiology of snakebites**
Jean-Philippe CHIPPAUX67-79
- **Current events on antivenoms and serotherapy**
Jean-Philippe CHIPPAUX81-88

Avant-Propos

par

Max GOYFFON

Muséum national d'Histoire naturelle, Paris

Césaire Phisalix (1852-1906) est né à Mouthier-Haute-Pierre, petit village du Doubs tout proche d'Ornans, où il passa toute son enfance et son adolescence. Plus tard, ses occupations professionnelles dans le Service de santé des armées d'abord, puis au Muséum national d'Histoire naturelle, à Paris, jusqu'à sa mort, l'en éloignèrent, sans que jamais pourtant il ne l'abandonne. Bien au contraire, il revenait dans sa famille dès qu'il en avait la possibilité. Dès lors qu'il obtint un poste au Muséum national d'Histoire naturelle, il passa chaque année au moins une partie de l'été à Mouthier-Haute-Pierre, s'intéressant à la vie locale, versant même des dons au Bureau de bienfaisance de la commune dont il était membre. Il n'était pas grand voyageur. Tout au plus alla-t-il (ce n'est pas certain) présenter sa découverte à Rome (1894), puis à Moscou (1897) lors de congrès internationaux de médecine. Ses seuls déplacements notables furent en fait ses visites régulières à son village natal. Sans qu'on n'ait aucune précision à ce sujet, on peut présumer avec vraisemblance que son état de santé médiocre le conduisit à renoncer à tout déplacement à l'étranger durant les dix dernières années de sa vie.

Après le décès de son mari, son épouse Marie (1861-1946) garda le même rythme régulier de visites à Mouthier-Haute-Pierre, dont elle n'était pas exactement originaire (elle est née à Besançon) mais où elle sut se faire adopter rapidement. Une fois acquis son diplôme de docteur en médecine, elle collabora au travail de son mari, et fidèle à sa mémoire, le continua. Plus encore, elle ne cessa d'entretenir le souvenir de son mari. Reprenant un projet conçu par Césaire peu de temps avant sa mort, elle entreprit la rédaction d'un ouvrage sur les animaux venimeux, ce qui ne l'empêcha nullement d'en faire une œuvre personnelle toujours citée, en France comme à l'étranger, dans les références bibliographiques des ouvrages et publications spécialisés. Jusqu'à un âge avancé, presque jusqu'à sa mort, elle développa les travaux de Césaire sur les vipères et leurs venins. Elle profitait de ses séjours à Mouthier

pour ramasser des vipères ou demander à un chasseur de vipères local de lui en apporter. Et comme Césaire, elle ne cessa de verser des dons personnels à Mouthier-Haute-Pierre. En particulier, en 1906, très peu de temps après le décès de son mari, respectant son ultime souhait, elle fit don à la commune d'un petit capital assurant une rente annuelle.

Césaire et Marie Phisalix reposent dans le même caveau du cimetière de Mouthier-Haute-Pierre.

La commune de Mouthier-Haute-Pierre a constamment uni Césaire et Marie Phisalix en un même sentiment profond où se mêlent affection, admiration, gratitude, et en a donné de nombreux témoignages : création en 1907 d'un Musée d'Histoire naturelle devenu en 1916 le Musée Marie Phisalix, inauguration de la place Phisalix (place de la mairie) en 1908, inauguration en 1912 de l'école publique Césaire Phisalix à l'occasion de laquelle Marie Phisalix offrit le mobilier et le matériel scolaires, inauguration en 1935 à Besançon d'une rue Phisalix. Cette communion du village de Mouthier-Haute-Pierre avec le plus illustre de ses enfants ne pouvait conduire qu'à la commémoration du centenaire de sa disparition et du rappel à cette occasion de son œuvre scientifique. Faut-il ajouter que l'homme comme sa découverte ont été quelque peu oubliés, non seulement dans son pays, mais encore dans les institutions qui l'accueillirent, Service de santé des armées et Muséum national d'Histoire naturelle ? Refusant ce quasi-oubli injustifié, la commune de Mouthier-Haute-Pierre et la Société herpétologique de France s'associèrent pour une célébration du centenaire de l'œuvre de Césaire Phisalix et de son épouse Marie. Le Service de santé des armées et le Muséum national d'Histoire naturelle soutinrent bien volontiers cette initiative, et ne manquèrent pas de se faire représenter lors de l'inauguration d'une plaque à la mémoire de Césaire et Marie Phisalix apposée sur la maison natale de Césaire, le samedi 24 juin 2006.

Les discours prononcés à cette occasion, puis les conférences communications scientifiques des jours suivants, montrèrent combien l'œuvre de Césaire Phisalix est encore vivante, et ne saurait être réduite à la découverte des sérums antivenimeux au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris. Dans les années qui suivirent cette découverte, de nombreux instituts de préparation des sérums virent le jour : aux États-Unis (1899-1902), au Brésil (1901-1902), en Australie (1902), au Japon (1907). Le plus prestigieux d'entre eux, l'Institut Butantan, à Sao Paulo, Brésil, créé par Vital Brazil, existe toujours et la production de sérums antivenimeux constitue encore une part importante de ses activités. Mais le fait le plus important est sans doute que les sérums antivenimeux restent irremplaçables dans le

traitement de certaines morsures et piqûres graves de serpents et de scorpions. Plus d'un siècle après la mort de Phisalix, la production de sérums antivenimeux se poursuit dans le monde : certes, sous un nom identique, leur composition s'est modifiée et s'est considérablement améliorée, leur tolérance est maintenant excellente, mais le principe de leur fabrication reste inchangé, les protocoles de base restent analogues à ceux des premières préparations. Aussi ne s'étonnera-t-on pas qu'à l'étranger, le nom de Césaire Phisalix (mais aussi celui de Marie) soit toujours vivant, notamment au Brésil où un chercheur a récemment consacré à son œuvre de remarquables études.

Ce numéro s'est voulu une illustration du travail de Phisalix et de son actualité. Pour atteindre au mieux cet objectif, les pages de ce numéro ont été ouvertes à l'un de ces chercheurs étrangers (et francophones) qui se sont passionnés à la fois pour la découverte majeure de ce grand chercheur, et pour l'homme de sciences qu'il a été.

Que Madame Nicole Perrenoud-Cupillard, maire de Mouthier-Haute-Pierre, M. Christophe Cupillard, Président de la Bibliothèque municipale et co-auteur d'une biographie illustrée de Césaire et Marie Phisalix (1) et avec eux la population du village de Mouthier-Haute-Pierre trouvent ici l'expression de nos plus vifs remerciements pour leur accueil si chaleureux, et pour la passion et l'enthousiasme qui les animent dans leur volonté de maintenir la mémoire d'un couple de hautes personnalités scientifiques.

(1) Cupillard C. & Videlier P.-Y. 2006 - Césaire et Marie Phisalix, deux savants au pays de Courbet. 1 vol., Commune de Mouthier-Haute-Pierre édit., 24 p.

Auguste Césaire Phisalix (1852-1906) : un savant au pays de Courbet

par

Christophe CUPILLARD

*Président de la Bibliothèque municipale de Mouthier-Haute-Pierre
Service d'Archéologie de la Direction régionale des Affaires culturelles de la Franche-Comté
7 rue Charles-Nodier, 25043 Besançon CEDEX
christophe.cupillard@culture.gouv.fr*

Résumé - Auguste Césaire Phisalix, fils de vigneron, né à Mouthier-Haute-Pierre (Doubs) en 1852, décédé à Paris en 1906, médecin militaire et biologiste puis professeur au Muséum national d'Histoire naturelle à Paris, spécialiste des venins, fut l'inventeur en 1894, avec Gabriel Bertrand, de la sérothérapie antivenimeuse. Cette découverte et ses recherches furent récompensées par l'Académie des sciences.

Mots-clés : Césaire Phisalix, Mouthier-Haute-Pierre, Département du Doubs, Sérums antivenimeux.

Summary - **Auguste Césaire Phisalix, a scientist from the country of Courbet.** Auguste Césaire Phisalix was born at Mouthier-Haute-Pierre (Doubs, France) in 1852, in a family of vine grower, and deceased in Paris in 1906. He was first a military physician and a biologist, then he became a professor at the National Museum of Natural History in Paris, where he was a specialist of venoms. In 1894, he discovered with Gabriel Bertrand the antivenomous sera. He was rewarded for this discovery and his researches by the French Academy of Sciences.

Key-words: Césaire Phisalix, Mouthier-Haute-Pierre, Doubs department, Antivenomous sera.

Auguste Césaire Phisalix est né le 8 octobre 1852 à Mouthier-Haute-Pierre (25) dans une famille où l'on est vigneron de père en fils depuis le XVIII^e siècle. Brillant élève, issu d'une modeste famille, il fait ses études au petit séminaire d'Ornans (1865-1870), puis au collège catholique de Besançon (1870 -1873) où il obtient ses baccalauréats.

En 1873, il commence ses études de médecine à Besançon en tant qu'élève du service de santé militaire ; il y restera jusqu'en novembre 1875. On le retrouve ensuite à l'hôpital du Val-de-Grâce et il termine sa médecine à Paris où il soutient, en 1877, sa thèse consacrée à "*La néphrite interstitielle aiguë*". Il est alors affecté comme médecin stagiaire à l'école d'application du Val-de-Grâce jusqu'à la fin de l'année 1877.

Nommé médecin aide-major de 2e classe, le 31 décembre 1877, il est envoyé à l'hôpital de la Charité à Lyon. Il y exercera jusqu'au 30 mai 1879 pour retrouver ensuite Besançon où il est nommé médecin aide-major au 4^e régiment d'infanterie. Durant cette période bisontine qui s'achèvera à la fin de l'année 1883, il participe, en 1881, à la première campagne de Tunisie, comme médecin du corps expéditionnaire de la brigade J. Vincendon en Kroumirie. C'est pendant ce séjour colonial qu'il contracte une grave maladie qui l'oblige à revenir rapidement en France comme rapatrié sanitaire. Après une convalescence à Roscoff (Finistère), il réintègre ses quartiers d'origine à Besançon.

En 1882, il obtient sa licence de Sciences naturelles à Paris, puis en octobre 1883, il est affecté à l'hôpital militaire d'Amélie-les-Bains-Palalda (Pyrénées-Orientales) où il restera jusqu'à la fin mars 1884.

Mis en non-activité en mars 1884, pour des raisons de santé, il obtient sa mise à la retraite de l'armée active en 1887. Cette période le voit devenir, en 1884, préparateur à la Faculté des sciences de Besançon. En 1885, il soutient, à Paris, sa thèse de Sciences naturelles intitulée "*Anatomie et physiologie de la rate chez les Ichtyopsidés*". En 1886, il est nommé professeur suppléant de zoologie médicale à l'École de médecine et de pharmacie de Besançon en remplacement de M. Moquin-Tandon appelé à Toulouse. En 1888, il est nommé chef des travaux de zoologie à la Faculté des sciences de Besançon.

La même année, consécration pour lui, il entre au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris en tant qu'aide naturaliste ; il devient assistant en 1892, puis professeur intérimaire en 1897, poste qu'il occupera jusqu'à sa mort. Durant sa période au Muséum, il entame, en 1889, ses premiers travaux sur les venins. En 1894, il découvre avec le biologiste Gabriel Bertrand (1867-1962), les sérums antivenimeux et la sérothérapie antivenimeuse, en même temps qu'Albert Calmette (1863-1933) de l'Institut Pasteur. Cette découverte est récompensée en 1894 par le prix Monthyon décerné par l'Académie des sciences qu'il partage avec G. Bertrand. La même année, le prix Da Gana Machado lui est attribué par l'Institut pour ses recherches relatives aux variations de couleur de la peau des céphalopodes. En août 1895, il épouse à Besançon Mlle Marie Picot dont il avait fait la connaissance à Roscoff. De 1900 à 1905, bien que d'une santé chancelante, il continue ses travaux et ses recherches, secondé par son épouse Marie. Cette activité scientifique soutenue est illustrée par les nombreux articles qu'il publiera jusqu'en 1905.

Lors des dernières années de sa courte carrière, d'autres récompenses et distinctions l'attendent :

1898 : Grand prix Bréant de l'Académie des sciences pour l'ensemble de ses travaux sur les venins et les animaux venimeux et pour la découverte des sérums antivenimeux.

1899 : Officier de l'Instruction publique

1900 : Chevalier de la Légion d'Honneur

1903 : Officier de l'Ordre du Lion et Soleil de Perse (à la suite d'une visite du Chah de Perse au Muséum d'Histoire naturelle).

Césaire Auguste Phisalix meurt le 16 mars 1906 à Paris dans sa cinquante-quatrième année. Il est inhumé à Mouthier-Haute-Pierre le 18 mars 1906.

Docteur en Médecine et Docteur ès Sciences naturelles, Césaire Phisalix, "habile expérimentateur", nous a laissé une œuvre scientifique de première importance comportant près de 150 publications spécialisées touchant à des domaines variés relevant de la physiologie, de l'embryologie, de la microbiologie, de la pathologie et de l'immunologie (Bochner & Goyffon, 2007).



Figure 1 : Auguste Césaire Phisalix (1852-1906). Ce portrait photographique est exposé dans le musée d'histoire naturelle de Mouthier-Haute-Pierre. Marie Phisalix en a fait don à la mairie au moment de la création du musée en 1907.

“Mais la célébrité de Phisalix est surtout due à ses recherches sur les venins qui le conduisirent, avec G. Bertrand, à découvrir la sérothérapie venimeuse”, c’est-à-dire la méthode de traitement des morsures de vipère grâce à l’utilisation d’un sérum antivenimeux inoculé sous la peau du sujet mordu.

“ De taille moyenne, les yeux bleus, les cheveux châains, Phisalix portait une épaisse moustache. Il fut décrit comme un personnage bon, modeste et sensible sous une apparence un peu froide (Fig. 1). Durant toute sa vie, il conserva l’amour de son village ” (Jausaud & Brygoo 2004) où il séjournait régulièrement durant l’été dans la maison familiale. Ces retours “ au pays ”, généralement estivaux, étaient l’occasion de revoir sa famille, ses amis d’enfance, ses voisins et d’autres connaissances plus célèbres comme E. Reyer, le compositeur d’opéras, membre de l’Institut. Sa bonté était appréciée par tous : il faisait partie, depuis 1898, du Bureau de Bienfaisance de Mouthier-Haute-Pierre et comme le rappelle son biographe (Noir, 1906), Césaire “ était toujours présent pour aider les nécessiteux ”. Sa mort prématurée fut, à n’en pas douter, une lourde perte pour son épouse Marie, sa famille, ses amis, les habitants de Mouthier. Ce le fut aussi pour la Science qui perdit un de ses plus grands biologistes. Qui peut dire ce que cet homme remarquable aurait pu créer de nouveau, s’il avait vécu plus longtemps et en bonne santé ? Serait-il devenu aussi célèbre que Louis Pasteur ?

À Mouthier-Haute-Pierre, la commune a bien compris qu’en perdant Césaire Phisalix, elle perdait un enfant, un ami et un homme remarquable. Elle a su lui rendre hommage en baptisant de son nom la place publique en 1908 ainsi que l’école publique en 1912. Marie Phisalix, en prolongeant les recherches de son mari, avait su perpétuer son souvenir et c’est ainsi qu’en 1935, Césaire Phisalix a donné son nom à une rue du quartier de Montjoux à Besançon.

BIBLIOGRAPHIE (NON EXHAUSTIVE)

Anonyme 1906a - Nécrologie. Les obsèques du Dr Phisalix. *Progr. Méd.*, 22 (15) : 233-235.

Anonyme 1906b - Chronique (Notice nécrologique de Césaire Phisalix). Académie des Sciences, Belles-Lettres & Arts de Besançon. *P.-V. Mém.*, 269-271.

Bochner R. 2003 - Acidentes por Animais Peçonhentos : aspectos históricos, epidemiológicos, ambientais e sócio-econômicos [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro : Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) / Accidents for poisonous animals : historical, epide-

miological, ambient and socioeconomic aspects. Rio de Janeiro ; s.n. ; 2003 : National School of Public Health. ENSP/R615.942*B664a.

Bochner R. & Goyffon 2007. - L'œuvre scientifique de Césaire Phisalix (1852-1906), découvreur du sérum antivenimeux. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 123 : 15-46.

Bon C. 1994 - À propos de l'article d'Albert Calmette "Contribution à l'étude du venin des serpents. Immunisation des animaux et traitement de l'envenimation" paru dans les *Annales de l'Institut Pasteur* en mai 1894. *Bull. Inst. Pasteur*, 92 : 219-225.

Brygoo E.-R. 1985 - La découverte de la sérothérapie antivenimeuse en 1894. Phisalix et Bertrand ou Calmette ? *Bull. Ass. Anc. Élèves Inst. Pasteur*, 106 : 10-22.

Cupillard C. & Videlier P.-Y. 2006 - Césaire et Marie Phisalix : deux savants au pays de Courbet. Hommage de la commune de Mouthier-Haute-Pierre. 1 vol., Ornans : Imprimerie Simon, 24 p., illustrations.

Desgrez A. 1910 - Césaire Phisalix. *Arch. Parasitol.*, 14 : 54-153.

Jaussaud P. & Brygoo E.-R. 2004 - Phisalix Auguste, Césaire. In : Jaussaud P. & Brygoo E.-R. (dir.) (2004) - Du Jardin au Muséum en 516 biographies. *Publ. Sci. Mus. Natl. Hist. Nat.*, Paris : 420-421

Noir J. 1906 - Nécrologie. Le Dr C. A. Phisalix 1852-1906. *Progr. Méd.*, 22 (14) : 218-220.

Noir J., Desgrez A., Gley M., Jouffroy A., Langlois J.P. & Perrier E. 1906 - Notice nécrologique et travaux du Dr C. A. Phisalix (1852-1906). *Le Progrès médical* : 43 p., 1 portrait. (La notice est due à J. Noir ; elle est suivie par les textes des discours et allocutions de E. Perrier, M. Gley, J.P. Langlois, A. Jouffroy, A. Desgrez).

Phisalix C. 1877 - De la néphrite interstitielle aiguë. Thèse de Doctorat Médecine, Paris, n° 26, T. 20, 46 p.

Phisalix C. 1885 - Recherches sur l'anatomie et la physiologie de la rate chez les Ichtyopsidés. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles, Paris.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894a - Atténuation du venin de vipère par la chaleur et vaccination du cobaye contre le venin. *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 288-291 ; *Semaine Méd.*, 7 février : 60.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894b - Recherches expérimentales sur le venin de vipère. Atténuation par la chaleur et vaccination contre ce venin. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 5^e sér., 6 : 567-582.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894c - Sur les propriétés du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 356-358 ; *C. R. Soc. Biol. Fil.*, 46 : 111-113 ; *Semaine Méd.*, 14 février : 77.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894d - Propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. Contribution à l'étude du mécanisme de la vaccination contre ce venin. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 5^e sér., 6 : 611-619.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894e - Observations à propos de la note de M. Calmette relative au venin des serpents. *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 935-936 ; *Semaine Méd.*, 2 mai : 210.

Phisalix M. 1922 - Animaux venimeux et venins. Paris : Masson éditeurs, 2 vol. (Tome 1 : XXV + 652 p., Tome 2 : XII + 865 p. ; 521 fig., 9 pl. noir & blanc, 8 pl. couleur hors-texte).

Phisalix M. 1940 - Vipères de France. Leur biologie, leur appareil venimeux et le traitement de leurs morsures. Paris, Stock, Coll. : Les Livres de la Nature, 52, 229 p., 12 illustr.

Manuscrit accepté le 18 septembre 2007

L'œuvre scientifique de Césaire Phisalix (1852-1906), découvreur du sérum antivenimeux

par

Rosany BOCHNER ⁽¹⁾ et Max GOYFFON ⁽²⁾

⁽¹⁾ *Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)*
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde (ICT)
Laboratório de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde (LabCITeS)
Av. Brasil 4365, 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brésil
rosany@cict.fiocruz.br

⁽²⁾ *USM 505 - LERAI, Département RDDM*
Muséum national d'Histoire naturelle
CP 57, 57 rue Cuvier, 75005 Paris
mgoyffon@mnhn.fr

Résumé - Pendant les dix-neuf années passées au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris, jusqu'à sa mort, Césaire Phisalix s'est consacré à l'herpétologie, plus particulièrement aux amphibiens et aux serpents. Assimilant les toxines présentes dans les venins aux toxines microbiennes, il a mis au point et découvert le premier les sérums antivenimeux. Biologiste et pharmacologiste plutôt que naturaliste, des découvertes ont jalonné ses différents champs de recherche, comme celles de la bufoténine chez le crapaud, ou de la quinone dans les sécrétions cuticulaires des diplopodes. Bien qu'elle soit restée inachevée en raison d'un état de santé fragile qui l'a conduit à un décès prématuré, son œuvre mérite toujours d'être lue.

Mots-clés : Venins, Vipère, Salamandre, Crapaud, Sérum antivenimeux.

Summary - **The scientific work of Césaire Phisalix (1852-1906), discoverer of antivenomous sera.** During his 19 years spent at the National Museum of Natural History, Paris, until his death, Césaire Phisalix devoted himself to herpetology, particularly amphibians and snakes. Considering the venom toxins as similar to microbial ones, he was the first to perform and discover the antivenomous sera. As a biologist and pharmacologist rather than a naturalist, many discoveries have marked his different fields of research, such as the bufotenin in the toad venom, or the quinone in the cutaneous Diplopoda secretions. Although his work remained unfinished due to constant health problems which caused his early death, it is well worth reading nowadays.

Key-words: Venoms, Viper, Salamander, Toad, Antivenomous sera.

INTRODUCTION

L'essentiel de l'œuvre scientifique de Césaire Phisalix est constitué par 157 articles parus dans les grandes revues scientifiques et les comptes-rendus des sociétés savantes de

son époque. Elle est entièrement rédigée en français. Différents thèmes, inégalement développés, se dégagent de ces publications : venins (55%), microbiologie (22%), anatomie et physiologie (13%), embryologie (7%), pathologie générale (3%). On voit ainsi que la part majoritaire des recherches de Césaire Phisalix, à laquelle sera consacrée notre étude, est dévolue aux travaux sur les venins et aux sérums antivenimeux, travaux pour lesquels il sera récompensé à deux reprises par l'Académie des sciences. On peut chronologiquement distinguer trois périodes : avant, pendant et après la découverte de la sérothérapie antivenimeuse, présentée pour la première fois à la Société de Biologie le 10 février 1894, par Césaire Phisalix et Gabriel Bertrand (Muséum national d'Histoire naturelle) d'une part, et peu après dans la même séance par Albert Calmette (Institut Pasteur) d'autre part.

1. AVANT LA DÉCOUVERTE DE LA SÉROTHÉRAPIE ANTIVENIMEUSE

La première période (1889-1894) compte une quinzaine d'articles consacrés aux venins et aux glandes venimeuses d'amphibiens (salamandre, crapaud), puis de vipères. Césaire Phisalix aborde la question du point de vue d'un naturaliste et d'un physiologiste. S'il parle d'immunité, c'est pour rechercher une "immunité naturelle" de diverses espèces vis-à-vis d'un venin ou d'une espèce vis-à-vis de son propre venin. Les six premiers articles (1891-1893) étudient le venin de la salamandre terrestre (*Salamandra salamandra*) qui ne possède pas, constate-t-il, de véritable immunité à l'égard de son propre venin (Phisalix 1889a, 1889b, 1890, 1893, Phisalix & Coutejean 1891, Phisalix & Langlois 1889). Phisalix commence ses travaux en évaluant d'abord la résistance des animaux à leur propre venin, puis il étudie l'histophysiologie des glandes à venin et, les considérant *a priori* comme des glandes à sécrétion interne, il vérifie si le sang est toxique et donc s'il peut contenir des substances actives physiologiquement comparables ou identiques à celles que contiennent les venins. Ce plan de recherche sera constamment suivi. Phisalix sera le premier à montrer que la salamandre possède deux types de glandes cutanées, des glandes muqueuses à sécrétion alcaline, et des glandes venimeuses spécifiques à sécrétion acide (Phisalix 1890).

Les articles qui viennent ensuite marquent le début de la collaboration, sans doute décisive, entre Phisalix et Bertrand. Les premiers travaux sur le crapaud *Bufo vulgaris* [actuellement : *Bufo bufo*] (deux articles) s'appuient sur des travaux antérieurs de Brown-Séguard (*in* Phisalix & Bertrand 1893a) qui a établi, par des expériences d'ablation chez le crotale, le rôle décisif des glandes venimeuses dans la résistance de ce serpent à son propre venin. Mais

Brown-Séguard n'a pas montré que le sang du crapaud possède un pouvoir toxique comparable à celui de son venin. C'est cette expérience complémentaire que réalisent Phisalix et Bertrand. En injectant du sang de crapaud à des cobayes et à des grenouilles, ils en démontrent les effets toxiques, identiques à ceux du venin. (Phisalix & Bertrand 1893a, 1893b). Les deux auteurs concluent : *“Il existe dans le sang du crapaud des principes actifs doués des mêmes propriétés physiologiques que ceux du venin, mais ils ne s'y trouvent qu'en très faible proportion. Ils proviennent sans doute d'une sécrétion interne des glandes cutanées. C'est à cette sécrétion interne qu'il faut attribuer l'accoutumance et l'immunité relative de cette espèce pour son propre venin”* (Phisalix & Bertrand 1893a). En résumé, disent-ils, *“les glandes venimeuses, indépendamment de leur sécrétion externe, fournissent au sang une partie des éléments qu'elles élaborent et apportent ainsi dans ce liquide des modifications et des qualités particulières qui jouent sans doute un rôle considérable dans la biologie de l'espèce”* (Phisalix & Bertrand 1893b). À cette date, Bertrand a 26 ans, Phisalix 41 ans.

Poursuivant leur collaboration, Phisalix et Bertrand s'intéressent alors à la toxicité du sang de la vipère (*Vipera aspis*) dont le venin possède une composition et des effets différents des venins de salamandre et de crapaud. Le choix de cette espèce est ainsi justifié : *“Le choix de ce reptile s'explique par l'opposition qui existe entre la composition et les propriétés de son venin et celles des venins du crapaud et de la salamandre. Chez la vipère, en effet, le principe actif, ou échidnine, est une espèce de matière albuminoïde, complètement insoluble dans l'alcool, de telle sorte que ce dissolvant n'enlève au venin aucun composé toxique ; en outre, les troubles et les lésions qu'il provoque sont tout à fait caractéristiques. Cette opposition devait ajouter une certaine valeur à nos nouvelles expériences si, nos prévisions étant exactes, nous retrouvions l'échidnine dans le sang de la vipère ; c'est précisément le résultat auquel nous ont conduits les essais comparatifs que nous avons faits d'une part avec le venin et de l'autre avec le sang”*. La conclusion est analogue à celle des études précédentes du venin et du sang de crapaud : il existe dans le sang de la vipère des principes très actifs analogues à ceux du venin, dotés d'une grande activité physiologique, qui procèdent de la sécrétion interne des glandes venimeuses, et leur présence doit être considérée comme la cause de l'immunité de la vipère à son propre venin (Phisalix & Bertrand 1893c, 1894a).

Au tout début de l'année 1894, ils constatent d'une part l'immunité naturelle de la couleuvre à collier (*Natrix natrix*) et de la couleuvre vipérine (*Natrix maura*) vis-à-vis du venin

de vipère, et d'autre part que le sang et les glandes salivaires de ces couleuvres possèdent le même effet toxique que le venin de vipère : ainsi existe-t-il dans le sang des couleuvres des principes toxiques analogues à l'échidnine qui proviennent de la sécrétion des glandes labiales supérieures et qui expliquent l'immunité de la couleuvre vis-à-vis du venin de vipère (Phisalix & Bertrand 1894b, 1894e).

Un tournant apparaît en ce début de l'année 1894 lorsqu'ils découvrent la possibilité d'atténuer les effets toxiques du venin de vipère en le chauffant pendant 5 minutes à 80° C et qu'il devient alors possible de vacciner des cobayes à l'aide de ce venin atténué (Phisalix & Bertrand 1894f, 1894h). En termes actuels, on écrirait que la chaleur efface la toxicité du venin sans en modifier les propriétés antigéniques : les publications des 5 et 7 février 1894 annoncent la découverte très proche du sérum antivenimeux. Ils remarquent aussi que le venin porté à ébullition une vingtaine de secondes seulement conserve ses effets généraux mortels, mais n'induit plus de réaction locale : cette observation est à rapprocher du fait, maintes fois signalé, que la sérothérapie est sans efficacité préventive ou curative sur les lésions locales (nécroses) de l'envenimation ophidienne (Chippaux & Goyffon 1991). Le venin de vipère contiendrait donc deux toxines au moins : l'échidnine (ou échidno-toxine) responsable de la toxicité générale, relativement thermostable, et l'échidnase, thermolabile et responsable d'une activité locale "phlogogène", c'est-à-dire inflammatoire.

À cette date, Phisalix et Bertrand ne parlent pas encore explicitement de l'intérêt d'une utilisation médicale de ce résultat. La possibilité d'un transfert d'immunité n'est pas évoquée. Ils signalent toutefois des modifications importantes du sang des cobayes vaccinés analogues à celles des animaux vaccinés contre le tétanos (Phisalix & Bertrand 1894h).

2. LA DÉCOUVERTE DE LA SÉROTHÉRAPIE ANTIVENIMEUSE

La présentation de la découverte de la sérothérapie antivenimeuse a lieu lors de la séance de la Société de Biologie de Paris du 10 février 1894, par des chercheurs de deux institutions françaises : Césaire Phisalix et Gabriel Bertrand du Muséum national d'Histoire naturelle en premier lieu (Phisalix & Bertrand 1894h), et ensuite Albert Calmette de l'Institut Pasteur de Paris (Calmette 1894a).

Phisalix et Bertrand présentent leur travail devenu classique : ils utilisent un venin de *Vipera aspis* chauffé pour immuniser des cobayes et ensuite le sérum de ces animaux immunisés comme agent thérapeutique pour traiter un animal envenimé. Ils précisent que l'immu-

nité des animaux traités par le venin chauffé n'est pas immédiate, mais qu'elle apparaît au bout d'un certain temps. Le mécanisme de la protection leur apparaît identique à celui qui est mis en jeu dans le tétanos et dans l'immunité antitétanique, et cette méthode est plus efficace que celle qui est obtenue par une accoutumance au venin. Ils concluent que les processus physiologiques qui entraînent une accoutumance et une vaccination ne sont pas identiques (Phisalix 1894, Phisalix & Bertrand 1894d). Enfin, ils espèrent obtenir un sérum d'animal immunisé suffisamment actif pour être utilisé comme agent curatif chez l'homme : ils désirent confirmer leurs premiers résultats par un nombre plus élevé d'expériences. Calmette présente ses résultats au cours de la même séance, et retrouvera un peu plus tard Phisalix et Bertrand au XI^e Congrès international de médecins à Rome. De là naîtra une vive querelle de priorité entre Phisalix et Bertrand d'une part, Calmette d'autre part. Pour le détail de cette affaire, nous renvoyons à l'article de Brygoo (1985) qui souligne : *“Même s'il ne s'en fallait que de très peu, Phisalix et Bertrand étaient manifestement gagnants aussi bien à la Société de Biologie qu'à l'Académie des sciences, tandis que Calmette ne se montrait vraiment pas beau joueur”*. E. R. Brygoo ayant travaillé à l'Institut Pasteur et au Muséum national d'Histoire naturelle est très bien placé pour exprimer un jugement équitable !

Les contemporains ne s'y sont pas trompés puisque Phisalix et Bertrand ont été récompensés par l'Académie des sciences : Prix Monthyon (1894) pour leur travail : “Recherches expérimentales sur le venin de vipère. Propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère”, puis Phisalix seul : prix Bréant (1898) pour ses “travaux sur l'envénimation contre les poisons et pour la découverte des sérums antivenimeux”. Ainsi l'Académie des sciences reconnaissait-elle très tôt la priorité de Phisalix.

3. APRÈS LA DÉCOUVERTE DE LA SÉROTHÉRAPIE ANTIVENIMEUSE

Les travaux sur la toxicité des venins, des sangs d'animaux (venimeux ou non), des résistances naturelles et des antidotes seront développés par Césaire Phisalix jusqu'à son décès. On peut dégager plusieurs thématiques qui s'intriquent inévitablement : recherches sur les venins d'autres serpents, d'amphibiens, d'arthropodes aussi, résistance naturelle (“immunité naturelle”, selon Phisalix) aux venins et recherche d'antidotes, étude de nouveaux procédés d'atténuation des venins avec conservation du pouvoir vaccinant, pour l'essentiel. De temps à autre, Phisalix rédige une mise au point sur ses travaux : c'est pour lui l'occasion de préciser sa pensée et d'exprimer des vues personnelles. Son travail est avant

tout celui d'un naturaliste qui élargit son domaine de recherche. La recherche de nouveaux antidotes montre toutefois que les préoccupations thérapeutiques ne sont jamais absentes.

Très rapidement après leur communication princeps du 10 février 1894, Phisalix et Bertrand dressent un état des connaissances sur la toxicité du venin de *Vipera aspis*, sur son atténuation par la chaleur, et sur la vaccination contre ce venin (Phisalix & Bertrand 1894c). Ils rappellent l'idée, émise par Chauveau, de poisons solubles d'origine microbienne, et sa transposition aux venins. De là encore l'idée que certaines cellules de l'organisme, et en particulier celles des glandes à venin, pourraient fabriquer les toxines des venins ("des poisons variés"), à la manière des bactéries. Ils soulignent que suivant les conditions de chauffage du venin, il est possible d'obtenir une suppression des effets locaux sans modification des effets généraux, comme cela avait déjà été constaté par d'autres auteurs en traitant le venin par du permanganate de potassium ou de l'acide chromique. Le meilleur pouvoir vaccinant est fourni par un venin chauffé à 80 C° pendant cinq minutes : c'est "l'échidno-vaccin". Au total, la ressemblance avec les toxines microbiennes en ce qui concerne l'atténuation par la chaleur et la transformation du venin en vaccin est bien démontrée. Dans la même revue, ils publient un autre travail sur les propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés par le venin atténué, dans lequel ils concluent que : "*l'immunité résulte de la formation d'une substance anti-toxique neutralisant physiologiquement les effets du venin et qui semble dériver d'une action chimique entre l'échidno-vaccin et l'un des principes du sang*" (Phisalix & Bertrand 1894d).

3.1. Étude des venins de serpents

Phisalix et Bertrand poursuivent leur collaboration. En 1895, ils publient deux articles sur les variations de virulence du venin de vipère (Phisalix & Bertrand 1895b, 1895c). Ils observent que parmi les facteurs susceptibles de modifier quantitativement et qualitativement le venin de vipère, seuls sont manifestes la saison et la localité. Dans un troisième article où sont comparés venins de vipère et venin de cobra, ils estiment que d'autres facteurs entrent en jeu et qu'il existe des populations particulières vivant dans certaines localités : "*Le venin des Serpents diffère non seulement d'une espèce à l'autre, mais aussi chez la même espèce ; c'est ainsi que, chez la Vipère, il contient plusieurs substances, dont l'une au moins peut manquer chez certains individus et à certaines époques. Ces individus semblent appartenir à des races physiologiques que seuls les caractères morphologiques n'auraient pu mettre en évidence*" (Phisalix & Bertrand 1895d).

Ils reviennent l'année suivante sur les deux procédés principaux d'immunisation, l'accoutumance et la vaccination (Phisalix & Bertrand 1896a). L'accoutumance, dérivée du procédé de Mithridate, est connue et employée depuis longtemps pour habituer l'organisme à divers poisons. La vaccination, d'usage récent, a pour but de rendre l'organisme insensible à un virus par l'inoculation de ce virus sous une forme virulente atténuée : *“Dans la vaccination, la séparation des substances toxiques et vaccinantes est produite artificiellement en dehors de l'organisme ; on détruit les premières pour n'injecter que les secondes ; dans l'accoutumance, au contraire, c'est l'organisme lui-même qui produit cette séparation. Dans l'une comme dans l'autre, il y a réaction de l'organisme qui conduit à la formation de substances antitoxiques. Cette réaction se produit seule dans la vaccination ; dans l'accoutumance, elle est troublée et momentanément masquée par une réaction simultanée due aux substances toxiques. D'après cette manière de voir, l'accoutumance se confond avec la vaccination, si l'on n'envisage que le but, c'est-à-dire l'immunisation de l'organisme”*. Ainsi Phisalix et Bertrand font une distinction entre substances vaccinantes (thermostables) et substances toxiques (thermolabiles) : le concept d'anatoxine (ou toxoïde) n'était pas encore clairement acquis. Rappelons qu'une anatoxine est une molécule toxique qui a perdu son pouvoir toxique après un traitement physique (chaleur) ou chimique (dénaturation) mais a conservé les propriétés immunologiques de la toxine d'origine. Cependant, les conclusions de Phisalix et Bertrand restent parfaitement acceptables aujourd'hui encore : *“En ce qui concerne les venins et probablement les toxines microbiennes, le processus le plus important d'où résulte l'accoutumance consiste dans la réaction antitoxique de l'organisme, et à ce point de vue l'accoutumance peut être considérée comme une vaccination progressivement croissante”*.

Dans deux articles qu'il signe seul, Phisalix confirme ses conclusions précédentes par une “démonstration directe” de l'existence dans le venin de vipère, de principes vaccinants indépendants des substances toxiques : *“après filtration sur porcelaine, le venin de Vipère a perdu sa toxicité et possède des propriétés vaccinantes”* et il ajoute : *“les substances vaccinales qui ont traversé le filtre ont donc la plus grande analogie avec celles du venin chauffé et, comme vraisemblablement elles n'ont pas été produites par l'action du filtre, il faut admettre qu'elles existent primitivement dans le venin de Vipère, à côté des substances toxiques”*. Il en déduit que *“dans le venin de Vipère, les matières vaccinantes sont distinctes des matières toxiques. [...] Toutefois, avec ce seul fait, ce serait aller trop loin que de géné-*

raliser cette théorie, d'autant plus que l'immunisation peut se réaliser par divers mécanismes" (Phisalix 1896a). Et puisque *"dans le venin de vipère, les matières vaccinales sont distinctes des matières toxiques"*, au point de vue pratique *"la filtration est préférable au chauffage : elle permet d'isoler les substances vaccinales sans en affaiblir les propriétés"* (Phisalix 1896d). Phisalix dresse l'état des connaissances sur les venins dans une de ces revues générales qu'il produit à intervalles réguliers. Cette revue générale sert de base aux leçons que Phisalix prononce désormais au Muséum d'Histoire naturelle de Paris sur les venins et les animaux dans la série animale, et qu'il publiera dans la "Série animale" du *Bulletin du Muséum d'Histoire naturelle* (Phisalix 1897a, 1897b, 1897c). Citons-le encore : *"Les études sur les venins n'ont pas seulement apporté une méthode de traitement pour les morsures des serpents, elles ont éclairé d'un jour nouveau les grands problèmes de l'immunité. Elles ont montré notamment que les sérums antitoxiques n'agissent pas comme des antidotes chimiques en détruisant le venin, mais comme des antidotes physiologiques, comme des antagonistes, par une action inverse de celle des venins. [...] Elles ont [...] conduit à la découverte de ce fait inattendu que dans le sang des animaux réfractaires, le contre-poison existe à côté du poison [...]. L'immunité naturelle et l'immunité artificielle sont produites par le même mécanisme. Sous l'influence d'une excitation intrinsèque dans le premier cas, extrinsèque dans le second, les substances anti-toxiques sont déversées dans le sang"*. Ce dernier aspect sera développé à l'occasion d'un exposé au XII^e Congrès international de Moscou, en 1897, (Phisalix 1897d) et sera complété par une deuxième conférence sur la filtration du venin sur porcelaine (Phisalix 1897e).

Petit à petit, les thématiques médicales prennent de l'importance dans les travaux de Phisalix. Dans un article paru en 1898 (Phisalix 1897-1898b), il estime que la quantité de venin de vipère nécessaire pour tuer un homme de 60 kg est de 72 mg de venin sec. La quantité maximale de venin que puissent contenir les deux glandes venimeuses d'une vipère s'élève à 45 mg, et cependant les cas mortels d'envenimation humaine sont assez fréquents. Phisalix en conclut que : *"la sensibilité de l'Homme au venin de la Vipère est au moins aussi grande, à poids égal, que celle du Cobaye ou du Lapin et qu'il n'est pas inutile d'employer un traitement énergique contre cette morsure"*. À la même époque, il présente un travail montrant l'effet préventif du sérum antivenimeux qui résulte d'une réaction de l'organisme : il s'agit donc en réalité d'une propriété vaccinale. Il définit deux degrés d'immunisation, la vaccination simple dans laquelle l'animal fabrique la quantité d'antitoxine nécessaire pour se

protéger, et l'hypervaccination dans laquelle l'animal en fabrique assez pour que son sérum devienne un remède pour d'autres animaux. Il affirme que la propriété "préventive" (autrement dit l'effet vaccinant) apparaît avant et disparaît après la propriété antitoxique (c'est-à-dire l'effet d'immunisation passive) et qu'elle persiste la dernière dans le sérum antivenimeux conservé *in vitro*. De son point de vue, et en raison du rôle actif de l'organisme, le terme d'immunité passive ne doit pas être pris dans un sens absolu (Phisalix 1898c). On retiendra avant tout, même si une partie des explications est inexacte, que Phisalix a vu très tôt la nécessité d'une hyperimmunisation des animaux si on désire disposer d'un sérum antivenimeux médicalement intéressant, ce qui reste toujours d'actualité.

Avec le concours d'un nouveau collaborateur (Phisalix & Charrin 1898), Phisalix aborde la pathologie expérimentale de l'envenimation vipérine (Phisalix, Charrin & Claude 1898). Il décrit des manifestations neurologiques centrales et périphériques consécutives à une envenimation vipérine chez un lapin préalablement traité par des broyats de sangsue pour éviter une coagulation intra-vasculaire généralisée. Cette observation complexe, et unique, ne permet guère de conclusions. Toutefois, l'examen nécropsique confirme l'atteinte neurologique centrale et périphérique. Et surtout, ces désordres sont similaires à ceux qu'on peut voir apparaître au décours de certaines infections bactériennes (bacille pyocyanique). Ce travail fait apparaître en outre que la similitude entre les désordres provoqués par les venins et par certaines "sécrétions" bactériennes était l'idée-guide de Bertrand mais aussi de Chauveau dans le laboratoire duquel travaillaient Phisalix et Bertrand.

Il étend ses recherches à d'autres serpents. C'est ainsi qu'il étudie le venin d'un opisthogyphé, la couleuvre de Montpellier, *Malpolon monspessulanus* (à l'époque nommée *Caelo-peltis insignitus*). Ce venin diffère beaucoup, par ses effets, des venins de vipères et de couleuvres, et se rapproche beaucoup du venin de cobra. Il y a là, aux yeux de Phisalix, un caractère de premier ordre qui ne peut être négligé du point de vue de la systématique, tant dans la classification que dans la phylogénie ("filiation généalogique") des serpents venimeux. Il est évident pour lui que deux venins dont la nature et l'action sont dissemblables sont élaborés par des cellules glandulaires de structure et de fonctionnement différents. Le mode de développement et l'histogénèse de ces cellules glandulaires pourraient donc fournir des renseignements plus importants que la denture, et ils n'ont pas encore été utilisés pour la classification des reptiles venimeux. Mais quels que puissent être les résultats de cette étude, ces caractères resteront subordonnés à ceux qui seront tirés de l'analyse des effets du venin. Car

la nature et les propriétés du venin exercent sur le comportement, le mode de nutrition, le sang, sur l'organisme entier du reptile, une telle influence que les caractères fournis par son étude doivent dominer tous les autres. Plus généralement, il est à prévoir que l'analyse comparative des fonctions pourra jouer, dans la classification des êtres, un rôle aussi important que celle des connexions anatomiques. En attendant, et comme conclusion de cette étude, Phisalix admet que les opisthoglyphes ne sont pas intermédiaires entre les vipéridés et les couleuvres aglyphes, mais bien plutôt entre celles-ci et les colubridés protéroglyphes (Phisalix 1899c). Ainsi, après plusieurs années de travail consacrées à la résistance naturelle des certaines espèces au venin de vipère, à la recherche de nouveaux antidotes, Phisalix laisse parler à nouveau son tempérament de naturaliste pour une étude de fond de taxonomie et de phylogénie, un terrain où à l'évidence il se montre à l'aise et exprime toutes ses qualités d'analyse et de réflexion : les commentaires et les conclusions de son travail, un travail qui peut paraître bien pauvre en moyens techniques, pour ne pas dire rudimentaire, sont d'une pertinence remarquable et n'ont pas été démentis à ce jour.

Un peu plus tard, en 1902, Phisalix reprendra ces conclusions pour une étude des relations de parenté entre deux espèces indigènes de vipères, *Vipera aspis* et *V. berus*. Dans son article, il présente les observations réalisées sur plus de huit cents vipères provenant d'une même région de la Vendée. Il estime que : *“Pour établir une classification rationnelle des Ophidiens, il faut tenir compte non seulement des faits anatomiques et embryologiques, mais encore des caractères physiologiques fournis par l'étude des glandes venimeuses”*. Il propose d'introduire des modifications dans la classification des ophidiens au sein desquels il distingue deux groupes. Le groupe I, celui des “hémotoxiphores”, rassemble les serpents dont le venin exerce des effets locaux intenses, et comprend les solénoglyphes et les aglyphes. Les serpents du groupe II, ou “pneumotoxiphores”, ont un venin aux effets locaux absents ou modestes, qui entraîne la mort par paralysie et asphyxie ; ils comprennent les protéroglyphes et les opisthoglyphes (Phisalix 1902a). Un travail ultérieur, en 1904, comparant les venins de vipère et de cobra (Phisalix parle de “cobridés”), contient ces conclusions : *“les venins de Vipère et de Cobra diffèrent l'un de l'autre par tous leurs caractères physiologiques et leurs principes actifs appartiennent à des espèces chimiques différentes. Ces résultats concordent d'une façon parfaite avec ceux que les caractères anatomiques ont fourni aux zoologistes. Aussi l'analyse physiologique des venins peut-elle, comme je l'ai montré pour les Opisthoglyphes, rendre les plus grands services dans la classification des Ophidiens, où la place de*

certains groupes est douteuse et difficile à déterminer d'après les seuls caractères anatomiques" (Phisalix 1904a).

Mais Phisalix n'en désire pas moins comprendre les mécanismes d'action du venin de vipère et entreprend sur ce thème une série de travaux originaux. Il apporte des précisions sur les propriétés enzymatiques ("diastasiques") de l'échidnase, "ferment" responsable des effets locaux du venin de vipère. Il considère l'échidnase comme une "diastase salivaire", d'origine digestive et ayant une action digestive sur l'échidnotoxine. Cette action digestive ne s'exerce donc pas uniquement sur les tissus des animaux envenimés. Aux causes externes de destruction du venin (oxydation, lumière, chaleur, électricité), il convient donc d'ajouter des causes internes dues à la présence dans le venin des vipères d'un "ferment spécifique", l'échidnase, dont le mode de formation est indépendant de celui des autres principes actifs et qui constitue à lui seul un caractère différentiel des plus important (Phisalix 1899b).

Plus intéressants encore sont les effets du venin sur le sang, coagulation surtout mais aussi hémolyse (destruction des globules rouges). Dans un article publié en 1899, Phisalix affirme : *"Les observations des physiologistes, en ce qui concerne la coagulabilité du sang, sous l'influence des injections de venin, sont tout-à-fait discordantes. Les uns ont vu que le sang est coagulé, les autres qu'il reste fluide dans les vaisseaux des animaux morts d'envenimation. [...] Les conditions qui font varier la coagulabilité du sang, chez les animaux envenimés, sont nombreuses et complexes ; d'où la nécessité de multiplier les expériences pour arriver à un déterminisme plus parfait"* (Phisalix 1899d). Il commence par comparer les effets du venin de vipère et les extraits de sangsue, qu'il a déjà utilisés antérieurement (Phisalix & Charrin 1898). Il écrit ainsi que : *"l'extrait de sangsue est un mélange de substances diverses, peut-être antagonistes, de même que le venin et les peptones du commerce. Pour comparer entre eux, dans des conditions identiques, ces différents produits au point de vue de l'analyse physiologique, il faudrait en isoler les principes immédiats et les étudier séparément. Pour le moment, les expériences faites avec la peptone, l'extrait de sangsue et le venin, montrent qu'aucune de ces substances injectées préventivement dans les veines ne peut empêcher les effets des autres sur la coagulation du sang. Il faut en conclure ou bien que ces substances agissent sur le sang par un mécanisme différent ou bien que, si le processus est le même, les effets en sont complètement modifiés par l'intervention de phénomènes antagonistes"* (Phisalix 1899e). Chez la vipère, Phisalix réalise quelques expériences complémentaires. Il constate : *"la bouillie globulaire mélangée au plasma empêche la coagulation spon-*

tanée, comme si les globules rouges vivants laissaient diffuser une substance empêchante. Les globules altérés ou détruits favorisent, au contraire, la coagulation. La plus ou moins grande résistance des globules rouges aux causes de destruction jouerait donc un rôle important dans la coagulation spontanée. [...] la résistance globulaire chez la vipère (*V. aspis* et *V. berus*) était beaucoup plus grande que celle des mammifères”. Phisalix se pose la question de savoir s’il s’agit là d’une simple coïncidence fortuite ou le résultat d’un phénomène plus général (Phisalix 1899f). Ces travaux sont complétés par une deuxième revue générale sur les mécanismes d’action de la sérothérapie : faits et théories relatifs aux propriétés des sérums des animaux vaccinés, rappel des travaux antérieurs, modifications du sérum induites par les poisons animaux analogues aux toxines, mode de préparation et mode d’action des sérums antivenimeux (Phisalix 1899g).

Un peu plus tard, les travaux sur la coagulation connaissent un nouveau développement. Phisalix, étudiant l’action du venin de vipère sur le sang de chien et de lapin observe que : *“le venin de vipère exerce donc une action directe sur la coagulabilité du sang, et le sens de cette action paraît être en rapport avec la résistance relative des deux espèces de globules. En effet, chez le chien, ce sont les globules rouges qui sont les premiers attaqués par le venin ; chez le lapin, ce sont les globules blancs ; dans le premier cas, le sang est incoagulable ; dans le second, au contraire, on voit apparaître un coagulum partiel dont le volume semble diminuer à mesure que l’hématolyse (= hémolyse) progresse. Les choses se passent comme si la destruction des globules rouges avec transformation de l’oxyhémoglobine en méthémoglobine mettait en liberté des substances anticoagulantes”*. Il ajoute encore : *“Les globules jouent un rôle important dans les phénomènes de coagulabilité, et cela même en dehors de l’intervention indirecte du foie, mais [...] sous l’influence du venin de vipère, l’altération des globules rouges et de l’hémoglobine a pour effet de mettre en jeu l’activité de substances anticoagulantes”* (Phisalix 1902b). En résumé : *“le venin de vipère produit des effets inverses sur la coagulation du sang, suivant qu’il est inoculé au chien ou au lapin, et cette différence tient à une variation physiologique de l’espèce. Chez le lapin, les globules rouges sont beaucoup plus résistants que les globules blancs et le sérum contient en excès une anti-hémolysine très active ; les globules rouges du chien sont moins résistants que les globules blancs et plus fragiles que ceux du lapin ; en outre, dans le sérum du chien prédomine une sensibilisatrice qui favorise l’hémolyse. Enfin c’est à l’échidnase qu’est due la transformation de l’hémoglobine et la mise en liberté des substances anticoagulantes”* (Phisalix 1902c).

Une nouvelle revue générale de Phisalix sur ses travaux paraît en 1903 (Phisalix 1903a). Les venins sont considérés dans leur rapport avec la biologie générale et la pathologie comparée, à la lumière de ses dernières recherches : composition chimique des venins, venins et glandes à sécrétion interne, venins et coagulation, venins et évolution. Il conclut que la question des venins touche aux problèmes les plus variés de la biologie et de la pathologie générales.

3.2 Glandes venimeuses des serpents. Résistance naturelle aux venins

Les travaux sur les glandes venimeuses sont inséparables des études de la résistance naturelle des serpents à leur propre venin puis, plus largement, des états de résistance naturelle (Phisalix parle “d’immunité”) de diverses espèces autres que les serpents (mammifères en particulier) à ces mêmes venins. Phisalix et Bertrand entreprennent alors sur *V. aspis* des expériences d’ablation des glandes venimeuses. Au terme de leur expérimentation, ils estiment : *“qu’une partie au moins des principes toxiques du sang de la vipère provient des glandes venimeuses : ils sont élaborés et cédés par elles à la circulation par le mécanisme de sécrétion interne”*. Ils estiment que leurs résultats apportent une preuve directe de la théorie de la sécrétion interne des glandes (Phisalix & Bertrand 1894g, 1895a). Cependant, ils constatent que le sang de couleuvres dépourvues de glandes venimeuses est tout aussi toxique que le sang de vipère. Ils en concluent que *“l’immunité des couleuvres pour le venin de vipère résulte de la présence dans le sang de principes toxiques analogues à ceux de ce venin. Ces principes se trouvent aussi dans les glandes labiales supérieures de la couleuvre qui sont non seulement les homologues des glandes à venin de la vipère, mais encore leurs homologues, du moins en ce qui concerne la sécrétion interne”* (Phisalix & Bertrand 1894b). Ils observent aussi que le hérisson, actif destructeur de vipères, est très résistant à leur venin et que le sang du hérisson est lui-même toxique. Ce sang, chauffé à 58°C, devient atoxique mais conserve ses propriétés antitoxiques (que les auteurs appellent “immunisantes”), mais pour peu de temps. Pour obtenir un sérum d’une activité assez grande pour être utilisé en thérapeutique, ils suggèrent de recourir à des espèces plus réfractaires encore que le hérisson, comme la mangouste (Phisalix & Bertrand 1895h). La résistance du hérisson serait donc due à la présence d’une substance immunisante, qui au reste ne serait pas spécifique parce qu’il y a dans le sang d’un grand nombre d’animaux des substances capables de neutraliser les effets du venin et de certaines toxines : il n’y a chez le hérisson que l’exagération d’un fait général

(Phisalix & Bertrand 1895f). Ce travail sur l'immunité du hérisson vis-à-vis du venin de vipère sera confirmé ultérieurement. : *“la véritable cause de cette immunité naturelle réside bien dans la composition du sang de cet Insectivore. Ce sang renferme en effet des substances capables de neutraliser les effets du venin. Ces substances peuvent être isolées par chauffage ou précipitation alcoolique. L'existence de ces principes antitoxiques dans le sang d'animaux à immunité naturelle, tels que le Hérisson et la Vipère, présente un intérêt général sur lequel il est inutile d'insister. En tout cas, ce fait montre qu'il y a entre l'immunité naturelle et l'immunité acquise des relations très étroites, puisque dans les deux cas, au moins en ce qui concerne le venin de Vipère, le sang possède les mêmes propriétés”* (Phisalix 1897-1898a). Sur cette question de l'immunité naturelle du hérisson, il entre en polémique, et l'article est à nouveau cosigné par Bertrand, alors à l'Institut Pasteur de Paris : les deux cosignataires manifestent leur désaccord avec Lewin qui parle d'un état réfractaire des tissus du hérisson et récuse l'existence d'une propriété antitoxique du sang de l'animal (Phisalix & Bertrand 1899). D'autres travaux montrent l'existence à l'état normal de substances antivenimeuses dans le sang atoxique de quelques mammifères (cobaye, cheval) ou d'oiseaux (poule) : dans de tels cas, l'immunité artificielle consisterait dans l'exagération d'un moyen de défense naturel de l'organisme. Cette manière d'interpréter les faits est d'autant plus vraisemblable qu'elle ramène aux mêmes lois les phénomènes de l'immunité naturelle et d'immunité artificielle (Phisalix & Bertrand 1896b). Ils enchaînent alors en proposant l'emploi du sang de vipère et du sang de couleuvre comme substances antivenimeuses : *“chez la vipère et la couleuvre, il y aurait, comme en général chez les animaux vaccinés artificiellement, production de substances antitoxiques par suite d'une réaction défensive de l'organisme. D'après cela, on pourrait peut-être expliquer l'immunité de ces reptiles pour leur propre venin, plutôt par une sorte d'auto-vaccination que par accoutumance. Mais, à supposer qu'il n'en soit pas ainsi, l'existence de principes antivenimeux dans le sang de la vipère et de la couleuvre n'en a pas moins une signification importante au point de vue de la physiologie générale : elle démontre une fois de plus que, dans l'organisme, à mesure que les cellules sécrètent une toxine, il se produit une réaction antagoniste dont le résultat est la formation d'une antitoxine spécifique”* (Phisalix & Bertrand 1895g). Le moment est venu pour Phisalix de dresser en 1896, l'état actuel des connaissances sur les venins et la production de l'immunité contre les venins inoculés par morsure (Phisalix 1896f). Après une rétrospective des travaux antérieurs et de ses travaux personnels sur les venins, Phisalix expose le principe de ses

recherches : *“étudier les procédés naturels de défense de l’organisme, là où ils sont le plus développés, c’est-à-dire chez les animaux réfractaires aux venins, dans le but de découvrir les lois et le mécanisme de l’immunité”*. Il termine en concluant que *“dans le traitement de morsures de serpents venimeux, la première indication à remplir, c’est de faire sortir le venin de la plaie et de neutraliser celui qui est resté fixé dans les tissus. La méthode ordinaire, ligature élastique, succion, pression avec les doigts, lavages, injections interstitielles de chlorure de chaux, de permanganate de potassium ou d’acide chromique répond à ce but et suffit, dans la majorité des cas, à empêcher la mort. Mais la guérison sera, pour ainsi dire, certaine, si l’on peut instituer assez vite le traitement par le sérum antivenimeux”* (Phisalix 1896f). Précisons qu’aujourd’hui toute intervention directe sur le siège de la morsure est proscrite afin de ne pas provoquer de nécrose et de surinfection étendues localement. Le traitement symptomatique a beaucoup évolué depuis Phisalix, il est aujourd’hui très efficace, mais le sérum antivenimeux reste encore indispensable, irremplaçable, dans un certain nombre d’envenimations ophidiennes graves (morsures d’*Echis* sp., par exemple).

Quelques années plus tard, peut-être pour répondre à des critiques, Phisalix reviendra sur l’immunité naturelle des vipères et des couleuvres. Il tiendra à préciser que *“l’immunité naturelle des vipères et des couleuvres n’est pas absolue ; si elle est très élevée (5 à 600 fois plus grande que celle du cobaye), quand le venin pénètre par voie cutanée ou péritonéale, elle est beaucoup plus faible (elle n’est plus que 25 à 30 fois plus grande que celle du cobaye), quand le venin est mis directement en contact avec le cerveau. Une vipère pourrait donc être tuée dans un combat avec une de ses semblables si les crochets venimeux pénétraient dans le crâne ; mais en raison de la dureté des os, cette éventualité doit être, sinon impossible, du moins extrêmement rare et on peut admettre l’aphorisme de Fontana en le modifiant de la manière suivante : Le venin de la vipère n’est pas un poison pour son espèce, dans les conditions naturelles de l’inoculation”* (Phisalix 1903b). Une note suivante sera plus affirmative encore : *“l’immunité naturelle des vipères et des couleuvres doit être attribuée à la présence dans le sang d’une antitoxine libre qui neutralise le venin à mesure qu’il pénètre dans la circulation”* (Phisalix 1904c). À cette époque, la notion de récepteur cellulaire était inconnue et les faits observés par Phisalix ne pouvaient pas recevoir d’autre explication claire.

Cependant, en travaillant sur le sang de cobra, Phisalix et Bertrand observent que le pouvoir toxique du sang des serpents ne se manifeste pas de la même façon d’une espèce à

l'autre : chez le cobra, par exemple, le chauffage n'atténue pas sa toxicité. D'autre part, les effets toxiques du sang de cobra diffèrent de ceux du sang de vipère. En fait, la toxicité des sangs de serpents, vipère ou cobra, évoque celle de chacun des venins correspondants : *“chez les ophidiens, comme chez le crapaud, il y a une relation intime entre les propriétés toxiques du sang et celles du venin”* (Phisalix & Bertrand 1896c). Toujours méticuleux, Phisalix va préciser et confirmer son travail sur le venin de cobra. Il multiplie les expériences pour en arriver à la conclusion que *“le sang de Cobra renferme une substance phlogogène (= inflammatoire) qui est détruite à 58 degrés et qui paraît analogue à l'échidnase chez la Vipère. Il contient, en outre, un principe actif qui résiste à 58 degrés et qui possède toutes les propriétés physiologiques du venin. On peut donc admettre, d'après nos connaissances acquises sur les rapports entre le sang et les glandes venimeuses, que, chez le Cobra, le venin pénètre en nature dans le sang par le mécanisme de la sécrétion interne et que cette quantité de venin varie suivant les conditions d'activité physiologiques de la glande”* (Phisalix 1902d). Avec justesse, Phisalix insiste sur l'importance de la voie de pénétration du venin dans l'expression de sa toxicité et souligne bien l'intérêt de la voie intra-cérébrale. De nos jours, la voie intra-cérébrale est de plus en plus utilisée car elle permet une économie d'utilisation du produit toxique et des animaux-tests, étant donné la grande sensibilité habituelle du système nerveux central des vertébrés aux produits toxiques. D'autre part, certaines neurotoxines ne manifestent leur pouvoir toxique que par cette voie : tel est le cas des bloqueurs de canaux potassium des venins de scorpion (Goyffon 2000). Les études sur le venin de cobra n'en resteront pas là. En 1904, Phisalix montre que le sérum de cobra ne possède pas le moindre pouvoir antitoxique sur le venin de vipère. Les venins de vipère et de cobra appartiennent à des espèces chimiques différentes, et ces résultats concordent d'une façon parfaite avec ceux que les caractères anatomiques ont fourni aux zoologistes. Aussi l'analyse physiologique des venins peut, comme l'a montré l'auteur pour les opisthoglyphes (Phisalix 1899c), rendre les plus grands services dans la classification des ophidiens où la place de certains groupes est douteuse et difficile à déterminer d'après les seuls caractères anatomiques (Phisalix 1904a).

Au cours des années 1894-1896, l'activité de Phisalix et Bertrand est remarquable. Non seulement ils sont les découvreurs du sérum antivenimeux, mais dans le même temps ils observent la toxicité du sérum des serpents venimeux, l'effet protecteur de ce sérum chauffé, puis celui des animaux résistants au venin de vipère, allant jusqu'à proposer un traitement de l'envenimation par un sérum de serpent venimeux ou d'animal naturellement résistant au

venin de vipère. Certes, l'interprétation des faits est partielle ou même caduque : on se rappellera que le mot d'anticorps était à peine créé, et que Phisalix ne l'emploiera jamais. Cependant, des observations premières de Phisalix, on en perçoit des échos maintenant encore, après que bien des années se sont écoulées. En 1983, Rekow *et al.* notent que les composants toxiques du venin des araignées du genre *Loxosceles* se retrouvent dans les broyats d'abdomen : s'agit-il d'une libération dans la circulation générale de composants toxiques provenant de la glande venimeuse agissant comme une glande à sécrétion interne – c'est l'hypothèse de Phisalix (Phisalix & Bertrand 1894b) pour les crapauds et les serpents – ou la glande à venin accumule-t-elle des métabolites secondaires présents dans l'organisme de l'animal ? C'est en réalité le problème de la biosynthèse des toxines du venin que soulève Phisalix, du site de la synthèse des toxines dans l'organisme, et ce problème est loin d'être résolu aujourd'hui encore. Mieux même, on redécouvre actuellement son idée d'utiliser les inhibiteurs naturels des venins de serpent dans le traitement des envenimations (Faure 2000), mais les noms de Phisalix et de Bertrand qui ont à la fois étudié cette question et proposé cette solution originale paraissent bien oubliés...

Fidèle à sa théorie, Phisalix va rechercher la présence du venin en nature dans les organes de la vipère. Des broyats de foie, de pancréas, de rate, de thymus, de thyroïde ne provoquent aucun signe d'intoxication chez le cobaye (Phisalix & Bertrand 1894b). Il va alors s'intéresser d'abord aux glandes de Duvernoy de vipère et de couleuvre, glande qu'il appelle encore "glandes salivaires sus-maxillaires" ou "glandes labiales supérieures". Les broyats de glandes labiales supérieures de couleuvre à collier (*N. natrix*) sont très toxiques pour le cobaye (mais non les broyats de glandes labiales inférieures). Phisalix considère les glandes labiales supérieures des couleuvres comme homologues des glandes à venin chez la vipère, et souligne "*le parallélisme absolu entre les propriétés des substances toxiques sécrétées par les glandes labiales supérieures des couleuvres et celles qui se trouvent dans leur sang*" (Phisalix & Bertrand 1894b). Mieux encore : l'injection de broyats de glandes labiales supérieures de vipère et de couleuvre à des cobayes les immunise durablement contre leur venin, c'est-à-dire les vaccine. Phisalix tire aussi de ses observations des conclusions d'ordre phylogénétique : "*le venin et le sang de la Vipère, d'une part, et d'autre part, le venin et le sang des Protéroglyphes (Cobra capello [cobra à coiffe], ophiophage [Ophiophagus hannah]) déterminent des symptômes d'empoisonnement complètement différents de ceux de l'envenimation vipérique. Si l'on ajoute à cela que le venin de Couleuvre atténué par la chaleur ou*

inoculé à dose non mortelle devient un vaccin contre le venin de Vipère et que les glandes labiales supérieures de la Couleuvre, à l'égal de celles de la Vipère, vaccinent aussi contre son venin, on sera convaincu qu'il y a non seulement homologie, mais encore analogie entre ces glandes et que la parenté entre les Colubridés Aglyphodontes et les Vipéridés peut être admise comme définitivement établie" (Phisalix 1896b). En 1905, alors qu'il lui reste une année à vivre, il recherchera le venin dans les ovaires de la vipère. Il observe qu'au moment de l'ovogenèse, les principes actifs du venin de la vipère s'accumulent dans les ovules. Il est probable que d'autres substances spécifiques passent aussi du sang dans l'ovule et que ces substances, de même que le venin, interviennent dans le développement de l'œuf. S'il en est ainsi, les phénomènes mécaniques de l'ontogenèse seraient accompagnés de phénomènes chimiques qui joueraient un rôle essentiel dans la formation des organes et dans le mécanisme de l'hérédité (Phisalix 1905a).

Au total, Phisalix et Bertrand d'abord puis Phisalix seul ont développé deux grandes axes de recherche se rapportant l'un et l'autre à la neutralisation des venins de serpent par un organisme. Ce travail leur a permis de découvrir l'immunité qu'ils appellent "artificielle" des animaux vis-à-vis des venins, c'est-à-dire la possibilité de vacciner un animal par un venin atténué. Cette immunité est transférable : c'est le principe même de la fabrication d'un sérum antivenimeux dont Phisalix et Bertrand sont les découvreurs. Ils se sont dans le même temps attachés à comprendre la signification de l'immunité naturelle des serpents venimeux vis-à-vis de leur propre venin, puis de diverses espèces animales vis-à-vis de ces mêmes venins. Affirmant l'existence de substances antitoxiques dans le sérum de ces espèces résistantes, ils ont nourri l'espoir de disposer d'un substitut thérapeutique du sérum antivenimeux. Enfin, Phisalix a clairement posé le problème de la biosynthèse du venin chez les animaux venimeux, problème encore non résolu à l'heure actuelle. La vision des venins par Phisalix et Bertrand est celle de naturalistes physiologistes qui, l'un médecin et l'autre pharmacien, ont toujours conservé l'optique d'une finalité thérapeutique de leurs recherches. Le départ précocé de Bertrand du Muséum national d'Histoire naturelle, puis le décès prématuré de Phisalix ont empêché un aboutissement complet de leur recherche. Telle qu'elle a été, elle a fourni le premier sérum antivenimeux : les sérums antivenimeux sont certainement le médicament d'origine biologique le plus ancien encore en usage et qui restent encore irremplaçables dans un certain nombre d'envenimations ophidiennes graves, plus d'un siècle après leur découverte.

L'œuvre scientifique de Phisalix n'est pas close pour autant. Deux rubriques peuvent encore être ouvertes.

3.3 Antidotes contre les venins

Phisalix testera divers produits ou divers procédés comme antidotes possibles des venins. Sans doute sous le coup de la querelle de priorité avec Calmette (Phisalix & Bertrand 1894h, 1894i), Phisalix et Bertrand vont vérifier eux-mêmes certains travaux de leur adversaire. Calmette en effet dénaturait le venin non pas par la chaleur, mais par un traitement chimique du venin à l'hypochlorite de chaux (Calmette 1894b), et il affirmait en outre l'intérêt de l'hypochlorite de chaux comme antidote du venin (Bon 1996, Calmette 1894a). Qu'il s'agisse d'hypochlorite ou de chlorure de chaux, Phisalix et Bertrand affirment que leurs expériences, concordantes, démontrent que les solutions salines préconisées par Calmette n'ont qu'une action locale. Ces solutions détruisent le venin, modifient les tissus et font ainsi obstacle à l'absorption du venin. D'un point de vue pratique, les injections de chlorure de chaux faites en d'autres points que celui de la morsure et n'ayant aucune action immunisante doivent être évitées, et si l'on veut essayer cet antidote, il faut alors l'injecter en profondeur plutôt que sous la peau, à l'endroit même où les crochets ont pénétré (Phisalix & Bertrand 1895e). Ce débat aura surtout été l'occasion pour Phisalix et Bertrand de rappeler leur antériorité dans la découverte du sérum antivenimeux (Phisalix & Bertrand 1894i, 1894j). Il sera l'occasion aussi d'une mise au point définitive sur la valeur de l'atténuation thermique du venin pour en permettre l'utilisation comme vaccin chez l'animal : une trentaine d'années s'écoulera avant qu'une méthode chimique de dénaturation par formolisation se substitue à la technique de Phisalix et Bertrand. La querelle s'éteindra vite, mais en pratique les nombreux articles sur la sérothérapie médicale qui seront publiés par Calmette dans les années suivantes et encore bien après la mort de Phisalix éteindront quelque peu le nom de celui-ci.

Phisalix testera d'autres méthodes d'atténuation, courants de haute fréquence (Phisalix 1896e) ou plus tard "émanations" du radium (Phisalix 1904b, 1905c). Les courants à haute fréquence lui paraissent intéressants. Il s'appuie toujours sur l'analogie entre venins et toxines bactériennes et reprend un travail récent de collègues bactériologistes : "*en raison de la similitude qui existe entre les toxines microbiennes et les venins, similitude fondée sur un certain nombre de propriétés physiques et physiologiques, il était intéressant de rechercher si le parallélisme se poursuivait sur ce nouveau terrain*". Et il constate que "*la haute fré -*

quence atténué le venin de vipère et que le venin ainsi atténué possède des propriétés vacci- nantes très accentuées” (Phisalix 1896e). Les travaux utilisant “*l’émanation du radium*”, plus tardifs, sont plus complexes. Dans un premier temps, Phisalix (1904b) irradie à des temps croissants des tubes contenant une même solution aqueuse de venin de vipère et véri- fie que l’atténuation du venin est proportionnelle à la durée d’exposition. Seule la durée d’exposition maximale utilisée (58 heures) neutralise complètement le venin. Dans un second temps Phisalix (1905c) irradie plusieurs venins : vipère, salamandre, crapaud. Il constate à nouveau que le venin de vipère est inactivé, mais aussi stérile, contrairement au venin témoin non irradié. Cette action microbicide avait été déjà observée par Pierre Curie qui a fourni à Phisalix le sel de radium. Il note encore que la glycérine ajoutée à l’eau distil- lée de la solution joue un rôle radio-protecteur. Enfin, les venins de salamandre et de crapaud sont parfaitement résistants à l’irradiation qui n’atténue en rien leur toxicité. Phisalix com- mente ainsi ces résultats : “*comme les principes actifs de ces deux venins ne sont pas de natu- re albuminoïde [contrairement au venin de vipère], on peut en induire que l’action chimique du radium s’exerce seulement sur les substances albuminoïdes*” (Phisalix 1905c).

Poursuivant ses recherches sur la présence d’antagonistes du venin dans l’organisme, et évoquant ses travaux antérieurs avec G. Bertrand, Phisalix va tester les effets des acides biliaires et de la cholestérine (= cholestérol) extraite de la bile de serpent ou de mammifère. La neutralisation du venin de vipère par la bile avait déjà été décrite par d’autres chercheurs. Aussi Phisalix a-t-il cherché dans la bile les agents responsables de cette activité. Il isole les sels biliaires, d’une part, la cholestérine d’autre part. Les sels biliaires ne sont pas dépourvus de toxicité, et peuvent tuer les animaux d’expérience à dose suffisamment élevée. Néan- moins ils neutralisent la toxicité du venin, et comme la bile, cette propriété disparaît après un chauffage à 120° C. Par ailleurs, les sels biliaires exercent un effet protecteur vis-à-vis du venin s’ils sont injectés préalablement au venin à dose infra-létale. La cholestérine possède des effets comparables aux sels biliaires. Phisalix parle à ce propos de “pouvoir antitoxique” de la cholestérine (neutralisation des effets du venin) et de “pouvoir vaccinant” ce que nous appellerions aujourd’hui effet protecteur. Car l’injection simultanée ou immédiatement suc- cessive de sels biliaires ou de cholestérine n’empêche pas le venin d’exercer ses effets toxiques. Phisalix ne parvient pas à expliquer les effets de la cholestérine qui, “*malgré son peu de solubilité et ses faibles affinités chimiques immunise contre le venin de vipère*” (Phi- salix 1897i). L’immunologie n’en est encore qu’à ses tout débuts...

Mais Phisalix cherchera aussi de véritables antidotes, notamment chez les végétaux. C'est notamment la tyrosine, extraite des tubercules de *Dahlia* sp. ou de champignons (rusule noircissante, agaric) par G. Bertrand, alors à l'Institut Pasteur de Paris et qui fournira les échantillons à Phisalix. La tyrosine, peu soluble en milieu aqueux, est injectée sous la forme d'une fine suspension aqueuse relativement bien tolérée par les cobayes. Elle n'a pas de pouvoir antitoxique, elle ne neutralise pas le venin et ne protège pas l'animal si elle est injectée en même temps que le venin, mais en un point différent du corps. Si la tyrosine est injectée 24 ou 48 heures avant le venin, elle protège l'animal. Phisalix considère que l'animal est vacciné et qu'il dispose d'un vaccin chimique contre le venin. Le suc des tubercules de dahlia, d'où la tyrosine est extraite, possède des propriétés antivenimeuses encore plus puissantes, sans doute dues à la présence d'autres substances actives qui s'ajoutent à la tyrosine. Et Phisalix de conclure : *"il était intéressant de signaler ce fait comme le premier exemple connu d'un végétal dont le suc cellulaire est doué de propriétés immunisantes contre un venin"* (Phisalix 1898a). Il obtiendra des résultats similaires avec des broyats d'agaric (*Agaricus edulis*, le champignon de couche) qui contient aussi de la tyrosine, mais les résultats sont plus délicats à interpréter en raison d'un fort pouvoir nécrosant des broyats, insuffisamment atténués par un chauffage à 120°. Là encore, Phisalix parle de "pouvoir vaccinant" des sucres de champignon (Phisalix 1898b). Sans doute déçu par des résultats insuffisants avec l'agaric, Phisalix va explorer le "pouvoir vaccinant" de quelques autres espèces de champignons : des amanites (*Amanita muscaria*, *A. mappa*), des lactaires (*Lactarius theiogalus*, *L. torminosus*) et la truffe. Certaines de ces espèces sont toxiques, et les doses tolérables doivent être préalablement déterminées. Les "propriétés vaccinales" contre le venin de vipère sont retrouvées avec les extraits de toutes les espèces éprouvées. Mais, écrit Phisalix, *"en présence des différences considérables au point de vue chimique et physiologique qui séparent les espèces étudiées dans cette note, on doit se demander si la vaccination contre le venin est produite par une même substance commune à toutes ces espèces ou au contraire par des substances différentes. Cette dernière hypothèse paraît plus vraisemblable ; il sera d'autant plus intéressant de chercher à la vérifier qu'elle peut conduire à la découverte des espèces possédant le maximum de propriétés vaccinales soit contre les venins, soit contre les toxines microbiennes"* (Phisalix 1898d). Phisalix ne semble pas entièrement convaincu par l'effet "vaccinant" des extraits de champignon contre les venins, ou tout au moins par leur avenir en thérapeutique, il accorde plus d'intérêt *a priori* à leurs propriétés antimicrobiennes, nous dirions

aujourd'hui "antibactériennes". En réalité, la dernière phrase de Phisalix est tout à fait extraordinaire, elle est celle d'un véritable chercheur, à la fois rigoureux et imaginatif : sans que le concept en soit né, il annonçait à sa manière, comme s'il en avait l'inconsciente prescience, la découverte des antibiotiques à partir de champignons... Aurait-il eu connaissance, lui, ancien médecin militaire, de la thèse de doctorat en médecine soutenue près de deux ans auparavant à Lyon par Duchesne (1897), autre médecin militaire, qui avait découvert *de facto* les antibiotiques sans les reconnaître ? C'est peu probable...

Les recherches sur les antidotes sont des recherches personnelles de Phisalix seul, à en juger par la signature de ses publications. Dans les huit dernières années de sa vie, son travail ne présente plus la même homogénéité. Certes, il justifie toujours longuement le travail qu'il entreprend et qu'il rattache à ses résultats antérieurs, il n'en reste pas moins que ses tests de "vaccins antivenimeux" se font à l'aide de substances nouvellement découvertes, et singulièrement par son ancien collaborateur G. Bertrand auquel l'unira jusqu'à la fin une réelle et profonde amitié. Il y a dans sa recherche une nuance de pragmatisme qui n'apparaissait pas antérieurement. On peut dès lors se poser la question du rôle qu'a joué Bertrand dans la période faste du travail de Phisalix, celle des années 1892-1896, qui est précisément celle de la collaboration de Bertrand, dont on sait la carrière brillantissime qu'il accomplit par la suite. Dans un article polémique sur un mémoire publié par Lewin (Phisalix & Bertrand 1899), Phisalix obtiendra la cosignature de Bertrand alors que celui-ci a quitté déjà le Muséum depuis un certain temps, ce qui est un signe de la confiance réciproque qu'ils s'accordent. Mais d'autre part, Phisalix, couronné à deux reprises par l'Académie des sciences, reconnu dans les milieux scientifiques parisiens comme un chercheur de premier plan, n'avait aucun mal à se procurer des échantillons de substances nouvelles. En 1903, Pierre Curie lui remettra sans difficulté des échantillons de radium pour des tests sur les venins : on ignore si ce travail (Phisalix 1904b, 1905c) s'est fait à l'initiative de Phisalix ou à l'instigation du prix Nobel 1903. Enfin, à partir de 1895, Phisalix consacra une part importante de son temps à l'enseignement. L'aspect plus diversifié de son travail dans ses dernières années tient sans doute à ces facteurs, mais tout autant à son état de santé qui semble s'être dégradé progressivement jusqu'à son décès.

3.4 Venins et glandes venimeuses, serpents exceptés

Aux travaux déjà présentés, s'ajoutent quelques études variées de Phisalix sur d'autres vertébrés venimeux (amphibiens, poissons) mais aussi sur des arthropodes venimeux (arachnides, hyménoptères piqueurs). Phisalix a toujours eu la volonté d'élargir son horizon, de vérifier jusqu'à quel point il pouvait généraliser l'interprétation de ses résultats.

Amphibiens et poissons : peu de temps après leur note sur le sérum antivenimeux, Phisalix, avec Coutejean, confirme que le sang de salamandre contient un antagoniste du curare, assez efficace pour protéger non seulement la salamandre elle-même, mais aussi la grenouille contre la toxicité de cet alcaloïde (Phisalix & Coutejean 1894). Le venin de la grande salamandre du Japon (*Andrias japonicus*, ex-*Sieboldia maxima*) est toxique. Il possède des effets paralysants, et entraîne chez les mammifères des effets locaux importants. Ce venin, même desséché, perd rapidement sa toxicité. Chauffé, il n'a plus aucune toxicité mais possède alors un pouvoir vaccinant vis-à-vis du venin de vipère. Phisalix en conclut que le venin de la salamandre du Japon présente des caractéristiques qui l'éloignent des autres venins d'Urodèles et le rapprochent de certains albuminoïdes toxiques, comme celui du sérum d'anguille (Phisalix 1897f). C'est là un résultat que la dissemblance de caractères ne permettait pas de prévoir (Phisalix 1897h). Dans un travail antérieur en effet, Phisalix avait déjà relevé l'analogie entre le sérum d'anguille et le sérum de vipère, non seulement pour ses propriétés toxiques mais encore pour ses propriétés immunisantes vis-à-vis du venin de vipère (Phisalix 1896c).

En 1902, Phisalix retrouve la collaboration de Bertrand pour approfondir une étude sur le venin de crapaud qu'ils avaient amorcée une dizaine d'années plus tôt. Ils avaient alors noté dans le venin de crapaud l'existence de produits alcaloïdiques qu'ils n'avaient pas pu identifier. Un travail récent d'auteurs allemands les incite à reprendre de nouvelles analyses. Ils confirment la présence d'une bufotaline, déjà décrite, et découvrent un nouvel alcaloïde toxique, la bufoténine aux effets paralysants dont est dépourvue la bufotaline, uniquement cardiotoxique (Phisalix & Bertrand 1902). Il étudie ensuite sur cet animal les corrélations fonctionnelles entre les glandes à venin et les gonades au cours du développement embryonnaire, thématique qui va tenir une grande place dans les trois années à peine qu'il lui reste à vivre. Il note que "*les poisons contenus dans l'œuf disparaissent pendant les premières phases embryonnaires. La réapparition de ces substances toxiques dans l'organisme est cor-*

relative du développement des glandes à venin. Les poisons fabriqués par ces glandes rentrent dans le sang par le mécanisme de la sécrétion interne, et, à l'époque où l'ovaire entre en activité, ils se fixent sur les cellules germinatives pour contribuer à la formation et au développement de l'œuf" (Phisalix 1903a). Il reprend ces remarques dans un article de revue générale qu'il publie à la même époque (Phisalix 1903c).

En dehors de l'anguille, les vives sont les seuls poissons que Phisalix étudiera, mais ce travail ne donnera lieu qu'à une seule publication, dans laquelle il écrit : "*Le venin [Trachinus draco, T. vipera] inoculé sous la peau exerce une action phlogogène plus ou moins intense qui n'entraîne pas d'accidents généraux graves si la piqûre est aseptique. [...]. Si, au contraire, des microbes ont été introduits en même temps que le venin, ils trouvent un terrain d'autant plus propice à leur pullulation, que les tissus sont rapidement mortifiés ; [...]. C'est généralement ce qui arrive pour les piqûres accidentelles chez l'homme*". Il en termine en concluant que "*le venin de vives inoculé sous la peau détermine une douleur et une action locale plus ou moins intense suivant la dose et la virulence, mais il n'occasionne pas d'accidents généraux graves. Ceux-ci doivent être attribués à une infection secondaire, d'autant mieux que la nécrose des tissus favorise l'évolution des microbes presque inévitablement inoculés dans la plaie*" (Phisalix 1899a). L'affaire est entendue : aux yeux de Phisalix, le venin des vives est peu toxique, il n'insistera pas davantage.

Arthropodes : Phisalix s'est peu intéressé aux arthropodes venimeux. Toutefois, ses dernières publications leur sont consacrées.

Il commence par un court travail sur le venin du scorpion nord-africain *Buthus* (= *Androctonus*) *australis*. Les travaux antérieurs de Paul Bert en particulier avaient bien établi la neurotoxicité des venins de scorpions (Bert 1865, 1885). En collaboration avec Varigny, Phisalix a décrit les symptômes de l'envenimation scorpionique chez le cobaye et chez le chien. Sa méthode de traite électrique du venin est encore celle qui est utilisée de nos jours. Il a noté aussi que le premier venin obtenu, limpide, est très toxique, que les dernières fractions collectées, qui contiennent une fraction insoluble, le sont beaucoup moins. Enfin, il a pu vérifier que la toxicité des venins de scorpion pour les mammifères peut varier considérablement d'une espèce de scorpion à l'autre (Phisalix & Varigny 1896). Il n'aura plus ensuite l'occasion de développer son étude des venins de scorpions.

Phisalix va aussi s'intéresser au "venin volatil" des iules (*Iulus terrestris*). Ceux-ci ne disposent pas d'appareil inoculateur du venin, cependant ils produisent une "sécrétion cutanée" répugnatoire, peu toxique par voie sous-cutanée ou intraveineuse, mais mortelle pour le cobaye si l'injection a lieu par voie intra-péritonéale. Le chauffage de cette sécrétion à l'air libre, mais non en tube clos, diminue fortement ses propriétés toxiques. Le principe actif de la sécrétion du iule n'est pas un albuminoïde, et il est volatil (Phisalix 1900). Une série d'analyses chimiques précises et des contrôles toxicologiques conduisent Phisalix et Béhal à conclure que la substance active de la sécrétion cutanée du iule est la quinone. C'est le premier signalement de la quinone dans une sécrétion d'invertébré. La quinone ayant été identifiée chez un champignon saprophyte des racines de certains arbres, Béhal et Phisalix (1900) émettent l'hypothèse d'une origine alimentaire de sa présence chez le iule.

Sur la base d'un travail expérimental qui décrit comme semblable à celle de la vipère l'envenimation par les piqûres d'abeilles, Phisalix va comparer "*des rapports qui peuvent exister entre le venin de Frelon et celui de Vipère*" : plus précisément, il veut voir "*si le premier ne posséderait pas de propriétés immunisantes vis-à-vis du second*". La conclusion est nette : "*il existe dans le venin de frelon une substance qui a la propriété d'immuniser les animaux contre le venin de vipère*". Cette substance est thermostable, ce n'est ni un albuminoïde ni un alcaloïde. Phisalix n'aura pas, là encore, l'occasion d'entreprendre les nouvelles recherches qu'il juge nécessaires (Phisalix 1897g). Quelques années plus tard, Phisalix étudie la composition du venin d'abeille. Il distingue trois principes actifs dans le venin natif, tel qu'il est inoculé : une substance phlogogène thermolabile, une substance convulsivante qui ne résiste pas à l'ébullition prolongée et une substance stupéfiante thermostable. L'existence dans le venin d'abeille de deux substances toxiques à effets opposés est un fait nouveau que Phisalix rapproche des résultats obtenus dans l'étude des poisons de l'urine par un autre chercheur. La substance phlogogène et la substance stupéfiante sont sécrétées par la glande acide, la substance convulsivante provient vraisemblablement de la glande alcaline (Phisalix 1904d). Puis, comme pour les crapauds (Phisalix 1903a) et les vipères (Phisalix 1905a), Phisalix recherche la présence du venin dans les œufs d'abeille, et constate que cette présence, relativement importante, ne suffit pas à induire la formation de l'appareil venimeux, puisque les mâles en sont dépourvus. Il est ainsi amené à considérer que les glandes accessoires mâles annexées aux canaux déférents sont l'équivalent des glandes venimeuses qui sont chez

les abeilles des annexes de l'appareil génital femelle (Phisalix 1905b). Cet article sera le dernier travail publié par Phisalix.

CONCLUSION

L'œuvre de Césaire Phisalix, abondante et variée, est pour sa plus grande part consacrée à l'herpétologie. Presque tout le travail accompli au Muséum national d'Histoire naturelle a été exposé dans cet article. On connaît sa découverte du sérum antivenimeux, on ignore le plus souvent la première description précise des glandes cutanées de la salamandre, la découverte de la bufoténine dans le venin de crapaud (le mot a été créé par Phisalix) ou encore de la quinone dans les sécrétions cuticulaires des iules. À l'origine médecin et physiologiste, Phisalix a été également un chimiste de qualité, dans sa collaboration avec Bertrand surtout, ou avec des collaborateurs occasionnels comme Béhal. Lui-même se qualifiait de naturaliste. En réalité, il n'était guère un naturaliste de terrain comme on le conçoit aujourd'hui, il apparaît plutôt comme un biologiste à la vaste culture scientifique. Au Muséum national d'Histoire naturelle, qu'il rejoint en 1888, dans le laboratoire dirigé par Chauveau, il est d'abord attiré par les venins, leurs effets, les moyens de les neutraliser. Il était médecin, Bertrand pharmacien, et leur collaboration, d'une grande efficacité, les poussa vers la thérapeutique. Bertrand parti à l'Institut Pasteur de Paris, engagé dans de nouvelles recherches, l'amitié les aida à maintenir leur collaboration en quelques occasions. Cependant, après le départ de Bertrand, on voit Phisalix, attiré par des problèmes de biologie générale, et en particulier vers la fin de sa vie par les relations entre la biosynthèse du venin au cours du développement embryonnaire et son action éventuelle sur l'embryon, passant des vertébrés aux invertébrés. La thérapeutique expérimentale n'apparaît plus que dans la recherche de nouveaux antidotes pouvant être extraits soit de l'animal, venimeux ou non, soit du monde végétal. Les publications prennent alors un aspect plus disparate qu'à l'époque de sa collaboration avec Bertrand. Pour autant, Phisalix n'en perd pas ses puissantes qualités d'analyste, les nouvelles découvertes ne manquent pas, et sa clairvoyance l'a conduit parfois à une étonnante prescience. Mais qui donc signale encore que la bufoténine a été en réalité trouvée, identifiée, reconnue chimiquement et pharmacologiquement par Phisalix et non par d'autres chercheurs, au demeurant bien plus tard alors que, nous l'avons dit, le nom même de la substance a été créé par Phisalix ? ...

Mort à 54 ans, Phisalix n'avait évidemment pas achevé son travail. L'un de ses projets lui tenait particulièrement à cœur, la rédaction d'un ouvrage sur l'ensemble des animaux venimeux. Marie, fidèle à la mémoire de son mari, s'en chargera. Elle reprendra ce projet et le mènera à bien en 1922. Aurait-elle partagé la signature avec Césaire si celui-ci s'était engagé à temps dans cet ouvrage ? Aucun des travaux cités ne compte Marie Phisalix dans les co-auteurs : s'est-elle toujours considérée comme la disciple de Césaire qu'elle fut initialement, au point de préparer et d'obtenir à 39 ans son diplôme de docteur en médecine ?

La méconnaissance de l'œuvre de Césaire Phisalix dépasse de loin l'oubli relatif de sa découverte du sérum antivenimeux. Cet aspect mériterait sans aucun doute d'être approfondi, au-delà même de la personnalité de Phisalix. Retenons encore les qualités de modestie et de cœur que laisse transparaître ce que nous connaissons de sa biographie ou encore tirées des quelques lettres qui nous sont parvenues. Césaire Phisalix est assurément une haute personnalité scientifique.

Nota : cet article est tiré de la thèse de doctorat (PhD) de l'un de nous, Rosany Bochner (2003)

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Avertissement au lecteur : il est arrivé que Césaire Phisalix publie dans deux ou trois revues différentes le même travail sous le même titre et le même texte. En ce cas, la référence regroupe les références bibliographiques de chacune des revues sous le même intitulé dans le même alinéa.

Béhal A. & Phisalix C. 1900 - La quinone, principe actif du venin de *Iulus terrestris*. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 6 : 388-390 ; *C. R. Soc. Biol.*, 52 : 1036-1038 ; *C. R. Acad. Sci.*, 131 : 1004-1007 ; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 25 : 88-91.

Bert P. 1865 - Contribution à l'étude des venins (venins de scorpions). *C. R. Soc. Biol.*, 17 : 136-137.

Bert P. 1885 - Venin du scorpion. *C. R. Soc. Biol.*, 27 : 574-575.

Bochner R. 2003 - Acidentes por Animais Peçonhentos : aspectos históricos, epidemiológicos, ambientais e sócio-econômicos [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro : Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). http://teses.cict.fiocruz.br/pdf/Acidentes_por_animais_Peconhentos-Rosany_Bochner.pdf.

Bon C. 1996 - Serum therapy was discovered 100 years ago. *In* : Envenomings and their treatments (C. Bon & M. Goyffon) 1 vol., Fondation Marcel Mérieux, Lyon : 3-9.

Brygoo E. - 1985 La découverte de la sérothérapie antivenimeuse en 1894. Phisalix & Bertrand ou Calmette ? *Bull. Ass. Anc. Élèves Inst. Pasteur*, 106 : 10-22.

Calmette A. 1894a - L'immunisation artificielle des animaux contre le venin des serpents, et la thérapeutique expérimentale des morsures venimeuses. *C. R. Soc. Biol.*, 46 - 120-124.

Calmette A. 1894b - Contribution à l'étude du venin des serpents. Immunisation des animaux et exposé d'une méthode de neutralisation de ce venin dans l'organisme. *Ann. Inst. Pasteur*, 8 : 275-291.

Chippaux J.-P. & Goyffon M. 1991 - Production and use of snake antivenin. *In* : Reptile venoms and toxins, 1 vol., Handbook of Natural Toxins (A. T. Tu), 5, Marcel Dekker, New York : 529-555.

Duchesne E. 1897 - Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes ; antagonisme entre les moisissures et les microbes. Thèse Doctorat en Médecine, Lyon.

Faure G. 2000 - Natural inhibitors of toxic phospholipases A2. *Biochimie*, 82 : 833-840.

Goyffon M. 2000 - Venins et défensines des scorpions. *In* : Annales de l'Institut Pasteur/Actualités, Les venins (C. Bon), 1 vol., Elsevier, Paris : 129-147.

Phisalix C. 1889a - Expériences sur le venin de la Salamandre terrestre et son alcaloïde. *Ass. Fr. Avanc. Sci.*, 18^e session : 311-312.

Phisalix C. 1889b - Nouvelles expériences sur le venin de la Salamandre terrestre. *C. R. Acad. Sci.*, 109 : 405-407.

Phisalix C. 1890 - Sur quelques points de la physiologie des glandes cutanées de la salamandre terrestre. *C. R. Soc. Biol.*, 42 : 225-227.

Phisalix C. 1893 - Toxicité du sang de la salamandre terrestre. *Ass. Fr. Avanc. Sci.*, 22^e session : 257-258

Phisalix C. 1894 - Vaccination et accoutumance du cobaye contre le venin de vipère. X^e Congr. Int. de Médecine de Rome, 1 vol., section II (Patologia generale e anatomia patologica), Masson éd., Paris : 274-277.

Phisalix C. 1896a - Démonstration directe de l'existence, dans le venin de vipère, de principes vaccinnants indépendants des substances toxiques. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 197-199.

Phisalix C. 1896b - Antagonisme physiologique des glandes labiales supérieures et des glandes venimeuses chez la vipère et la couleuvre : la sécrétion des premières vaccine contre le venin des secondes. Corollaires relatifs à la classification des ophidiens. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 354-357 ; *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 963-965.

Phisalix C. 1896c- Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 386-388 ; *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 1128-1130 ; *C. R. Acad. Sci.*, 123 : 1305-1308 ; *Semaine Méd.*, 30 décembre, 522-523

Phisalix C. 1896d - Action du filtre de porcelaine sur le venin de vipère : séparation des substances toxiques et substances vaccinnantes. *C. R. Acad. Sci.*, 122, 1439-1442 ; *C. R. Soc. Biol.*, 48, 656-658 ; *Semaine Méd.*, 24 juin, p. 253 ; *Tribune Méd.*, 28, 795-796.

Phisalix C. 1896e - Atténuation du venin de vipère par les courants à haute fréquence ; nouvelle méthode de vaccination contre ce venin. *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 233-234 ; *Semaine Méd.*, 4 mars, p. 91.

Phisalix C. 1896f - État actuel de nos connaissances sur les venins. Production de l'immunité contre les venins inoculés par morsure. *Rev. Gén. Sci. Pures Appl.*, 7 : 185-191.

Phisalix C. 1897a - Venins et animaux venimeux dans la série animale. Part. I et II. *Rev. Sci.* (Revue rose), 8 : 97-104.

Phisalix C. 1897b - Venins et animaux venimeux dans la série animale. Part. III, IV et V. *Rev. Sci.* (Revue rose), 8 : 195-201.

Phisalix C. 1897c - Venins et animaux venimeux dans la série animale. Part. VI, VII et VIII. *Rev. Sci.* (Revue rose), 8 : 329-335.

Phisalix C. 1897d - Sur les propriétés antitoxiques du sérum de vipère, comparées à celles du sérum antivenimeux obtenu artificiellement. XII^e Congr. Int. de Médecine de Moscou, Section III, 157-159.

Phisalix C. 1897e - Nouveaux procédés de séparation de l'échidno-vaccin et de l'échidnase du venin de vipère. XII^e Congr. Int. de Médecine de Moscou, Section III, 159-161.

Phisalix C. 1897f - Action physiologique du venin de la salamandre du Japon (*Sieboldia maxima*). Atténuation par la chaleur et vaccination de la Grenouille contre ce venin. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 3 : 242-244 ; *C. R. Acad. Sci.*, 125 : 121-123 ; *C. R. Soc. Biol.*, 49 : 723-725.

Phisalix C. 1897g - Antagonisme entre le venin des Vespidae et celui de la vipère : le premier vaccin contre le second. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 3 : 318-320 ; *C. R. Soc. Biol.*, 49 : 1031-1033 ; *C. R. Acad. Sci.*, 125 : 977-979.

Phisalix C. 1897h - Propriétés immunisantes du venin de salamandre du Japon vis-à-vis du venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 49 : 822-823.

Phisalix C. 1897i - La cholestérine et les sels biliaires vaccins chimiques du venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 49 : 1057-1060 ; *C. R. Acad. Sci.*, 125 : 1053-1055.

Phisalix C. 1897-1898a - L'immunité du hérisson à l'égard du venin de vipère. *Interm. Biol.*, nov. 97-oct. 98, p. 323-325.

Phisalix C. 1897-1898b - Mort par la morsure de vipère de France. *Interm. Biol.*, nov. 97-oct. 98, p. 325.

Phisalix C. 1898a - La tyrosine, vaccin chimique du venin de vipère. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 4 : 41-43 ; *C. R. Acad. Sci.*, 126 : 431-433 ; *C. R. Soc. Biol.*, 50 : 153-155.

75 - Phisalix C. 1898b - Les sucres de champignons vaccinent contre le venin de vipère. *C. R. Acad. Sci.*, 127 : 1036-1038 ; *C. R. Soc. Biol.*, 50 : 1151-1153.

Phisalix C. 1898c - La propriété préventive du sérum antivenimeux résulte d'une réaction de l'organisme : c'est donc en réalité une propriété vaccinante. *C. R. Soc. Biol.*, 50, 253-256.

Phisalix C. 1898d - Sur quelques espèces de champignons étudiés au point de vue de leurs propriétés vaccinales contre le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 50 : 1179-1181 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 4 : 390-392.

Phisalix C. 1899a - Expériences sur le venin des Vives (*Trachinus vipera* et *Tr. draco*). *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 5 : 256-258.

Phisalix C. 1899b - Nouvelles observations sur l'échidnase. *C. R. Acad. Sci.*, 129 : 115-117 ; *C. R. Soc. Biol.*, 51 : 658-660

Phisalix C. 1899c - Propriétés physiologiques du venin de *Celopeltis insignitus*. Corollaires relatifs à la classification des opisthogyphes. Cinquantenaire de la Société de Biologie. *Volume jubilaire de la Société de Biologie* : 240-245 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.* (1900) 6 : 33-39.

Phisalix C. 1899d - Venins et coagulabilité du sang. Remarques à propos de la communication de M. Delezenne. *C. R. Soc. Biol.*, 51 : 834-835.

Phisalix C. 1899e - Relations entre le venin de vipère, la peptone et l'extrait de sangsue, au point de vue de leur influence sur la coagulabilité du sang. *C. R. Soc. Biol.*, 51 : 865-867.

Phisalix C. 1899f - Sur la coagulation du sang chez la vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 51 : 881-882.

Phisalix C. 1899g - Essai sur les mécanismes des phénomènes en sérothérapie. *Rev. Gén. Sci. Pures Appl.*, 10 : 806-818.

Phisalix C. 1900 - Un venin volatil : sécrétion cutanée du *Iulus terrestris*. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 6, 385-388 ; *C. R. Acad. Sci.*, 131 : 955-957 ; *C. R. Soc. Biol.*, 52 : 1033-1036.

- Phisalix C. 1902a - Relations de parenté entre nos deux espèces indigènes de vipères (*Vipera aspis* et *Vipera berus*). Utilité des caractères physiologiques dans la classification. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 8 : 102-106.
- Phisalix C. 1902b - Action du venin de vipère sur le sang de chien et de lapin. *C. R. Soc. Biol.*, 54 : 1067-1070.
- Phisalix C. 1902c - Étude comparée de l'hémolyse par les venins chez le Chien et le Lapin. *C. R. Soc. Biol.*, 54 : 1070-1071 ; *C. R. Acad. Sci.*, 135 : 257-259.
- Phisalix C. 1902d - Sur la présence du venin en nature dans le sang du cobra. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 8 : 204-207.
- Phisalix C. 1903a - Corrélations fonctionnelles entre les glandes à venin et l'ovaire chez le crapaud commun. *C. R. Acad. Sci.*, 137 : 1082-1084 ; *C. R. Soc. Biol.*, 55 : 1645-1646 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 9 : 401-403.
- Phisalix C. 1903b - Recherches sur l'immunité naturelle des vipères et des couleuvres. *C. R. Soc. Biol.*, 55, 1082-1085 ; *C. R. Acad. Sci.*, 137 : 270-272.
- Phisalix C. 1903c - Les venins considérés dans leurs rapports avec la biologie générale et la pathologie comparée. *Rev. Gén. Sci. Pures Appl.*, 14 : 1250-1258.
- Phisalix C. 1904a - Sur un nouveau caractère distinctif entre le venin de vipéridés et celui des cobridés. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 10 : 491-493 ; *C. R. Soc. Biol.*, 56 : 486-488.
- Phisalix C. 1904b - Influence des radiations du radium sur la toxicité du venin de vipère. *C. R. Acad. Sci.*, 138, p.526 ; *C. R. Soc. Biol.*, 56 : 327-328.
- Phisalix C. 1904c - Recherches sur les causes de l'immunité naturelle des vipères et des couleuvres. *C. R. Acad. Sci.*, 138 : p. 1459-1461 ; *C. R. Soc. Biol.*, 56 : p. 976-978 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 10 : 380-382.
- Phisalix C. 1904d - Recherches sur le venin d'abeilles. *C. R. Soc. Biol.*, 56 : 198-201 ; *C. R. Acad. Sci.*, 139 : 326-329 ; *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, 27 juillet, 218-221.
- Phisalix C. 1905a - Sur la présence du venin dans les œufs de Vipère. *C. R. Acad. Sci.*, 140, 1719-1721 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 11 : 335-337 ; *C. R. Soc. Biol.*, 57 : 15-18.
- Phisalix C. 1905b - Sur la présence de venin dans les œufs d'abeilles. *C. R. Acad. Sci.*, 141 : 275-278 ; *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, 26 juillet, 201-203.
- Phisalix C. 1905c - Influence de l'émanation du radium sur la toxicité des venins. *C. R. Soc. Biol.*, 57 : 366-368 ; *C. R. Acad. Sci.*, 140 : 600-602 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 11 : p.117-118.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1893a - Recherches sur la toxicité du sang de crapaud commun. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 5 : 511-517.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1893b - Toxicité comparée du sang et du venin de crapaud commun (*Bufo vulgaris*) considérée du point de vue de la sécrétion interne des glandes cutanées de cet animal. *C. R. Soc. Biol.*, : 477-479 ; *C. R. Acad. Sci.*, 116 : 1080-1082 ; *Semaine Méd.*, 10 mai, p. 229.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1893c - Sur la toxicité du sang de la vipère (*Vipera aspis* L.). *C. R. Soc. Biol.*, 45 : 997-999 ; *C. R. Acad. Sci.*, 117 : 1099-1102 ; *Semaine Méd.*, 13 décembre, p. 556-557.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894a - Toxicité comparée du sang et du venin de la vipère. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 6 : 147-157.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894b - Recherches sur les causes de l'immunité naturelle des couleuvres contre le venin de vipère. Toxicité du sang et glandes venimeuses. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 6 : 423-432.

- Phisalix C. & Bertrand G. 1894c - Recherches expérimentales sur le venin de vipère. Atténuation par la chaleur et vaccination contre ce venin. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 6 : 567-582.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894d - Propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. Contribution à l'étude du mécanisme de la vaccination contre ce venin. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 6 : 611-619.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894e - Sur la présence de glandes venimeuses chez les Couleuvres, et la toxicité du sang de ces animaux. *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 76-79 ; *C. R. Soc. Biol.*, 46 : 8-11.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894f - Atténuation du venin de vipère par la chaleur et vaccination du cobaye contre ce venin. *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 288-291 ; *Semaine Méd.*, 7 février, p. 60.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894g - Sur les effets de l'ablation des glandes à venin chez la vipère (*Vipera aspis* Linn.). *C. R. Acad. Sci.*, 119 : 919-921 ; *Semaine Méd.*, 28 nov., p. 545 ; *C. R. Soc. Biol.*, 46 : 747-749.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894h - Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 46 : 111-113 ; *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 356-358 ; *Semaine Méd.*, 14 février, p. 77.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894i - Réponse à M. Calmette. *C. R. Soc. Biol.*, 46 : 124-126.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1894j - Observations à propos de la Note de M. Calmette relative au venin de serpents. *C. R. Acad. Sci.* 118 : 935-936 ; *Semaine Méd.*, 2 mai, p. 210.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1895a - Sur les effets de l'ablation des glandes venimeuses chez la vipère au point de vue de la sécrétion interne. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 7 : 100-106.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1895b - Variations de virulence du venin de vipère. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 7 : 260-265.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1895c - Influence de la saison sur la virulence du venin de vipère. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1 : 66-67.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1895d - Sur quelques particularités relatives aux venins de vipère et de cobra. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1 : 129-131.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1895e - Sur l'emploi et le mode d'action du chlorure de chaux contre la morsure des Serpents. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1 : 221-224 ; *C. R. Soc. Biol.*, 47 : 443-445 ; *C. R. Acad. Sci.*, 120 : 1296-1298 ; *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 7 : 523-531.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1895f - Comment le hérisson résiste aux morsures de la vipère ? *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1 : 294-296.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1895g - Sur l'emploi du sang de vipère et de couleuvre comme substance antivenimeuse. *C. R. Acad. Sci.*, 121 : 745-747 ; *C. R. Soc. Biol.*, 47 : 751-753.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1895h - Recherches sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 47 : 639-641.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1896a - Sur les relations qui existent entre les deux procédés d'immunisation contre les venins : l'accoutumance et la vaccination. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 36-39.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1896b - Sur l'existence, à l'état normal, de substances antivenimeuses dans le sang de quelques mammifères sensibles au venin de vipère. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 100-104 ; *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 396-398 ; *Semaine Méd.*, 22 avril, p.163.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1896c - Remarques sur la toxicité du sang de cobra capello. *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 858-859 ; *Semaine Méd.*, 29 juillet, p. 294.

Phisalix C. & Bertrand G. 1899 - Sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 51 : p.77.

Phisalix C. & Bertrand G. 1902 - Sur les principes actifs du venin de crapaud commun (*Bufo vulgaris* L.). *C. R. Acad. Sci.*, 135 : 46-48 ; *C. R. Soc. Biol.*, 54 : 932-934 ; *Bull. Sci. Pharmacol.*, 5 : 211-214.

Phisalix C. & Charrin R. 1898 - Action du venin de vipère sur le névraxe. Paraplégie spasmodique. *C. R. Soc. Biol.*, 50, 96-98.

Phisalix C., Charrin R & Claude H. 1898 - Lésions du système nerveux dans un cas d'intoxication expérimentale par le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 50, 317-320.

Phisalix C. & Coutejean C. 1891 - Nouvelles recherches physiologiques sur les glandes à venin de la salamandre terrestre. *C. R. Soc. Biol.*, 43 : 33-38 ; *Bull. Soc. Philomath.*, 3 : 76-81.

Phisalix C. & Coutejean C. 1894 - Sur les propriétés antitoxiques du sang de salamandre terrestre (*Salamandra maculosa*) vis-à-vis du curare. *C. R. Acad. Sci.*, 119 : 434-436 ; *Semaine Méd.*, 29 août, p. 394.

Phisalix C. & Langlois P. 1889 - Action physiologique du venin de la Salamandre terrestre. *C. R. Acad. Sci.*, 109 : 482-485.

Phisalix C. & Varigny H. de 1896 - Recherches expérimentales sur le venin du scorpion (*Buthus australis*). *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 67-73.

Rekow M.A., Civello D.J. & Geren C.R. 1983 - Enzymatic and hemolytic properties of brown recluse spider (*Loxosceles reclusa*) toxin and extracts of venom apparatus, cephalothorax and abdomen. *Toxicol.*, 21 : 441-444.

Manuscrit accepté le 20 septembre 2007

Les Amphibiens venimeux

par

Jean LESCURE

USM 602, Taxonomie et collections, CP 30

Muséum national d'Histoire naturelle

57 rue Cuvier, 75005 Paris

Résumé - Les Amphibiens sont des animaux venimeux. Leurs glandes du derme, granuleuses et muqueuses, et l'effet de leurs sécrétions affleurant à la surface de la peau, ont été très étudiés par Césaire et Marie Phisalix. Les substances toxiques de ces sécrétions sont des amines biogènes, des peptides, des bufodiénolides et des alcaloïdes, qui comprennent des dérivés d'amines biogènes, des alcaloïdes hydrophiles (tétrodotoxines) et des alcaloïdes lipophiles (samandarines et "alcaloïdes de Dendrobatidés"). Les "alcaloïdes de Dendrobatidés", trouvés aussi dans d'autres familles d'Anoures, sont principalement les batrachotoxines, particulières aux *Phyllobates*, les histrionicotoxines, les indolizidines, les pumiliotoxines, et les décahydroquinolines. Les Amphibiens ne synthétisent pas leurs tétrodotoxines et leurs "alcaloïdes de Dendrobatidés" : ceux-ci proviennent des proies-arthropodes, particulièrement des Fourmis Myrmicines.

Mots-clés : Amphibiens, Venins, Toxines, Phisalix.

Summary - Venomous Amphibians. Amphibians are venomous animals. Their granulous and mucous skin glands and the effect of their toxic substances, secreted on the skin surface, were much studied by Césaire and Marie Phisalix. The toxic substances are biogenic amines, peptides, bufodienolides and alkaloids, including N-methylated and/or cyclized congeners of the various biogenic amines, water-soluble alkaloids (tetrodotoxins) and lipophilic alkaloids (samandarines and "dendrobatid alkaloids"). The "dendrobatid alkaloids", found also in other anuran families than dendrobatids, include principally the batrachotoxins, particular of *Phyllobates*, the histrionicotoxins, the indolizidines, the pumiliotoxins, and the décahydroquinolines. The Amphibians don't synthetize their tetrodotoxins and their "dendrobatid alkaloids", they take them from their prey-arthropods, particularly myrmicine ants.

Key-words: Amphibians, Venoms, Toxins, Phisalix.

I. LES GLANDES À VENIN

La plupart des Amphibiens sont des venimeux passifs dans le sens qu'ils n'ont pas d'appareil d'inoculation de leur venin, ils le "suent" à fleur de peau. Ce venin est sécrété par des glandes cutanées, situées dans le derme spongieux et formées d'un corps glandulaire (l'acinus), d'un col et d'un canal excréteur traversant l'épiderme et débouchant à la surface de la

peau. Les glandes sont parfois si nombreuses qu'elles tapissent tout le derme spongieux au-dessus du derme compact.

On distingue deux types de glandes cutanées : les **muqueuses** et les **granuleuses**.

Les glandes muqueuses sont celles dont le produit de sécrétion est dépourvu de protides et ne contient que des mucines, principalement des mucopolysaccharides. Elles sont à différents stades de sécrétion et se déchargent par voie réflexe. La sécrétion, généralement claire, lubrifie la peau, la maintient humide en milieu terrestre ; elle joue aussi un rôle d'isolant thermique.

Les glandes granuleuses, appelées aussi glandes séreuses ou glandes à venin, sont celles dont la sécrétion renferme beaucoup de protides et pas de glucides. Elles sont plus grandes et moins nombreuses que les glandes muqueuses, de forme ovoïde, et souvent regroupées en amas disposés symétriquement par rapport à la ligne médio-dorsale. Marie Phisalix (1910a, b, c, 1912a, 1922) a étudié et dessiné la disposition de ces glandes granuleuses sur des spécimens du Muséum national d'Histoire naturelle, particulièrement chez les Gymnophiones.

Quels sont les Amphibiens venimeux ? Tous ceux dont les glandes cutanées secrètent des substances toxiques. Peu d'espèces (environ 1/10) ont été testées pour savoir si la sécrétion de leurs glandes cutanées est toxique. Les seuls cas connus d'Amphibiens non toxiques sont ceux de la Sirène lacertine, *Siren lacertina* et du Protée anguillard, *Proteus anguinus*, l'Amphibien sans glandes granuleuses (M. Phisalix 1912b, 1922). Il a été rapporté depuis que *Afrana angolensis* du sud de l'Afrique, aquatique et terrestre, n'a pas de glandes granuleuses (Kramer 1970). C'est le deuxième cas connu d'absence de glandes granuleuses chez un Amphibien, ce qui est surprenant, mais ceci veut dire qu'après Marie Phisalix, on n'a pas fait d'investigations sur la présence ou l'absence de glandes granuleuses chez les Amphibiens.

On a eu tendance à dire que les substances toxiques des Amphibiens ne sont sécrétées que par les glandes granuleuses. On a étudié l'action des sécrétions de ces glandes quand celles-ci sont bien individualisées, comme les glandes parotoïdes des Crapauds, et leurs sécrétions faciles à extraire, mais le plus souvent c'est un mélange des sécrétions de glandes muqueuses et de glandes granuleuses qui est analysé. En 1890, Césaire Phisalix (1897) a été le premier à pouvoir séparer les sécrétions de ces deux glandes, à en préciser les propriétés respectives et à en comparer l'action physiologique, d'abord chez la Salamandre tachetée, *Salamandra salamandra*, et ensuite chez la Grande Salamandre du Japon, *Andrias japonicus*

le Crapaud commun, *Bufo bufo*, et l'Alyte accoucheur, *Alytes obstetricans* (M. Phisalix 1922).

Tableau I : Action du venin des glandes cutanées muqueuses et granuleuses par Marie Phisalix (1922 : 148 et 149).

Table I: Comparative action of muquous and granulous skin glands venom of Amphibians by Marie Phisalix (1922: 148 and 149).

ACTION PHYSIOLOGIQUE COMPARÉE DES DEUX SORTES DE VENINS CUTANÉS
DES BATRACIENS

<u>Venin muqueux.</u>	<u>Venin granuleux.</u>
<p>Phase d'excitation au début (doses faibles) inconstante.</p> <p>Stupeur et affaiblissement musculaires (doses fortes) ordinairement immédiats.</p> <p>Mydriase.</p> <p>Hypersécrétion glandulaire inconstante.</p> <p>Pas de nausées, ni de vomissements.</p> <p>Respiration : accélérée à la phase d'excitation, ensuite ralentie, irrégulière avec arrêts, puis arrêt définitif par paralysie avant celui du cœur.</p>	<p>Phase d'excitation constante et immédiate : agitation, inquiétude, effroi, hallucinations, stupeur et affaiblissement musculaire succédant à l'excitation ;</p> <p>Myosis ;</p> <p>Hypersécrétion glandulaire :</p> <p>Nausées, vomissements ;</p> <p>Respiration : accélération, tétanisation des muscles respiratoires, asphyxie, mort possible ;</p>

<u>Venin muqueux.</u>	<u>Venin granuleux.</u>
<p>Pas de convulsions :</p> <p>Paralysie musculaire précoce, progressive, flasque, à début postérieur ;</p> <p>Paralysie du cœur, progressive, arrêt tardif en diastole complète ;</p> <p>Hypothermie constante et progressive dans les cas mortels ;</p> <p>Hémolyse ;</p> <p>Action locale nécrosante et hémorragique ;</p> <p>Lésions : Congestives et hémorragiques, viscérales et musculaires, moindres qu'avec le venin de vipère.</p>	<p>Convulsions musculaires, précoces à début antérieur, précédées d'hyperexcitabilité réflexe ; forme tonico-clonique, mort possible, rigidité cadavérique presque immédiate ;</p> <p>Paralysie tardive ;</p> <p>Tétanos du cœur, arrêt en systole ;</p> <p>Hyperthermie pendant les crises convulsives ou après la mort lorsque celle-ci survient dans une de ces crises.</p> <p>Pas d'hémolyse ;</p> <p>Action locale faible ou nulle ;</p> <p>Lésions hémorragiques viscérales et musculaires, dans les cas seulement où la mort termine une crise convulsive.</p>

Marie Phisalix (1908, 1910d, 1918, 1922, 1923, 1924, M. Phisalix & Dehaut 1908, 1909) a étudié l'action physiologique de la sécrétion muqueuse de la plupart des Amphibiens de France et de quelques autres espèces (*Proteus anguinus*, *Siren lacertina* et Axolotl, *Ambystoma mexicanum*). Elle a démontré que les glandes muqueuses avaient un effet toxique très varié : “depuis l'inocuité absolue (Protée anguillard, Sirène lacertine) jusqu'à l'action foudroyante qu'elle manifeste (Grenouille verte) quand elle est introduite dans les veines de lapin” (Tab. I et II). Ce type de travaux et l'étude particulière des sécrétions des glandes muqueuses n'ont pas été repris.

Les Phisalix ont également étudié les venins des glandes granuleuses des Amphibiens (Tab. II). Après Zalesky (1866), qui a isolé un alcaloïde, **la samandarine**, du venin granuleux de *Salamandra salamandra*, Césaire Phisalix (1889a, b) réussit à extraire de ce venin un deuxième alcaloïde et lui donne le nom de **salamandrine**, qui sera renommé **samandaridine** par Faust en 1899. Marie Phisalix (1900, 1922) améliore le procédé d'extraction. Césaire Phisalix et Gabriel Bertrand (1893, 1902) ont étudié aussi le venin du Crapaud commun et en ont isolé un alcaloïde : la **bufoténine**.

II. LES SÉCRÉTIONS VENIMEUSES

Les substances toxiques, tirées des sécrétions des glandes cutanées des Amphibiens, sont classées en quatre grandes catégories : les amines biogènes, les peptides, les bufodiénoles et les alcaloïdes (Daly *et al.* 1987).

1/ Les amines biogènes

Les amines biogènes (Erspamer 1971), trouvées parfois en fortes concentrations, comprennent : la sérotonine, la tryptamine, l'histamine, la tyramine, l'adrénaline et la dopamine. Elles sont présentes chez beaucoup d'espèces, principalement des Bufonidés (Cei *et al.* 1968), des Leptodactylidés et des Hylidés. La sérotonine est souvent présente chez les Ranidés (Roseghini *et al.* 1986), les amines phénoliques chez les Leptodactylidés et les alkylamines indoles chez le genre *Bufo* (Daly 1995).

Tableau II : Action des venins des glandes cutanées muqueuses d'Amphibiens sur des Amphibiens et des Serpents par Marie Phisalix (1922 : 78).

Table I: Action of mucuous skin glands venom of Amphibians on Amphibians and Snakes by Marie Phisalix (1922: 78).

ACTION COMPARÉE DU VENIN MUQUEUX D'ALYTE, DE TRITON ET DE SALAMANDRE
SUR LES BATRACIENS ET LES SERPENTS

ORIGINE DU VENIN	DÉSIGNATION DES ANIMAUX	Poids de l'Animal	DOSES DE MUCUS FRAIS correspondant à :	LIEU DE L'INOCULATION	MODE D'ARRÊT DU CŒUR	MORT	RÉSISTANCE RELATIVE pour un même poids d'animal
1 ^o Mucus de Triton créé	Crapaud commun...	58 grammes	Eau lavage 3/5 de Triton	Sac dorsal	Ventricule en systole	En 1 h. 50	1
	Grenouille verte.....	22	Macération 1/3 peau	Abdomen	Ventric. en diastole	En 15 minutes	1.45
	Vipère aspic.....	96	Eau lavage 1 Triton 1/2 Idem.	Sous la peau Sac dorsal	Idem. Ventricule en systole	En 2 h. 15 En 1 h. 05	1.51 5.15
2 ^o Mucus de Crapaud accoucheur	Salamandre terrestre*	23	Eau lavage 1/10 d'Alyte	Sous la peau	Ventricule en systole	En 2 heures	1
	Crapaud commun .	34	Eau lavage 1/2 Alyte	Idem	Idem.	En 1 h. 45	3.5
	Vipère aspic.....	49	Eau lavage 1 Alyte	Idem	Ventric. en diastole	En 53 minutes	5.1
3 ^o Mucus de Salamandre terrestre	Grenouille verte.....	10	Eau lavage 1/2 Alyte	Sac dorsal	Idem.	En 57 minutes	11.6
	Coqueuvre à collier.	19	Eau lavage 1 Alyte	Sous la peau	Idem.	En 55 minutes	12
3 ^o Mucus de Salamandre terrestre	Vipère aspic.....	50	Eau lav. de 3 Salamandres	Abdomen	Ventric. en diastole	En 2 jours	1
	Coqueuvre à collier(1)	50	Eau lav. de 6 Salamandres	Idem.	"	"	"
	Grenouille verte....	25	Eau lav. de 15 Salamandres	Sac dorsal	Ventric. et diastole	En 3 jours	10

Symptômes et lésions. — Agitation folle pendant quelques minutes avec les doses moyennes ; avec les doses très fortes, stupeur immédiate ; ralentissement respiratoire avec intermittences jusqu'à l'arrêt complet ; mydriase. Paralyse ascendante et progressive. Affaiblissement et ralentissement des battements cardiaques. Arrêt du cœur ventricule en diastole. — Exceptionnellement, quelques symptômes surajoutés du venin granuleux : nausées ; arrêt du cœur en systole ; mais jamais de convulsions. — Lésions congestives et hémorragiques du tissu conjonctif, du foie, du tube digestif, des reins. — Dissolution du stroma des hématies.

(1) Symptômes parétiques. — Guérison.

2/ Les peptides

Onze familles de peptides ont été détectées dans la peau des Amphibiens (Cei 1985, Erspamer *et al.* 1986) La famille des **tachykinines**, des déca-, endéca- et dodéca-peptides, comprend l'upéroléine, deux variétés de physalaemine et de kassinine, la phyllomédusine et l'hylambatine, trouvées respectivement chez *Uperoleia*, *Physalaemus*, *Kassina*, des Phyllomedusins et des Hyperoliidés. La famille des **bradykinines**, de puissants hypotenseurs, a été détectée chez *Ascaphus truei* et certaines espèces du genre *Rana*. La famille des **caeruléines**, qui a la même action biologique que la cholécystokinine des Mammifères, est répartie chez des Rainettes australiennes, dont *Litoria caerulea*, des Leptodactylidés sud-américains, un Hyperoliidé africain, *Phyllomedusa sauvagei* d'Argentine et *Xenopus laevis*. La famille des **bombésines**, retrouvée comme transmetteur ou modulateur dans le système nerveux central des Mammifères, est divisée en trois sous-familles : celle de la bombésine et de l'alytesine, présente respectivement chez des *Bombina* et des *Alytes*, celle de la litorine et de la ranatensine, inventoriée respectivement chez des *Litoria* et des *Rana*, et celle des phyllotorines de *Phyllomedusa sauvagei*. La famille des **sauvagines**, à 40 peptides, a été découverte chez *Phyllomedusa sauvagei*, d'où son nom, et d'autres *Phyllomedusa*. C'est un facteur de libération de l'hormone corticotrope comme le CRF, qui stimule la sécrétion d'ACTH et de bêta-endorphine et inhibe celle de GH, TSH et prolactine. La famille des **dermorphines** est composée d'heptapeptides, comme la dermenkephaline (Mor *et al.* 1989), isolés de la peau de plusieurs *Phyllomedusa*, dont *P. bicolor* de Guyane. Les dermorphines possèdent une activité morphinique et antalgique (Amiche *et al.* 1989). La famille des **tryptophyllines** a été découverte chez *Phyllomedusa rhodei*. La famille des **spasmolysines** est peu répandue. La famille des **angiotensines**, présente chez les *Crinia* australiens, est une hormone intervenant dans la contraction des vaisseaux sanguins et dans la physiologie de la soif. La famille des **xenopsines**, trouvée chez les Xénopes, agit comme des neurotensines. La famille des **thyrolibé-rines** (TRH), un facteur de libération de l'hormone thyroïdienne agissant à la métamorphose, a été repérée chez plusieurs *Rana*. Les Rainettes sud-américaines du genre *Phyllomedusa* forment le groupe d'Anoures produisant la plus grande diversité de peptides au monde ; *Phyllomedusa sauvagei* d'Argentine, qui a au moins sept peptides différents, détient le record absolu en la matière.

Des Amérindiens d'Amazonie, les Matsés du Pérou et les Mayoranas du Brésil, se font des scarifications sur la poitrine et les bras, et les enduisent de la sécrétion cutanée de *Phyllo* -

medusa bicolor. Après des malaises et des jours de torpeur, ils sont dans un état d'euphorie et affirment qu'avec leurs sens aiguisés, ils deviennent de bien meilleurs chasseurs (Milton 1994). Alertés sur cette coutume, Daly *et al.* (1992) ont analysé les sécrétions de la Rainette et ont découvert parmi les peptides isolés, un nouveau peptide qu'ils ont nommé **adénoréguline**.

En dehors de la TRH, on n'a aucune idée de la fonction des peptides chez les Amphibiens. Mais, des analogues des peptides des Amphibiens ont été retrouvés dans le système nerveux ou le système digestif des Mammifères, où ils jouent le rôle de messenger chimique (Amiche *et al.* 1996). La correspondance est telle qu'on parle du triangle peau-cerveau-intestin. Tout peptide trouvé dans la peau des Amphibiens a sa contre partie dans le cerveau et l'intestin des Mammifères. Ceci est très intéressant parce que la peau des Amphibiens sécrète ces messagers chimiques en quantité notable. La peau d'un Amphibien peut contenir un milligramme de thyrolibérine alors que Guillemin (Prix Nobel 1977) a dû l'extraire des cerveaux de 270 000 moutons, en 1969, pour pouvoir l'isoler et obtenir la même quantité. Un polypeptide, la **tyrosine-tyrosine**, présent dans le pancréas de Mammifères, a été retrouvé dans la peau de *Rana catesbeiana* (Pollock *et al.* 1988), *Rana ridibunda* (Chartrel *et al.* 1991) et *Phyllomedusa bicolor* (Mor *et al.* 1994).

La peau des Amphibiens renferme aussi des **peptides antimicrobiens** à large spectre, très précieux, car ils pourraient prendre le relais des antibiotiques. Plus de cinquante antimicrobiens ont été découverts dans la peau des Amphibiens dont les bombinines, les pipinines et les esculentines respectivement chez *Bombina* (Csordas & Michl 1970, Croce *et al.* 1973), *Pipa* et *Rana* (Kiss & Michl 1962, Cevikbas 1978). Zasloff (1987) a découvert les magainines dans la peau de *Xenopus laevis*. Une pommade à base de magainine a été essayée pour traiter des ulcères infectés chez des diabétiques. Les dermaseptines, qui ont un spectre très large contre les bactéries Gram⁺ et Gram⁻, les levures, les champignons et les protozoaires flagellés comme les leishmanies, ont été isolées et extraites des sécrétions cutanées de *Phyllomedusa bicolor* de Guyane, à l'Institut Jacques Monod de Paris, par Amiche, Delfour, Mor et Nicolas (Mor & Nicolas 1994, Amiche *et al.* 1994, Amiche *et al.* 1996, Mor *et al.* 1996).

3/ Les bufodiéolidés ou bufogénines

La troisième catégorie de substances toxiques de la peau des Amphibiens est celle des **bufodiéolidés** ou **bufogénines**, qui sont des stéroïdes en C24. Ils comprennent les bufo-

toxines, les bufotalines et les cardénolides trouvés chez les Crapauds du genre *Bufo*. La bufotaline est un actif cardiaque. On a trouvé des bufodiéniolides chez *Dendrophryniscus minutus*, *Melanophryniscus moreirae* et des *Atelopus*, des Bufonidés primitifs d'Amérique tropicale (Flier *et al.* 1980).

4/ Les alcaloïdes

a. Les dérivés d'amines biogènes

La quatrième catégorie est celle des alcaloïdes. Son premier groupe comprend des dérivés d'amines biogènes comme les **bufoténines, bufoténidines, épinine, leptodactyline, spinaceamine, candicine** et l'**épibatidine**, un azabicycloheptane 200 fois plus fort que la morphine, trouvée récemment chez un Dendrobatidé, *Epipedobates tricolor* (Kellar 1995). La première détection, dans des glandes parotoïdes de Crapaud, de substances donnant une réaction alcaloïde positive a été réalisée par Césaire Phisalix et Bertrand en 1893. Les mêmes, en 1902, obtiennent, à partir du venin de *Bufo bufo*, une base amorphe, qu'ils nomment bufoténine.

Dans les années 1960, les laboratoires Paul Hardy ont mis sur le marché le Bufox, un hémostatique et stimulant du cortex surrénal, établi à partir de la bufotaline et de la bufoténine extraites des glandes parotoïdes de *Bufo bufo*. Andary *et al.* (1978) ont décelé de la bufoténine dans des Amanites, notamment *Amanita citrina* et *A. porphyria*, qui sont pourtant des champignons comestibles, aucunement toxiques par voie orale. La bufoténine a été trouvée aussi chez des Angiospermes (graines de *Piptadenia peregrina* et Graminées sauvages).

On ne connaît pas, dans les temps modernes, de cas d'intoxication grave de l'homme par le venin du Crapaud commun d'Europe, *Bufo bufo*, mais il a été signalé des cas d'altérations oculaires (Peyresblanques 1964, Collier 1965). Ce phénomène se produit quand une personne se baisse, frappe l'animal avec un objet contondant (balai, pelle) et a l'œil éclaboussé par du venin projeté par l'écrasement subit des glandes parotoïdes. Il y a aussitôt une sensation de brûlure accompagnée de larmoiements, de troubles de la vision et de dilatation pupillaire. La sensation douloureuse dure 3-4 h. Le trouble visuel provient de la mydriase, provoquée par l'adrénaline et la bufoténine du venin, et d'un œdème cornéen touchant l'épithélium, le stroma et la couche de Descemet jusqu'au plissement. Le traitement appliqué dans un cas survenu en Belgique (Van Tittelboom *et al.* 1988) a été : le rinçage de l'œil au sérum physiologique, l'instillation de chlorure de sodium hypertonique dans le but de réduire l'œdème et

la dilatation de l'œil avec de la normatropine et du phényléphrine à 10% pour prévenir une iritis. Après 24 h, la cornée est redevenue transparente mais il existe une réaction d'uvéïte antérieure gauche. La guérison est obtenue après 48 h mais quelques jours plus tard, on voit encore une desquamation de la peau palpébrale et périoculaire.

On connaît des cas d'intoxication humaine par le venin du grand Crapaud d'Amérique du Sud, *Bufo marinus*. Licht (1967) signale que le 16 mai 1965, une famille d'Amérindiens de la région de l'Ampiyacu (Amazonie péruvienne) a été intoxiquée après avoir mangé une soupe contenant, par l'erreur des enfants, des œufs de *Bufo marinus*. La mère de 34 ans et une fille de 4 ans en sont mortes, un garçon de 9 ans a été sauvé. L'intoxication se traduit par une montée brusque de température, une respiration rapide, une arythmie du cœur et une déshydratation. Après l'administration de solution saline en intraveineuse, la fièvre du garçon tomba et le rythme cardiaque redevint normal. Au village Zidok, en Guyane française, un enfant de la tribu des Wayapi du Haut-Oyapock, âgé de 3 ans, est mort après avoir ingéré des œufs de *Bufo marinus*. Aux Philippines, un homme adulte mourut après avoir mangé trois *Bufo marinus* qu'il avait pris pour des Grenouilles (Rabor 1952).

L'effet sur le chien, qui mord un Crapaud commun, *Bufo bufo*, est bien connu. Il est immédiat et se traduit par une inflammation de la bouche et du pharynx, une salivation abondante avec bave, des vomissements ou plus souvent des efforts pour vomir pouvant durer une dizaine d'heures. Le décès d'un caniche qui avait mordillé un Crapaud, malgré les traitements appliqués une demi-heure après, a été signalé (Saugé & Féat com. pers.). Les cas observés sur le chat sont beaucoup plus rares car celui-ci a plus tendance à donner des coups de patte qu'à mordre. Une ingestion de Crapaud a été fatale à un persan de 3 mois, en Grande-Bretagne (Bedford *et al.* 1974), et un chat de 7 ans, dans les Vosges, mourut cinq jours après avoir tenu un Crapaud dans sa gueule (Bour com. pers.). Des décès de chats et de chiens adultes ont été constatés en Éthiopie (Perry *et al.* 1973), après l'ingestion du Crapaud africain, *Bufo regularis*, apparemment plus toxique mais plus petit que *Bufo bufo*. Plus de 50 chiens meurent chaque année à Hawaï par l'effet du venin de *Bufo marinus* (Otani *et al.* 1969). On m'a rapporté à Cayenne des cas de décès de chiens, souvent venus d'Europe, ayant mordu des *Bufo marinus*.

Quand un Hérisson a reniflé ou mâché un objet très odorant, il lui arrive de saliver abondamment et de lécher ses piquants avec sa salive enduite de cette substance (Reeve 1994). Ces comportements d'autolubrification (self-anointing) ont souvent les caractères d'une

réaction à vide mais, parfois, des *Hemiechinus auritus* et *Atelerix primerus* se lèchent les piquants après avoir mâchouillé un Crapaud (*Bufo* sp.), frottent même directement le Crapaud ou sa peau sur leurs piquants, ils s'enduisent ainsi du venin du Crapaud. Brodie (1977), qui a testé ce comportement par des expériences, pense que c'est alors un comportement de défense.

b. Les alcaloïdes hydrophiles : les tétrodotoxines

Le deuxième groupe d'alcaloïdes d'Amphibiens est celui des alcaloïdes hydrophiles, à vrai dire des tétrodotoxines. Des traces de tétrodotoxine ont été détectées chez les Tritons d'Europe (Wakely *et al.* 1966), notamment *Triturus cristatus* (Jaussi & Kunz 1978). Il y en a davantage chez leurs cousins asiatiques et américains, *Paramesotriton hongkongensis*, *Cynops pyrrhogaster* et *C. ensicauda*, *Notophtalmus viridescens* et les espèces du genre *Taricha* (Mosher *et al.* 1964, Wakely *et al.* 1966, Brodie 1968, Brodie *et al.* 1974, Yotsu *et al.* 1990). 0,005 cm³ d'extrait de peau du jeune *Notophtalmus viridiscens*, "l'eft" des Américains, tue une souris de 20 g en 10 min. L'eft est dix fois plus toxique que l'adulte de couleur verdâtre, plus cryptique, sa couleur rouge, aposématique, est un avertissement. Il est mimé par un Pléthodontidé, *Pseudotriton ruber*, moins toxique (Brodie 1976, Brandon & Huheey 1981). Ces derniers croyaient être les premiers à avoir démontré le caractère vénimeux d'un Pléthodontidé, ils oubliaient que Marie Phisalix (1918) l'avait montré bien avant eux en analysant l'effet du venin d'un Pléthodontidé européen (*Speleomantes* sp.). Brodie a fait l'amère expérience de l'action du venin de *Taricha granulosa*, le Triton californien, en manipulant un avec une légère blessure à la main : il a eu aussitôt une sensation de brûlure, et ensuite une perte de sensibilité du bras allant jusqu'à l'épaule, avec des légers maux de tête et des bourdonnements pendant une demi-heure (Brodie *et al.* 1974). On a signalé deux cas de mort d'homme (26 et 29 ans) par hypotension et arrêt respiratoire, dû à la paralysie des muscles, provoqués par l'ingestion de *Taricha* (Bradley & Klika 1981).

La tétrodotoxine et ses analogues ont été trouvés chez des Bufonidés, *Atelopus zeteki*, *A. chiriquiensis*, *A. subornatus*, *A. peruensis* (Kim *et al.* 1975, Pavelka *et al.* 1977, Mebs *et al.* 1995), *A. oxyrhyncus* (Mebs & Schmidt 1989, Yotsu-Yamashita *et al.* 1992), *A. spumarius*, *A. varius*, *A. spurelli*, un Brachycephalidé, *Brachycephalus ephippium*, un Dendrobatiidé, *Colostethus inguinalis* (Daly *et al.* 1994) et un Rhacophoridé, *Polypedates feae* (Tanu *et al.* 2001, Daly *et al.* 2004).

c. Les alcaloïdes lipophiles

c.1. Les samandarines

Le troisième groupe d'alcaloïdes, le plus important, est celui des **alcaloïdes lipophiles**. Il comprend les **samandarines**, incluant la samandiridine de Césaire Phisalix, présentes chez la Salamandre tachetée, *Salamandra salamandra*. Les samandarines sont vraisemblablement élaborées par les Salamandres elles-mêmes, elles ne proviennent pas de leurs proies (com. pers de Habermehl à Daly, cf. Daly *et al.* 2002). Tous les animaux sont sensibles au venin de la Salamandre tachetée, y compris la Salamandre elle-même, si le venin pénètre dans son système circulatoire. Un Crapaud qui avale une Salamandre en meurt. La samandarine affecte le système nerveux, en particulier la moëlle épinière, et provoque une augmentation de la pression sanguine, la mort s'ensuit par paralysie des organes respiratoires, sans dommage au cœur. Les accidents chez l'homme sont très rares. En 1992, on a observé dans le sud de la France le cas d'un enfant de 5 ans (20 kg) qui a eu un œdème important au niveau de la main, puis l'apparition de phlyctènes, occasionnant une véritable brûlure, après avoir manipulé une Salamandre (Dr. Drouet com. pers.).

c.2. Les alcaloïdes de "Dendrobatidés"

Le groupe des alcaloïdes lipophiles comprend aussi les alcaloïdes de "Dendrobatidés", appelés ainsi parce qu'ils ont été détectés d'abord dans la peau des Dendrobatidés (autres que les *Colostethus*). Plus de 500 alcaloïdes ont été isolés, ils sont regroupés dans 22 classes, dont les **batrachotoxines**, les **histrionicotoxines**, les **indolizidines**, les **pumiliotoxine-A**, avec ses deux sous-classes, les allopumiliotoxines et les homopumiliotoxines, et les **décahydroquinolines** sont les principales et les gephyrotoxines, les piperidines 2,6-disubstituées, les pyrrolidines 2,5-disubstituées, la noranabasamine (un pyridyl-pipéridine analogue à l'anabasamine d'une plante américaine), la morphine, la calycanthine et la chimonanthine d'Anoure (voisins d'alcaloïdes indoles tirés aussi de plantes américaines), les azatricyclododecenes et des alcaloïdes amidines sont des classes subalternes. Ces alcaloïdes contiennent un noyau pipéridine à l'exception des batrachotoxines et des petites classes à pyrrolidines, indole et amidine (Daly *et al.* 1987).

La pumiliotoxine, connue d'abord de *Dendrobates pumilio*, se trouve chez plusieurs autres *Dendrobates*, des *Epipedobates* et des *Myniobates*. La pumiliotoxine B (PTXB de la classe de la PTXA) paraît agir de deux manières : d'abord en facilitant la sortie d'ions cal-

cium de leurs sites de stockage dans des cellules musculaires, renforçant ainsi la contraction musculaire, ensuite en inhibant le retour des ions calcium à leurs sites, ce qui prolonge la contraction. La PTXA, qui a une action tonique sur les muscles, pourrait avoir un avenir thérapeutique comme cardiotonique

L'histrionicotoxine, isolée de *Dendrobates histrionicus*, empêche la sortie des ions potassium à travers leurs canaux spécifiques et bloque, dans les deux sens, l'échange des ions sodium et potassium par les complexes formés par le canal et le récepteur à l'acétylcholine (Ach), situés à la jonction neuromusculaire. Le blocage des canaux potassium favorise la contraction des cellules musculaires et prolonge la libération des neurotransmetteurs par les cellules nerveuses. Le blocage des complexes canal-récepteur à l'acétylcholine empêche que celle-ci, libérée par les nerfs, déclenche la contraction musculaire. La pumiliotoxine C et la géphyrotoxine interdisent aussi le mouvement des ions à travers le canal du récepteur à l'acétylcholine et par conséquent le déclenchement de la contraction (Myers & Daly 1983).

Les batrachotoxines n'existent que chez cinq espèces, les seules du genre *Phyllobates* : *P. bicolor*, *P. terribilis* et *P. aurotaenia* du Choco, dans le nord-ouest de la Colombie, *P. lugubris* du Panama et du Costa-Rica et *P. vittatus* du Costa-Rica (Myers *et al.* 1978). Les batrachotoxines augmentent sélectivement la perméabilité des membranes des cellules nerveuses et musculaires aux ions sodium. En empêchant la fermeture des canaux sodium, elles provoquent une entrée massive des ions sodium et par conséquent une dépolarisation des cellules. Les cellules nerveuses ne peuvent plus transmettre de potentiels d'action et les cellules musculaires restent contractées. Il s'ensuit chez les animaux intoxiqués une arythmie, une fibrillation et un arrêt du cœur. Cette action serait assez voisine de celle des venins de Scorpions. La dose minimale létale pour une Souris de 20 g est de 0,05 mg de batrachotoxine-homobatrachotoxine en injection sous-cutanée. *Phyllobates terribilis* a 1100 mg de ces toxines, la petite *P. aurotaenia* en a 27 fois moins. La batrachotoxine est 200 fois plus toxique que la digitoxine et 100 fois plus que la strychnine et l'aconitine. Le venin des *Phyllobates*, s'il passe dans le sang, est mortel pour l'homme. Il est vénéneux s'il est ingéré. Il n'y a pas d'antidote connu aux venins de la classe des batrachotoxines. Un traitement prenant comme modèle ceux pour les empoisonnements par aconitine ou véatridine pourrait être essayé (Daly *et al.* 1980, Myers & Daly 1983).

Il faut manipuler les *Phyllobates* avec beaucoup de précaution, **jamais à mains nues mais avec des gants**. On peut manipuler les *Dendrobates* à mains nues mais il ne faut pas se

frotter les yeux, on a parfois des sensations d'irritation quand on a des traces de cicatrices aux mains.

Les Amérindiens Nonama Choco, Embera Choco et Cuna de la région de San Juan (département du Choco et du Risaraldo) en Colombie se servent des sécrétions cutanées de *Phyllobates bicolor*, *P. terribilis* et *P. aurotaenia*, comme poison pour leurs petites flèches de sarbacane (Posada-Arango 1871, Myers *et al.* 1978). C'est efficace sur tous les Mammifères, y compris le jaguar, l'Ours et l'Homme. Tous les autres Amérindiens se servent du curare comme poison de flèche.

Des alcaloïdes de "Dendrobatidés" ont été trouvés dans d'autres familles d'Anoures, mais chez des espèces qui ont aussi une coloration vive à fonction avertisseuse comme les *Dendrobates* et les *Phyllobates*. Des pumiliotoxines, des décahydroquinolines, des quinolizidines, des indolizidines et des pyrrolizidines ont été décelées chez *Melamophryniscus moreirae* du Brésil et *Melamophryniscus stelzneri* d'Argentine et d'Uruguay (Garraffo *et al.* 1993a). Une allopumiliotoxine, des pumiliotoxines et les **pseudophrynamines**, une nouvelle classe d'alcaloïdes indoliques, existent chez les *Pseudophryne*, des Myobatrachidés d'Australie (Smith *et al.* 2002, Daly *et al.* 1984). Des pumiliotoxines, des quinolizidines, des indolizidines et des pyrrolizidines ont été inventoriées chez *Mantella madagascariensis*, *M. viridis*, *M. aurantiaca* et *M. crocea* de Madagascar ; une nouvelle classe d'alcaloïdes a été découverte chez ces deux dernières espèces (Garraffo *et al.* 1993b). Il n'y a pas d'histrionicotoxine chez toutes ces *Mantella* étudiées récemment alors que Daly *et al.* (1984) en avait trouvé dans la peau d'une *Mantella madagascariensis* achetée à un commerçant et donc élevée en captivité plus ou moins longtemps. De la morphine a été extraite de la peau de *Bufo marinus* (Oka *et al.* 1985).

De l'homobatrachotoxine a été trouvée dans la peau et les plumes de trois espèces de Passereaux du genre *Pitohui*, endémique de Nouvelle-Guinée, à la suite de malaises provoqués chez des ornithologues américains par le machouillage de plumes et la préparation des peaux de ces espèces pendant une mission scientifique. Un extrait de peau de *Pitohui dichrous* tue une souris de 20 g en 18 min (Dumbacher *et al.* 1992).

III. L'ORIGINE DES VENINS

Les Amphibiens synthétisent leurs amines biogènes et leurs peptides, les Bufonidés leurs bufodiéniolides mais les *Atelopus* ne synthétisent pas leurs tétrodotoxines (Daly 1998). *Phyllomedusa bicolor* continue ses sécrétions cutanées en captivité (Amiche com. pers.). Les samandarines sont apparemment synthétisées par *Salamandra salamandra* (Habermehl com. pers. in Daly *et al.* 2002). Les Dendrobatidés ne sécrètent plus leurs alcaloïdes après plusieurs années de captivité, ceux nés et élevés en captivité n'en sécrètent pas (Daly *et al.* 1980, Daly *et al.* 1992). Il semble avéré que les alcaloïdes des Dendrobatidés proviennent de proies-arthropodes, ils sont donc d'origine alimentaire (Daly *et al.* 1994, Daly 1998). Il en est de même pour les alcaloïdes des *Melanophryniscus* (Garrafo *et al.* 1993b) et des *Mantella* (Garrafo *et al.* 1993a). Les Pseudophryne d'Australie synthétisent leurs propres pseudophrynamines mais acquièrent leurs pumiliotoxines de leurs proies, on ignore encore desquelles (Smith *et al.* 2002). Chez les Dendrobatidés (*Phyllobates*, *Dendrobates*, *Epipedobates*), les Fourmis Myrmicinés semblent être la source des spiropyrrrolizidines et des indolizidines, les Coléoptères Coccinellidés des coccinellines tricycliques et un Diplopede Siphonotidé (*Rhinotus purpureus*) des oximes pyrrolizidines (Daly 1995, Daly *et al.* 2000, Saporito *et al.* 2003). Au Panama (île de Bastimentos), divers alcaloïdes de *Dendrobates pumilio*, dont la pumiliotoxine-A et une allopumiliotoxine, proviendraient de plusieurs Arthropodes de la litière tels que Fourmis, Coléoptères, Diploures, Hémiptères, Crustacés Isopodes, Myriapodes, Acariens, Pseudoscorpions et Araignées (Daly *et al.* 2002). Il y a été montré ensuite que leurs pumiliotoxines 307A et 323A proviennent des Fourmis Myrmicinés *Brachymyrmex longicornis*, *B. cf. depilis* et *Paratrechina steinheili* trouvées dans les contenus stomacaux de ces *Dendrobates* (Saporito *et al.* 2004). D'autres espèces de *Paratrechina*, présentes respectivement à Madagascar et en Australie, pourraient être la source des pumiliotoxines des *Mantella* et des *Pseudophryne*. Les alcaloïdes des Fourmis ne sont pas forcément synthétisés par les Fourmis elles-mêmes mais viendraient, dans le cas des *Brachymyrmex*, de bactéries symbiontes ou du suc des pucerons dont ils se délectent (Smith & Jones 2004).

IV. CONCLUSION

On relie hâtivement la toxicité des Dendrobatidés à leur myrmécophagie (un phénomène de co-évolution !), certains seraient tentés d'écrire qu'ils sont venimeux parce que ce sont

des “spécialistes de Fourmis”. Je peux affirmer que la plupart des Anoures terrestres, particulièrement les Bufonidés, sont aussi des spécialistes de Fourmis (Lescure 1965, 1971). Ceux-ci synthétisent pourtant leurs alcaloïdes.

Les venins des Dendrobatidés dépendent-ils de leur alimentation ? Il semble que ce soit vrai et que tel alcaloïde est présent ou absent dans une population de *Dendrobates pumilio* et pas dans une autre parce que l’Arthropode-proie, fournisseur de l’alcaloïde, y est ou n’y est pas (Saporito *et al.* 2004). Les alcaloïdes de Dendrobatidés sont en réalité des alcaloïdes d’Arthropodes (Daly 1998).

Le venin, reflet de l’alimentation ? Aristote y croyait quand il écrivait : “Tous ces animaux venimeux deviennent encore plus à craindre lorsqu’ils ont mangé un autre animal venimeux ; ainsi la vipère est plus mauvaise lorsqu’elle a mangé un scorpion” (traduction Camus 1783). Décidément, Cuvier (1827) avait raison de dire qu’en zoologie (ou en biologie), “Aristote n’avait sur ce point laissé que peu de choses à faire aux siècles qui sont venus après lui”.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Amiche M., Delfour A. & Nicolas P. 1996 - Les trésors de la peau des grenouilles, un puissant cocktail pharmacologique à fleur d’épiderme. *La Recherche*, 291 : 72-78.

Amiche M., Ducancel F., Mor A., Boulain J.C., Menez A. & Nicolas P. 1994 - Precursors of Vertebrates Peptide Antibiotics Dermaseptine b and Adenoregulin Have extensive Sequence Identities with Precursors of Opioid Peptides Dermorphin, Dermenkephalin, and Deltorphins. *J. Biol. Chem.*, 269 (27) : 17847-17852.

Amiche M., Sagan S., Mor A., Montagne J.J., Delfour A. & Nicolas P. 1989 - Dermorphin, a naturally occurring peptide containing a D-aminoacid residue, is an extraordinarily potent and specific agonist for the m (morphine)-opioid receptor. In Aubry A., Maraud M., Vitoux B. éd. Second Forum on Peptides. Colloque INSERM, 174 : 503-507.

Andary C., Privat G., Serrano J.J. & François C. 1978 - Dérivés 5-hydroxyindoliques chez les amanites. Étude chimique et pharmacologique. *Coll. Médecine légale et toxicologie médicale*, 106 : 43-54.

Bedford P.G.C. 1974 - Toad venom toxicity and its clinical occurrence in small animals in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, 94 : 613-614.

Bradley S.C. & Klika L.J. 1981 - A fatal poisoning from the Oregon rough-skinned newt (*Taricha granulosa*). *J. Am. Med. Ass.*, 246(3) : 247.

Brandon R.A. & Huheey J.E. 1981 - Toxicity in the Plethodontid Salamanders *Pseudotriton ruber* and *Pseudotriton montanus* (Amphibia, Caudata). *Toxicon*, 19 : 25-31.

Brodie E.D. 1968 - Investigations on the skin toxin of the adult rough-skinned newt, *Taricha granulosa*. *Copeia*, 1968(2) : 307-313.

Brodie E.D. 1976 - Additional observations on the Batesian mimicry of *Notophthalmus viridescens* efts by *Pseudotriton ruber*. *Herpetologica*, 32 : 68-76.

Brodie E.D. 1977 - Hedgehogs use toad venom in their own defence. *Nature*, 268(5621) : 627-628.

Brodie E.D., Hensel J.L. & Johnson J.A. 1974 - Toxicity of the Urodele Amphibians *Taricha*, *Notophthalmus*, *Cynops* and *Paramesotriton* (Salamandridae). *Copeia*, 1974(2) : 506- 511.

Camus M. 1783 - Histoire des Animaux d'Aristote avec la Traduction françoise. Desaint, Paris. 758 p.

Cei J.M. 1985 - Taxonomic and Evolutionary Significance of Peptides in Amphibian Skin. *Peptides*, 6 (suppl. 3) : 13-16.

Cei J.M., Erspamer V. & Roseghini M. 1968 - Taxonomic and evolutionary significance of biogenic amines and polypeptides in amphibian skin. II. Toads of the genera *Bufo* and *Melanophryniscus*. *Syst. Zool.*, 17 : 232-245.

Cevikbas A. 1978 - Antibacterial activity in the skin secretion of the Frog *Rana ridibunda*. *Toxicon*, 16 : 195-197.

Chartrel N., Conlon J.M., Danger J.M., Fournier M.C., Tonon M.C. & Vaudry H. 1991 - Characterization of melanotropin-release-inhibiting factor (melanostatin) from frog brain : Homology with human neuropeptid Y. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88 : 3862-3866.

Collier M. 1965 - Altérations oculaires par venin de crapaud. *Bull. Soc. Ophthalmol. Fr.*, 65 : 129-131.

Croce G., Giglioli N. & Bolognani L. 1973 - Antimicrobial activity in the skin secretions of *Bombina variegata pachypus*. *Toxicon*, 11 : 99-100.

Csordas A. & Michl H. 1970 - Isolierung und Strukturaufklärung eines hämolytisch wirkenden Polypeptides aus dem Abwehrsekret europäischer Unken. *Mh Chem.*, 101 : 182

Cuvier G. 1827 - Rapport historique sur les progrès des sciences naturelles depuis 1789 et sur leur état naturel. Firmin Didot. Paris 2^e édit. 634 p.

Daly J.W. 1995 - The chemistry of poisons in amphibian skin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92 : 9-13.

Daly J.W. 1998 - Thirty years of Discovering Arthropod Alkaloids in Amphibian skin. *J. Nat. Products*, 61(1) : 162-172.

Daly J.W., Caceres J., Moni R.W., Gusovsky F., Moos M.Jr, Seamon K.B., Milton K. & Myers C.W. 1992 - Frog secretions and hunting magic in the upper Amazon : Identification of a peptide that interacts with an adenosine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89 : 10960-10963.

Daly J.W., Garraffo H.M., Spande T.F., Jaramillo C. & Rand S. 1994 - Dietary source for skin alkaloids of poison frogs (Dendrobatidae). *J. Chem. Ecol.*, 20(4) : 943-955.

Daly J.W., Garraffo H.M., Jain P., Spande T.F., Snelling P.F., Jaramillo C. & Rand S. 2000 - Arthropod-frog connection : decahydroquinoline and pyrrolizidine alkaloids common to microsympatric myrmicine ants and dendrobatid frogs. *J. Chem. Ecol.*, 26 : 73-85.

Daly J.W., Gusovsky F., Myers C.W., Yotsu-Yamashita M. & Yasumoto T. 1994 - First occurrence of tetrodotoxin in a Dendrobatid Frog (*Colostethus inguinalis*), with further reports for the Bufonid genus *Atelopus*. *Toxicon*, 32(3) : 279-285.

Daly J.W., Highet R.J. & Myers C.W. 1984 - Occurrence of skin alkaloids in non-dendrobatid frogs from Brazil (Bufonidae), Australia (Myobatrachidae) and Madagascar (Mantellinae). *Toxicon*, 22(6) : 905-919.

- Daly J.W., Kaneko T., Wilham J., Garraffo H.M., Spande T.F., Espinosa A. & Donnelly M.A. 2002 - Bioactive alkaloids of frog skin : Combinatorial bioprospecting reveals that pumiliotoxins have an arthropod source. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99 : 13996-14001.
- Daly J.W., Myers C.W., Warnick J.E. & Albuquerque E.X. 1980 - Levels of batrachotoxin and lack of sensitivity to its action in poison-dart frogs (*Phylllobates*). *Science*, 208 : 1383-1385.
- Daly J.W., Myers C.W. & Witthaker N. 1987 - Further classification of Skin alkaloids from neotropical Poison frogs (Dendrobatidae), with a general survey of toxic /noxious substances in the Amphibia. *Toxicicon*, 25(10) : 1023-1095.
- Daly J.W., Noimai N., Kongkathip B., Kongkathip N., Wilham J.M., Garraffo H.M., Kaneko T., Spande T.F., Nimit Y., Nabhitabhata J. & Chan-Ard T. 2004 - Biologically active substances from amphibian : preliminary studies on anurans from twenty-one genera of Thailand. *Toxicicon*, 44 : 805-815.
- Daly J.W., Secunda S.I., Garraffo H.M., Spande T.F., Wisnieski A., Nishihira C. & Cover J.F. Jr 1992 - Variability in alkaloids profiles in neotropical Poison frogs (Dendrobatidae) : genetic *versus* environmental determinants. *Toxicicon*, 30(8) : 887-898.
- Daly J.W., Secunda S.I., Garraffo H.M., Spande T.F., Wisnieski A. & Cover J.F. Jr 1994 - An uptake system for dietary alkaloids in poison frogs (Dendrobatidae). *Toxicicon*, 32(6) : 657-663.
- Dumbacher J.P., Beehler B.M., Spande T.F., Garraffo H.M. & Daly J.W. 1992 - Homobatrachotoxin in the genus *Pitohui* : Chemical Defense in Birds ? *Science*, 258 : 799- 801.
- Erspamer V. 1971 - Biogenic amines and active polypeptides of the amphibian skin. *A. Rev. Pharmac.*, 11 : 327-350.
- Erspamer V., Falconieri Erspamer G. & Cei J.M. 1986 - Active peptides in the skins of two hundred and thirty American amphibian species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 85C : 125-137.
- Faust E. 1899 – Ueber das Samandarin. *Arch. f. experiment. Path. u. Pharm.*, 43 : ~~xx-xx~~.
- Flier J., Edwards M.W., Daly J.W. & Myers C.W. 1980 - Widespread occurrence in frogs and toads of skin compounds interacting with the ouabain site of Na⁺, K⁺-ATPase. *Science*, 208 : 503-505.
- Garraffo H.M., Caceres J., Daly J.W. & Spande T.F. 1993a - Alkaloids in Madagascan frogs (*Mantella*): pumiliotoxins, indolizidines, quinolizidines and pyrrolizidines. *J. Nat. Products*, 56(7) : 1016-1038.
- Garraffo H.M., Spande T.F. & Daly J.W. 1993b - Alkaloids from Bufonid Toad (*Melanophryniscus*): decahydroquinolins, pumiliotoxins and homopumiliotoxins, indolizidines, pyrrolizidines, and quinolizidines. *J. Nat. Products*, 56(3) : 357-373.
- Jaussi R. & Kunz P.A. 1978 - Isolation of the major toxin protein from the skin venom of the crested newt, *Triturus cristatus*. *Experientia*, 34 : 503-504.
- Kellar K.J. 1995 - Epibatidine : its pharmacological Actions and Utility for Studying Neuronal Nicotinic Receptors. *Neurotransmissions*, 11(4) : 1-5.
- Kim Y.H., Brown G.B., Moscher H.S. & Fuhrman F.A. 1975 - Occurrence of Tetrodotoxin in atelopid frogs of Costa-Rica. *Science*, 189 : 151-152.
- Kiss G. & Michl H. 1962 - Uber das giftsekret der gelbauchunke, *Bombina variegata* L. *Toxicicon*, 1 : 33-39.
- Kramer B. 1970 - Histochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine in poison glands of amphibian skin. *Histochemie*, 24 : 336-342.

- Lescure J. 1965 - L'alimentation et le comportement de prédation chez *Bufo bufo*. Thèse Fac. Sciences. Paris, 164 p.
- Lescure J. 1971 - L'alimentation du Crapaud *Bufo regularis* Reuss et de la Grenouille *Dicroglossus occipitalis* (Günther) au Sénégal. *Bull. IFAN*, 33, sér. A(2) : 446-466.
- Licht L.E. 1967 - Death following possible ingestion of toad eggs. *Toxicon*, 5 : 141-142.
- Mebis D. & Schmidt K. 1989 - Occurrence of tetrodotoxin in the frog *Atelopus oxyrhyncus*. *Toxicon*, 27 : 819-822.
- Mebis D., Yotsu-Yamashita M., Yasumoto T., Lötters S. & Schlütter A. 1995 - Further report of the occurrence of tetrodotoxin in *Atelopus* species (family Bufonidae). *Toxicon*, 33(2): 246-249.
- Milton K. 1994 - No pain, No Game. *Nat. Hist.*, 94 : 45-49.
- Mor A. & Nicolas P. 1994 - The NH₂-terminal alpha-Helical Domain 1-18 of Dermaseptin is Responsible for Antimicrobial Activity. *J. Biol. Chem.*, 269(3) : 1934-1939.
- Mor A., Delfour A., Sagan S., Amiche M., Pradelles P., Rossier J. & Nicolas P. 1989 - Isolation of dermenkephalin from amphibian skin, a high-affinity δ -selective opioid heptapeptide containing a D-amino acid residue. *FEBS letters*, 255(2) : 269-274.
- Mor A., Amiche M. & Nicolas P. 1994 - Structure, Synthesis, and Activity of Dermaseptin b, a Novel Vertebrate Defensive Peptide from Frog Skin: Relationship with Adenoregulin. *Biochemistry*, 33(21) : 6642-6650.
- Mor A., Chartrel N., Vaudry H. & Nicolas P. 1994 - Skin peptide tyrosine-tyrosine, a member of the pancreatic polypeptide family: isolation, structure, synthesis, and endocrine activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91 : 10295-10299.
- Moscher H.S., Fuhrman F.A., Buchwald H.D. & Fischer H.G. 1964 - Tarichatoxin-tetrodotoxin: a potent neurotoxin. *Science*, 144 : 1100-1110.
- Myers C.W. & Daly J.W. 1983- Dart-poison frogs. *Sci. Am.*, 248 : 120-133.
- Myers C.W. & Daly J.W. & Malkin B. 1978 - A dangerously toxic new frog (*Phyllobates*) used by Embera Indians of western Colombia, with discussion of blowgun fabrication and dart poisoning. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 161 : 307-366.
- Oka K., Kantrowitz J.D. & Spector S. 1985 - Isolation of morphine from toad skin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82 : 1852-1854.
- Otani A., Palumbo N. & Read G. 1969 - Pharmacodynamics and treatment of Mammals poisoned by *Bufo marinus*. *Toxin. Am. J. Vet. Res.*, 30(10) : 1865-1872.
- Pavelka L.A., Kim Y.H. & Moscher H.S. 1977 - Tetrodotoxin and Tetrodotoxin-like compounds from the eggs of the Costa Rican Frog, *Atelopus chiriquiensis*. *Toxicon*, 15 : 135-139.
- Perry B.D. & Bracegirdle J.R. 1973 - Toad poisoning in Small Animals. *Vet. Rec.*, 92 : 589-590.
- Peyresblanques J. 1964 - Atteinte oculaire par venin de crapaud. *Bull. Soc. Ophthalmol. Fr.*, 64 : 493-502.
- Phisalix C. 1889a - Expériences sur le venin de la Salamandre terrestre et son alcaloïde. *Ass. Fr. Avanc. Sci. Conf. Paris*, I : 311-312.
- Phisalix C. 1889b - Nouvelles expériences sur le venin de la Salamandre terrestre. *C.R. Acad. Sci.*, 109 : 405-407.

- Phisalix C. 1897 - Action physiologique du venin de Salamandre du Japon (*Sieboldia maxima*). Atténuation par la chaleur et vaccination de la grenouille contre ce venin. *C.R. Acad. Sci.*, 125 : 121-123.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1893 - Toxicité comparée du sang et du venin du Crapaud considérée au point de vue de la sécrétion interne des glandes cutanées de cet animal. *C.R. Soc. Biol.*, 45 : 477-479.
- Phisalix C. & Bertrand G. 1902 - Sur les principes actifs du venin de Crapaud commun. *C.R. Soc. Biol.*, 54 : 932-934.
- Phisalix-Picot M. 1900 - Recherches embryologiques, histologiques et physiologiques sur les glandes à venin de la Salamandre terrestre. Thèse Médecine Paris. Schleicher, Paris. 140 p. pl. I-VII.
- Phisalix M. 1908 - Action physiologique du venin des Batraciens et en particulier des Discoglossidés. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.*, 14 : 306-310.
- Phisalix M. 1910a - Morphologie des glandes cutanées des Batraciens apodes, et en particulier du *Dermophis thomensis* et de *Siphonops annulatus*. *Bull. Mus Natl. Hist. Nat.*, 4 : 238-242, pl V et VI.
- Phisalix M. 1910b - Structure et signification de la glande brachiale du *Pelobates cultripes*. *Bull. Mus Natl. Hist. Nat.*, 5 : 282-285.
- Phisalix M. 1910c - Répartition et signification des glandes cutanées chez les Batraciens. *Ann. Sci. Nat.* 9^e sér., 12 : 183-201, pl. II-X.
- Phisalix M. 1910d - Action physiologique du venin muqueux des Batraciens sur ces animaux eux-mêmes et sur les Serpents. Cette action est la même que celle du venin de Vipère. *J. Physiol. Pathol. Gén.*, 3 : 326-330.
- Phisalix M. 1912a - Répartition des glandes cutanées et leur localisation progressive, en fonction de la disparition des écailles chez les Batraciens apodes. Verhandlungen des VIII. Internationalen Zoologen-Kongress zu Graz, 15-20 August 1910 : 605-609.
- Phisalix M. 1912b - La peau et la sécrétion muqueuse chez le Protée anguillard et la Sirène lacertine. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.*, 3 : 191-193.
- Phisalix M. 1918 - Les venins cutanés du *Spelerpes fuscus* Gray. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.*, 24 : 92-96.
- Phisalix M. 1922 - Animaux venimeux et venins. Masson, Paris. T.1, 656 p. ; T. 2, 864 p.
- Phisalix M. 1923 - Le venin cutané muqueux du *Bombinator pachypus*, Var. *Breviceps* Blasius. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.*, 29 : 40-44.
- Phisalix M. 1924 - Le venin cutané muqueux de l'Euprocte spécial aux Pyrénées. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.*, 30 : 351-354.
- Phisalix M. & Dehaut G. 1908 - Action physiologique du venin muqueux d'un Batracien, le *Discoglossus pictus*. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.*, 14 : 302-305.
- Phisalix M & Dehaut G. 1909 - Action physiologique du venin muqueux d'un Batracien anoure, le *Pelobates cultripes*. *C. R. Soc. Biol.*, 67 : 285-287.
- Pollock H.G., Hamilton J.W., Rouse J.B., Ebner K.E. & Ravitch A.B. 1988 - Isolation of Peptid hormones from the Pancreas of the Bullfrog (*Rana catesbeiana*). *J. Biol. Chem.*, 263(20) : 9746-9751.
- Posada-Arango A. 1871 - Le poison de la Rainette sauvage du Choco. *Arch. Méd. Nav.*, 16 : 203-213.
- Rabor D.S. 1952 - Preliminary notes on the giant toad, *Bufo marinus* (Linn.) in the Philippine Islands. *Copeia*, 1952(4) : 281-282.
- Reeve N. 1994 - Hedgehogs. T. & AD Poyser Natural History, Londres. 313 p.

Roseghini M., Erspamer V., Erspamer G.F. & Cei J.M. 1986 - Indole-, imidazole- and phenyl-alkylamines in the skin of one hundred and forty American amphibian species other than bufonids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 85C : 139-147.

Saporito R.A., Donnelly M.A., Hoffman F.A., Garraffo H.M. & Daly J.W. 2003 - A siphonotid millipede (*Rhinotus*) as the source of spiropyrrolizidine oximes of Dendrobatid frogs. *J. Chem. Ecol.*, 29 : 2781-2786.

Saporito R.A., Garraffo H.M., Donnelly M.A., Edwards A.L., Longino J.T. & Daly J.W. 2004 - Formicine ants : An arthropod source for the pumiliotoxin alkaloids of dendrobatid poison frogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(21) : 8045-8050.

Smith B.P., Tyler M.J., Kaneko T., Garraffo H.M., Spande T.F. & Daly J.W. 2002 - Evidence for Biosynthesis of Pseudophrynamine Alkaloids by an Australian Myobatrachid Frog (*Pseudophryne*) and for Sequestration of Dietary Pumiliotoxins. *J. Nat. Products*, 65(4) : 439-447.

Smith S.Q. & Jones T.H. 2004 - Tracking the cryptic pumiliotoxines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101 (21) : 7841-7842.

Tittelboom T. Van, Kuhn D. & Strauven A. 1988 - Altérations oculaires par venin de Crapaud. *J. Toxicol Cliniq. Expériment.*, 8(2) : 95-99.

Wakely J.F., Fuhrman G.J., Fuhrman F., Fischer H.G. & Moscher H.S. 1966 - The occurrence of tetrodotoxin (*Tarichatoxin*) in Amphibia and the distribution of the toxin in the organs of Newts (*Taricha*). *Toxicon*, 3 : 195-203.

Yotsu M., Iorizzi M. & Yasumoto T. 1990 - Distribution of tetrodotoxin, 6-Epitetrodotoxin, and 11-deoxytetrodotoxin in newts. *Toxicon* 28(2) : 238-241.

Yotsu-Yamashita M., Mebs D. & Yasumoto T. 1992 - Tetrodotoxin and its analogues in extracts from the toad *Atelopus oxyrhynchus* (Family : Bufonidae). *Toxicon*, 30(11) : 1489-1492.

Zalesky 1866 - Ueber das Samandarin, das gift der *Salamandra maculosa*. *Med. Chem. Untersch* (Hoppe-Seyler). I : 85

Zasloff M. 1987 - A novel class of vertebrate anti-microbial proteins : Purification and characterization of two active polypeptides from *Xenopus* skin and partial cDNA sequence of precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84 : 5449-5453.

Manuscrit accepté le 18 septembre 2007

Épidémiologie des envenimations

par

Jean-Philippe CHIPPAUX

IRD, CP 9214, La Paz, Bolivie
chippaux@ird.fr

Résumé - L'incidence et la gravité des morsures de serpent dans le monde demeurent très mal connues. Cette information permettrait pourtant une meilleure prise en charge du traitement et un approvisionnement adéquat en sérums antivenimeux. Le plus souvent, l'incidence est estimée par des enquêtes épidémiologiques ponctuelles. La morbidité est donnée par les registres des structures sanitaires. Enfin, la mortalité est fournie par l'état civil, lorsqu'il existe. Le nombre annuel de morsures de serpent dépasse 5 millions, dont la moitié est suivie d'envenimations. Le nombre de décès est voisin de 125 000 par an et des séquelles graves surviennent chez 100 000 patients. D'un pays à l'autre, on constate une grande disparité des données épidémiologiques concernant les morsures de serpent. Ce fait tient, d'une part, au mauvais recueil des informations épidémiologiques et, d'autre part, à la grande diversité écologique et économique de ces régions. Il faut souligner par ailleurs que les pays où les serpents sont les plus abondants et les espèces les plus venimeuses disposent des infrastructures sanitaires les plus rudimentaires et de la disponibilité la plus faible en sérums antivenimeux.

Mots-clés : Envenimations ophidiennes, Épidémiologie, Traitement, Sérum antivenimeux.

Summary - Epidemiology of snakebites. Incidence and severity of snakebites in the world remain very poorly known. This information however would allow better treatment and adequate supply of drugs and antivenins. Generally, the incidence is estimated by specific epidemiologic investigations. Morbidity is given by the files of medical structures. Finally, mortality is provided by registers, if they exist. The annual number of snakebites exceeds 5 million, the half of which lead to envenomations. The number of deaths is close to 125,000 a year and disabilities occur among 100,000 patients. From one country to another, great disparities appear in epidemiological data concerning snakebites. This is due, on the one hand, to the low report of epidemiological information and, on the other hand, to great ecological and economical differences between areas. It should be stressed that the countries where snakes are the most abundant and poisonous are that those where medical facilities and antivenins availability are the poorest.

Key-words: Snake envenomations, Epidemiology, Treatment, Antivenin.

1. INTRODUCTION

La fréquence des morsures et leur gravité dépendent à la fois des activités humaines et de celles des serpents. La rencontre homme/serpent n'est pas aléatoire et de nombreux facteurs peuvent expliquer le "risque ophidien". À côté de morsures occasionnelles ou acciden-

telles, on observe depuis quelques décennies, surtout dans les pays industrialisés, des morsures induites liées à la manipulation volontaire des serpents et à leur élevage.

2. ÉCOLOGIE DES SERPENTS

Les activités ophidiennes sont difficiles à mesurer. Pour l'épidémiologiste, deux informations sont importantes et le plus souvent suffisantes : la densité et la composition du peuplement. La densité ophidienne, variable dans l'espace et le temps, explique en grande partie l'incidence des morsures. La composition taxonomique du peuplement, qui est la proportion des diverses espèces rencontrées dans un lieu précis, conditionne la gravité des morsures.

Des différentes méthodes utilisées pour récolter les serpents et en étudier la démographie, l'écologie ou l'éthologie, nous retiendrons la capture active qui consiste à ramasser les serpents morts ou vivants au gré des rencontres. C'est celle qui donne le plus d'informations à l'épidémiologiste en lui permettant d'évaluer la fréquence de rencontre avec chacune des espèces récoltées et de déterminer le risque qu'elles représentent en cas de morsure. Cette mesure, moins précise que la densité absolue, est fortement soumise aux conditions environnementales, comportement du serpent et méthodes de captures utilisées.

D'une façon générale, la densité de serpents et la diversité du peuplement sont liées autant à l'abondance des proies qu'aux conditions offertes par le milieu physique : abris naturels, présence d'eau de surface, etc. Ces dernières ont elles-mêmes une influence sur la quantité de proies. Ainsi, on constate une diminution progressive et significative de la densité de serpents et du nombre d'espèces de la forêt vers le Sahel.

Les variations de densité de populations peuvent avoir des origines naturelles, accidentelles ou circonstancielles. Une baisse de la pluviosité s'accompagne d'une forte diminution des peuplements ophidiens, tant en raison de la baisse du nombre de proies que des conditions environnementales défavorables, notamment la sécheresse du sol. Les feux de brousse allumés pour pratiquer la culture sur brûlis provoquent une réduction significative et durable de la densité d'ophidiens par rapport aux zones non cultivées (Barbault, 1974).

La destruction des serpents par les humains est loin d'être une cause négligeable d'appauvrissement de la faune ophidienne. Elle peut être volontaire (élimination d'espèces venimeuses dangereuses, consommation de serpents considérés comme un gibier, utilisation en maroquinerie, vente aux terrariophiles) ou involontaire (serpents écrasés sur les routes).

L'anthropisation des milieux se révèle défavorable pour la majorité des espèces ophidiennes, même si certaines espèces en tirent un certain bénéfice, notamment chez les Viperidae.

Les serpents se déplacent en quatre occasions, mais toujours sur des trajets et dans des aires limités.

- **La chasse** laisse des intervalles de repos de plusieurs jours ou semaines pour permettre la digestion. Effectuée à des heures régulières, variables selon les espèces, c'est la cause essentielle de mouvements individuels des serpents au cours du nyctémère. Cette activité peut se modifier au rythme des saisons. La température, l'insolation et l'hygrométrie sont probablement des facteurs essentiels.

- **La thermorégulation** est assurée chez les serpents, animaux poïkilothermes, par une exposition au soleil qui permet le réchauffement du corps. La durée de l'insolation dépend de la température extérieure, des besoins métaboliques et de l'état de santé du serpent. En effet, incapable d'élever lui-même sa température centrale, en cas de fièvre, il lui est nécessaire de se mettre au soleil pour se réchauffer. Dans les pays tempérés, durant l'hiver, les serpents hibernent.

- **L'accouplement** est une activité généralement saisonnière. La recherche du partenaire sexuel provoque un accroissement de la fréquence de rencontre homme/serpent. En pays tempéré, les accouplements ont lieu au printemps, juste après la sortie de l'hibernation. En région tropicale, les accouplements se situent généralement en fin de saison sèche. Au cours de la gestation, les femelles se déplacent peu mais s'exposent davantage au soleil pour réguler leur température et favoriser la maturation des œufs.

- **Les naissances**, activité également saisonnière, sont suivies chez les jeunes serpents par la recherche de leur nouveau territoire. La brusque augmentation de densité de serpents, liée à la forte fécondité de la plupart des espèces, se réduira rapidement au cours des mois suivants du fait de la forte prédation.

C'est l'association de ces différentes contraintes qui explique en grande partie les variations saisonnières de densité de peuplements.

La composition taxonomique des peuplements peut se limiter en épidémiologie à la proportion d'espèces venimeuses présentes dans un biotope ou un site particulier. L'identification des espèces dangereuses permet d'anticiper le taux et la gravité des envenimations, ainsi que la symptomatologie majeure à redouter.

Les aménagements hydrauliques ou agricoles sont certainement un facteur essentiel de redistribution des peuplements ophidiens : les conditions environnementales entraînent, d'une part, une modification de la densité du peuplement ophidien et, d'autre part, la sélection de certaines espèces. L'agriculture vivrière, ou villageoise traditionnelle, occupe une faible surface si l'on considère la taille respective de chaque exploitation. La surface limitée des champs explique l'absence de rupture nette avec le milieu naturel. Les serpents rencontrés y sont les mêmes que dans la brousse environnante et leur comportement n'est pas sensiblement modifié. En revanche, dans les plantations commerciales, la dimension des surfaces exploitées et leurs particularités écologiques par rapport au milieu naturel font qu'elles constituent un domaine spécifique. Chaque type de plantation possède une structure de peuplement propre liée au produit cultivé et aux méthodes agricoles utilisées (Chippaux et Bressey, 1981). En zone urbaine, la sélection des espèces est beaucoup plus forte. Pourtant, quelques serpents venimeux font preuve d'un commensalisme inquiétant vis-à-vis de l'homme (*Bothrops atrox* en Amérique du Sud, *Naja nigricollis* en Afrique intertropicale ou certaines espèces de Crotalinae en Asie du Sud-Est). La densité ophidienne reste faible, mais la densité de population humaine y est particulièrement élevée, d'où un risque de rencontre non négligeable.

3. COMPORTEMENTS HUMAINS

En milieu rural, les activités humaines représentent une exposition de fait aux morsures de serpent. On constate toutefois des variations importantes en fonction du biotope. Elles trouvent une explication dans le comportement des serpents aussi bien que dans les pratiques agricoles.

Dans les pays industrialisés, une faible proportion de la population est concernée par l'agriculture, de plus, fortement mécanisée. Même dans les pays industrialisés où l'on rencontre de nombreuses espèces dangereuses pour l'homme, le risque de morsures de serpent est réduit. À l'opposé, le tourisme et les activités récréatives en contact avec le milieu naturel plus ou moins aménagé croissent régulièrement, ce qui augmente relativement le risque d'accidents.

Si, dans les pays tempérés, les morsures de serpent constituent un événement rare, dans les pays tropicaux ou équatoriaux, l'incidence de ces morsures peut être considérable. Les

travaux agricoles non ou peu mécanisés sont à l'origine du plus grand nombre d'accidents. Il est possible de quantifier plus précisément l'exposition au risque en mesurant le temps de travail effectué et la nature de celui-ci. Cela est relativement simple en plantation commerciale, où l'effectif et le temps de travail des ouvriers sont programmés et mesurés avec précision. C'est plus difficile en plantations vivrières, pour lesquelles ces informations ne sont pas toujours disponibles.

Les occupations de l'homme sont elles-mêmes saisonnières, ce qui explique la distribution des morsures au cours de l'année. Dans les grandes plantations commerciales, la densité humaine est importante et affectée le plus souvent à une activité commune. Les horaires réguliers tendent à uniformiser le risque. L'incidence y est en général plus élevée qu'en plantation villageoise. La morbidité est très variable selon la composition spécifique du peuplement, d'où l'intérêt de l'identifier. Dans certains cas, la programmation du travail agricole conduit à une situation paradoxale où le nombre de morsures ne reflète plus les observations de densité. Certaines activités agricoles, même si elles sont brèves, favorisent plus que d'autres le contact des ouvriers avec les serpents. Le nettoyage manuel des plantations de bananes ou de cannes à sucre est l'illustration parfaite de ce phénomène. Effectué en dehors des saisons d'activités intenses (tant humaines qu'ophidiennes) et pendant un court laps de temps avec un personnel réduit, il représente néanmoins un risque particulièrement élevé multipliant par 2 ou 3 l'incidence observée au cours des autres activités agricoles.

Le nombre d'agriculteurs présents simultanément en plantation villageoise traditionnelle est peu important et leurs horaires de travail assez variables.

Certaines activités non agricoles favorisent le contact avec les serpents : chasse, pêche, camping constituent autant d'occasions de rencontre. Les serpents se camouflent sous les pierres, les tas de bois mort, dans les buissons et peuvent attaquer, lorsqu'ils sont surpris ou se sentent menacés.

Chez les touristes et les expatriés, l'incidence des envenimations est très inférieure à celle des agriculteurs, parfois d'un facteur 20 ou 30 (Chippaux et Goyffon, 1997). Cela s'explique par des activités qui ne favorisent pas les contacts avec les animaux venimeux et, peut-être, par une certaine prudence dans le comportement ou par un équipement vestimentaire approprié. En revanche, le risque lié à certains comportements doit être souligné. Marcher nu-pied, mettre la main dans une anfractuosité d'arbre, de rocher ou de termitière peut avoir des conséquences fâcheuses dans certains pays tropicaux.

À l'opposé, et tout particulièrement dans les pays industrialisés, se développe depuis trois décennies un nouveau type de morsures. Elles sont appelées morsures illégitimes par les Anglo-Saxons, morsures hasardeuses dans les premières publications francophones ; mais le terme de morsures induites semble plus approprié. Elles surviennent lors de la manipulation intentionnelle de serpents. Le développement du phénomène des nouveaux animaux de compagnie (NAC), parmi lesquels les reptiles ne sont pas les moins représentés, laisse présager une augmentation et une expansion de ce risque, y compris dans les pays émergents (Chippaux et Goyffon, 1989). Les morsures induites présentent des particularités remarquables : l'agresseur est identifié, la proximité d'un centre de soins intensifs est fréquente. En revanche, il est habituel d'observer des tableaux cliniques sévères : les serpents détenus en captivité appartiennent souvent à des espèces dangereuses ; en outre, ils sont bien nourris et enclins à inoculer d'autant plus de venin que leur possibilité de fuite est réduite.

4. ÉPIDÉMIOLOGIE DES MORSURES

La connaissance que l'on a de l'épidémiologie des morsures de serpent est très parcellaire (Chippaux, 1998). Dans la majorité des pays en développement, où elles sont les plus nombreuses, les victimes d'envenimation ophidienne ne parviennent pas au centre de santé, pour de multiples raisons (Chippaux, 1999). Par ailleurs, les statistiques sanitaires y sont très incomplètes. Enfin, le report des cas d'envenimation n'est obligatoire que dans quelques rares pays (au Myanmar par exemple, Aung-Khin, 1980).

Les serpents ne mordent que pour se défendre et protéger leur fuite. De plus, l'inoculation du venin n'est pas un phénomène inéluctable mais une riposte à une situation critique. On distingue la morsure sèche, sans pénétration de venin, de l'envenimation, qui est le résultat de l'action pharmacologique du venin et de la réaction de l'organisme qui en découle (Silveira et Nishioka, 1995).

Dans les pays industrialisés, en dehors des morsures induites, qui concernent plus particulièrement les hommes, les deux sexes connaissent une incidence équivalente. Il n'y a pas non plus d'âge d'exposition particulier.

Dans les régions tempérées, les morsures surviennent entre le printemps et l'automne, principalement pendant la journée. Il y a une augmentation au moment des vacances estivales.

Une proportion importante de morsures, entre 50 et 70 % selon les pays, se situent au niveau des membres inférieurs. Les mains sont concernées dans le quart ou le tiers des accidents, la tête et le tronc dans les autres cas.

Dans les pays en développement, les hommes jeunes sont les plus atteints : ils subissent entre 50 et 75 % des morsures. Les enfants, alors qu'ils représentent près de la moitié de la population générale, sont peu mordus, de même que les femmes. Pourtant, ces dernières ont une activité à risque similaire, voire supérieure, à celle des hommes.

L'incidence saisonnière des accidents est liée au comportement des serpents et au calendrier agricole. Il y a quelques variations géographiques liées aux pratiques agraires : en région forestière, les morsures sont étalées dans l'année alors qu'en savane, les accidents sont plus nombreux en saison pluvieuse. La relation avec la pluviométrie traduit son étroite implication sur les comportements humains et ophidiens.

Une majorité de morsures se produit en fin d'après-midi ou en début de soirée. Quelques-unes ont lieu la nuit, à domicile, et sont infligées au cours du sommeil par des serpents circulant dans les maisons en quête de nourriture.

Plus de 80 % des morsures siègent au membre inférieur, principalement au-dessous du genou, mais on observe d'importantes variations géographiques. Les morsures à la main sont plus rares, sans être exceptionnelles, notamment chez les agriculteurs qui travaillent avec des outils pourvus d'un manche court ou chez les enfants qui fouillent à mains nues dans les terriers à la recherche de petits vertébrés pour compléter leur alimentation.

La gravité des morsures est influencée par plusieurs facteurs. La toxicité du venin et la quantité injectée par le serpent sont bien évidemment des éléments essentiels. Ils dépendent de l'espèce de serpent, de sa taille, de la capacité de ses glandes à venin, de leur état de réplétion et des circonstances de la morsure.

L'âge, la taille, l'état de santé de la victime et le siège de la morsure sont également des facteurs importants.

Le délai de consultation aura également de grandes conséquences. Un retard est source de complications et réduit l'efficacité du traitement dans des proportions difficiles à évaluer (Chippaux *et al.*, 2007). Dans les pays en développement, les victimes consultent plusieurs heures ou jours, voire semaines, après l'accident.

Une prise en charge défectueuse, par carence des structures de santé ou absence de matériel et de médicaments appropriés, comme cela est fréquent dans de nombreux pays en

développement, augmente le risque d'évolution défavorable quel que soit le délai de consultation. Les premiers soins, lorsqu'ils sont agressifs – garrot, incisions, scarifications, cataplasme septique ou autre – risquent de réduire la circulation sanguine, d'infecter les plaies ou de provoquer des hémorragies. La surinfection aggrave les lésions locales et entraîne des séquelles invalidantes.

Selon les biotopes et la fiabilité des statistiques sanitaires du pays, les morsures sèches, c'est-à-dire asymptomatiques parce qu'infligées par un serpent non venimeux ou par un venimeux qui n'injecte pas de venin, représentent de 20 à 65 % des morsures (Chippaux, 2005).

La fréquence réelle des envenimations dans le monde et leur gravité restent largement méconnues (Fig. 1). Ces informations sont essentielles pour déterminer la conduite à tenir en cas de morsures de serpent, prévoir les stocks de médicaments nécessaires, notamment les sérums antivenimeux, et définir les modalités de traitement médical.

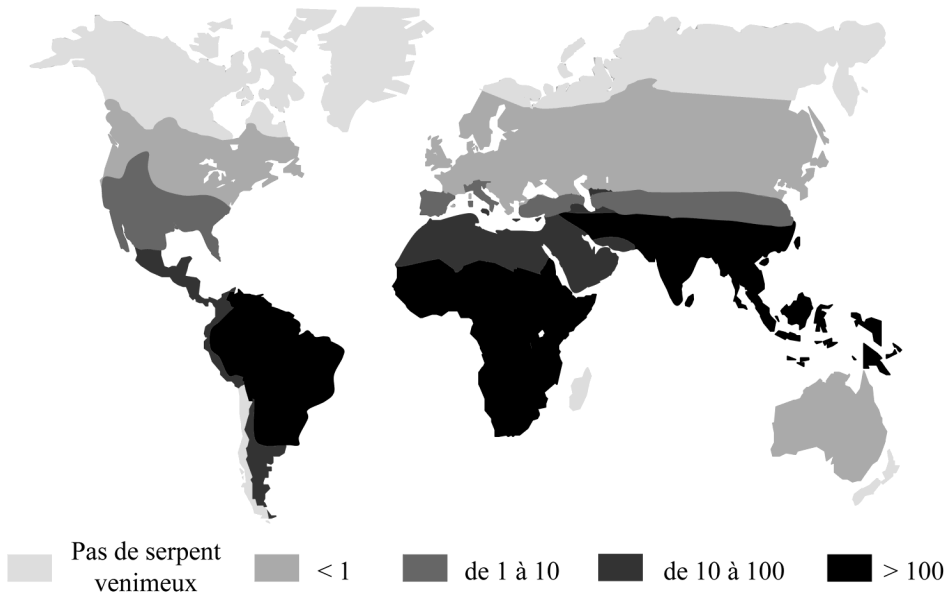


Figure 1 : Incidence annuelle des envenimations ophidiennes dans le monde (pour 100 000 habitants).

Figure1: Annual incidence of snakebite envenomings in the world (per 100,000 people).

En Europe, les morsures de serpents sont relativement rares. Ils existent quelques producteurs de sérums antivenimeux d'excellente qualité. En France, par exemple, on peut estimer que l'incidence moyenne des morsures de serpent est d'environ 3,5 pour 100 000 habitants. Cela correspond à environ 2 000 morsures, soit près de 500 envenimations et 1 décès par an.

Pour une population proche de 750 millions d'habitants, le nombre de morsures de serpent en Europe atteindrait 25 000 cas, sur lesquels environ 8 000 présenteraient une envenimation patente. La plupart des victimes sont hospitalisées et reçoivent un traitement approprié (Pozio, 1988). Une trentaine de décès surviendraient chaque année, en tenant compte des morsures induites infligées par des serpents venimeux exotiques.

Au Proche et Moyen-Orient, les espèces venimeuses sont plus nombreuses, plus diversifiées et généralement plus dangereuses qu'en Europe. Malgré l'existence de plusieurs fabricants de sérums antivenimeux, de qualité variable, il semble que leur accessibilité soit médiocre.

Le nombre de morsures de serpent, pour une population d'environ 160 millions d'habitants, pourrait dépasser 20 000 cas par an, avec 15 000 envenimations et une centaine de morts. Il est probable que la fréquence d'hospitalisation des victimes est plus faible qu'en Europe.

Au Canada et aux États-Unis (Russell, 1980), l'incidence des morsures de serpent est peu différente de celle que l'on observe en Europe. Plus de 45 000 morsures de serpent surviennent chaque année en Amérique du Nord, sur lesquelles 10 000 environ sont dues à des espèces venimeuses et 6 500 nécessitent une intervention médicale. Les sujets de 15 à 30 ans représentent 50 % des patients envenimés. Dans 45 % des cas, la morsure est infligée au cours d'une activité agricole ou champêtre et 60 % des morsures concernent les pieds. Plus de 90 % d'entre elles surviennent le jour entre 6 et 20 heures. Le nombre des morsures induites y est l'un des plus élevés du monde. La létalité est faible si l'on tient compte de la grande toxicité du venin des espèces de *Crotalinae* rencontrés dans ces régions. Les états agricoles du sud connaissent une morbidité beaucoup plus élevée que ceux du nord, surtout lorsque ceux-ci sont industriels. Paradoxalement, l'indisponibilité du sérum antivenimeux est dénoncée par les médecins. Grâce à la réanimation et aux services de soins intensifs rapidement accessibles, la létalité est faible.

Ainsi, moins d'une quinzaine de décès sont signalés chaque année. Ces morts sont d'ailleurs généralement expliquées par une mise en route trop tardive du traitement ou, dans certaines communautés, par le refus de se faire traiter médicalement.

En Amérique centrale (Gutierrez, 1995 ; Rojas *et al.*, 1997 ; Russell *et al.*, 1997) et en Amérique du Sud (Larrick *et al.*, 1978 ; Kerrigan, 1991 ; Fan & Cardoso, 1995), la prévalence des morsures de serpent est significativement plus élevée. Les Crotalinae sont responsables de la majorité des envenimations (Chippaux *et al.*, 1984). Dans certains pays, comme la Colombie ou la Bolivie, une forte majorité consulte encore le tradipraticien. Les morsures touchent en majorité les hommes actifs. L'utilisation des sérums antivenimeux a nettement amélioré le pronostic des envenimations. La prise en charge des envenimations est dans l'ensemble correcte grâce à une couverture convenable en sérums antivenimeux (une demi douzaine de fabricants pour le sous-continent). Il faut mentionner l'effort particulier de développement des antivenins, tant en termes de tolérance que d'efficacité depuis une dizaine d'années. Toutefois, certains de ces sérums sont peu purifiés et il reste encore une incidence élevée d'effets indésirables.

Au total, on estime l'incidence des morsures de serpent en Amérique latine à 300 000 accidents annuels pour 400 millions d'habitants. La moitié présente une envenimation nécessitant un traitement approprié dont probablement moins des deux tiers des victimes bénéficient réellement. Le nombre annuel de morts par envenimation dépasse probablement 5 000.

En Afrique du Nord, la morbidité annuelle est voisine de 15 envenimations ophidiennes pour 100 000 habitants, ce qui est négligeable par rapport aux piqûres de scorpions qui s'élèvent à plus de 500 pour 100 000 habitants. Les envenimations vipérines sont les plus fréquentes et les morsures de *Naja* sp. exceptionnelles.

De nombreuses espèces venimeuses sont rencontrées en Afrique subsaharienne. En zone de savane, pendant la saison des pluies, 10 à 20 % des malades hospitalisés sont admis pour une morsure de serpent. Pourtant, moins du quart des morsures sont accueillies dans les structures sanitaires officielles. Plusieurs facteurs conduisent à une très faible prise en charge par les services de santé : éloignement et dispersion des centres de santé, insuffisance de moyens thérapeutiques ou préférence pour la médecine traditionnelle. Les sérums antivenimeux pour l'Afrique subsaharienne (1 fabricant européen, 2 indiens, 1 mexicain) sont peu disponibles sur le marché en raison, soit de leur coût, soit de leur faible stabilité. Ils sont par-

fois irrégulièrement efficaces, parce que préparés à partir de venins non africains, et mal tolérés (Chippaux, 2002).

Pour une population de 800 millions de personnes, un million de morsures de serpent surviennent chaque année en Afrique. Les 500 000 envenimations qui en résultent occasionnent 20 000 décès, sur lesquels la moitié seulement est connue des services de santé. En effet, on estime à moins de 40 % la proportion de victimes qui, à la suite d'une morsure de serpent, viennent consulter dans un centre de santé.

En Asie, il existe une grande variété de situations en raison de la diversité des activités humaines et des espèces ophidiennes concernées (Gaitonde & Bhattacharya, 1980 ; Sawai, 1980 ; Silva & Ranasinghe, 1983). La fréquence des morsures d'Elapidae est généralement plus élevée qu'en Afrique. Beaucoup de victimes, surtout dans des régions isolées, ont encore recours à la médecine traditionnelle et les chiffres avancés par les autorités sanitaires sont également très sous-estimés. Il y a de nombreux fabricants de sérums antivenimeux et leur disponibilité est sans doute plus grande qu'en Afrique. Cependant, leur efficacité et leur tolérance sont parfois médiocres et les contrôles de qualité souvent insuffisants.

Sur environ 3 milliards d'habitants, l'incidence des morsures de serpent est estimée à 4 millions d'accidents par an, sur lesquels la moitié présente une envenimation. Le nombre de décès serait de 100 000 par an.

En Australie (White, 1995), on compte environ 3 000 morsures chaque année. L'incidence des morsures de serpent est de 5 à 20 pour 100 000 habitants. La mortalité moyenne est de 0,03 pour 100 000 habitants, soit quatre décès annuels.

En Papouasie-Nouvelle-Guinée (White, 1995), l'incidence varie entre 200 et 525 morsures pour 100 000 habitants. La morbidité est de 50 à 80 envenimations pour 100 000 habitants et la mortalité de 8 pour 100 000. Les envenimations représentent 1,1 % de tous les décès et plus de 20 % des morts par mort violente, accident ou suicide.

Le reste du Pacifique est exempt de serpents venimeux, à l'exception des serpents marins dont le venin est neurotoxique mais qui, en raison de leur habitat et de leur manque d'agressivité, sont responsables d'un nombre très faible d'accidents.

Un seul producteur de sérum antivenimeux procure une gamme de produits de qualité mais chère et inaccessible en dehors de l'Australie.

Pour une population de 20 millions d'habitants, l'Océanie compte 10 000 morsures de serpent et 3 000 envenimations par an qui entraînent environ 200 décès.

5. CONCLUSION

La prise en charge des morsures de serpent pose deux types de problèmes : la rapidité d'intervention et l'efficacité des soins.

Dans les pays industrialisés, il existe des services de soins intensifs ainsi que des banques de données sur les envenimations. Elles sont régulièrement mises à jour au niveau des centres antipoison – ou l'équivalent selon les pays – et permettent d'informer et de conseiller le praticien.

Dans les pays en développement, la médiocrité de l'offre de soins et la dispersion des centres de santé ne permettent pas une hospitalisation rapide de la victime, à supposer que sa démarche initiale soit de se rendre dans un dispensaire. En outre, la formation du personnel médical sur les mesures à prendre en cas d'envenimation est très insuffisante. Le retard de consultation entraîne une forte létalité hospitalière qui pourrait être réduite de près de 90 % si la sérothérapie intervenait rapidement (Stock *et al.*, 2007).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aung-Khin M. 1980 - The problem of snake bites in Burma. *Snake*, 12 : 125-127

Barbault R. 1974 - Observations écologiques dans la savane de Lampto (Côte d'Ivoire) : structure trophique de l'herpétocénose. *Bull. Ecol.*, 5 : 7-25.

Chippaux J.-P. 1998 - Snake bites: appraisal of the Global situation. *Bull. WHO*, 76 : 515-524.

Chippaux J.-P. 1999 - L'envenimation ophidienne en Afrique : épidémiologie, clinique et traitement. *Ann. IP/actualités*, 10 : 161-171.

Chippaux, J.-P. 2002 - The treatment of snake bites: analysis of requirements and assessment of therapeutic efficacy in tropical Africa. In : Perspectives in Molecular Toxinology (Ménez A., ed.), 1 vol., John Wiley & Sons Ltd : 457-472.

Chippaux J.-P. 2005 - Évaluation de la situation épidémiologique et des capacités de prise en charge des envenimations ophidiennes en Afrique subsaharienne francophone. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 98 : 263-268.

Chippaux J.-P.& Bressy C. 1981 - L'endémie ophidienne des plantations de Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 74 : 458-467.

Chippaux J.-P.& Goyffon M. 1989 - Les morsures accidentelles de serpent en France métropolitaine. *Presse Méd.*, 18 : 794-795.

Chippaux J.-P.& Goyffon M. 1997 - Serpents et scorpions : quels risques pour le voyageur ? *Méd. Trop.*, 57 : 519-521.

Chippaux J.-P., Galtier J. & Lefait J.-F. 1984 - Épidémiologie des envenimations en Guyane française. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 77 : 206-215

- Chippaux J.-P., Massougbodji A., Stock R. P., Alagon A. & Invest A.A.B. 2007 - Clinical trial of a F(ab')₂ polyvalent equine antivenom for African snakebites in Benin. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 66 : sous presse.
- Fan H.W. & Cardoso J.L.C. 1995 - Clinical toxicology of snake bites in South America. In : Handbook of clinical toxicology of animal venoms and poisons (Meier J. & White J., eds), 1 vol., Boca Raton, CRC Press : 667-688
- Gaitonde B.B. & Bhattacharya 1980 - An epidemiological survey of snakebite cases in India. *Snake*, 12 : 129-133
- Gutierrez J.M. 1995 - Clinical toxicology of snake bite in Central America. In : Handbook of clinical toxicology of animal venoms and poisons (Meier J. & White J., eds), 1 vol., Boca Raton, CRC Press : 645-665
- Kerrigan K.R. 1991 - Venomous snakebite in Eastern Ecuador. *Am. Trop. Med. Hyg.*, 44 : 93-99
- Larrick J.W., Yost J.A. & Kaplan J. 1978 - Snake bite among the Waorani Indians of Eastern Ecuador. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 72 : 542-543
- Pozio E. 1988 - Venomous snake bites in Italy: epidemiological and clinical aspects. *Trop. Med. Parasitol.*, 39 : 62-66
- Rojas G., Bogarin G. & Gutierrez J.M. 1997 - Snakebite mortality in Costa Rica. *Toxicon*, 35 : 1639-1643
- Russel F.E. 1980 - Snake venom poisoning in the United States. *Ann. Rev. Med.*, 31 247-259
- Russell F.E., Walter F.G., Bey T.A. & Fernandez M.C. 1997 - Snakes and snakebite in Central America. *Toxicon*, 35 : 1469-1522
- Sawai Y. 1980 - Epidemiological study on snakebites in the Asian areas. *Snake*, 12 : 115-118
- Silva de A. & Ranasinghe L. 1983 - Epidemiology of snakebite in Sri Lanka: a review. *Ceylon Med. J.*, 28 : 144-154
- Silveira P. V. & Nishioka S. A. 1995 - Venomous snake bite without clinical envenoming ('dry-bite'). A neglected problem in Brazil. *Trop. Geogr. Med.*, 47, :82-85.
- Stock R. P, Massougbodji A., Alagón A. & Chippaux J.-P. 2007 - Bringing antivenom to Sub-Saharan Afr. *Nat. Biotechnol.*, 25 : 173-177.
- White J. 1995 - Clinical toxicology of snakebite in Australia and New Guinea. In : Handbook of clinical toxicology of animal venoms and poisons (Meier J. & White J., eds), 1 vol., Boca Raton, CRC Press : 595-617

Actualités sur les sérums antivenimeux et la sérothérapie

par

Jean-Philippe CHIPPAUX

IRD, CP 9214, La Paz, Bolivie
chippaux@ird.fr

Résumé - L'antidote spécifique à l'envenimation a été découvert par Césaire Phisalix en 1894, ce qui a permis le développement des sérums antivenimeux et de la sérothérapie. Les modalités de fabrication des sérums antivenimeux n'ont que peu changé depuis la fin du XIX^e siècle. Le seul perfectionnement significatif a été la purification des anticorps qui portent la fonction antivenimeuse. Cela n'a pas eu d'influence sur l'efficacité des sérums antivenimeux mais, en revanche, a considérablement amélioré la tolérance. Aujourd'hui, le principal défi qui reste à relever est l'accessibilité des sérums antivenimeux dans les pays en développement où se produit la majorité des envenimations graves. Des initiatives intéressantes commencent à apparaître et laissent espérer une forte diminution de la mortalité ophidienne.

Mots-clés : Venin, Serpent, Envenimation, Sérum antivenimeux, C. Phisalix.

Summary - Current events on antivenoms and serotherapy. The specific antidote against envenomation was discovered by Césaire Phisalix in 1894, which allowed the development of antivenoms and serotherapy. The process of manufacture of the antivenoms did not change a lot since the end of the 19th century. The only significant improvement was the purification of the antibodies which carry on the anti-venomous function. That did not have any influence on the effectiveness of the antivenoms but, on the other hand, highly improved their tolerance. Today, the principal challenge which remains to be raised is the accessibility of the antivenoms in developing countries, where the majority of severe envenomations occurs. Interesting initiatives appeared which could lead to a dramatic decrease in snakebite mortality.

Key-words: Venom, Snake, Envenomation; Antivenin, C. Phisalix.

1. INTRODUCTION

La controverse sur la paternité des sérums antivenimeux élude bien souvent les apports originaux et spécifiques de chacune des deux équipes qui ont inventé le sérum antivenimeux (Brygoo, 1985). Il revient indiscutablement à l'équipe de Césaire Phisalix le mérite d'avoir décrit le premier le transfert de l'immunité passive. Se fondant sur la capacité d'un organisme à développer une protection individuelle à l'égard de certains toxiques, concept intuitivement utilisé par Mithridate au deuxième siècle avant notre ère, Phisalix a montré que cette

propriété était transférable, par le sérum sanguin, à un autre organisme qui n'avait jamais été en contact avec le toxique en question. Ce transfert de l'immunité, terme qui apparaîtra plus tard, devait être particulièrement fécond. Cela, bien entendu, ne retire rien à la valeur des travaux d'Albert Calmette qui a assuré un débouché opérationnel – mais aussi commercial – à cette propriété. Le premier a découvert la protection antivenimeuse et son mécanisme, alors que le second a créé la sérothérapie. C'est peu dire que les deux inventions étaient parfaitement complémentaires et, peut-être, traduisaient les particularités des caractères de leurs auteurs.

Depuis l'invention du sérum antivenimeux, les procédés de fabrication et d'utilisation n'ont que peu changé. Les améliorations apportées au cours du siècle qui vient de s'écouler ne sont qu'accessoires, sauf en ce qui concerne la tolérance qui a fait des progrès incontestables.

2. LE PRINCIPE DE L'ANTIVENIN ET DE LA SÉROTHÉRAPIE

Le principe de la protection antivenimeuse – la découverte de Césaire Phisalix – repose sur la fabrication d'anticorps par un animal soumis de façon répétée à l'inoculation d'un agent toxique, en l'occurrence le venin de serpent. L'animal s'immunise contre le venin, proportionnellement à la quantité de venin et à la durée de l'exposition. Cette découverte, préparée par les travaux récents de Louis Pasteur, préluait aux notions d'antigène – le venin – et d'anticorps – l'antivenin. Il devenait dès lors possible d'envisager un traitement spécifique de l'envenimation et plus tard de l'intoxication, l'infection ou d'autres pathologies dues à un agent externe. Ce concept, également développé par Behring pour les toxines bactériennes, complétait celui de la “vaccination” inventée par Edward Jenner un siècle plus tôt et expliquée par Pasteur moins de dix ans plus tôt.

Au cours de son immunisation, l'animal fabrique des anticorps dirigés contre le venin. Présents dans le sérum sanguin, ils pourront être extraits puis conservés en attendant d'être utilisés comme antidote lors d'une envenimation, d'où le nom de “sérum antivenimeux”. Pendant de nombreuses années, un désaccord a opposé C. Phisalix et Calmette sur l'efficacité de l'antidote contre des venins d'espèces différentes de celle qui avait servi à fabriquer les anticorps. Pour Phisalix, la spécificité était une conséquence logique de sa découverte. La

suite confirma cette hypothèse qui conduit à exclure toute possibilité de sérum antivenimeux “ universel ”.

Aujourd’hui, les sérums antivenimeux se fabriquent toujours selon ce principe d’immunisation d’un animal à partir d’un venin. Quelques étapes de la fabrication à l’utilisation du sérum antivenimeux ont toutefois changé.

L’utilisation d’adjuvant, technique inventée par Gaston Ramon en 1924 (Ramon, 1924 ; Ramon *et al.*, 1941), peut accélérer l’immunisation et favoriser le développement des anticorps.

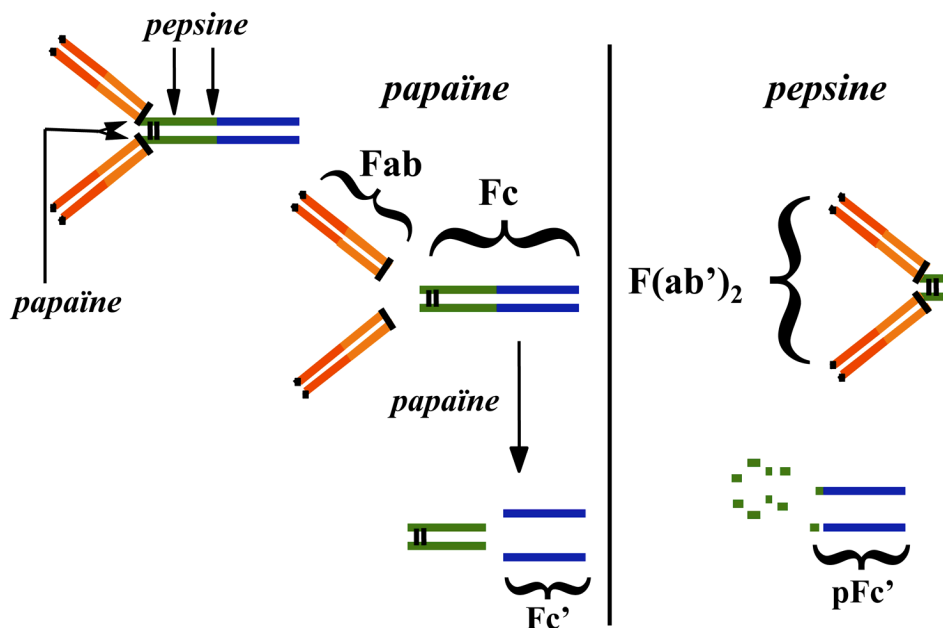


Figure 1 : Structure d’une immunoglobuline G et points de clivage enzymatiques permettant d’en réduire la taille sans en modifier la fonction anticorps.

Structure of immunoglobulin G and enzymatic attack points leading to reduced size without change of the antibody function.

La purification de l’anticorps, et même depuis quelques années sa fragmentation, ont permis d’améliorer significativement la tolérance des sérums antivenimeux. En effet, les autres protéines du sérum, l’albumine notamment, sont inutiles pour la protection contre le venin et peuvent être responsables d’effets secondaires graves. Par ailleurs, l’anticorps est une immunoglobuline en forme de Y composée d’une partie portant la fonction immune (les

deux branches symétriques du Y qui se lient à l'antigène pour former le complexe antigène-anticorps) et d'une autre, la branche verticale du Y (ou fragment Fc) qui permet la précipitation et l'élimination du complexe (Fig. 1). Cette partie de l'immunoglobuline n'est pas nécessaire à la reconnaissance de l'antigène, ni à sa neutralisation. En éliminant les protéines inutiles du sérum ainsi que le fragment Fc de l'immunoglobuline, les effets secondaires observés lors d'une sérothérapie ont été réduits de 50 % à 5 % ; encore peut-on considérer aujourd'hui qu'ils sont bénins et que les chocs anaphylactiques potentiellement mortels sont devenus tout à fait exceptionnels (Chippaux et Goyffon, 1998).

En revanche, le choix de l'animal est plus anecdotique et traduit le plus souvent des habitudes culturelles ou des stratégies industrielles qui n'apportent pas grand-chose à l'amélioration du sérum antivenimeux lui-même : les anglo-saxons, par exemple, préfèrent immuniser des moutons alors que les latins utilisent plutôt des chevaux. En Afrique et en Amérique du Sud, les Camelidae pourraient représenter un intérêt grandissant (Chippaux et Goyffon, 1998 ; Herrera *et al.*, 2005).

3. LES OBJECTIFS DE LA SÉROTHÉRAPIE

L'efficacité d'un sérum antivenimeux est restée une priorité pendant plusieurs décennies. Elle dépend :

- de la composition et de la toxicité du venin qu'il doit neutraliser ;
- de la vitesse de diffusion du venin et de la rapidité de mise en œuvre du traitement ;
- de la capacité de neutralisation du venin par le sérum antivenimeux et de la pharmacologie des anticorps ou fragments d'anticorps.

Au cours des années 60, s'est développée la nécessité de réduire les risques d'effets secondaires. La purification des anticorps est devenue l'objectif principal des fabricants, avec un remarquable succès.

Les années 90 ont vu apparaître les risques d'infection par des agents non conventionnels (prion de la vache folle par exemple), ce qui a conduit à mettre au point des techniques de décontamination systématique et de traçabilité des animaux utilisés pour l'immunisation. Tous les sérums commercialisés aujourd'hui dans les pays industrialisés sont astreints à ces procédures.

Les années 2000 se focalisent sur l'accessibilité des sérums antivenimeux (Chippaux, 1998 ; Stock *et al.*, 2007). En effet, dans les pays en développement, où les envenimations sont à la fois nombreuses et graves, le coût du sérum antivenimeux et les problèmes de distribution commerciale empêchent ces produits d'atteindre les centres de santé où l'on en a besoin. Moins de 5 % des besoins en sérums antivenimeux sont couverts en Afrique subsaharienne, par exemple (Chippaux, 2002).

4. TOXICOLOGIE DES VENINS ET PHARMACOLOGIE DES SÉRUMS ANTIVENIMEUX (SAV)

Les venins de serpent sont composés de polypeptides que l'on peut arbitrairement dissocier en toxines et enzymes bien que certains puissent appartenir aux deux groupes. Les premières sont généralement de petite taille et se fixent sur un récepteur particulier en modifiant son fonctionnement. Elles s'en détacheront avec un délai variable, selon l'environnement moléculaire, mais généralement après plusieurs heures. Les enzymes, de plus grande taille, transforment une substance en se liant successivement à chacune de ses molécules pendant un temps très bref, de l'ordre de la milliseconde. On comprend dès lors que, dans le premier cas, on puisse parler de toxines dose-dépendantes, et d'enzymes chrono-dépendantes dans le second. Par ailleurs, la toxicité d'un venin va dépendre de la quantité de composants toxiques et de leur mode d'action sur les organes ou fonctions vitales cibles.

D'une façon générale, le venin diffuse très rapidement dans l'organisme. En quelques minutes – 5 à 10 tout au plus – il atteindra la circulation générale d'où il gagnera les différents organes. Il sera alors en équilibre de concentration dans les différents secteurs – ou compartiments physiologiques – de l'organisme (Rivière et Bon, 1999 ; Ismail *et al.* 1996). La plupart des constituants des venins de serpent se maintiendront, en l'absence de tout traitement, plusieurs jours dans l'organisme.

Enfin, la taille et l'état de santé du sujet mordu joueront un rôle non négligeable dans la gravité de l'envenimation et dans la rapidité de guérison, avec ou sans traitement.

La neutralisation du venin par les anticorps contenus dans le sérum antivenimeux se fait molécule à molécule, c'est-à-dire qu'il faut une quantité égale d'anticorps et de venin pour enrayer l'envenimation. En l'absence d'information précise sur la quantité de venin injectée par le serpent, on se fonde sur la quantité moyenne de venin que le serpent – lorsqu'il est

connu ou suspecté – est capable d’inoculer, corroborée par la clinique et l’évolution des symptômes.

Pour s’opposer à l’action du venin, on a considéré pendant longtemps qu’il fallait obtenir une diffusion rapide des anticorps dans l’ensemble de l’organisme envenimé. On sait désormais qu’il suffit de maintenir une concentration suffisante de sérum antivenimeux dans le sang pour obtenir la neutralisation du venin (Rivière et Bon, 1999). L’anticorps et ses fragments ne diffusent pas uniformément dans l’organisme. L’anticorps complet et l’un de ses fragments Fab’2 qui composent la majorité des sérums antivenimeux actuels, restent plusieurs heures dans le compartiment sanguin et ne diffusent pas dans les organes profonds. Pourtant, leur action est efficace car le sérum antivenimeux neutralise les molécules de venin présentes dans le sang, au fur et à mesure que celles-ci viennent y remplacer celles qui sont éliminées par les anticorps ou fragments d’anticorps. Ce chassé-croisé nécessite une quantité d’anticorps en excès, donc des doses élevées de sérum antivenimeux. On a compris ainsi qu’il était inutile d’utiliser des fragments qui diffusent également dans les organes, appelés Fab, d’autant plus que ceux-ci quittent trop rapidement l’organisme, ce qui oblige à renouveler le traitement, et peuvent entraîner des réactions indésirables, notamment rénales (Chippaux et Goyffon, 1998).

Il est très difficile de savoir combien de temps après la morsure, un sérum antivenimeux reste efficace. Les spécialistes s’accordent à dire qu’il n’y a pas de limite et que l’administration de sérum antivenimeux doit être effectuée tant que la victime est vivante. Il est certain néanmoins que la précocité du traitement est un facteur de réussite essentiel.

5. ACCESSIBILITÉ DES SÉRUMS ANTIVENIMEUX

Il s’agit sans aucun doute du défi majeur de ces prochaines années, en ce qui concerne le sérum antivenimeux. Le coût du sérum antivenimeux s’est considérablement élevé avec l’accumulation de procédures industrielles et la complexité des circuits commerciaux. Le prix de vente a été multiplié par 5 ou 10 en moins de 10 ans. Ajouté à la crise économique que connaissent les pays en développement, ce phénomène a conduit à une réduction de près de 90 % de l’utilisation des sérums antivenimeux : en Afrique subsaharienne, par exemple, la vente annuelle de sérum antivenimeux s’est effondrée de près de 200 000 doses dans les

années 80 à environ 20 000 aujourd'hui (Chippaux, 2002). Pourtant, les études épidémiologiques montrent que, ni l'incidence, ni la gravité des morsures de serpent n'ont changé.

D'autres facteurs expliquent également cet abandon de la sérothérapie. Le recours aux soins privilégié dans de nombreux pays tropicaux la médecine traditionnelle, autant pour des raisons culturelles qu'économiques (Newman *et al.*, 1997). En outre, les structures de santé sont très souvent défailtantes, manquant de matériel et de médicaments, en particulier de sérum antivenimeux dont le prix et les conditions de conservation sont dissuasifs. Enfin, débordé, le personnel médical n'a pas la formation requise pour une prise en charge correcte des morsures de serpent.

Des efforts sont actuellement faits pour développer des sérums antivenimeux moins chers, mieux adaptés aux conditions tropicales et empruntant des circuits commerciaux appropriés pour les mettre à la disposition des centres de santé périphériques qui reçoivent les envenimations. Le cahier des charges de ces sérums antivenimeux, défini en 2001, repose sur 4 critères (Theakston *et al.*, 2003) :

- une efficacité égale ou supérieure aux normes des pharmacopées modernes ;
- une tolérance maximale (les essais cliniques visent actuellement à observer moins de 10 % d'évènements indésirables bénins et moins de 1 % d'effets secondaires graves) ;
- une bonne stabilité en milieu tropical chaud et humide, ce qui est obtenu par la lyophilisation ;
- une meilleure accessibilité aux patients qui en ont besoin, c'est-à-dire un coût raisonnable et une distribution qui s'étend jusqu'aux formations sanitaires de brousse.

Depuis 2002, un partenariat sud-sud, associant les équipes de pays en développement et des pays émergents, ainsi qu'une collaboration des secteurs public (instituts de recherche et universités) et privé (fabricants de sérums antivenimeux) des pays en développement et des pays industrialisés, a conduit au développement de plusieurs sérums antivenimeux qui font actuellement l'objet d'essais cliniques prometteurs (Stock *et al.*, 2007).

CONCLUSION

Depuis l'invention du transfert de l'immunité et de son corollaire le sérum antivenimeux, la fabrication du sérum antivenimeux n'a que peu évolué. L'amélioration de la tolérance – qui date de ces 30 dernières années – reste l'évolution majeure. Le second progrès

que l'on peut attendre est l'accessibilité du sérum antivenimeux là où il est nécessaire, c'est-à-dire dans les pays tropicaux, la plupart pauvres et connaissant une incidence élevée d'envenimations graves.

Ainsi, l'avenir de la sérothérapie est davantage un problème industriel et commercial que scientifique et technologique. Ce faisant, et sans modifier sensiblement le produit lui-même, il semble possible de réduire de 90 % la mortalité par morsure de serpent dans le monde.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Brygoo E. R. 1985 - La découverte de la sérothérapie antivenimeuse en 1894 : Phisalix et Bertrand ou Calmette ? *Bull. Ass. Anc. Elèves Inst. Pasteur*, 106 : 10-22.

Chippaux J.-P. 1998 - The development and use of immunotherapy in Africa. *Toxicon*, 36 : 1503-1506.

Chippaux J.-P. 2002 - The treatment of snake bites : analysis of requirements and assessment of therapeutic efficacy in tropical Africa. *In* : Perspectives in molecular toxinology (A. Ménez, ed.), John Wiley & Sons Ltd, Chichester : 457-472.

Chippaux J.-P. & Goyffon M. 1998 - Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon*, 36 : 823-846.

Herrera M., León G., Segura A., Meneses F., Lomonte B., Chippaux J.-P. & Gutiérrez J.M. 2005 - Factors associated with adverse reactions induced by caprylic acid-fractionated whole IgG preparations: comparison between horse, sheep and camel IgGs. *Toxicon*, 46 : 775-781.

Ismail M., Aly M.H.M., Abd-Elsalam M.A. & Morad A.M. 1996 - A three-compartment open pharmacokinetic model can explain variable toxicities of cobra venoms and their toxins. *Toxicon*, 34 : 1011-1026.

Newman W.J., Moran N.F., Theakston R.D.G., Warrell D.A. & Wilkinson D. 1997 - Traditional treatments for snake bite in a rural African community. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 91 : 967-969.

Ramon G. 1924 - Des anatoxines. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 178 : 1436-1439.

Ramon G., Boquet P., Richou R., Nicol L. & Delaunay-Ramon M. 1941 - Sur la production accélérée des sérums antivenimeux de différentes sortes au moyen des anavenins spécifiques et des substances stimulantes de l'immunité. Ses conditions. Ses résultats. *Rev. Immunol.*, 6 : 353-362.

Rivière G. & Bon C. 1999 - Immunothérapie antivenimeuse des envenimations ophidiennes : vers une approche rationnelle d'un traitement empirique. *Ann. Inst. Pasteur/Actualités*, 10 : 173-182.

Stock R. P., Massougbodji A., Alagón A., Chippaux J.-P. 2007 - Bringing antivenom to Sub-Saharan Africa. *Nat. Biotechnol.*, 25 : 173-177.

Theakston R.D., Warrell D.A., Griffiths E. 2003 - Report of a WHO workshop on the standardization and control of antivenoms. *Toxicon*, 41 : 541-557.