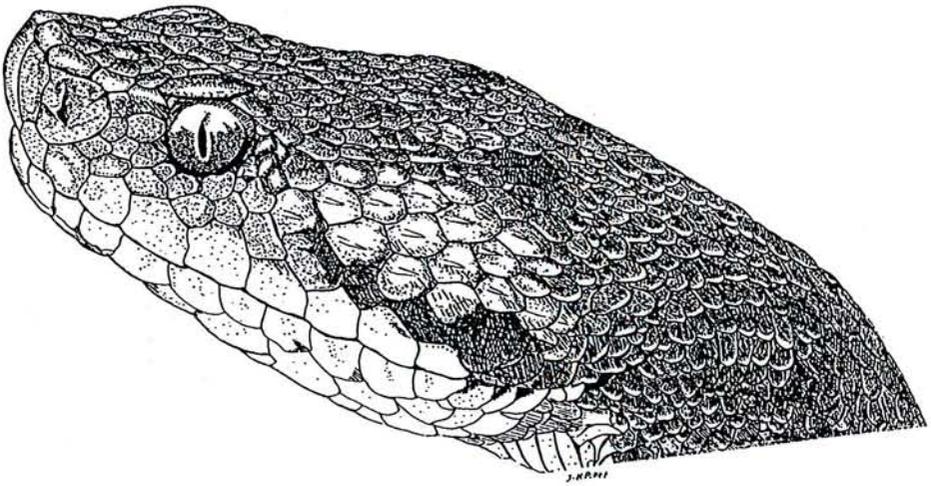


# Bulletin de la Société Herpétologique de France

3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> trimestres 1995

N° 75-76



ISSN 0754-9962

Bull. Soc. Herp. Fr. (1995) 75-76

# Bulletin de la Société Herpétologique de France

Directeur de Publication / Editor :  
**Roland VERNET**

Comité de Rédaction / **Managing Co-Editors** :  
Michel LEMIRE, Jean LESCURE, Claude PIEAU  
Jean-Claude RAGE, Alexandre TEYNIÉ, Jeff TIMMEL (Index)

Secrétariat de Rédaction / **Secretaries** :  
Valérie RAAD et Yannick VASSE (Bulletin)  
Sophie BERLAND (Index),

Comité de lecture / **Advisory Editorial Board** :  
Robert BARBAULT (Paris, France) ; Aaron M. BAUER (Villanova, Pennsylvania) ;  
Liliane BODSON (Liège, Belgique) ; Donald BRADSHAW (Perth, Australie) ;  
Maria Helena CAETANO (Lisbonne, Portugal) ; Max GOYFFON (Grenoble, France) ;  
Robert GUYÉTANT (Chambéry, France) ; Ulrich JOGER (Darmstadt, Allemagne)  
Michael R. K. LAMBERT (Chatham, Angleterre) ;  
Benedetto LANZA (Florence, Italie) ; Raymond LECLAIR (Trois-Rivières, Canada) ;  
Guy NAULLEAU (Chizé, France) ; Saïd NOUIRA (Tunis, Tunisie) ;  
V. PEREZ-MÉLLADO (Salamanque, Espagne) ; Armand DE RICQLÈS (Paris, France) ;  
Zbynek ROCEK (Prague, Tchécoslovaquie) ; Hubert SAINT-GIRONS (Paris, France).

## Instructions aux auteurs / **Instructions to authors** :

Des instructions détaillées ont été publiées dans le numéro 33. Les auteurs peuvent s'y reporter. S'ils ne les possèdent pas, ils peuvent en obtenir une copie auprès du responsable du comité de rédaction. Les points principaux peuvent être résumés ainsi : les manuscrits, dactylographiés en double interligne, au recto seulement sont envoyés en double exemplaire. La disposition du texte doit respecter les instructions. L'adresse de l'auteur se place en dernière page. Les figures sont réalisées sur papier calque ou bristol. Les photographies (noir et blanc) ne sont publiées qu'exceptionnellement. Les légendes des figures sont dactylographiées sur feuilles séparées. Les références bibliographiques sont regroupées en fin d'article.

Exemple de présentation de référence bibliographique :

BONS, J., CHEYLAN, M. et GUILLAUME, C. P. (1984) - Les Reptiles méditerranéens. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 29 : 7 -17.

## Tirés à part

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 publiées 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 publiées dans le Bulletin de la Société Herpétologique de France est interdite sans l'accord écrit du directeur de la publication. La S.H.F. 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 à :

**M. Roland VERNET**

Laboratoire d'écologie, École Normale Supérieure

46 rue d'Ulm - 75230 PARIS CEDEX 05

Tél : (1) 44 32 37 04

Fax : (1) 44 32 38 85

Email : vernet@wotan.ens.fr.

Dessin de Couverture :

J. M. PILLET  
*Vipera berus*

N° commission paritaire 59374

Imprimeur : S.A.I. Biarritz  
18, rue de Folin, 64200 BIARRITZ

Dépôt légal : 3<sup>ème</sup> trimestre 1996

**Ce numéro spécial consacré aux serpents venimeux a été préparé par :**

**M. GOYFFON**

**J. LESCURE**

Ex-Président de la Société Herpétologique  
de France

**R. VERNET**

Directeur de la Rédaction

**Nous remercions vivement MM. M. ALLARY (SGDN, Paris) et G. BLANCHET (DCSSA, Paris) pour leur soutien à la publication de ce numéro spécial.**

# BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> trimestres 1995

n° 75-76

## SERPENTS VENIMEUX ET ENVENIMATIONS

### SOMMAIRE

- **Éditorial**  
Max GOYFFON..... 5
- **État actuel de nos connaissances sur la classification des serpents venimeux**  
Ivan INEICH..... 7
- **Sérums antivenimeux et bases de la sérothérapie**  
Max GOYFFON, Jean-Philippe CHIPPAUX et Valérie CHOUMET..... 25
- **Envenimations par serpents exotiques : bilan du centre anti-poisons de Marseille**  
Luc de HARO, Maryvonne HAYEK-LANTHOIS, Jean-Pierre JOUGLARD,  
Jean-Marc DAVID et Jacqueline JOUGLARD..... 51
- **Un type d'enquête sur les envenimations vipérines dans un département français : l'Yonne**  
Jean-Philippe CHIPPAUX, Dominique BRY et Max GOYFFON..... 57

# BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

---

3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> trimestres 1995

n° 75-76

---

## VENOMOUS SNAKES AND ENVENOMINGS

### CONTENTS

- **Introduction**  
Max GOYFFON..... 5
- **Actual knowledge on venomous snakes systematics**  
Ivan INEICH..... 7
- **Antivenins and principles of serotherapy in snakebites**  
Max GOYFFON, Jean-Philippe CHIPPAUX and Valérie CHOUMET..... 25
- **Exotic snakes envenomings : cases collected by the poison center of Marseille**  
Luc de HARO, Maryvonne HAYEK-LANTHOIS, Jean-Pierre JOUGLARD,  
Jean-Marc DAVID and Jacqueline JOUGLARD..... 51
- **A mode of investigation on viper envenoming in the French Yonne district**  
Jean-Philippe CHIPPAUX, Dominique BRY and Max GOYFFON..... 57



## ÉDITORIAL

Aux *Vipera* sp. qui croisent notre route,  
qui se laissent approcher, manipuler,  
familiariser, découvrir et qui, guidées  
par leurs réflexes et dominées par leur  
appétit, infligent sans prévenir de si  
douloureuses morsures, ---- pour les  
passions qu'elles inspirent.

( Librement adapté de La Fontaine, *Le Villageois et le Serpent* )

Le genre *Vipera* émerge à tout moment des pages de ce numéro consacré aux serpents venimeux : comment ne pas leur consentir une célébration particulière, inspirée par La Fontaine dont on commémore cette année le tricentenaire de la mort ? Dans le bestiaire du fabuliste, pourtant vaste, les serpents occupent une place modeste. Ils y sont présentés comme le symbole de l'ingratitude, à la fois agressifs, foncièrement méchants, peu intelligents. En une occasion pourtant, une couleuvre courageuse et lucide représente la classe des gens modestes et pleins de bon sens, victimes de l'arbitraire des puissants incapables de supporter une vérité désagréable. Ce portrait sympathique reste unique : il s'oppose à celui des autres serpents mis en scène, non expressément nommés, mais que tout désigne comme des vipères.

Une étude de la systématique des serpents, de la répartition des familles, des genres, montre la large distribution de *Vipera* sp. en Europe, en Asie, en Afrique du Nord. La description du nouveau genre *Daboia* en restreint cependant l'aire sur le continent asiatique. Plus important et aussi plus spectaculaire, un regard neuf vient bouleverser la place qu'occupe ce genre et, plus largement, la famille des Vipéridés. Pendant plus d'un siècle, les solénoglyphes ont été considérés comme les plus évolués des serpents en raison du perfectionnement et de l'efficacité de leur appareil venimeux. Cette opinion est maintenant contestée au point d'y voir au contraire des formes primitives. Qu'on s'y arrête un instant ! Dans l'imagerie populaire, celle aussi de La Fontaine, la vipère accumule les traits négatifs. La couleuvre, elle, est perçue de façon plus nuancée : paresseuse, certes, mais avec cette indulgence consentie aux épicuriens qui profitent, même honteusement, des plaisirs de la vie, satisfaits de se dorner au soleil, le ventre plein, relax en un mot ; associée au caducée, elle est en outre l'exemple d'un animal modeste et prudent. Cette différence de perception serait-elle liée à des différences de comportement ? Munie d'un dispositif puissant de neutralisation des proies ou des agresseurs éventuels, la vipère réagirait de façon stéréotypée, se jetant brutalement, sans avertissement préalable, sur ce qu'elle veut capturer ou sur ce qui la dérange, adepte de la formule moderne : "Je me sers et je consomme", sans autre souci qu'une satisfaction immédiate. La couleuvre, prédateur moins bien armé, serait amenée à développer des stratégies d'approche, de capture ou de protection plus élaborées. Curiosités de l'ethnozoologie : des critères comportementaux et leur perception humaine collective peuvent-ils être pris en compte dans la définition du caractère plus ou moins évolué d'un groupe ? Dans l'affirmative, l'observation humaine traditionnelle aurait

intuitivement attribué aux vipères le caractère primitif que tendent à leur accorder les zoologistes actuels. La place a manqué pour développer ce sujet de discussion.

Le sérum antivenimeux, seule thérapeutique spécifique, reste la base du traitement d'une envenimation grave ou potentiellement grave. Un récent colloque a montré une véritable unanimité des participants sur ce point. Toutefois, bien des obscurités subsistent encore dans la sérothérapie, qu'il s'agisse du devenir du venin ou du sérum antivenimeux dans l'organisme, ou des modalités de préparation et d'administration de ce sérum. Des progrès dans la détection et le dosage des toxines circulantes par des techniques immunologiques sont attendus. Une mise au point d'actualité était indispensable. Elle fait état des résultats nouveaux mettant en évidence les modifications de la distribution du venin dans l'organisme après immunothérapie (terme préférable à sérothérapie).

A-t-on assez parlé, ces dernières années, du devoir de mémoire ? Le Centre anti-poisons de Marseille pourrait faire sienne la réponse célèbre: "Je le fais, mais n'en parle pas!" Depuis plus de vingt ans, ce centre enregistre toutes ses observations sur des dossiers informatisés et s'est ainsi constitué une remarquable banque de données. Voici donc une étude rétrospective des morsures par serpent exotique en France. On en verra la gravité, surtout après morsure de Vipéridé, les difficultés du traitement, la fausse réputation d'innocuité de certains colubridés dont la salive est indiscutablement toxique et dont il convient de se méfier.

Ce numéro se clôt par une enquête téléphonique auprès des médecins sur les morsures de vipères, dans un département. Le téléphone, ce merveilleux outil de communication, plus que jamais actuel comme on dit ! Offrez-vous, faites-vous offrir ou offrez un de ces téléphones à la mode du jour, avec l'idée de faciliter les contacts, d'improviser un rendez-vous, de réparer aisément un oubli. Avec quelle rapidité vont s'engouffrer sur le répondeur des voix inattendues, roucoulandes murmurantes ou timbres bien posés, c'est selon, usant au besoin des ressources inépuisables des langues étrangères: "Ich liebe dich!....Ich liebe dich und du schläfst !" ou encore : "I miss you !....I miss you and you eloped !" Cet appareil n'est pas toujours aussi apprécié. Outre le dérangement possible à tout moment, converser sans voir l'interlocuteur nous prive de mimiques approbatives ou importunées, laisse percer le manque d'intérêt habituel pour tout instrument d'usage courant et transféré en cette occasion à une voix sans visage, libère une indifférence ou un agacement masqués en face à face par convenance : on se trouve ainsi plus à l'aise pour abrégé la conversation, glisser une mauvaise nouvelle, lâcher une aigreur, opposer une fin de non-recevoir, adresser un congé. N'exagérons rien. Avec le téléphone, comme en tout, il y a ceux qui savent faire et ceux qui ne savent pas et ne sauront jamais. Espérons que les enquêteurs et les enquêtés de l'Yonne prouveront au lecteur qu'ils ont eu l'art et la manière.

L'a-t-on assez compris ? Il faut aimer les *Vipera* !

M. GOYFFON

# ÉTAT ACTUEL DE NOS CONNAISSANCES SUR LA CLASSIFICATION DES SERPENTS VENIMEUX

par

Ivan INEICH

**Résumé** - La systématique des serpents venimeux, tout comme celle des serpents en général, est encore en pleine mouvance. Les techniques modernes et la réalisation de collections plus importantes permettent à présent d'en avoir une vision plus synthétique et de mettre en évidence les domaines prioritaires à explorer. L'utilisation clinique et expérimentale de techniques immunologiques comme ELISA montre clairement la nécessité d'une collaboration plus étroite entre cliniciens et systématiciens afin de parvenir à des traitements plus efficaces par sérothérapie.

**Mots-clés** : Serpents venimeux. Systématique.

**Summary** - The systematics of venomous snakes, like that of snakes as a whole, is still in expansion. The modern technics and the constitution of more important collections now allows a more synthetic view and permit to highlight the topics to be explored. The clinical and experimental use of immunological technics like ELISA clearly shows the need of a stronger collaboration between clinicians and systematists to obtain more suitable treatments of snake bites by serotherapy.

**Key words** : Venomous snakes. Systematics.

## I. INTRODUCTION

Malgré l'importance médicale évidente des serpents venimeux, leur systématique est très loin d'être clairement établie. Les principaux problèmes résultent de la grande quantité d'homoplasies [= caractères identiques qui se retrouvent chez des taxons qui ne partagent pas un ancêtre commun récent] rencontrées dans ce groupe très diversifié. L'homogénéité des structures morphologiques, au même titre que l'apparition de stratégies adaptatives similaires au sein de groupes indépendants, l'une fournissant des caractères plésiomorphes et l'autre favorisant les homoplasies, rend la tâche des systématiciens difficile car ils ont tendance à voir en elles une évolution vers un même type morphologique sans pour autant qu'il existe de relation phylogénétique directe entre les groupes en question. Cependant, la systématique des serpents est actuellement en pleine expansion et les techniques modernes à l'échelle moléculaire, ainsi que l'obtention de nouvelles collections importantes permettent déjà d'en avoir une vision plus naturelle. Dans l'état actuel de nos connaissances, il est cependant impossible de savoir si, dans la super-famille des Colubroidea, à laquelle appartiennent tous les serpents venimeux, l'appareil venimeux est un caractère primitif ou dérivé, c'est à dire évolué (voir Rage, 1994). L'hypothèse la plus probable, que nous suivrons ici, place toutefois les Viperidae dans une position primitive à la base de cette radiation, les Elapidae et les Colubridae ayant divergé indépendamment à partir d'un ancêtre venimeux, ce qui implique une régression secondaire de l'appareil venimeux au sein des Colubridae. L'utilisation des venins pour améliorer nos connaissances en systématique ne présente qu'un intérêt au niveau familial et générique ; par contre, au niveau de l'espèce, les variations intraspécifiques sont trop importantes et leur déterminisme encore imparfaitement connu (Price, 1995).

Plusieurs changements récents concernant la systématique des serpents venimeux d'importance médicale ne restent connus que des seuls spécialistes, malgré leur impact évident sur le traitement des morsures. Nous avons jugé utile de mettre l'ensemble des modifications récentes à la disposition des milieux médicaux et scientifiques dans une synthèse à paraître (David et Ineich, 1996). Plusieurs ouvrages et travaux récents sur les serpents venimeux d'une région ou sur un groupe particulier de taxons ont permis d'affiner considérablement nos connaissances ; nous renvoyons le lecteur à la synthèse de David et Ineich (1996) pour les références précises (voir aussi Golay *et al.*, 1993).

## II. LA SYSTÉMATIQUE AU NIVEAU SUPRA-GÉNÉRIQUE

Les premières classifications supra-génériques des serpents remontent au XIX<sup>ème</sup> siècle et ne tenaient compte que des formes vivantes. En se basant uniquement sur des caractères externes, quelques données anatomiques et la forme du corps, Schlegel (1837) établit la première classification intitulée "Essai sur la physionomie des Serpens". C'est ensuite le français A.M.C. Duméril (1853) qui introduisait les dissections comme base de la systématique moderne. Les quatre grandes divisions qu'il reconnaissait à partir de la denture sont encore acceptées de nos jours de manière informelle et sans valeur systématique stricte : (1) AGLYPHES : ce groupe est en fait mal défini car sa reconnaissance se fonde sur l'absence de crochets venimeux différenciés présents chez les trois autres groupes ; dans ce groupe, on trouve aussi des serpents opisthodontes (par exemple les genres *Xenodon* et *Heterodon*) qui présentent des dents postérieures allongées mais non pourvues d'un sillon ou d'un canal inoculateur ; (2) OPISTHOGLYPHES : ces serpents possèdent un ou plusieurs crochets sillonnés situés à la partie postérieure terminale du maxillaire qui est généralement long et qui présente de nombreuses dents antérieures aux crochets ; tous sont pourvus d'une glande de Duvernoy et chez le boomslang (*Dispholidus typus*), l'os maxillaire est capable de pivoter légèrement ; les deux types de denture présentés ci-dessus peuvent se rencontrer dans un même genre (*Rhabdophis*, *Erythrolamprus* ; McKinstry, 1983) ; (3) PROTEROGLYPHES : ces serpents possèdent un ou plusieurs crochets profondément sillonnés ou canaliculés situés à la partie antérieure terminale du maxillaire plus ou moins raccourci, mais qui conserve sa position dans le même plan horizontal que le palatin et le ptérygoïde ; ce maxillaire n'est que très peu capable de rotations - la plupart des espèces de ce groupe possèdent également des dents en arrière des crochets ; (4) SOLENOGLYPHES : chez ces serpents, les crochets venimeux sont canaliculés et constituent l'unique dent présente sur le maxillaire qui est très réduit et capable de pivoter jusqu'à ce qu'il soit au moins perpendiculaire aux os du crâne.

La méthode mise au point par A.M.C. Duméril (1853) est toujours bien commode pour diviser les serpents venimeux en quatre groupes, aglyphes, opisthogyphes, protéroglyphes et solénogyphes. C'est seulement au XX<sup>ème</sup> siècle, sur l'initiative de Nopcsa (1923) et de Hoffstetter (1939, 1955, 1962), que les données de la paléontologie ont été incluses dans les classifications proposées, ce qui constitua un grand pas en avant. Ce dernier auteur a établi une classification dans laquelle il reconnaît trois infra-ordres plus généralement considérés comme des parvordres à l'heure actuelle : (1) SCOLECOPHIDIA, qui regroupe de petits serpents fouisseurs rangés dans trois familles : Typhlopidae, Leptotyphlopidae et Anomalepididae ; (2) HENOPHIDIA, qui rassemble tous les serpents apparentés aux boas et aux pythons, en plus des Anilioidea ; et enfin (3) CAENOPHIDIA, renfermant tous les autres serpents évolués, dont les venimeux. Les scolécophidiens, dont l'appartenance aux serpents était quelquefois remise en question, peuvent être considérés comme la lignée basale des serpents actuels (Heise *et al.*, 1995). Le monophylétisme des caenophidiens est à présent clairement démontré par les techniques moléculaires (Heise *et al.*, 1995).

Les travaux de Hoffstetter ont été suivis jusqu'au milieu des années 1970, mais depuis McDowell (1975) et d'autres auteurs, sa classification a été modifiée : les Henophidia et les Caenophidia ont été regroupés dans les Alethinophidia. Les Henophidia ont disparu en temps que groupe, alors que les Caenophidia ont aussi disparu avant de réapparaître pour regrouper les Acrochordoidea et les Colubroidea. Les différenciations moléculaires entre taxons sont très grandes chez les Scolecophidia et les Henophidia, ce qui atteste de l'ancienneté de ces groupes. Par la suite, d'autres classifications ont été proposées (Underwood, 1967 ; Dowling et Duellman, 1974-1978). Notons cependant que Dowling et Duellman (1974-1978) proposèrent une classification des serpents où ils placèrent les Henophidia dans une position plus primitive que les Scolecophidia, suggérant ainsi une divergence de ces derniers à partir d'un stock ancestral "booïde", cette vision étant abandonnée à l'heure actuelle. Enfin, en 1987, McDowell a reconnu trois infra-ordres : les Choloophidia qui rassemblent toutes les espèces fossiles n'appartenant pas aux deux infra-ordres suivants, les Scolecophidia (avec trois familles) et les Alethinophidia qui regroupent les anciens Henophidia et Caenophidia dans six super-familles, les Henophidia ne constituant plus qu'un grade dans l'évolution de l'infra-ordre. La super-famille des Acrochordoidea est à présent considérée comme groupe frère des Colubroidea au sein des Alethinophidia pour y ranger les trois espèces du genre *Acrochordus* jusqu'alors à position incertaine (Rage, 1978; Groombridge, 1979 ; Rieppel, 1979, 1988 ; Schwaner et Dessauer, 1982 ; voir aussi Rage, 1994). Notons cependant que les données moléculaires récentes semblent exclure le genre *Acrochordus* des Caenophidia pour le placer dans le clade Henophidia, bien que sa position basale au sein des Caenophidia ne puisse être réfutée (Heise *et al.*, 1995). Nous préconisons de suivre à l'heure actuelle la classification synthétique proposée en annexe et inspirée de différents travaux.

### III. COMMENT CLASSER LES SERPENTS VENIMEUX ?

A l'heure actuelle, tous les serpents venimeux sont rangés au sein de l'infra-ordre des Serpentes, parvordre des Alethinophidia, super-famille des Colubroidea . Les données issues de la comparaison moléculaire des albumines permettent de distinguer quatre grands groupes parmi les serpents venimeux (Cadle, 1988) : les Viperidae, les Elapidae (en y incluant les serpents marins protéroglyphes), les Colubridae et le genre *Atractaspis*. McDowell (1987), qui se fonde sur des données anatomiques et morphologiques, ne partage pas cette vue. Il distingue deux séries informelles chez les Colubroidea : une série protéroglyphe, primitive, qui regroupe deux familles (Elapidae et Atractaspididae) et une série opisthoglyphe, avec des représentants pourvus ou non d'appareil venimeux (Colubridae et Viperidae). Cette vision implique que l'absence d'appareil venimeux puisse résulter d'une perte secondaire, comme l'avait déjà suggéré Underwood en 1967 (voir aussi Rage, 1994). Au sein des Caenophidia, les données moléculaires montrent la séparation antérieure des Viperidae par rapport aux Elapidae-Colubridae (Heise *et al.*, 1995).

### IV. ORIGINE DES SERPENTS VENIMEUX

L'origine des serpents n'est pas encore établie de façon non équivoque et différentes hypothèses ont été proposées : origine pré-lacertilienne, c'est à dire existence d'un ancêtre commun entre serpents et lézards, origine dans le groupe des lézards (non Iguania) ou ancêtre commun avec les Amphisbaenia, autre groupe monophyletique des Squamates. Il semble à l'heure actuelle plus probable, d'après les documents fossiles et les études cladistiques, que les serpents dérivent d'un ancêtre fouisseur de type "lézard", bien que cette proposition attende une démonstration claire (voir Rage, 1994). Les données moléculaires sont en accord avec cette hypothèse (Heise *et al.*, 1995). Ainsi,

certains serpents fouisseurs précoces auraient subi des modifications morphologiques avant qu'une ou plusieurs lignées ne retournent à la vie en surface pour donner naissance aux radiations des Henophidia et des Caenophidia (Heise *et al.*, 1995).

L'un des plus vieux fossiles de serpent connu appartient au genre *Lapparentophis* ; il provient d'Algérie et sa date est incertaine : il pourrait provenir de l'Albien supérieur, mais pourrait aussi être plus récent [Cénomanien] (voir Cuny *et al.*, 1990 ; Rage, 1994). Les plus vieux serpents certains sont deux fossiles non nommés de l'Albien supérieur d'Algérie. En outre, Rage et Richter (1994) signalent comme serpent un fossile du Barrémien (Crétacé inférieur), donc plus ancien que les fossiles ci-dessus. Mais depuis, la découverte et l'étude d'autres fossiles font douter de l'attribution de ces pièces ostéologiques aux serpents (Rage, comm. pers.). Les plus anciens fossiles Colubroidea datent de l'Eocène inférieur (53 à 46 millions d'années). Ce sont les Anomalophiidae et les Russellophiidae. Durant l'Eocène supérieur (40 à 34 millions d'années), les Alethinophidia primitifs (ex. Henophidia) ont décliné. Le plus ancien Colubridae date de l'Eocène supérieur de Thaïlande (Rage *et al.*, 1992). Les premiers fossiles connus de serpents venimeux sont âgés d'environ 20 millions d'années, époque à laquelle les Protéroglyphes et les Viperidae devaient être déjà bien établis. La faune des serpents de l'Oligocène est pauvre. Au Miocène, on observe une grande diversification des Colubroidea et un net déclin des Booidea (Rage, 1987).

## V. LA FAMILLE DES VIPERIDAE

Ce groupe de serpents est relativement homogène et se distingue nettement des autres Colubroidea par de nombreux caractères anatomiques, ostéologiques et histologiques. Leur monophylétisme n'a jamais été remis en question et les données moléculaires le confirment (Heise *et al.*, 1995). McDowell (1987) les regroupe avec les Colubridae dans sa série opisthoglyphe, sans pour autant lui attribuer un monophylétisme strict. Les Crotalinae sont caractéristiques car ils possèdent un organe thermo-récepteur loréal sensible à des températures très faibles. Malgré cette originalité, il est excessif de leur attribuer un rang familial. De plus, plusieurs Viperinae (genre *Bitis* par exemple) possèdent un sac supranasal dont la fonction thermique semble très similaire (Spawls et Branch, 1995). Wallach et Jones (1994) reconnaissent 32 genres et 230 espèces dans cette famille, tandis que David et Ineich (1996) y reconnaissent 31 genres et 220 espèces.

Des études récentes ont montré que deux genres, classiquement rangés parmi les Viperinae, présentent de nombreux caractères primitifs et peuvent être considérés comme les survivants d'un stock antérieur à la différenciation des Crotalinae (Groombridge, 1986). Il s'agit d'*Azemiops feae* qui se rencontre au Myanmar (ex Birmanie), en Chine du sud (y compris le Tibet) et au nord Viet-nâm, et du genre d'Afrique tropicale *Causus* qui regroupe six espèces et plusieurs encore non décrites. Ce dernier semble moins primitif qu'*Azemiops*, mais diverses caractéristiques biochimiques le différencient nettement des Viperinae. Très curieusement, plusieurs travaux récents semblent montrer qu'*Azemiops* se rapproche plus des Crotalinae que des Viperinae (voir par exemple Cadle, 1992; Heise *et al.*, 1995). *Azemiops* et *Causus* sont maintenant chacun placés au sein des Viperidae dans une sous-famille à part, Azemiopinae et Causinae respectivement, bien que cette dernière ne soit pas unanimement reconnue.

Les Viperidae possèdent indiscutablement de grandes facultés pour coloniser les milieux extrêmes. On les rencontre au nord du cercle arctique (*Vipera berus*), au sud du 42° de latitude en Argentine (*Bothrops ammodytoides*) et même en altitude : près de 5000 mètres dans l'Himalaya (*Gloydus himalayanus*, autrefois placé dans le g. *Agkistrodon*), plus de 4400 m au Mexique (*Crotalus triseriatus*), dans les zones les plus arides (genre *Cerastes* au Sahara et en Arabie, genres *Pseudocerastes* et *Eristicophis*

en Egypte et dans les déserts d'Asie occidentale). Certains genres possèdent à la fois des espèces particulièrement xérophiles et d'autres qui occupent les forêts humides (genres *Crotalus* et *Bitis*). Par contre, les Viperidae n'ont eu que peu de succès en ce qui concerne l'occupation des milieux aquatiques, bien que de rares espèces y soient bien adaptées (*Agkistrodon piscivorus* par exemple). Notons aussi que les grands domaines insulaires comme Madagascar, la Nouvelle Guinée et l'Australie n'ont jamais été atteints par ces serpents.

## A - Origine

La répartition actuelle des Viperidae suggère une origine asiatique, les Viperinae se différenciant plus tard dans la partie occidentale du continent et les Crotalinae dans la partie orientale (Marx et Rabb, 1965 ; Rage, 1982). Notons toutefois que le fossile Crotalinae le plus ancien provient du Miocène du Texas. L'expansion tertiaire de ce groupe semble s'être faite en relation avec celle des Rongeurs. Les documents paléontologiques, qui ne sont pas antérieurs au Miocène, montrent qu'à cette époque les Viperinae avaient colonisé l'Europe et l'Afrique (les plus anciens fossiles proviennent d'Europe et sont âgés de 23,5 à 20 millions d'années) et les Crotalinae l'Amérique du Nord, l'Amérique du Sud n'étant colonisée qu'au Pliocène. Toutefois, la répartition africaine du genre *Causus* - considéré comme primitif - cadre mal avec ce schéma et il nous faut admettre, ou bien que cette lignée a émigré en Afrique en même temps que les Viperinae pour disparaître ensuite en Asie, ou bien qu'elle représente la survivance de Viperinae restés primitifs.

## B - Systématique

Les Viperidae sont divisés en quatre sous-familles (remarquons cependant que McDowell [1987] place le genre *Causus* parmi les Viperinae) : Azemiopinae, Causinae, Viperinae et Crotalinae.

### 1. Les Viperinae

C'est en 1984 que Groombridge a démontré que tous les genres de Viperinae (à l'exception du genre *Causus*, qui est le groupe frère des autres) partagent des caractères dérivés pour leur circulation carotidienne. Les résultats moléculaires les plus récents semblent indiquer une origine africaine du groupe à partir d'un ancêtre proche du genre actuel *Causus* (Herrmann et Joger, 1995). Au sein du clade Viperidae, les vipères vraies forment le groupe soeur des crotales et du genre *Azemiops* (Heise *et al.*, 1995).

Deux grands ensembles sont reconnus dans cette sous-famille : l'ensemble paléarctique, dont une espèce (*Daboia russellii*, anciennement rangée dans le genre *Vipera*) atteint le sud-est asiatique et l'Indonésie (genres *Daboia*, *Vipera*, *Macrovipera*, *Pseudocerastes* et *Eristicophis*) et l'ensemble éthiopien (genres *Bitis*, *Atheris* et *Adenorhinos*). La situation des genres *Cerastes* et *Echis*, intermédiaires par leur morphologie et leur biogéographie, reste incertaine. Le monophylétisme du genre *Echis* vient d'être attesté récemment (Ineich et Tellier, 1992), contrairement à ce qu'affirment Herrmann et Joger (1995).

### 2. Les Crotalinae

Dans ce groupe, il existe des espèces avec ou sans bruiteur caudal placé à l'extrémité de la queue et aussi avec et sans grandes plaques céphaliques, leur présence étant généralement considérée comme primitive car ces plaques sont constantes chez les Colubridae, les Elapidae, les Azemiopinae et les Causinae. Cependant, l'existence de grandes plaques céphaliques chez *Sistrurus* et *Agkistrodon* pourrait aussi représenter un caractère homoplasique avec les plaques des Colubridae, ce qui est plus en accord avec

les résultats immunologiques et moléculaires récents qui placent les Viperidae à la base de l'évolution des serpents modernes. Trois tribus sont le plus souvent reconnues : Crotalini, Agkistrodontini et Lachesini.

#### a - Crotalini

Ce sont les serpents à sonnette. Ils sont tous américains et surtout abondants dans la moitié nord du continent. Deux genres sont reconnus : *Sistrurus* (3 sp.) et *Crotalus* (29 sp.) (David et Ineich, 1996). Généralement, on fait dériver les crotales à sonnette d'un ancêtre commun avec *Agkistrodon sensu lato*, principalement du fait de la présence de grandes plaques céphaliques chez *Agkistrodon* et chez les crotales primitifs du genre *Sistrurus*. Le bruiteur caudal aurait évolué chez les Crotalinae afin de signaler leur présence aux nombreux grands herbivores sympatriques (Fenton et Licht, 1990).

#### b - Agkistrodontini

Ils possèdent de grandes plaques céphaliques et regroupent le genre asiatique et américain *Agkistrodon sensu lato* (voir Gloyd et Conant, 1990). Ce genre vient d'être récemment scindé en *Agkistrodon sensu stricto* [3 sp.], *Calloselasma* [1 sp.], *Deinagkistrodon* [1 sp.], *Gloydus* [10 sp.] et *Hypnale* [3 sp.]. La validité du genre *Gloydus*, remise en question par Gloyd et Conant (1990), vient d'être confirmée par des techniques moléculaires (Parkinson et Ahlquist, 1995).

#### c - Lachesini

Cette tribu n'est pas reconnue par Hoge et Romano-Hoge (1981). Le genre monospécifique *Lachesis* d'Amérique tropicale est rangé dans cette tribu, en compagnie d'autres espèces du genre *Bothrops sensu lato* et des Crotalinae asiatiques du genre *Trimeresurus sensu lato*. Le genre *Bothrops sensu lato* a été récemment scindé en six genres : *Atropoides* [3 sp.], *Bothriechis* [7 sp.], *Bothriopsis* [5 sp.], *Bothrops sensu stricto* [27 sp.], *Cerrophidion* [3 sp.], *Ophryacus* [1 sp.] et *Porthidium* [11 sp.]. Malgré l'importance médicale considérable du complexe d'espèces *Bothrops atrox* en Amérique latine, sa systématique demeure toujours mal connue mais les travaux moléculaires récents combleront certainement cette lacune (Salomao *et al.*, 1995 ; Wüster *et al.*, 1995). Le genre *Trimeresurus sensu lato* a été, lui aussi, divisé en quatre genres (*Ermia* [1 sp.], *Trimeresurus sensu stricto* [34 sp.], *Tropidolaemus* [3 sp.] et *Ovophis* [4 sp.]).

Le maître de la brousse, *Lachesis muta*, est un Crotalinae unique, suggéré comme ancêtre des crotales, mais en fait sa grande taille, ses écailles tuberculées, sa reproduction et l'arrangement inhabituel de ses écailles caudales en font plutôt une espèce spécialisée, probablement à rattacher aux ancêtres de *Trimeresurus* qui arrivèrent d'Asie vers l'Amérique durant le Miocène. Comme beaucoup de *Trimeresurus*, le maître de la brousse est ovipare, caractère unique parmi tous les Crotalinae américains. Les distributions de *Lachesis* et *Crotalus* sont complémentaires en Amérique du Sud, le premier se rencontre dans les forêts humides denses, tandis que le dernier n'occupe que les forêts sèches et les régions de savanes (y compris les savanes incluses dans les forêts tropicales humides). Ce patron suggère que la distribution actuelle du genre *Crotalus*, au moins en Amérique du Sud, est une restriction d'une distribution plus large durant une période climatique plus sèche, quand les savanes étaient plus étendues (Hoogmoed, 1983).

## VI. LA FAMILLE DES ATRACTASPIDIDAE

A l'heure actuelle, 17 espèces sont rassemblées dans le genre *Atractaspis* (David et Ineich, 1996). Ces serpents très particuliers sont fouisseurs et vivent en Afrique et au Moyen-Orient (sud de la péninsule Arabe, Israël). Ils sont généralement de couleur sombre uniforme,

leur tête est petite, le corps cylindrique et la queue courte. Leur appareil venimeux très particulier, du type soléno-glyphe, est original parmi les serpents. Les crochets longs et creux (canaliculés) sont placés sur le maxillaire très réduit, capable de peu de rotation, mais par contre la mâchoire inférieure peut être balancée du côté opposé au crochet pour le libérer au moment de la morsure. Un seul crochet est utilisé à la fois et la morsure se pratique avec la bouche véritablement fermée. Ce mécanisme est adapté à la capture de proies (lézards fouisseurs et serpents Typhlopidae principalement) dans les galeries souterraines où vivent ces serpents.

Longtemps classés parmi les Viperidae, à un rang sous-familial (voir Underwood, 1967), puis parmi les Colubridae Aparallactinae qui sont des fouisseurs africains (Bourgeois, 1968) ou Lycodontinae (Dowling *et al.*, 1983), toutes les données anatomiques et biochimiques récentes permettent de leur attribuer à présent un rang familial (Kochva *et al.*, 1967 ; Kochva et Wollberg, 1970 ; Cadle, 1982 ; McDowell, 1986 ; Kochva, 1987 ; Underwood et Kochva, 1993). Cadle (1987) ne place que le genre *Atractaspis* dans cette famille, mais McDowell (1987) y rassemble également d'autres genres difficiles à classer : par exemple *Homoroselaps* qui ne possède que des crochets sur le maxillaire et *Amblyodipsas*, *Xenocalamus* et *Micrelaps* qui possèdent des dents antérieures aux crochets, ces derniers n'étant toutefois pas aussi particuliers que dans le genre *Atractaspis*. Par la suite, Underwood et Kochva (1993) ont démontré le monophylétisme du groupe et en ont modifié le contenu (voir en annexe) ; ils placent à nouveau le genre *Homoroselaps* parmi les Elapidae. Les représentants de la famille n'occupent que l'Afrique et le Moyen-Orient. Wallach et Jones (1994) considèrent 14 genres et 66 espèces dans la famille des Atractaspididae. Les données immunologiques attestent de l'ancienneté de ce groupe qui pourrait représenter une petite ramification d'un stock Colubroidea primitif africain. Des données moléculaires récentes placent cependant le genre *Atractaspis* parmi les Elapidae (Heise *et al.*, 1995).

Le venin des *Atractaspis* renferme de nombreuses cardiotoxines, différentes de celles des Elapidae, baptisées sarafotoxines a, b et c (SRTX). La morsure très particulière de ces serpents et la toxicité fréquente de leur venin en font des animaux dangereux (Kochva *et al.*, 1982).

## VII. LA FAMILLE DES ELAPIDAE

Les genres considérés comme les plus primitifs du groupe se rencontrent en Nouvelle Guinée (*Toxicocalamus*), aux Fidji (*Ogmodon*) et peut-être aux Salomon et en Australie. Chez ces espèces, les dents antérieures sont courtes et sillonnées, suivies généralement sans diastème par quatre à sept dents de taille décroissante. McDowell (1969) considère cependant ce caractère comme dérivé.

Le principal problème rencontré dans cette famille est de savoir si elle est bien homogène, c'est à dire si la denture protéro-glyphe définit bien une lignée monophylétique. La présence d'une glande à venin caractéristique et uniforme dans ce groupe et les données biochimiques semblent conforter cette vision (Kochva, 1978 ; McCarthy, 1985 ; Cadle, 1987). Les travaux de Heise *et al.* (1995) mettent en évidence le monophylétisme de ce groupe, en y incluant toutefois le genre *Atractaspis*. La ressemblance de nombreux Colubridae actuels avec des Elapidae peut être due à la persistance de caractères ancestraux ou, de façon plus probable, à des convergences liées à un même mode de vie (Underwood, 1979 ; McCarthy, 1985). Une étude récente de la position des crêtes sur les dents maxillaires a montré que la denture protéro-glyphe dériverait d'un crochet opisthoglyphe qui aurait migré antérieurement (Jackson et Fritts, 1995).

## A - Origine

La répartition actuelle des Elapidae et leur grande diversité en Australie étaient autrefois considérés comme des arguments en faveur d'une origine gondwanienne de la famille (Rabb et Marx, 1973). L'Asie aurait été peuplée ultérieurement à au moins deux reprises par des formes africaines. Ce schéma suppose cependant que la famille ait été différenciée dès la fin du Crétacé, ce qui est difficilement conciliable avec les données paléontologiques actuellement disponibles (Rage, 1982 ; Szyndlar et Rage, 1990). Si l'on admet alors une origine plus récente des Elapidae en Afrique ou en Asie, l'Australie et l'Amérique étant par la suite peuplées par des espèces asiatiques, il paraît difficile d'expliquer pourquoi les Elapidae sont arrivés en Asie et en Australie bien avant les Colubridae, qui sont indiscutablement des immigrants récents sur ce continent. Cependant, les exemples de colonisations par des groupes différents à des époques séparées sont nombreux. Le fait que les Elapidae soient très diversifiés en Australie ne prouve rien. Au contraire, à l'inverse de ce qu'indiquent certaines théories, le maximum de diversification apparaît souvent secondairement dans des aires colonisées et non sur le domaine d'origine. Un groupe atteint un nouveau domaine où s'offre une quantité de niches nouvelles vacantes puis s'y diversifie en l'absence de concurrence. C'est le cas des Pythons en Australie et certainement aussi celui des Elapidae sur ce continent ; ces derniers, arrivés en Australie au Miocène, n'y ont rencontré aucun serpent venimeux et s'y sont développés. Le plus ancien Elapidae connu est un fossile du genre *Naja* datant du début du Miocène (20 à 16 millions d'années) et trouvé en France (Szyndlar et Rage, 1990).

## B - Systématique

Principalement d'après des travaux anatomiques, Smith *et al.* (1977) divisent les Colubroidea protéroglyphes en trois familles : le genre *Homorosefaps*, les Elapidae et les Hydrophiidae (protéroglyphes marins et protéroglyphes terrestres australiens). McDowell (1987) rassemble les serpents terrestres australiens et les serpents marins dans la sous-famille des Hydrophiinae, ce qui est en accord avec les résultats biochimiques et cytogénétiques récents (Schwaner *et al.*, 1985 ; Mengden, 1985). D'autre part, ce même auteur individualise les six sous-familles suivantes dans les Elapidae : Calliophiinae, Maticorinae, Elapinae, Bungarinae, Hydrophiinae et Laticaudinae.

Dans l'état actuel de nos connaissances, toutes les classifications des Elapidae ne peuvent qu'être hypothétiques car plusieurs espèces charnières ne peuvent être rangées de façon fiable. Les serpents marins protéroglyphes peuvent être classés en trois groupes : (1) genre *Laticauda* (Laticaudinae), (2) groupe *Aipysurus* avec les genres *Aipysurus* et *Emydocephalus* et (3) groupe *Hydrophis* avec tous les autres genres (Rasmussen, 1995). La vie marine semble apparue à au moins deux reprises chez les Elapidae (Laticaudinae et autres protéroglyphes marins).

## C - Biogéographie

### 1. Europe

Les Elapidae ne sont connus d'Europe qu'à l'état de fossiles appartenant au genre *Naja* (Szyndlar et Rage, 1990).

### 2. Afrique

L'Afrique constitue sans aucun doute un centre d'évolution important pour les serpents protéroglyphes dont les genres les plus connus sont les cobras (*Naja*) et les mambas (*Dendroaspis*). Très peu d'informations sont à l'heure actuelle disponibles sur l'histoire évolutive de ce groupe en Afrique, mais les données biochimiques suggèrent l'existence de plusieurs lignées très anciennes (Cadle, 1987). L'invasion des serpents modernes en Afrique

s'est faite vers le début du Miocène, après la collision Eurasie-Afrique. A l'exception de deux genres (*Naja* et *Walterinnesia*), tous les autres Elapidae africains sont endémiques du continent. Ils rassemblent des espèces terrestres (*Naja*), arboricoles (*Dendroaspis* et *Pseudohaje*), aquatiques (*Boulengerina*) et fouisseuses (*Elapsoidea*, *Aspidelaps*, *Paranaja* et *Walterinnesia*). Le genre *Walterinnesia* occupe une aire disjointe entre l'Afrique et l'Asie et partage beaucoup de caractères primitifs entre les *Naja* d'Afrique et *Naja oxiana*. Il pourrait constituer une ramification précoce du genre *Naja* antérieure ou juste postérieure à la séparation des complexes africains et asiatiques du groupe (Szyndlar et Rage, 1990). Un caractère particulier se rencontre parmi certains représentants africains du groupe : la modification de l'orifice d'évacuation du venin pour atteindre les yeux de l'adversaire (cobras cracheurs : *Naja nigricollis*, *N. mossambica*, *N. pallida*, *N. katiensis* et le Sépédon hémachate, *Hemachatus haemachatus*, qui est le seul Elapidae africain vivipare et à écailles dorsales carénées). La position exacte des mambas reste encore incertaine. Romer (1956) a montré que leur maxillaire est assez différent pour isoler ce genre parmi les protéroglyphes, position confortée par l'étude de leur venin (Strydom, 1979 ; Saint Girons et Detrait, 1980). Cependant, Underwood (1979) et McDowell (1987) les rangent parmi les Bungarinae. L'étude de la radiation africaine des protéroglyphes doit constituer une priorité pour les recherches à venir. Cette radiation est remarquable car elle s'est produite ou a persisté malgré la présence des Colubridae et des Viperidae.

### 3. Amérique

Les serpents corail sont les seuls représentants des protéroglyphes sur ce continent. Ils rassemblent actuellement plus de 120 espèces et sous-espèces contenues dans seulement deux genres (*Micrurus* avec 64 sp. et *Micruroides* avec 1 sp. ; David et Ineich, 1996). La reconnaissance du genre *Leptomicrurus* (3 sp.) n'est pour le moment pas justifiée, bien qu'il soit monophylétique, car elle impliquerait un paraphylétisme du g. *Micrurus* ; il est par conséquent placé en synonymie du genre *Micrurus* en attente de travaux plus complets (Slowinski, 1995). Des travaux sur les albumines sériques montrent que ces serpents sont plus proches des protéroglyphes marins et australiens que de ceux d'Asie et d'Afrique (Mao *et al.*, 1983). Une origine gondwanienne n'est pas à exclure, mais semble difficilement conciliable avec les documents fossiles présents en Europe (Miocène moyen) et au centre des Etats-Unis (Miocène supérieur). Savitzky (1979) suggérait une origine *in situ* à partir de serpents apparentés aux Colubridae Xenodontinae, mais Cadle (1982) a montré clairement leur origine au sein des Elapidae. Les serpents corail du Nouveau Monde fréquentent tous la litière et beaucoup sont ophiophages, au moins partiellement (Roze, 1983).

### 4. Asie

En Asie, le genre *Naja* semble dérivé de deux stocks africains : l'un avec une denture normale et l'autre avec une denture du type cracheur. Les données immunologiques et biochimiques montrent clairement que ce genre diffère de *Bungarus* et de tous les autres protéroglyphes australiens et marins. Le plus grand serpent venimeux au monde, le cobra royal (*Ophiophagus hannah*), reste une énigme pour les systématiciens et sa position demeure toujours incertaine. Malgré son danger potentiel, les envenimations par le cobra royal restent rares car l'espèce n'est présente qu'en forêt. Trois autres genres asiatiques Elapidae sont à mentionner : les bongares (*Bungarus*) et les serpents corail d'Asie (*Maticora* et *Calliophis*, ce dernier genre n'étant pas monophylétique d'après McDowell, 1987).

### 5. Australie

C'est en Australie que les Elapidae sont les plus abondants : plus de 80 espèces reconnues (Shea *et al.*, 1993) ; les Viperidae sont totalement absents du continent. On y rencontre aussi bien des espèces arboricoles, aquatiques, terrestres (les plus abondantes) que semi-fouisseuses. De nombreuses données récentes montrent que ces serpents forment un

groupe monophylétique (à l'exception possible du genre *Demansia*, qui pourrait être proche de la forme à l'origine de la radiation des serpents marins) composé de deux à trois stocks nettement différenciés, par exemple par leur mode de reproduction ovipare ou ovovivipare (Keogh, 1995). Les affinités entre les protéroglyphes terrestres australiens et les protéroglyphes marins sont confirmées par les données biochimiques et morphologiques (Shea *et al.*, 1993). Smith *et al.* (1977) suggèrent que ces deux groupes soient rassemblés dans une seule famille, les Hydrophiidae, avec deux sous-familles, les Oxyuraninae terrestres et les Hydrophiinae marins. Ensemble, ils forment un groupe monophylétique, les Hydrophiidae, bien que les relations dans le groupe soient encore imparfaitement comprises, particulièrement en ce qui concerne les affinités des Hydrophiinae qui pourraient être issus de la lignée vivipare des protéroglyphes terrestres australiens. Les Hydrophiidae sont aussi liés, de façon plus distante, aux Elapidae asiatiques et africains (Bungarinae) et aux Elapidae américains (Elapinae). Les serpents marins ovipares (genre *Laticauda*) sont apparentés tout d'abord aux Hydrophiinae australiens, ensuite aux Elapidae terrestres australiens (Oxyuraninae) et de façon plus distante aux Elapidae asiatiques et africains. Leur distance avec les Elapidae américains est plus éloignée (Shea *et al.*, 1993). Les relations entre les genres terrestres ont été analysées par Mengden (1985), Schwaner *et al.* (1985) et Wallach (1985) par des méthodes cytogénétiques, électrophorétiques, immunologiques et anatomiques respectivement. Un consensus se dégage de ces études pour reconnaître le genre *Demansia* comme très distinct et le plus proche de *Pseudechis*, *Pseudonaja* et *Oxyuranus*. Les genres *Hemiaspis*, *Acanthophis* et *Hoplocephalus* forment un second groupe distinct. Enfin, *Notechis*, *Austrelaps* et *Tropidechis* présentent de fortes affinités entre eux et constituent le troisième groupe. Wallach et Jones (1994) considèrent 44 genres et 206 espèces dans les Hydrophiidae ainsi définis et 19 genres et 121 espèces pour les Elapidae *sensu stricto*, ce qui totalise 63 genres et 327 espèces pour les Elapidae tels que nous les reconnaissons ici. David et Ineich (1996), quant à eux, ne reconnaissent que 60 genres et 292 espèces dans ce dernier groupe. Malgré ces résultats, nous préférons conserver ici, pour des raisons pratiques, les protéroglyphes terrestres australiens et les serpents marins au sein des Elapidae. Nous ne reconnaitrons pas comme valide la sous-famille des Oxyuraninae, mais nous regrouperons les protéroglyphes terrestres australiens et les protéroglyphes marins non Laticaudinae dans la sous-famille des Hydrophiinae.

### VIII. LA FAMILLE DES COLUBRIDAE

Cette famille rassemble 287 genres et près de 1700 espèces (Wallach et Jones, 1994). Elle a connu un développement considérable durant le Miocène (Rage *et al.*, 1992). Sa systématique pose encore de très nombreux problèmes, le principal étant qu'il n'existe pas de caractère dérivé qui démontre le monophylétisme de toutes les lignées de Colubridae. Il est pratiquement certain que ce groupe est paraphylétique (Cadle, 1987) et les données moléculaires le prouvent (Heise *et al.*, 1995). Tous les systématiciens sont à l'heure actuelle unanimes pour dire que la denture opisthoglyphe est apparue à plusieurs reprises dans différentes lignées. Ce qui varie en fait beaucoup d'un auteur à l'autre, c'est le nombre de ces lignées. S'il est assez aisé de reconnaître plusieurs petits groupes homogènes et relativement bien différenciés (Homalopsinae, Colubrinae, Natricinae, ...), les difficultés proviennent des nombreux genres intermédiaires difficiles à classer. Le plus ancien Colubridae provient de l'Eocène de Thaïlande (Rage *et al.*, 1992) où sa découverte s'accorde avec l'opinion de Cadle (1987) qui propose, sur des bases immunologiques, que la plupart des branches phylétiques de Colubridae sont apparues à l'Oligocène inférieur et appuie ainsi l'hypothèse d'une origine asiatique de la famille (Rage, 1987). La radiation qui a donné naissance aux Elapidae et aux Viperidae est plus ancienne et pourrait être à l'origine des lignées de Colubroidea.

En 1967, Underwood a reconnu quatre familles (Dipsadidae, Homalopsidae, Natricidae et Colubridae) et dix sous-familles. En 1977, Smith *et al.* ne reconnaissaient plus qu'une seule famille avec 28 sous-familles non définies. En 1974-1978, Dowling et Duellman ont considéré une seule famille avec quatre sous-familles (Xenodontinae, Lycodontinae, Colubrinae et Natricinae), puis leurs arguments ont été précisés ultérieurement (Dowling *et al.*, 1983). McDowell, en 1987, distinguait lui aussi une seule famille et neuf sous-familles dans sa série opisthoglyphe (Colubrinae ubiquistes, Natricinae ubiquistes, Xenodontinae américains, Boodontinae africains et malgaches, Homalopsinae asiatiques, Xenoderminae asiatiques, Calamariinae asiatiques, Pareatinae asiatiques et Pseudoxenodontinae asiatiques).

Une étude sur 177 genres de la famille sensu lato des Colubridae (qui en compte environ 300) a montré que 93 de ces genres sont opisthoglyphes, 41 ont des dents postérieures allongées mais sans sillon (aglyphes hétérodontes) et 43 présentent des dents non modifiées (aglyphes homodontes). Beaucoup des représentants de ces trois groupes possèdent une glande de Duvernoy séreuse ou muco-séreuse capable d'élaborer des sécrétions toxiques (McKinstry, 1983). La présence d'une glande de Duvernoy (glande salivaire modifiée) et la présence de dents postérieures allongées constituent sans aucun doute des indicateurs de toxicité chez les Colubridae. Notons toutefois que les trois groupes reconnus dans ce travail sont tous polyphylétiques.

Quelle que soit la classification adoptée, les couleuvres qui possèdent la fonction venimeuse ne constituent jamais un groupe homogène et il semble évident que les propriétés toxiques de la glande de Duvernoy sont apparues à plusieurs reprises dans le groupe.

De très nombreux Colubridae sont responsables d'envenimations humaines plus ou moins graves, mais seuls les genres suivants ont occasionné des morts : *Dispholidus*, *Philodryas*, *Rhabdophis*, *Tachymenis* et *Thelotornis* (voir David et Ineich, 1996). Les accidents survenant suite à des morsures de serpents opisthoglyphes deviennent plus fréquents, principalement du fait de l'attrait des terrariophiles envers certaines espèces. Des envenimations graves par des Colubridae peuvent également être dues à des espèces aglyphes pourvues d'une glande de Duvernoy (c'est le cas de la Couleuvre verte et jaune, *Coluber viridiflavus*, responsable d'une envenimation grave tout récemment en France). Les morsures humaines fatales de Colubridae existent, mais demeurent cependant relativement rares (Minton et Mebs, 1978; voir aussi David et Ineich, 1996).

## IX. CONCLUSION

Le traitement des morsures en milieu hospitalier reste encore très empirique et surtout basé sur les manifestations détectables de l'envenimation. Cependant, la technique enzymatique ELISA autorise à l'heure actuelle une approche plus rigoureuse de la situation en permettant à tout instant de connaître les quantités de venin et d'antivenin circulant dans les fluides du patient. Il est dès lors possible de mesurer efficacement le pouvoir neutralisant des sérums envers les antigènes du venin. Ainsi, au Brésil, on a pu montrer que les patients sont traités par des quantités excessives de sérum polyspécifique anti-*Bothrops*, ce qui a pour conséquence de provoquer des taux de chocs anaphylactiques trop élevés. De même, au Sri Lanka, l'utilisation du sérum importé d'Inde n'est que très peu efficace pour neutraliser les venins des serpents locaux. Le venin de la vipère de Russell en Inde ne possède pas la neurotoxine présente dans le venin de la même espèce au Sri Lanka. En Afrique de l'Ouest, l'efficacité accrue d'un sérum monospécifique par

rapport au sérum polyspécifique actuellement utilisé est clairement démontrée pour les morsures par *Echis ocellatus*. La technique enzymatique moderne ELISA permettra sans aucun doute des progrès considérables dans la sérothérapie et une meilleure utilisation des immunsérums fort coûteux. Elle démontre également la nécessité pour chaque pays de produire ses propres sérums à partir de venins prélevés sur des populations locales (Theakston, 1995).

Saint Girons (1989) écrit que la systématique doit bien entendu tendre à être phylogénétique et refléter les relations naturelles de parenté entre espèces, mais qu'elle demeure également un outil de travail. Il n'est par conséquent, d'après lui, pas souhaitable de modifier la classification et la nomenclature à chaque nouvelle interprétation suggérée par l'étude de tel ou tel caractère. Ceci est particulièrement vrai pour les serpents venimeux qui ne concernent pas que les seuls zoologistes. En fait, tous les travaux récents démontrent clairement les importantes implications directes de la systématique sur la sérothérapie et les techniques modernes comme ELISA le prouvent bien. La sérothérapie ne peut être efficace que si elle se fonde sur de solides bases systématiques. La confection des sérums anti-ophidiens doit s'adapter aux découvertes récentes de la systématique. Ainsi, il semblerait plus efficace d'utiliser des venins provenant d'individus d'âge et d'origine géographique différents afin d'accroître le pouvoir antigénique des sérums (Warrell, 1995). Une meilleure collaboration entre systématiciens, cliniciens et industriels impliqués dans la confection des sérums anti-venimeux doit être développée.

**Remerciements** - L'auteur exprime sa gratitude à P. David, A. Dubois, J.-C. Rage et H. Saint Girons pour leurs remarques utiles à ce travail.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOURGEOIS, M. (1968) - Contribution à la morphologie comparée du crâne des ophidiens de l'Afrique centrale. *Publ. Univ. Off. Congo, Lubumbashi*, 18 : 1-293.
- CADLE, J.E. (1982) - Problems and approaches in the interpretation of the evolutionary history of venomous snakes. *Mem. Inst. Butantan*, 46 : 255-274.
- CADLE, J.E. (1987) - The geographic distribution of snakes. In : Snakes : ecology and evolutionary biology. R.A. Seigel, J. T. Collins et S. S. Novak (éds.). pp. 77-105. Macmillan Publishing Co., New York, 529 p.
- CADLE, J.E. (1988) - Phylogenetic relationships among advanced snakes. A molecular perspective. *Univ. California Publ. (Zool.)*, 119 : 1-77.
- CADLE, J.E. (1992) - Phylogenetic relationships among vipers : immunological evidence. In : Biology of the Pitvipers. J.A. Campbell and E.D. Broodie, Jr. (éds.). pp. 41-48. Tyler, Texas : Selva. 467 p.
- CUNDALL, D., WALLACH, V. et ROSSMAN, D.A. (1993) - The systematic relationship of the snake genus *Anomochilus*. *Zool. J. Linn. Soc.*, 109 : 275-299.
- CUNY, G., JAEGER, J.-J., MAHBOUBI, M. et RAGE, J.-C. (1990) - Les plus anciens serpents (Reptilia, Squamata) connus. Mise au point sur l'âge géologique des serpents de la partie moyenne du Crétacé. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 311, II : 1267-1272.
- DAVID, P. et INEICH, I. (1996) - Les serpents venimeux du monde : systématique et répartition. *Dumerilia*, en préparation.

- DOWLING, H.G. et DUELLMAN, W.E. (1974-1978) - Systematic herpetology : a synopsis of families and higher categories. *HSS Publications in Herpetology*, New York, 7 : 1-240.
- DOWLING, H.G., HIGHTON, R., MAHA, G.C. et MAXSON, L.R. (1983) - Biochemical evaluation of colubrid snake phylogeny. *J. Zool., London*, 201 : 309-329.
- DOWLING, H.G. et JENNER, J.V. (1987) - Taxonomy of american xenodontine snakes. II. The status and relationships of *Pseudoleptodeira*. *Herpetologica*, 43(2) : 190-200.
- DUMERIL, A.M.C. (1853) - Prodrome de la classification des Reptiles ophiidiens. Paris, Didot frères. 140 p., 2 planches.
- FENTON, M.B. et LICHT, L.E. (1990) - Why rattle snake ? *J. Herpetol.*, 24(3) : 274-279.
- GLOYD, H.K. et CONANT, R. (1990) - Snakes of the *Agkistrodon* complex. A monographic review. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. Oxford, Ohio. 521 p.
- GOLAY, P., SMITH, H.M., BROADLEY, D.G., DIXON, J.R., MCCARTHY, C., RAGE, J.-C., SCHATTI, B. et TORIBA, M. (1993) - Endoglyphs and other Major Venomous Snakes of the World. Azemiops S.A., Herpetological Data Center, Aire-Geneva, Suisse. i-xv, 478 p.
- GROOMBRIDGE, B. (1979) - On the vomer in Acrochordidae (Reptilia : Serpentes), and its cladistic significance. *J. Zool., London*, 189 : 559-567.
- GROOMBRIDGE, B. (1984) - The facial carotid artery in snakes (Reptilia, Serpentes) : variations and possible cladistic significance. *Amphibia-Reptilia*, 5 : 145-155.
- GROOMBRIDGE, B. (1986) - Phyletic relationships among viperine snakes. In : *Studies in Herpetology. Z. Rocek* (éd.). pp.219-222. Prague.
- HEISE, P.J., MAXSON, L.R., DOWLING, H.G. et HEDGES, S.B. (1995) - Higher-level snake phylogeny inferred from mitochondrial DNA sequences of 12S rRNA and 16S rRNA genes. *Mol. Biol. Evol.*, 12(2) : 259-265.
- HERRMANN, H.-W. et JOGER, U. (1995) - Molecular evolution of viperine snakes. Abstracts. Symposium "Venomous Snakes : Ecology, Evolution and Snakebite". *The Zoological Society of London*. Londres, 27-28 avril 1995.
- HOFFSTETTER, R. (1939) - Contribution à l'étude des Elapidae actuels et fossiles et de l'ostéologie des ophiidiens. *Arch. Mus. Hist. Nat., Lyon*, 15 : 1-78, 2 planches.
- HOFFSTETTER, R. (1955) - Squamates de type moderne. In : *Traité de Paléontologie*, tome V. J. Piveteau (éd.). pp. 606-662. Paris : Masson.
- HOFFSTETTER, R. (1962) - Revue des récentes acquisitions concernant l'histoire et la systématique des Squamates. *Colloque Intern. C.N.R.S.*, 104 : 243-279.
- HOGUE, A.R. et ROMANO-HOGE, S.A.R.W.L. (1981) - Poisonous snakes of the world. Part I, Checklist of the pit vipers. Viperioidea, Viperidae, Crotalinae. *Mem. Inst. Butantan*, 42/43 [1978-1979]: 179-310.
- HOOGMOED, M.S. (1983) - Snakes of the Guianan region. *Mem. Inst. Butantan*, 46 [1982] : 219-254.
- INEICH, I. et TELLIER, J.-M. (1992) - Une glande supralabiale à débouché externe chez le genre *Echis* (Reptilia, Viperidae), cas unique chez les serpents. *C.-r. Acad. Sci. Paris*, t. 315, Sér. III : 49-53.
- JACKSON, K. et FRITTS, T.H. (1995) - Evidence from tooth surface morphology for a posterior maxillary origin of the proteroglyph fang. *Amphibia-Reptilia*, 16 : 273-288.
- KEOGH, J. S. (1995) - Evolution of the Australian proteroglyph radiation : a morphological perspective. Abstracts. Symposium "Venomous Snakes : Ecology, Evolution and Snakebite". The Zoological Society of London. Londres 27-28 avril 1995.

- KOCHVA, E. (1978) - Oral glands of the Reptilia. *In*: Biology of the Reptilia. Gans C. et Gans K. A. (éds.), pp. 43-161. Vol. 8. Academic Press, New York.
- KOCHVA, E. (1987) - The origin of snakes and evolution of the venom apparatus. *Toxicon*, **25** : 475-481.
- KOCHVA, E., SHAYER-WOLLBERG, M. et SOBOL, R. (1967) - The special pattern of the venom gland in *Atractaspis* and its bearing on the taxonomic status of the genus. *Copeia*, **1967** : 763.
- KOCHVA, E., VILJOEN, C.C. et BOTES, D.P. (1982) - A new type of toxin in the venom of snakes of the genus *Atractaspis* (Atractaspidinae). *Toxicon*, **20** : 581-592.
- KOCHVA, E. et WOLLBERG, M. (1970) - The salivary glands of Aparallactinae (Colubridae) and the venom glands of *Elaps* (Elapidae) in relation to the taxonomic status of the genus. *J. Linn. Soc. London, Zool.*, **49** : 217-224.
- MARX, H. et RABB, G.B. (1965) - Relationship and zoogeography of the viperine snakes (family Viperidae). *Feldiana Zool.*, **44** : 161-206.
- MAO, S.-H., CHEN, B.-Y., YIN, F.-Y. et GUO, Y.-W. (1983) - Immunotaxonomic relationships of sea snakes to terrestrial elapids. *Comp. Biochem. Physiol.*, **74A** : 869-872.
- MENGDEN, G.A. (1985) - Australian elapid phylogeny : a summary of the chromosomal and electrophoretic data. *In*: The Biology of Australasian frogs and reptiles. Grigg, G., Shine, R. et Ehmann, H. (éds.). pp.185-192. Chipping Norton N.S.W. : Surrey Beatty and Sons. 527 p.
- MCCARTHY, C.J. (1985) - Monophyly of elapid snakes (Serpentes : Elapidae). An assessment of the evidence. *Zool. J. Linn. Soc.*, **83** : 79-93.
- MCDOWELL, S.B. (1969) - *Toxicocalamus*, a New Guinea genus of snakes of the family Elapidae. *J. Zool. (London)*, **159** : 443-511.
- MCDOWELL, S.B. (1975) - A catalogue of the snakes of New Guinea and the Solomons, with special reference to those in the Bernice P. Bishop Museum. II. Anilioidea and Pythoninae. *J. Herpetol.*, **9** : 1-80.
- MCDOWELL, S.B. (1986) - The architecture of the corner of the mouth of colubroid snakes. *J. Herpetol.*, **20** : 353-407.
- MCDOWELL, S.B. (1987) - Systematics. *In*: Snakes : Ecology and Evolutionary biology. Seigel, R.A., Collins, J.T. et Novak, S.S. (éds.). pp.3-50. New York : Macmillan Publishing Company. 529 p.
- McKINSTRY, D.M. (1983) - Morphologic evidence of toxic saliva in colubrid snakes : a checklist of world genera. *Herpetol. Rev.*, **14** : 12-15.
- MINTON, S.A. et MEBS, D. (1978) - Vier Bissfälle durch Colubriden (Reptilia : Serpentes : Colubridae). *Salamandra*, **14**(1) : 41-43.
- NOPCSA, F. (1923) - *Eidolosaurus* und *Pachyophis*, zwei neue Neocom Reptilien. *Paleontogr.*, **65**(4) : 97-154.
- PARKINSON, C.L. et AHLQUIST, J.E. (1995) - Molecular systematics of the *Agkistrodon* complex : is the genus *Agkistrodon* (*sensu lato*) monophyletic ? Abstracts. Symposium "Venomous Snakes : Ecology, Evolution and Snakebite". *The Zoological Society of London*. Londres, 27-28 avril 1995.
- PRICE, P.G. (1995) - Intraspecific variation in snake venom: causes and consequences. *Hamadryad*, **20** : 1-7.
- RABB, G. B. et MARX, H. (1973) - Major ecological and geographic patterns in the evolution of colubroid snakes. *Evolution*, **27** : 69-83.
- RAGE, J.-C. (1978) - L'origine des Colubroïdes et des Acrochordoïdes (Reptilia, Serpentes). *C.R. Acad. Sci. Paris*, **286** : 595-597.
- RAGE, J.-C. (1982) - L'histoire des serpents. *Pour la Science*, **54** : 16-27.

- RAGE, J.-C. (1987) - Fossil history. *In* : Snakes : Ecology and Evolutionary biology. Seigel, R.A., Collins, J.T. et Novak, S.S. (éds.). pp.51-76. New York : Macmillan Publishing Company. 529 p.
- RAGE, J.-C. (1994) - Phylogénie et systématique des Lépidosauriens. Où en sommes-nous ? *Bull. Soc. Herp. Fr.*, **62** [1992] : 19-36.
- RAGE, J.-C., BUFFETAUT, E., BUFFETAUT-TONG, H., CHAIMANEE, Y., DUCROCQ, S., JAEGER, J.-J. et SUTEETHORN, V. (1992) - A colubrid snake in the late Eocene of Thailand : The Oldest known Colubridae (Reptilia, Serpentes). *C. R. Acad. Sci. Paris*, t. **314**, Sér. II : 1085-1089.
- RAGE, J.-C. et RICHTER, A. (1994) - A snake from the Lower Cretaceous (Barremian) of Spain : The Oldest snake. *N. Jb. Geol. Paläont. Mh.*, **9** : 561-565.
- RASMUSSEN, A.R. (1995) - Systematics of sea snakes (a critical review). Abstracts. Symposium "Venomous Snakes : Ecology, Evolution and Snakebite". *The Zoological Society of London*. Londres, 27-28 avril 1995.
- RIEPEL, O. (1979) - A cladistic classification of primitive snakes based on skull structure. *Z. f. Zool. Systematik u. Evolutionsforschung*, **17**(2) : 140-150.
- RIEPEL, O. (1988) - A review of the origin of snakes. *Evolutionary Biology*, vol. 22, M.K. Hecht, B. Wallace and G.T. Prance (éds.), Plenum Press, pp. 37-130.
- ROMER, A.S. (1956) - Osteology of the Reptiles. University of Chicago Press, Chicago, USA. 772 p.
- ROZE, J.A. (1983) - New World coral snakes : a taxonomic and biological summary. *Mem. Inst. Butantan*, **46** [1982] : 305-338.
- SAINT GIRONS, H. (1989) - Systématique des serpents venimeux. *In* : Serpents, venins, envenimations. pp. 25-37. Société Herpétologique de France. Edition Fondation Marcel Mérieux, Lyon.
- SAINT GIRONS, H. et DETRAIT, J. (1980) - Communautés antigéniques des venins et systématique des Elapinae. *Bijdr. Dierk., Amsterdam*, **50** : 96-104.
- SALOMAO, M. G., WUSTER, W., THORPE, R.S. et BBBSP (1995) - DNA evolution of South American pitvipers of the genus *Bothrops*. Abstracts. Symposium "Venomous Snakes : Ecology, Evolution and Snakebite". *The Zoological Society of London*. Londres, 27-28 avril 1995.
- SAVITZKY, A.H. (1979) - The origin of the New World proteroglyphous snakes and its bearing on the study of venom delivery systems in snakes. Unpubl. Ph.D. dissertation. University of Kansas, Lawrence, USA.
- SCHLEGEL, H. (1837) - Essai sur la physionomie des serpens. II. Partie descriptive. *Arnz et Comp. Leide*. 606 p.
- SCHWANER, T.D., BAVERSTOCK, P.R., DESSAUER, H.C. et MENGDEN, G.A. (1985) - Immunological evidence for the phylogenetic relationships of Australian elapid snakes. *In* : The Biology of Australasian frogs and reptiles. Grigg, G., Shine, R. et Ehmann, H. (éds.). pp.177-184. Chipping Norton N.S.W. : Surrey Beatty and Sons. 527 p.
- SCHWANER, T.D. et DESSAUER, H.C. (1982) - Comparative immunodiffusion survey of snake transferrins focused upon the relationships of the natricines. *Copeia*, **1982**(3) : 541-548.
- SHEA, G., SHINE, R. et COVECEVICH, J.C. (1993) - Family Elapidae. *In* : Fauna of Australia. Volume 2A. Amphibia and Reptilia. pp.295-309. Canberra, Australie : Australian Biological Resources Study. 439 p.
- SLOWINSKI, J.B. (1995) - A phylogenetic analysis of the New World coral snakes (Elapidae : *Leptomicrurus*, *Micruroides*, and *Micrurus*) based on allozymic and morphological characters. *J. Herpetol.*, **29**(3) : 325-338.
- SMITH, H.M., SMITH, R.B. et SAWIN, H.L. (1977) - A summary of snake classification. *J. Herpetol.*, **11** : 115-121.
- SPAWLS, S. et BRANCH, B. (1995) - The dangerous snakes of Africa. UK : Blanford. 192 p.
- STRYDOM, D.J. (1979) - The evolution of toxins found in snake venoms. *In* : Snakes venoms. Handbook of experimental pharmacology, 52. Lee, C.Y. (éd.). pp.258-275. Berlin : Springer-Verlag.

- SZYNDLAR, Z. et RAGE, J.-C. (1990) - West Palearctic cobras of the genus *Naja* (Serpentes : Elapidae) : interrelationships among extinct and extant species. *Amphibia-Reptilia*, 11 : 385-400.
- THEAKSTON, R.D.G. (1995) - The kinetics of snake bite envenoming and therapy. Abstracts. Symposium "Venomous Snakes : Ecology, Evolution and Snakebite". *The Zoological Society of London*. Londres, 27-28 avril 1995.
- UNDERWOOD, G. (1967) - A contribution to the classification of snakes. London, British Museum (Natural History). 179 p.
- UNDERWOOD, G. (1979) - Classification and distribution of venomous snakes in the world. *In* : Snakes venoms. Handbook of experimental pharmacology, 52. pp.15-40. Lee, C.Y. (éd.). Berlin : Springer-Verlag.
- UNDERWOOD, G. et KOCHVA, E. (1993) - On the affinities of the burrowing asps *Atractaspis* (Serpentes : Atractaspididae). *Zool. J. Linn. Soc.*, 107 : 3-64.
- WALLACH, V. (1985) - A cladistic analysis of the terrestrial Australian Elapidae. *In* : The Biology of Australasian frogs and reptiles. Grigg, G., Shine, R. et Ehmann, H. (éds.). pp.223-253. Chipping Norton N.S.W. : Surrey Beatty and Sons. 527 p.
- WALLACH, V. (1991) - Comparative visceral topography of african colubrid snakes of the subfamilies Aparallactinae and Atractaspidinae. M.S. Dissertation Thesis, Louisiana State University. 490 p.
- WALLACH, V. et JONES, G.S. (1994) - *Cryptophidion annamensis*, a new genus and species of cryptozoic snake from Vietnam (Reptilia : Serpentes). *Cryptozoology*, 11 [1992] : 1-37.
- WARRELL, D.A. (1995) - Geographical and intraspecies variation in the clinical manifestations of envenoming by snakes. Abstracts. Symposium "Venomous Snakes : Ecology, Evolution and Snakebite". *The Zoological Society of London*. Londres, 27-28 avril 1995.
- WUSTER, W., SALOMAO, M.G., THORPE, R.S. et BBBSP (1995) - Systematics of the *Bothrops atrox* species complex : insights from multivariate analysis. Abstracts. Symposium "Venomous Snakes: Ecology, Evolution and Snakebite". *The Zoological Society of London*. Londres, 27-28 avril 1995.

I. INEICH  
 Muséum national d'Histoire naturelle  
 Laboratoire de Zoologie (Reptiles et Amphibiens)  
 25, rue Cuvier  
 F-75005 PARIS (France)  
 e-mail : INEICH@CIMRS1.MNHN.FR

**Annexe 1** : Classification synthétique des serpents actuels d'après Dowling *et al.* (1983), Dowling et Jenner (1987), McDowell (1987), Cundall *et al.* (1993), Underwood et Kochva (1993), Wallach et Jones (1994) utilisée par David et Ineich (1996). Les taxa renfermant des serpents venimeux protéroglyphes et soléno-glyphes sont indiqués en caractères gras et petites capitales, tandis que pour les Colubridae, seuls figurent en gras et petites capitales les sous-familles dans lesquelles au moins une espèce est responsable d'une envenimation humaine fatale.

Infra-ordre : Serpentes Linné, 1758

Parvordre : Scolecophidia Cope, 1864

Super-famille : Typhlopoidea Gray, 1825

Famille : Anomalepididae Taylor, 1939

Famille : Typhlopidae Gray, 1825

Super-famille : Leptotyphlopoidea Stejneger, 1891

Famille : Leptotyphlopidae Stejneger, 1891

Parvordre : Alethinophidia Nopcsa, 1923

Super-famille : Anilioidea Stejneger, 1907

Famille : Aniliidae Stejneger, 1907

Famille : Anomochilidae Cundall, Wallach et Rossman, 1993

Famille : Cylindrophiiidae Fitzinger, 1843

Famille : Uropeltidae Müller, 1831

Super-famille : Bolyerioidea Hoffstetter, 1946

Famille : Bolyeriidae Hoffstetter, 1946

Super-famille : Booidea Gray, 1825

Famille : Boidae Gray, 1825

Sous-famille : Boinae Gray, 1825

Sous-famille : Erycinae Bonaparte, 1831

Famille : Loxocemidae Cope, 1861

Famille : Pythonidae Fitzinger, 1826

Famille : Xenopeltidae Bonaparte, 1845

Super-famille : Tropicophiidea Brongersma, 1951

Famille : Tropicophiidae Brongersma, 1951

Super-famille : Acrochordoidea Bonaparte, 1831

Famille : Acrochordidae Bonaparte, 1831

Super-famille : Colubroidea Opper, 1811

**FAMILLE : ATRACTASPIDIDAE GÜNTHER, 1858**

**FAMILLE : COLUBRIDAE OPPEL, 1811**

Sous-famille : Boodontinae Cope, 1893

Sous-famille : Calamariinae Bonaparte, 1838

**SOUS-FAMILLE : COLUBRINAE OPPEL, 1811**

Sous-famille : Dipsadinae Bonaparte, 1838

Sous-famille : Homalopsinae Bonaparte, 1845

**SOUS-FAMILLE : NATRICINAE BONAPARTE, 1838**

Sous-famille : Pareatinae Romer, 1956

Sous-famille : Pseudoxenodontinae McDowell, 1987

Sous-famille : Xenoderminae Gray, 1849

**SOUS-FAMILLE : XENODONTINAE BONAPARTE, 1845**

**FAMILLE : ELAPIDAE BOIE, 1827**

**SOUS-FAMILLE : BUNGARINAE FITZINGER, 1826**

**SOUS-FAMILLE : CALLIOPHIINAE McDOWELL, 1987**

**SOUS-FAMILLE : ELAPINAE BOIE, 1827**

**SOUS-FAMILLE : HYDROPHIINAE FITZINGER, 1843**

**SOUS-FAMILLE : LATICAUDINAE COPE, 1879**

**SOUS-FAMILLE : MATICORINAE SMITH, SMITH ET SAWIN, 1977**

**FAMILLE : VIPERIDAE OPPEL, 1811**

**SOUS-FAMILLE : AZEMIOPINAE LIEM, MARX ET RABB, 1971**

**SOUS-FAMILLE : CAUSINAE COPE, 1860**

**SOUS-FAMILLE : CROTALINAE OPPEL, 1811**

**SOUS-FAMILLE : VIPERINAE OPPEL, 1811**

**Annexe 2** : Liste des genres, nombre d'espèces reconnues, nombre moyen d'espèces par genre et pourcentage de genres monospécifiques chez les Atractaspididae, les Elapidae et les Viperidae [d'après Wallach (1991), Underwood et Kochva (1993) et David et Ineich (1996)].

### Famille des Atractaspididae

**12 genres ; 65 espèces ; 5,42 espèces/genre ; 33,33% de genres monospécifiques**

*Amblyodipsas* (9) ; *Aparallactus* (11) ; *Atractaspis* (17) ; *Brachyophis* (2) ; *Chilorhinophis* (2) ; *Elapotinus* (1) ; *Hypoptophis* (1) ; *Macrelaps* (1) ; *Micrelaps* (3) ; *Poecilopholis* (1) ; *Polemon* (12) ; *Xenocalamus* (5).

### Famille des Elapidae

**60 genres ; 292 espèces ; 4,87 espèces/genre ; 38,33% de genres monospécifiques**

*Acalyptophis* (1) ; *Acanthophis* (3) ; *Aipysurus* (7) ; *Aspidelaps* (2) ; *Aspidomorphus* (3) ; *Astrotia* (1) ; *Austrelaps* (3) ; *Boulengerina* (2) ; *Bungarus* (12) ; *Cacophis* (3) ; *Calliophis* (11) ; *Demansia* (8) ; *Dendroaspis* (4) ; *Denisonia* (2) ; *Disteira* (4) ; *Drysdalia* (4) ; *Echiopsis* (2) ; *Elapognathus* (1) ; *Elapsoidea* (7) ; *Emydocephalus* (2) ; *Enhydrina* (2) ; *Ephalophis* (1) ; *Furina* (5) ; *Hemachatus* (1) ; *Hemiaspis* (2) ; *Homoroselaps* (2) ; *Hoplocephalus* (3) ; *Hydrelaps* (1) ; *Hydrophis* (30) ; *Kerilia* (1) ; *Kolpophis* (1) ; *Lapemis* (1) ; *Laticauda* (5) ; *Loveridgelaps* (1) ; *Maticora* (2) ; *Micropechis* (1) ; *Micruroides* (1) ; *Micrurus* (64) ; *Naja* (17) ; *Notechis* (2) ; *Ogmodon* (1) ; *Ophiophagus* (1) ; *Oxyuranus* (2) ; *Parahydrophis* (1) ; *Paranaja* (1) ; *Parapistocalamus* (1) ; *Pelamis* (1) ; *Pseudechis* (6) ; *Pseudohaje* (2) ; *Pseudonaja* (7) ; *Rhinoplocephalus* (5) ; *Salomonelaps* (1) ; *Simoselaps* (13) ; *Suta* (10) ; *Thalassophina* (1) ; *Thalassophis* (1) ; *Toxicocalamus* (9) ; *Tropidechis* (1) ; *Vermicella* (2) ; *Walterinnesia* (1).

### Famille des Viperidae

**31 genres ; 220 espèces ; 7,10 espèces/genre ; 29,03% de genres monospécifiques**

*Adenorhinos* (1) ; *Agkistrodon* (3) ; *Atheris* (10) ; *Atropoides* (3) ; *Azemiops* (1) ; *Bitis* (13) ; *Bothriechis* (7) ; *Bothriopsis* (5) ; *Bothrops* (27) ; *Calloselasma* (1) ; *Causus* (6) ; *Cerastes* (3) ; *Cerrophidion* (3) ; *Crotalus* (29) ; *Daboia* (1) ; *Deinagkistrodon* (1) ; *Echis* (8) ; *Eristicophis* (1) ; *Ermia* (1) ; *Gloydus* (10) ; *Hypnale* (3) ; *Lachesis* (1) ; *Macrovipera* (4) ; *Ophryacus* (1) ; *Ovophis* (4) ; *Porthidium* (11) ; *Pseudocerastes* (1) ; *Sistrurus* (3) ; *Trimeresurus* (34) ; *Tropidolaemus* (3) ; *Vipera* (21).

# SÉRUMS ANTIVENIMEUX ET BASES DE LA SÉROTHÉRAPIE

par

Max GOYFFON, Jean-Philippe CHIPPAUX et Valérie CHOUMET

**Résumé** - Un siècle après sa découverte et ses premières utilisations, le sérum antivenimeux reste le seul traitement spécifique des envenimations ophidiennes. Les méthodes de purification et de fragmentation des anticorps protecteurs permettent de fournir des produits d'activité spécifique accrue et de meilleure tolérance: la sérothérapie est devenue plus exactement une immunothérapie dont la mise en œuvre encore largement empirique et les possibilités d'amélioration sont discutées.

**Mots clés** : Serpents. Venins. Envenimations. Sérums antivenimeux. Sérothérapie.

**Summary** - One century after its discovery and its first utilization, the serotherapy is still the only specific treatment of snake envenomings. The methods for the purification and the fragmentation of antibodies lead to products with high specific activity and better tolerance. The serotherapy is in fact an immunotherapy, the use of which remains largely empiric. The future improvements are discussed.

**Key words** : Snakes. Venoms. Envenomings. Antivenins. Serotherapy.

## I - INTRODUCTION

La sérothérapie antivenimeuse a maintenant plus d'un siècle (Russell, 1988; Bon et Goyffon, 1996). La découverte de la sérothérapie antidiphthérique et antitétanique par Behring et Kitasato, en 1890, donna à penser à un physiologiste français, Chauveau, que les sécrétions cellulaires toxiques étaient comparables aux sécrétions microbiennes et que les procédés d'atténuation appliqués aux unes l'étaient aussi aux autres (Brygoo, 1985). Sous l'influence de Chauveau dans le laboratoire duquel il travaillait au Muséum national d'Histoire naturelle, et avec la collaboration de Bertrand, Phisalix établit la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère au moyen d'un venin atténué par la chaleur (Phisalix et Bertrand, 1894). Dans le même temps Calmette (1894), qui travaillait initialement sur du venin de cobra d'abord à Saïgon, puis à l'Institut Pasteur de Paris dans le laboratoire de Roux, proposa trois protocoles d'immunisation et constata comme Phisalix et Bertrand que le sérum des animaux vaccinés avait également une action thérapeutique. Phisalix et Bertrand tout autant que Calmette étaient conscients de l'importance de leurs résultats. La querelle de priorité était inévitable: elle fut vive (Brygoo, 1985). Par la suite, Calmette prépara le premier un sérum antivenimeux d'usage médical contre les morsures de cobras de l'Inde (Brygoo, 1985) et se fit le véritable promoteur de la sérothérapie antivenimeuse, de sorte que les premiers résultats de Phisalix et Bertrand tombèrent quelque peu dans l'oubli. Les progrès de l'immunologie conduisirent rapidement à la vaccination antidiphthérique et à la vaccination antitétanique: la maladie est due à une toxine bien identifiée, qui a pu être modifiée en une

anatoxine (ou toxoïde, selon la terminologie de langue anglaise) atoxique mais douée des mêmes propriétés antigéniques que la toxine. En revanche, les venins de serpents, riches en toxines variées, ne se sont pas prêtés jusqu'à présent à une vaccination chez l'homme. Les sérums antivenimeux restent encore la seule thérapeutique spécifique des envenimations (Chippaux et Goyffon, 1991a): ils figurent ainsi au petit nombre des médications actuelles de plus d'un siècle d'âge. Comment leur préparation, leur utilisation, leurs indications ont-elles évolué durant ce laps de temps? Quels ont été les progrès accomplis? Tels sont les problèmes examinés dans ces quelques pages.

## II - LES VENINS DE SERPENTS

Le mode de préparation des sérums antivenimeux (SAV) a peu changé depuis leur découverte. Il consiste à immuniser un animal par des injections répétées d'un venin éventuellement atténué et à récupérer les anticorps neutralisants ainsi obtenus. Sur cette première phase, des progrès restent possibles (Chippaux et Goyffon, 1991b). Les venins de serpents sont des mélanges complexes de protéines sécrétées par des glandes venimeuses qui sont considérées comme dérivées de glandes salivaires labiales (Goyffon et Heurtault, 1995), et dont la fonction première est de participer à l'immobilisation puis à la digestion d'une proie. Cependant, tous les composants ne sont pas toxiques, ou ne présentent pas la même fonction toxique ni le même degré de toxicité. On distingue classiquement, dans les facteurs toxiques des venins, trois séries de composants, tous de nature protéique, mais ces subdivisions sont approximatives (Audebert, 1993), certaines molécules entrant dans deux catégories.

- Les toxines du système neuro-musculaire comprennent (Ménéz, 1987; Ménéz, 1993) :
  - ▶ des neurotoxines curarisantes ( $\alpha$ -neurotoxines) divisées en deux catégories, toxines longues et toxines courtes. Les toxines longues contiennent de 66 à 74 acides aminés et cinq ponts disulfure. Les toxines courtes possèdent de 60 à 62 acides aminés et quatre ponts disulfure. En raison de leur configuration stérique, ces toxines sont encore dites toxines à trois doigts (Ménéz, 1995). Elles ont la propriété de se fixer sélectivement sur les récepteurs post-synaptiques de l'acétylcholine, plus précisément sur les récepteurs nicotiniques, et bloquent la transmission neuro-musculaire, entraînant une paralysie flasque pouvant être mortelle par asphyxie si le muscle diaphragme est atteint. Leur mode d'action comparable à celui des curares leur a donné leur nom usuel. Elles sont caractéristiques des venins d'Elapidés et d'Hydrophidés ;
  - ▶ des neurotoxines présynaptiques ( $\beta$ -neurotoxines) constituées d'une à cinq chaînes polypeptidiques dont l'une au moins est une phospholipase A2 (Bon, 1991). Elles inhibent la libération du neuromédiateur et bloquent ainsi la transmission neuromusculaire, entraînant une paralysie flasque dont les symptômes ne diffèrent pas sensiblement de ceux qui sont induits par les neurotoxines curarisantes en dépit d'un mode d'action tout différent. Elles sont puissantes (doses létales 50 comprises entre 1  $\mu$ g et 50  $\mu$ g/kg chez la souris) et se trouvent dans les venins d'Elapidés, d'Hydrophidés et de Vipéridés (Ménéz, 1995). Ces toxines ont une activité enzymatique de phospholipase A2 (PLA2) indissociable de l'activité neurotoxique présynaptique ;
  - ▶ des cardiotoxines, présentes dans les venins de cobras, qui ont une structure à trois doigts comparable à celle des neurotoxines curarisantes et qui possèdent en outre une cytotoxicité pouvant induire des nécroses cutanées ;
  - ▶ des toxines propres à certains genres :
    - sarafotoxines, molécules vaso-constrictrices hautement toxiques isolées jusqu'à présent dans le seul venin des serpents du genre *Atractaspis*. Elles sont capables d'entraîner une mort rapide par vaso-spasme coronaire et insuffisance d'oxygénation du muscle cardiaque (Lee *et al.*, 1986). Leur puissance est telle qu'une morsure d'*Atractaspis*

peut être létale pour l'homme en moins d'une heure. Leur structure, une chaîne polypeptidique d'une vingtaine d'acides-amino, les apparente étroitement à des composés vaso-actifs physiologiques récemment découverts, les endothélines (Sokolovsky, 1992) ;

- dendrotoxines et fasciculines des venins de mambas: les dendrotoxines facilitent la libération d'acétylcholine au niveau des synapses, les fasciculines agissent comme des inhibiteurs de cholinestérase. Il existe une véritable synergie entre ces deux types de toxines (Ménez, 1995), donnant un tableau d'intoxication dite "muscarinique" typique des venins de mambas, caractérisée schématiquement par la stimulation de toutes les sécrétions et de la motricité des muscles lisses. Les dendrotoxines sont peu actives par voie générale, mais puissamment toxiques et convulsivantes par voie intracérébrale. Leur structure chimique, 60 acides-amino et trois ponts disulfure, les apparente aux inhibiteurs de trypsine. Les fasciculines, avec 4 ponts disulfure et 61 acides-amino, ont une architecture similaire à celle des toxines curarisantes courtes. (Ménez, 1995) ;

- myotoxines, comme la crotamine de *Crotalus durissus terrificus*, provoquant une nécrose du muscle strié (Bon, 1991). Certaines PLA2 neurotoxiques ont aussi une action myotoxique ;

• Les facteurs agissant sur la coagulation sanguine, pour la plupart des agents protéolytiques à action procoagulante ou anticoagulante, selon le niveau de leur intervention sur l'hémostase, sont de nature et d'effets très variés. Le résultat global de ces actions particulièrement complexes est le plus souvent une incoagulabilité sanguine. Ils sont présents et actifs surtout dans les venins de vipères et de crotales. On a identifié (Audebert, 1993) :

▶ des composants agissant sur les parois vasculaires ou hémorragines : il s'agit de métalloprotéases zinc-dépendantes hydrolysant certains éléments de la paroi vasculaire, pouvant entraîner des hémorragies locales spontanées, en nappe, persistantes si le sang est par ailleurs incoagulable. De nombreux venins contiennent aussi des substances d'activité kallikréinique capables d'activer le facteur XII de la coagulation et d'augmenter la perméabilité vasculaire, avec apparition d'un œdème et d'une hypotension si cet œdème est important ;

▶ des composants agissant sur les cellules endothéliales des parois vasculaires qui provoquent la libération de certains effecteurs, prostaglandines ou activateur de plasminogène ;

▶ des activateurs de la protéine C dont certains peuvent avoir en même temps une autre action, celle d'activer le facteur X de la coagulation, par exemple ;

▶ des composants agissant sur l'activation de la prothrombine, de divers types, activateurs de facteurs V, VIII, X, XIII. Les activateurs de facteur X sont habituellement présents dans les venins de vipères. Les activateurs de prothrombine, nombreux, ont été classés en plusieurs types selon leur mode d'action dépendant ou indépendant des cofacteurs physiologiques du complexe prothrombinase ;

▶ des composants agissant sur le fibrinogène : de nombreux venins de Vipéridés contiennent des sérine-protéases qui convertissent le fibrinogène en fibrinopeptides (enzymes thrombiniques ou "thrombin-like") ;

▶ des enzymes lysant la fibrine et empêchant la formation d'un caillot normal ;

▶ des facteurs agissant sur les plaquettes, modifiant l'agrégation plaquettaire ou la rétraction du clou plaquettaire, ou encore sur la libération de substances plaquettaires. Certains de ces facteurs sont des protéines non enzymatiques: agrégoserpentes de crotales, botrocétine, provoquant l'agglutination des plaquettes, disintégrines l'inhibant.

• Les enzymes de nature variée sont très nombreux dans les venins de serpents. On a détecté une trentaine d'activités enzymatiques dont près de la moitié est retrouvée dans tous les venins, tandis que les autres sont spécifiques et limités à certains genres ou certaines familles. Certains enzymes peuvent être responsables de lésions locales: œdèmes, suffusions hémorragiques, nécroses.

► les hyaluronidases sont des enzymes présents dans tous les venins et d'une manière plus générale dans tous les liquides biologiques. Elles hydrolysent les liaisons glycosidiques de certains acides mucopolysaccharidiques du tissu conjonctif. A ce titre, elles facilitent la diffusion des autres composants toxiques du venin ("spreading factor"),

► les protéases, endopeptidases et exopeptidases, sont souvent peu spécifiques. Leurs activités biologiques ne sont pas toujours bien connues,

► les PLA2 se trouvent aussi dans tous les venins. Elles peuvent hydrolyser les glycérophospholipides et la lécithine des membranes cellulaires et être ainsi responsables d'une lyse des globules rouges (hémolyse, peu fréquente dans les envenimations humaines).

On trouve encore des acétylcholinestérases, des amino-acide-oxydases, des phosphoestérases, des hydrolases, des nucléosidases, des ribonucléases. (Bon, 1991; Audebert, 1993). Nombreux sont les enzymes qui n'ont pas de rôle réellement toxique. En pratique, les composants qu'on cherchera à neutraliser par un SAV appartiennent aux deux premières séries, neurotoxines et facteurs agissant sur la coagulation sanguine.

La toxicité des venins de serpent est évaluée par des expérimentations *in vivo* visant à déterminer la dose létale 50 (DL 50), c'est à dire la dose de venin entraînant le décès de la moitié de l'effectif testé. L'animal le plus couramment utilisé est la souris blanche. La voie d'administration du venin (ou de la toxine) est variable: sous-cutanée, intramusculaire, intrapéritonéale, intraveineuse, intracérébro-ventriculaire. Cependant, la voie intraveineuse caudale donne les résultats les plus homogènes et doit être retenue dans les mesures standardisées. En général, elle fournit aussi les valeurs toxiques les plus élevées, c'est-à-dire les DL 50 les plus faibles (excepté le cas particulier de la voie intracérébro-ventriculaire pour les neurotoxines). Pour être reproductibles et comparables, les conditions opératoires doivent être codifiées de façon stricte: poids et âge identique (20 g pour la souris blanche), même souche d'animal testée, voie d'injection unique pour tous les animaux, injection lente, température ambiante suffisamment élevée pour que les animaux ne soient pas exposés à un refroidissement nocif, durée d'observation de 48h. Les calculs utiliseront une méthode statistique permettant à la fois une économie d'animaux et la détermination d'un intervalle de confiance: méthodes de Reed et Muench (1938), de Lichtfield et Wilcoxon (1949) par exemple. Moyennant ces précautions, la DL 50 constitue un paramètre de référence pour l'évaluation du pouvoir protecteur du SAV (cf infra). En suivant le même type de procédure, on peut être amené à évaluer non plus l'effet léthal, mais un effet toxique particulier ainsi que la protection assurée contre cet effet par le SAV: activités fibrinolytique, fibrinogénolytique, hémorragique, nécrosante sont les plus couramment testées. Les mesures de la toxicité des venins ont montré des variations de sensibilité d'une espèce test à l'autre et même d'une souche de la même espèce à l'autre, mais aussi des variations intraspécifiques de la toxicité du venin tenant en particulier à l'origine géographique du serpent ou à son âge (Chippaux *et al.*, 1991). On a aussi constaté que le venin des individus jeunes est volontiers plus toxique que celui des adultes, ce qui pour l'animal a l'avantage de compenser le volume plus réduit de venin dont il dispose lorsque sa croissance n'est pas achevée. Glenn *et al.* (1983) ont décrit aux Etats-Unis deux populations morphologiquement identiques de *Crotalus scutulatus scutulatus*: l'une d'elles fournit un venin relativement peu toxique, aux effets locaux marqués, l'autre un venin aux effets locaux discrets mais aux effets neurotoxiques marqués; les analyses électrophorétiques révèlent pour la première de ces populations un venin quasiment dépourvu ou dépourvu de toxine mojave, la toxine létale majeure de cette espèce. Cette variabilité d'origine génétique (Nkinin *et al.*, 1996b) mais dont l'expressivité serait liée au régime alimentaire (Daltry *et al.*, 1996), c'est à dire en pratique aux proies accessibles sur un territoire déterminé, est évidemment à prendre en compte lors du processus d'immunisation de l'animal qui fournira le SAV : on aura avantage à mélanger des venins provenant de différentes populations d'une espèce voire d'une sous-espèce donnée. L'article de Khole (1991) rassemble de très nombreuses références sur les DL 50 des venins de serpents.

### III - PRÉPARATION DES SÉRUMS ANTIVENIMEUX

La première étape de la préparation des SAV étant l'injection à un animal d'un venin de serpent, le choix du venin aura en pratique une grande importance et devra tenir compte des multiples causes de variations spécifiques de sa composition. Le mélange de venins de diverses populations de serpents est une première précaution qui a paru insuffisante, puisque l'OMS a été amenée à créer un centre international de venins de référence, retenant les venins de huit espèces d'importance médicale majeure (Theakston, 1986). Le venin est obtenu par pression de la glande à venin, ou en faisant mordre par le serpent un film de matière plastique recouvrant un récipient ou encore par stimulation électrique de la musculature entourant la glande à venin. Les quantités de venin obtenues sont comparables et le choix sera guidé à la fois par la sécurité du manipulateur et la bonne tolérance du serpent à la technique choisie. On rappellera que la prise dite de sécurité, juste en arrière de la tête du serpent, n'en est pas une pour les espèces du genre *Atractaspis*. Le venin est conservé sous forme desséchée ou lyophilisée. Les traites du serpent peuvent être répétées tous les mois environ: les quantités de venin obtenues diminuent si les manipulations sont plus rapprochées.

L'inoculation du venin brut fournit la meilleure immunisation, mais elle est souvent mal tolérée par l'animal récepteur. Aussi a-t-on été conduit à désactiver le venin tout en lui conservant ses propriétés immunologiques, à préparer un anavenin (= toxoïde). Depuis la préparation des tout premiers SAV, les techniques proposées pour détoxifier le venin ont été nombreuses. Les plus usuelles sont les complexations avec des aldéhydes: formol, proposé par Ramon dès 1924 ou glutaraldéhyde. Détoxifié ou non, le venin est souvent associé à un adjuvant qui ralentit la résorption du venin et stimule puissamment la réaction immunitaire. Les plus courants sont l'adjuvant de Freund, la bentonite, l'hydroxyde d'aluminium, l'alginate de sodium.

Le protocole d'immunisation dépend de la toxicité et de l'immunogénicité du venin, de l'espèce animale retenue pour l'immunisation et de la qualité de la réponse de l'animal hyperimmunisé (Chippaux et Goyffon, 1991b). Il faut ajuster en permanence, par des contrôles répétés, les quantités de venin injectées et le titre en anticorps obtenu. Dix à cinquante injections étalées sur une période de trois à quinze mois peuvent être nécessaires pour une bonne immunisation. Lorsqu'un titre convenable d'anticorps est atteint, le sang de l'animal immunisé prélevé sur anticoagulant (citrates de sodium) est ensuite purifié, traité et conditionné pour sa commercialisation, sous forme liquide ou plus rarement sous forme lyophilisée. Dans le premier cas, la durée de conservation réglementaire est de trois ans, dans le second, cinq ans. L'animal de choix pour l'immunisation est le cheval, mais d'autres espèces peuvent être utilisées.

Les SAV peuvent être monovalents, lorsqu'un seul venin est utilisé, ou polyvalents lorsque l'animal immunisé reçoit un mélange de venins de plusieurs espèces. Le choix de l'un ou l'autre type dépend de nombreux considérants. En principe, un SAV monovalent est plus efficace pour traiter l'envenimation par l'espèce correspondante, mais ce n'est pas une règle absolue comme Christensen (1968) l'a montré pour les serpents du genre *Dendroaspis* (mambas). Tout se passe comme si des antigènes proches agissaient en synergie pour conduire à une meilleure réponse immunologique (Chippaux et Goyffon, 1991a). Des listes de producteurs de SAV sont régulièrement publiées (Chippaux et Goyffon, 1983; Chippaux et Goyffon, 1991b; Theakston et Warrell, 1991).

### IV - PURIFICATION ET STANDARDISATION

Les sérums d'animaux hyperimmunisés ne sont pas employés à l'état brut. Après élimination des éléments cellulaires par centrifugation, les protéines non immunes et en particulier l'albumine sont également écartées par précipitation au sulfate d'ammonium. Les immunoglobulines, de leur côté, sont traitées par protéolyse ménagée. Rappelons en effet

qu'une immunoglobuline G (IgG) est une protéine volumineuse de masse molaire égale à environ 150 kDa, qui se compose de deux fragments Fab thermostables porteurs de la spécificité immunologique (Fab = fragment antigen binding), et d'un fragment Fc thermolabile réagissant avec le complément. Une digestion par la pepsine sépare le fragment Fc des fragments F(ab)<sub>2</sub>, de masse molaire moyenne de 90 kDa et porteurs de deux sites de fixation de l'antigène, comme l'immunoglobuline. Un traitement par la papaine sépare le fragment Fc des fragments Fab individualisés, de masse molaire moyenne de 50 kDa et porteurs d'une seule valence de fixation de l'antigène : ces caractéristiques confèrent aux fragments Fab des propriétés biologiques différentes, par rapport à l'anticorps d'origine. Les SAV actuels sont généralement des F(ab)<sub>2</sub> dont les avantages sont une meilleure diffusibilité dans l'organisme en raison d'une masse molaire inférieure et une tolérance améliorée puisque la fraction réagissant avec le complément est éliminée. En pratique, le protocole de purification peut être ainsi schématisé :

- digestion du plasma par la pepsine à pH acide,
- précipitation par le sulfate d'ammonium à 15%,
- coagulation des protéines indésirables restantes thermolabiles par chauffage à 57°C (fragments Fc, complément),
- refroidissement rapide à 40°C,
- élimination des protéines dénaturées par centrifugation ou filtration,
- précipitation sélective des immunoglobulines par le sulfate d'ammonium à 55%,
- élimination du sulfate d'ammonium par dialyse,
- élimination des lipides par adsorption sur hydroxyde d'aluminium.

Avant le conditionnement final, le produit obtenu subit alors divers contrôles, bactériologique par ensemencement de milieux de culture appropriés, toxicologique pour en vérifier l'innocuité chez l'animal, et efficacité protectrice. Si les deux premières catégories de tests sont bien codifiées, il n'en est pas tout à fait de même pour le contrôle du pouvoir protecteur (Chippaux et Goyffon, 1991a). Une première vérification immunologique peut s'appuyer sur des réactions d'immunoprécipitation, par immunoélectrophorèse en gel ou par Western blot. Le sérum doit réagir avec toutes les fractions protéiques du venin séparées par électrophorèse. On peut ainsi comparer les divers antisérums obtenus d'un animal à l'autre ou d'une fabrication à l'autre, ou encore mettre en évidence des réactions croisées avec d'autres venins. Il est même possible d'évaluer quantitativement les anticorps précipitants du sérum préparé. Cependant, une réaction de précipitation n'implique pas nécessairement une neutralisation fonctionnelle: les épitopes précipitants peuvent être différents des épitopes neutralisants (Ménez *et al.*, 1984). D'autre part, des antigènes puissants peuvent ne pas être toxiques ou peu toxiques, et certaines toxines puissantes peuvent être faiblement antigéniques. Les contrôles immunochimiques ne suffisent donc pas.

La standardisation proprement dite des SAV implique une vérification de leur pouvoir neutralisant, de leur spécificité et de la stabilité de ces caractéristiques au cours du temps.

Pouvoir neutralisant : deux types de tests sont utilisables pour vérifier le pouvoir neutralisant du SAV. Leur principe est identique: il consiste à mesurer la baisse des effets toxiques du venin, létalité chez l'animal ou activité biologique particulière, en présence de concentrations croissantes de SAV :

► tests *in vivo* : pour évaluer l'effet du SAV sur l'action létale du venin (ou sur une activité biologique particulière: neurotoxicité, perturbation de la coagulation sanguine, lésion nécrotique), des mélanges venin/sérum en proportions variables sont préparés et injectés à l'animal, généralement la souris blanche de 20 g. On peut opérer avec une quantité fixe de venin (habituellement définie en nombre de DL 50) et des quantités variables de SAV, ou une quantité fixe de sérum et des quantités croissantes de venin. Le mélange venin/sérum est incubé à 37°C pendant 15 ou 30 min, avant d'être administré à l'animal test, par voie intraveineuse de préférence lorsqu'il s'agit d'évaluer l'effet létal (voie

intraveineuse caudale chez la souris). Les animaux sont mis en observation pendant 24 heures. On détermine ainsi la quantité de venin qui entraînera le décès de 50% de l'effectif pour un volume donné de SAV, et on en déduit la quantité de venin neutralisée par ce volume de SAV. Cette quantité est souvent exprimée en nombre de DL 50 par ml de SAV. En toute rigueur, il est préférable de l'exprimer en mg de venin sec par unité de volume (Delori *et al.*, 1977), l'expression en DL 50 se rapportant à l'animal d'expérience et non nécessairement à l'homme ou à d'autres espèces animales. Cette procédure convient bien pour les venins neurotoxiques. Elle est sans doute moins bien adaptée aux venins dont la toxicité est due à des activités enzymatiques lesquelles peuvent entraîner une cascade de réactions évoluant pour leur propre compte une fois amorcées, même après neutralisation de l'enzyme.

En pratique médicale, l'inoculation de venin précède toujours, et parfois avec un délai important, l'administration de SAV. Aussi a-t-on proposé des procédures séquentielles (Gutierrez *et al.*, 1985; Gutierrez *et al.*, 1987; Ownby *et al.*, 1986) et d'autres paramètres d'évaluation, tels que le FLT (Fatal Time Limit) et le LMT (Last Mortality Time) correspondant respectivement au délai d'apparition du premier décès et au délai au bout duquel tous les animaux sont décédés après l'injection d'une dose létale de venin: on constate alors d'une part que les quantités de SAV nécessaires pour neutraliser l'effet létal du venin augmentent à mesure que le délai d'administration du SAV s'approche du FLT, et d'autre part qu'il ne devient plus possible de protéger tous les individus lorsque ce délai est voisin du FLT (Krifi *et al.*, 1996). Cependant, lorsqu'on veut standardiser les méthodes de détermination du pouvoir neutralisant d'un SAV, les pré-incubations venin/sérum restent le plus souvent utilisées: les résultats s'affranchissent alors de la toxicocinétique du venin comme de la pharmacocinétique du SAV, et dépendent avant tout de la concentration des anticorps et de leur capacité neutralisante.

Il est possible d'établir une courbe de neutralisation du SAV en fonction de quantités croissantes de venin. La courbe peut être linéaire, chaque dose de venin étant neutralisée par une quantité proportionnelle de SAV: on en déduit qu'un seul antigène toxique intervient ou que les autres composants toxiques, s'ils existent, sont neutralisés plus efficacement. Bien souvent, la courbe présente une inflexion, soit qu'un composant toxique en faible quantité ait pour cette raison induit peu d'anticorps neutralisants, soit qu'un composant toxique en grande quantité se révèle être un mauvais antigène (Delori *et al.*, 1977; Chippaux et Goyffon, 1991b). C'est la raison pour laquelle, lorsqu'on utilise une procédure à volume variable de SAV pour en évaluer le titre protecteur, il convient de tester au moins deux doses létales de venin, par exemple 3 et 10 DL 50. On détermine ainsi un volume de SAV capable de neutraliser la dose létale de venin choisie: la séroprotection est alors exprimée en dose efficace de SAV qui réduit à 50% la létalité du venin (DE 50).

Quelle que soit la procédure retenue, les calculs statistiques sont effectués de la même manière que pour la détermination de la DL 50.

► tests *in vitro*: ils permettent d'évaluer une activité particulière du venin et sa neutralisation après mélange du venin et du SAV. Ces tests ont été recensés par Theakston (1986), et Gutierrez *et al.* (1987). Plusieurs d'entre eux ont été recommandés pour déterminer le pouvoir neutralisant d'un SAV (OMS, 1981; Gutierrez, *et al.*, 1990; Theakston, 1990). La neutralisation du pouvoir hémolytique d'un venin, testée sur des érythrocytes de lapin, de mouton, ou humains semble corrélée la neutralisation du pouvoir létal chez la souris (Gutierrez *et al.*, 1988; Al Abdulla *et al.*, 1991). L'activité fibrinolytique est évaluée sur des plaques de fibrine de mouton ou de bœuf obtenues par coagulation d'un plasma frais. Les activités protéolytiques sont estimées à partir de l'action du venin sur des substrats variés, caséine le plus souvent. Le principal problème peut être de définir une technique reproductible. On est cependant amené de plus en plus à tester la capacité d'un SAV à neutraliser chaque toxine individualisée, en particulier pour les neurotoxines et les myotoxines (Harvey *et al.*, 1994).

Les tests ELISA quantitatifs peuvent compléter utilement les tests *in vivo* et *in vitro*. Pour ce faire, des plaques de microtitration sont revêtues par les venins utilisés pour la préparation du SAV. Celui-ci est incubé à des concentrations variables sur la plaque, et la présence des complexes antigène-anticorps est révélée par un anticorps anti-immunoglobuline conjugué à un enzyme. L'intensité de la réaction colorée en fonction des concentrations de SAV obtenue après addition du substrat de l'enzyme peut être comparée aux DE 50 ou aux DL 50 neutralisées. On peut aussi opérer de la même façon avec la fraction toxique ou la toxine majeure d'un venin. Ce type de test pourrait se développer si des corrélations étroites avec les tests *in vivo* étaient constatées.

En pratique, la standardisation des SAV gagnera à faire appel à un choix de différents tests *in vivo* et *in vitro*, mais ce choix dépendra des propriétés particulières de chaque venin (Chippaux et Goyffon, 1991b).

Des réactions de paraspécificité ont été mises en évidence par immunodiffusion et tests ELISA. Le SAV dirigé contre le venin de *Notechis* sp. réagit avec les venins de *Crotalus adamanteus*, de *C. durissus terrificus*, d'*Agkistrodon piscivorus*, d'*A. rhodostoma*, de *Bothrops asper* et de *Cerastes cerastes* (O.M.S., 1981). L'existence de réactions croisées ne signifie pas nécessairement qu'il existe une protection croisée. En revanche, une protection croisée s'observe volontiers entre espèces proches. La SAV dirigé contre le venin de *Crotalus atrox* neutralise les venins de cinq serpents à sonnette, mais non celui de *C. durissus terrificus*, le seul à être caractérisé par la présence d'une neurotoxine létale, la crotoxine, absente chez *C. atrox*. Une neutralisation croisée très importante existe dans le cas des venins des cobras d'Asie et d'Afrique, cependant le venin de *Naja nigricollis* fait exception. Les réactions de paraspécificité ne sont pas vraiment prévisibles et demandent à être vérifiées cas par cas d'où, une fois encore, la nécessité de choisir convenablement le venin qui sera utilisé pour la préparation d'un SAV.

La stabilité des SAV est bonne à la condition de respecter quelques précautions. Sous forme liquide, les sérums doivent être conservés au réfrigérateur à +4°C, ce qui est parfois malaisé en zone tropicale. Toutefois, ils restent stables à température ambiante, pourvu qu'ils soient à l'abri de la lumière. Rojas *et al.* (1990) ont montré que le titre protecteur d'un SAV ne varie pas après une exposition à 37°C durant un an. Aucun développement bactérien n'a été observé. Le SAV perd cependant sa limpidité après 9 mois à 23°C, 4 mois à 30°C et 3 mois à 37°C. La turbidité observée est due à l'agrégation de protéines hétérogènes et contre-indique l'utilisation du SAV, même si le pouvoir protecteur est inchangé: l'injection du précipité apparu dans le SAV risquerait d'entraîner une activation brutale du complément. Lorsqu'ils sont conservés dans de bonnes conditions, les SAV gardent intactes leurs propriétés au moins cinq ans sous forme liquide, davantage sous forme lyophilisée: les normes réglementaires sont bien en deçà des observations expérimentales.

## V - LA SÉROTHÉRAPIE

Principe : les composants toxiques des venins sont en très grande majorité, et particulièrement chez les serpents, des peptides ou des protéines contre lesquels on peut obtenir des anticorps neutralisants qui pourront exercer leur action chez un individu envenimé. Est-ce à dire que la sérothérapie agira toujours, et toujours avec la même efficacité? En fonction de leur mode d'action exclusif ou prédominant, les venins n'offriront pas une réponse univoque au SAV :

- les venins neurotoxiques comprennent deux classes de toxines, d'une part celles qui se fixent sur un récepteur synaptique, pré- ou post-synaptique, d'autre part celles qui se fixent sur des récepteurs de canaux ioniques, sodium, potassium, calcium, dans tous les cas avec une haute affinité. La distinction n'est pas toujours nette, car les toxines synaptiques peuvent agir en modifiant des flux ioniques transmembranaires, mais les toxines des canaux ioniques peuvent parfois agir aussi sur des cellules dites non-excitables comme

des lymphocytes, par exemple, et sont donc de spécificité fonctionnelle moins étroite. Introduites dans un organisme, les neurotoxines n'agiront que dans la mesure où elles atteindront leur récepteur: le rôle du SAV est donc d'abord de les intercepter sous leur forme libre, circulante, dans le sang ou le milieu intérieur (compartiments vasculaire et extra-cellulaire) avant qu'elles se soient fixées sur leur cible. Le complexe antigène(toxine)-anticorps, inactif, sera ensuite éliminé par l'organisme. C'est en quelque sorte l'effet "préventif" du SAV. On conçoit la nécessité d'un certain excès d'anticorps par rapport à l'antigène pour mieux s'assurer d'une complète neutralisation. Une fois fixées sur leur récepteur, les toxines deviennent moins accessibles aux anticorps. Cependant, elles possèdent plusieurs épitopes, c'est à dire plusieurs sites capables de fixer des anticorps, de sorte qu'elles pourront, même fixées sur le récepteur neuronal par leur site (épitope) toxique, retenir un ou plusieurs anticorps. Dans cette situation, celle d'une toxine liée en sandwich à la fois au récepteur cellulaire et à l'anticorps du SAV, la liaison toxine-récepteur perd de son affinité: le SAV déstabilise la toxine de sa liaison avec son récepteur, le complexe toxine-anticorps tend à se détacher du récepteur, c'est l'effet "curatif" du SAV prouvé par une expérimentation *in vitro* utilisant une neurotoxine curarisante de venin de cobra (Boulain et Ménez, 1982). Compte tenu de ses possibilités d'intervention à deux niveaux, le SAV possède vis-à-vis de ces venins une indication-type d'utilisation thérapeutique.

- les venins protéolytiques peuvent aussi être rangés en deux classes, les venins dont les enzymes agissent essentiellement sur les protéines solubles et tout spécialement sur les facteurs de la coagulation sanguine, et ceux dont les toxines dites cytolytiques agissent sur les membranes cellulaires (effets nécrosants, par exemple). Dans le premier cas, une fois les protéases neutralisées, les effets pathogènes cessent, l'organisme compense rapidement les désordres biologiques, et les produits de catabolisme n'ont pas de rôle aggravant le plus souvent: le SAV bloque les effets du venin comme pour les neurotoxines et son indication relève de la même stratégie dite parfois "stratégie de la cible" (Chippaux et Goyffon, 1991a). Dans le second cas, la cytolyse va induire une réaction inflammatoire qui évoluera de façon indépendante et cyclique, échappant à la thérapeutique: sauf s'il est administré très précocement, le SAV sera peu efficace ou même inefficace. Dans cette catégorie de venins, le pouvoir d'action du SAV sera inégal.

- les venins sensibilisants ont, indépendamment d'une éventuelle toxicité, un haut pouvoir allergisant. L'action toxique propre du venin s'efface derrière les accidents anaphylactiques ou anaphylactoïdes, souvent dus à des composants protéiques dépourvus d'action toxique. Tels sont typiquement les venins d'hyménoptères. En ce cas, la thérapeutique et la prophylaxie sont du domaine de l'allergologie. Il n'existe pas de SAV préparé contre cette catégorie de venin.

Les venins de serpents appartiennent au contraire aux deux premières catégories, parfois présentes dans un même venin: l'envenimation ophidienne relève couramment de la sérothérapie.

Bases expérimentales : pour que la sérothérapie ait une efficacité et une tolérance optimales, il convient de prendre en compte la spécificité du SAV, la gravité de l'envenimation, la nature et le mode d'administration du produit injecté: on glisse ainsi de la sérothérapie à l'immunothérapie, terme plus précis qui sous-entend les progrès accomplis en ce domaine.

► spécificité : le SAV doit être spécifique du venin, ce qui implique que le serpent responsable de l'envenimation est identifié. Il est alors possible d'utiliser le sérum monovalent correspondant. Dans le doute, fréquent, on aura recours à un sérum polyvalent dirigé contre les principales espèces venimeuses connues dans la zone géographique où se situe l'accident d'envenimation. L'existence d'une paraspecificité du SAV donne une marge de sécurité supplémentaire. En réalité, l'identification du serpent venimeux est un problème majeur. Souvent, le serpent qui a mordu n'est pas vu ou à peine

entrevu par le patient. Parfois aussi, seuls des sérums monovalents sont disponibles, et le choix ne peut pas être guidé par la symptomatologie clinique lorsque celle-ci est semblable d'une espèce à l'autre. On a donc tenté de mettre au point des diagnostics spécifiques immunologiques de type ELISA (Coulter *et al.*, 1980; Cox *et al.*, 1992) qui ne sont pas encore d'un emploi courant.

► gravité de l'envenimation : elle est habituellement appréciée par l'intensité des signes cliniques. Néanmoins, il est tentant de connaître la quantité de venin injectée par le serpent afin d'ajuster au mieux le volume de SAV qui sera administré. De nombreux tests immunochimiques de détection quantifiables dans le sang et dans l'urine ont été proposés: hémagglutination passive (Boche et Russell, 1968), immunodiffusion (Greenwood *et al.*, 1974), radioimmunodosages (Coulter *et al.*, 1974, 1978), immunoélectrophorèse (Tu et Salafranca, 1974; Gawade et Gaitonde, 1980). Theakston (1983, 1991) dresse une revue et un bilan de ces méthodes: à l'exception des RIA (radioimmunodosages) mais qui sont lourds à mettre en œuvre, ces tests manquent de sensibilité. Actuellement, les tests ELISA paraissent les mieux adaptés et ont donné lieu à un grand nombre de travaux (Audebert, 1993). Labrousse *et al.* (1988) ont mis au point un test ELISA expérimental permettant de détecter précocement le venin de *Vipera ammodytes* en 20 min dans 0,2 ml de sang, d'une sensibilité suffisante pour doser les antigènes *post mortem* dans les viscères. Audebert *et al.* (1993) décrivent un dosage par ELISA du venin des trois principales vipères européennes (*V. aspis*, *V. berus*, *V. ammodytes*) dans le sang et dans l'urine. Ce test, réalisable en 3 heures, est spécifique, sensible et donne une réponse linéaire pour des concentrations de venin comprises entre 1 et 100 ng/ml. Les tests ELISA se montrent plus sensibles et sont plus rapides d'exécution que les RIA (Sjostrom *et al.*, 1996). La relative facilité de la manipulation et le court délai d'attente du résultat sont des atouts importants en pratique médicale, et des kits d'utilisation sont en cours d'évaluation.

Ces tests peuvent être aussi employés pour quantifier le SAV, comme l'ont montré Labrousse *et al.* (1988), Rungsiwongse et Ratanabanangkoon (1991) ou Barbosa *et al.* (1995).

Cependant, ces tests ne sont pas à l'abri de toute critique (Ho *et al.*, 1986). Il peut exister des réactions croisées non spécifiques ou encore la sensibilité peut être insuffisante. D'une façon générale, sensibilité et spécificité varient en sens inverse: on court un risque plus élevé de fausses réactions positives dans les zones de haute sensibilité. Ces problèmes sont suffisamment délicats pour avoir freiné ou même empêché une utilisation de ces tests en routine, alors même que des kits ont été préparés et mis au point (Audebert, 1993).

En dépit de ces quelques inconvénients, ces tests ont été utilisés pour vérifier s'il y avait une corrélation entre la quantité de venin circulant et l'intensité des signes cliniques. Des échelles de gravité ont été dressées, la quantité de venin circulant a été dosée, ainsi que parfois la quantité de venin éliminée dans l'urine. Pour les vipères de France, une gradation clinique en 4 stades de gravité croissante a été proposée (Audebert *et al.*, 1992; Audebert, 1993; Audebert *et al.*, 1994a; Sorkine et Bon, 1995; Sorkine *et al.*, 1996). Les auteurs concluent à une excellente corrélation entre la gravité du tableau clinique d'une part, le taux du venin circulant et le taux de venin urinaire d'autre part. Ils accordent aux tests ELISA une réelle valeur prédictive (Audebert *et al.*, 1992; Sorkine *et al.*, 1996). Cependant, la valeur seuil de 15 ng/ml de venin dans le sang peut correspondre, selon les individus, à une envenimation modérée ou à une envenimation sérieuse (Audebert *et al.*, 1994a). Les réactions faussement positives sont peu fréquentes (Audebert *et al.*, 1992). La même gradation a été reprise pour les envenimations dues à *Bothrops lanceolatus* en Martinique (Thomas *et al.*, 1995; Thomas *et al.*, 1996). Une corrélation statistique entre taux sanguins de venin et sévérité de l'envenimation a été également établie, mais elle n'exclut pas des valeurs individuelles très variables (Bucher *et al.*, 1996; Thomas, 1996b). Toutefois, les taux sanguins de venin supérieurs à 15 ng/ml ont une signification péjorative (Bucher *et al.*, 1996).

Dans l'ensemble, les tests ELISA ont beaucoup apporté dans l'étude des envenimations: épidémiologie, bilan clinique, mais aussi devenir du venin et du SAV dans l'organisme, et interactions venin-SAV dans l'organisme en fonction du délai d'administration du SAV, de son mode d'administration et de la nature des immunoprotéines injectées.

► nature et mode d'administration de l'immunsérum: les tests ELISA répétés à divers intervalles de temps vont permettre de définir les paramètres toxicocinétiques du venin (volumes de distribution dans l'organisme, demi-vie d'élimination) et les paramètres pharmacocinétiques du SAV. Rappelons que les toxines du venin ont très souvent une masse molaire inférieure à 30 kDa, que l'immunsérum contient le plus souvent des F(ab)<sub>2</sub> de masse molaire moyenne de 90 kDa. Les immunoglobulines complètes de masse molaire de 150 kDa ne sont plus guère employées, les F(ab) de masse molaire de l'ordre de 50 kDa sont en cours d'évaluation, mais sont déjà utilisés dans certains cas particuliers comme l'intoxication digitalique (Johnston *et al.*, 1988). L'analyse de la diffusion du venin dans l'organisme ainsi que celle de l'effet de la sérothérapie sur sa répartition devrait conduire à une conduite thérapeutique plus rationnelle.

La toxicocinétique du venin de *V. aspis* a été étudiée chez le lapin par Audebert *et al.* (1994b) après injection intraveineuse ou intramusculaire. Par voie intraveineuse, la demi-vie d'élimination est d'environ 12 heures: trois jours après son administration, le venin est pratiquement éliminé de l'organisme (il reste moins de 3,5 % de la dose initiale). Le volume de distribution est supérieur au volume plasmatique, indiquant que le venin est présent dans le compartiment cellulaire, hors du compartiment vasculaire. Pour être plus proche des conditions d'une morsure venimeuse, les cinétiques de distribution et d'élimination ont été étudiées après injection intramusculaire du venin, toujours chez le lapin. Le processus de résorption du venin s'étale alors sur 72 heures, contribuant à maintenir des concentrations plasmatiques de venin élevées sur une longue durée. La biodisponibilité du venin résorbé est environ de 65% et ne varie pas en fonction de la dose administrée. D'autres travaux utilisant d'autres venins radiomarqués (Thwin *et al.*, 1988), des animaux d'expérience de plus grande taille comme le porc (Burgess *et al.*, 1992) montrent aussi une distribution rapide du venin, une élimination lente comprise entre 3 et 4 jours, un volume de distribution supérieur au volume plasmatique et une fraction urinaire excrétée du venin sous forme non modifiée très faible.

La composition des SAV peut différer par le degré de purification et surtout par la nature des anticorps qu'ils contiennent, immunoglobulines (Ig) ou F(ab)<sub>2</sub>. Les caractéristiques pharmacocinétiques de plusieurs sérums commerciaux anti-ophidiens (Than *et al.*, 1985; Ho *et al.*, 1990) ou anti-scorpioniques (Ismail *et al.*, 1983) ont été comparées. Le volume apparent de distribution des anticorps sous forme d'Ig est superposable au compartiment vasculaire. Les F(ab)<sub>2</sub> ont un volume de distribution 1,5 à 3 fois plus élevé que le volume plasmatique, ce qui suggère une légère distribution tissulaire. La demi-vie d'élimination des F(ab)<sub>2</sub> est comprise entre 40 et 100 heures. Le filtre glomérulaire rénal étant imperméable aux molécules de masse molaire supérieure à 50-60 kDa, les anticorps sous forme d'Ig ou de F(ab)<sub>2</sub> seront éliminés par les cellules du système immunitaire. Les Fab, qui se situent au seuil de filtration rénale, présenteront du fait de cette caractéristique des paramètres pharmacocinétiques qui leur sont propres.

A la différence du venin qui diffuse largement dans le compartiment tissulaire (Audebert, 1993; Audebert *et al.*, 1994b), les Ig et les F(ab)<sub>2</sub> ne diffusent que faiblement hors du compartiment vasculaire et sont donc, semble-t-il, incapables de neutraliser les antigènes du venin présents dans le secteur extra-vasculaire. Divers travaux ont en effet montré que les concentrations plasmatiques de venin, évaluées par des tests ELISA, diminuent rapidement après l'administration de SAV (Ho *et al.*, 1986; Labrousse *et al.*, 1988), et ces résultats conduisent à la conclusion que la sérothérapie élimine le venin de la circulation générale. Cette explication est cependant insuffisante, car les tests ELISA ne

mesurent que les antigènes libres, et non les antigènes complexés par les anticorps. En réalité, la distribution du venin dans l'organisme est modifiée par les F(ab)<sub>2</sub> du SAV (Audebert, 1993) : certes les F(ab)<sub>2</sub> neutralisent le venin circulant, mais cette neutralisation s'accompagne d'une redistribution des antigènes du venin des sites périphériques vers le compartiment vasculaire où ils sont immédiatement complexés et inactivés. On ne trouvera plus de venin dans l'urine après sérothérapie, les complexes antigènes-anticorps ayant une masse molaire bien supérieure au seuil de filtration rénale (Audebert, 1993). Sans doute ces mécanismes expliquent-ils aussi la suppression de la réponse immune de l'organisme au venin au décours de la sérothérapie (Cardoso *et al.*, 1994).

D'autre part, l'élimination des anticorps est lente, ce qui implique que les complexes immuns restent longtemps dans la circulation avec, comme conséquences une dissociation possible du complexe antigène-anticorps si les anticorps sont de faible affinité, les toxines ainsi libérées se montrant de nouveau actives, et une éventuelle réaction immunitaire de l'hôte conduisant à la maladie sérique dite encore maladie du neuvième jour.

En ce qui concerne les fragments Fab, si on se réfère aux propriétés pharmacocinétiques des Fab anti-digoxines utilisés pour traiter les intoxications digitaliques, on observe une plus large distribution dans l'organisme, supérieure de 4 fois au volume du compartiment vasculaire ainsi qu'une élimination 10 à 20 fois plus rapide que celle des Ig (Smith *et al.*, 1979).

Mise en œuvre : le SAV représente la seule médication spécifique capable de neutraliser directement l'action des toxines présentes dans les venins: le principe de son utilisation n'est guère contestable, et un récent colloque sur le traitement des envenimations a dégagé un consensus sur cette prise de position (Bon et Goyffon, 1996). En revanche, l'optimisation de son utilisation offre matière à discussion: des problèmes subsistent, tels que le choix du SAV lorsque plusieurs présentations sont disponibles, le délai au-delà duquel la sérothérapie peut paraître inappropriée, la voie d'administration, l'existence éventuelle de contre-indications, la possibilité de réactions adverses qu'il faudra s'attacher à prévenir (Chippaux et Goyffon, 1991b).

► indications : la décision d'utiliser un SAV prendra en compte les circonstances de la morsure, le délai écoulé après la morsure, la symptomatologie, l'environnement médical, en particulier l'accessibilité à une unité de soins intensifs. En Europe, le SAV s'impose chez l'enfant lorsque l'envenimation est certaine et chez l'adulte lorsqu'elle est sévère ou accompagnée de signes hématologiques. Dans les régions tropicales, l'indication sera plus large, notamment chez l'enfant et la femme enceinte. Les éleveurs de serpents représentent un cas particulier: ils connaissent bien leurs animaux, et l'identification du serpent est assurée; mais d'autre part, ils sont mordus par surprise, par un animal en phase particulière d'agressivité, en sorte que les morsures sont potentiellement graves. En outre, certains d'entre eux sont des polymordus (morsures dites "illégitimes") et sont ainsi exposés à des réactions de sensibilisation, au venin ou au SAV (Goyffon et Chippaux, 1984). Sauf contre-indication avérée, la sérothérapie sera systématique en cas de morsure illégitime, consécutive à la manipulation d'un serpent venimeux.

Les signes physiques, en particulier l'œdème après morsure de vipère ou de crotale, surviennent progressivement au cours de la première heure de l'envenimation (Blaylock, 1983; Reid et Theakston, 1984; Goyffon et Chippaux, 1990), et leur précocité est en général signe de gravité. Il faut savoir les rechercher: ils permettent le choix du SAV et déterminent la posologie (Chippaux et Goyffon, 1991a). Le SAV apparaît maintenant, pour beaucoup, un traitement global de l'envenimation et non plus seulement comme un antidote des effets létaux du venin: Homma et Tu (1970), Russell (1980), Reid (1980), Gutierrez *et al.* (1981), Garfin *et al.* (1985) ont montré l'effet protecteur du SAV sur le développement des complications locales. Thomas *et al.* (1995) ont mis en évidence l'effet bénéfique préventif des thromboses par le SAV dans l'envenimation par *Bothrops*

*lanceolatus*. Stahel *et al.* (1985) ainsi que Thomas *et al.* (1996b) ont observé une réduction du temps d'hospitalisation chez les sujets soumis à une sérothérapie. Cette conception conduit à élargir les indications du SAV, et modifie les conditions d'utilisation sur deux points importants, la voie d'administration et la posologie.

En zone tropicale (Chippaux et Bessy, 1980) comme en France (Sorkine et Bon, 1995; Sorkine *et al.*, 1996), il apparaît qu'un nombre élevé de morsures, 30 à 50%, ne sont pas suivies de signes d'envenimation (morsures dites "sèches", ou "blanches"). Si après une mise en observation de trois heures, aucune manifestation clinique n'apparaît, la sérothérapie n'a pas d'indication véritable (Chippaux et Goyffon, 1991b). Les échelles ou scores de gravité établies par différents auteurs visent à préciser et à faciliter l'indication d'une sérothérapie (Audebert *et al.*, 1994a; Thomas *et al.*, 1995; Dart *et al.*, 1996)

Le choix du SAV est fonction des stocks disponibles et du tableau clinique. Un SAV monovalent est préférable lorsque le serpent est identifié, mais n'est pas toujours accessible. Le SAV polyvalent sera utilisé dans les autres circonstances, serpent non identifié ou seule présentation disponible. Le SAV polyvalent offre en général une meilleure paraspécificité que le SAV monovalent, et sera plus facilement utilisé à ce titre, lorsque l'envenimation est due à une espèce proche de celle qui a servi à préparer le SAV.

► administration : les principaux problèmes soulevés se rapportent au délai, à la voie d'administration et à la posologie (Chippaux, 1996).

- le délai : il est admis que la sérothérapie, une fois son indication posée, est d'autant plus efficace qu'elle est précoce. Cependant, un long délai entre la morsure et la mise en route du traitement ne doit pas conduire à exclure la sérothérapie. On a vu que dans certains cas, les anticorps antitoxines sont susceptibles de déstabiliser la liaison toxine-récepteur cellulaire (Boullain et Ménez, 1982). Dans d'autres cas, les signes cliniques n'apparaissent eux-mêmes qu'assez tardivement, comme les hémorragies consécutives aux morsures d'*Echis ocellatus* (= *carinatus*), dues à une action thrombinique et défibrinante du venin puissante mais lente à se manifester. Des guérisons sans séquelles de patients envenimés par des vipéridés et traités avec retard ont été rapportées (Chapman, 1968; Russell, 1980; Reid et Theakston, 1984). Il n'est pas possible de fixer une limite de temps au-delà de laquelle la sérothérapie n'est plus active sur l'envenimation, mais la posologie doit tenir compte du retard dans sa mise en œuvre et être adaptée en fonction de l'état clinique (Chippaux, 1996).

- la voie d'administration : compte tenu d'une diffusion potentiellement plus rapide des toxines dont la masse molaire est généralement inférieure à celle des anticorps neutralisants, la voie veineuse est actuellement recommandée par la plupart des auteurs. Le plus souvent, le SAV est administré en perfusion lente, dilué au dixième ou au cinquième dans une solution isotonique (Russell, 1980; Reid et Theakston, 1983). L'injection directe, lente, permet de réduire de plus de moitié les quantités injectées (Sreeharan et Ganeshamoorthy, 1985). La voie veineuse a pour autre avantage de permettre de mieux contrôler l'apparition d'effets secondaires immédiats ou précoces (Warrell *et al.*, 1986). A défaut de la voie veineuse, on pourra avoir recours à la voie intramusculaire, moins efficace et qui n'évite pas les effets secondaires (Doucet, 1975). De plus, en cas de réaction d'intolérance, le SAV continue à être résorbé, alors qu'on peut stopper immédiatement une administration par voie intraveineuse, quelles qu'en soient les modalités. L'injection par voie sous-cutanée autour du site de morsure est à proscrire: elle est douloureuse, inefficace, et bien souvent le site de morsure ne se prête pas à une telle injection sauf à induire des complications locales (Chippaux, 1982). En France, les SAV disponibles n'ont l'AMM (autorisation de mise sur le marché) que pour une administration par voie intramusculaire ou sous-cutanée, ce qu'on peut regretter.

- la posologie : elle est fondée sur l'évolution clinique, le délai de mise en route de la sérothérapie, la diagnose du serpent responsable de l'envenimation, le titre du SAV, l'environnement médical. Faute de disposer de manière courante de l'évaluation de la quantité de venin circulante ("veninémie"), on cherchera à se situer en excès d'anticorps pour éliminer

toute toxine libre. Les échelles de gravité clinique pourront servir non seulement à poser l'indication d'une sérothérapie, mais aussi à en adapter au mieux la posologie (Bucher *et al.*, 1996). Des doses de 100 à 150 ml administrées en une journée ont été préconisées (Reid et Theakston, 1984). On s'oriente actuellement vers des posologies plus modestes (Chippaux, 1992; Bon et Goyffon, 1996). Les doses initiales seront de l'ordre de 20 à 60 ml par jour, selon la gravité du tableau clinique, à renouveler le ou les jours suivants en fonction de l'état du malade. Les morsures par *Echis* sp. qui sont suivies d'un état d'incoagulabilité prolongée en l'absence de thérapeutique spécifique, imposeront la sérothérapie tant que le bilan de coagulation restera perturbé. De toute façon, la posologie doit être adaptée à la quantité de venin inoculée, évaluée biologiquement (Theakston et Reid, 1979; Khin-Ohn-Lwin *et al.*, 1984; Labrousse *et al.*, 1988; Sjostrom *et al.*, 1996) ou cliniquement (Rousselot *et al.*, 1991; Chippaux, 1992; Barrau *et al.*, 1995; Thomas *et al.*, 1996b; Sorkine *et al.*, 1996), ou encore à la capacité moyenne glandulaire du serpent, et non au poids corporel du sujet envenimé (Winson, 1976; Chippaux, 1989).

Réactions secondaires : deux types de réaction, précoces ou tardives, peuvent être observées :

► les réactions précoces : elles apparaissent soit chez des sujets sensibilisés, ayant reçu antérieurement une sérothérapie antivenimeuse ou antitoxinique (sérum antitétanique, par exemple), ou encore chez des sujets vierges de toute sérothérapie antérieure. Dans le premier cas, on parlera de réaction anaphylactique (David, 1988), dans le second, de réaction anaphylactoïde. La fréquence de ces accidents est diversement appréciée (Ebisawa, 1973; Sutherland et Lovering, 1979; Sawai, 1980; Lagraulet et Pays, 1984; Malasit *et al.*, 1986; De Haro, 1992; Zecchini, 1992; Thomas *et al.*, 1996a). Le choc anaphylactique brutal, mettant en jeu le pronostic vital, semble rare, inférieur à 1 pour mille des sérothérapies (Chippaux et Goyffon, 1991a). La variabilité apparente des manifestations de type allergique est peut-être à mettre au compte de la différence de nature des SAV commercialisés. La présence d'une forte proportion de fragments Fc, dépourvus d'activité anticorps mais activant le complément, peut entraîner un choc anaphylactoïde, quand ce dernier n'est pas induit par le venin lui-même (Pugh et Theakston, 1987).

► les réactions tardives : elles semblent plus fréquentes que les précédentes. Les anticorps hétérologues du SAV demandent environ trois semaines pour être éliminés de l'organisme qui, pendant ce temps, produit ses propres anticorps dirigés contre le sérum non encore éliminé : cette production d'anticorps anti-SAV peut commencer peu de jours après l'injection. Dans un certain nombre de cas, des complexes précipitants vont se former rapidement, d'où le nom de "maladie du neuvième jour" donné parfois à cette réaction tardive encore connue sous le nom de maladie sérique ou maladie des complexes immuns (You *et al.*, 1983). Les complexes précipitants vont se déposer au niveau de l'intima des petits vaisseaux et provoquer une série de symptômes variés habituellement modérés, principalement fièvre, urticaire, adénopathies, arthralgies, néphropathie avec protéinurie. Les formes sévères, une glomérulopathie avec neuropathie, sont exceptionnelles. L'évolution est en règle bénigne, se faisant vers la guérison spontanée en deux à quatre jours. Le traitement est en général inutile. Si les symptômes sont accentués, on peut recourir aux corticoïdes ou aux anti-histaminiques. Cependant ce type d'accident, comme le précédent, constitue une contre-indication à une sérothérapie ultérieure.

L'incidence des réactions secondaires, quelles qu'en soient la nature et l'intensité, est estimée de façon variée et serait inférieure à 5% des personnes traitées par le SAV (Chippaux et Goyffon, 1991b). Des chiffres sensiblement plus élevés, de l'ordre de 5 à 10%, ont été rapportés (De Haro, 1992; Zecchini, 1992; Thomas *et al.*, 1996a). Des tests cutanés ou conjonctivaux ont été proposés pour tenter de reconnaître les sujets susceptibles

de présenter des réactions d'intolérance au sérum antivenimeux. On considère généralement que leur valeur prédictive n'est pas satisfaisante (Malasit *et al.*, 1986). D'autre part, un test positif ne dispense pas d'une sérothérapie si l'état clinique du malade la justifie. Aussi ces tests tendent-ils à être abandonnés.

## VI - AVENIR DE LA SÉROTHÉRAPIE

Diverses voies peuvent être envisagées pour améliorer la sérothérapie afin d'obtenir une plus grande efficacité et une sécurité d'emploi accrue.

### • Amélioration dans la production :

‣ *qualité des venins utilisés pour l'immunisation*: les venins, sujets à des variations dans leur composition, devront être sélectionnés en fonction de la quantité de fractions toxiques qu'ils contiennent (Nkinin *et al.*, 1996a et 1996b). La possibilité de produire du venin *in vitro*, à partir de culture de cellules de glande à venin a été expérimentée (Sells *et al.*, 1989). D'autre part, l'utilisation des fractions toxiques préalablement isolées pourrait augmenter le titre protecteur du SAV et réduire la quantité de SAV à injecter, tout en évitant la formation d'anticorps dirigés contre des protéines non toxiques immunologiquement semblables à des protéines humaines. La purification de toxine peut être une solution pour enrichir un venin pauvre en toxine, ou même se substituer au venin: on a montré (Dos Santos *et al.*, 1988; Dos Santos *et al.*, 1989) que les anticorps anti-crotoxine, la crotoxine étant la toxine principale du venin de *Crotalus durissus terrificus*, sont capables de neutraliser les effets du venin complet. Le clonage de toxines d'Hydrophidés ou de Crotalidés (Ducancel *et al.*, 1985) permet d'envisager une production utilisable aux mêmes fins. On peut perfectionner cette production en cherchant à sélectionner des variants recombinants moins toxiques et plus immunogènes (Ménez, 1991).

‣ *procédés d'immunisation*: outre la fabrication d'anavenins ou d'anatoxines (= toxoïdes) par divers procédés physico-chimiques (Daniel *et al.*, 1987) ou par les techniques de la biologie moléculaire, d'autres procédures ont été proposées, en particulier l'utilisation de liposomes. Le venin est incorporé à une émulsion de sphingomyéline et de cholestérol stabilisée sous forme de membrane. L'administration de telles préparations, par voie entérale ou par voie parentérale (New *et al.*, 1985; Laing *et al.*, 1988) est suivie d'une augmentation rapide des anticorps protecteurs spécifiques (Theakston *et al.*, 1985; Freitas *et al.*, 1989). La voie sous-cutanée apparaît la plus efficace, du fait du maintien des antigènes au contact des macrophages tissulaires qui sont les cellules présentatrices de l'antigène. La libération progressive de l'antigène à partir des liposomes et sa diffusion par les voies lymphatiques permet une stimulation faible et continue du système immunitaire. Laing et Theakston (1993) ont montré que la présence de lipopolysaccharides bactériens (LPS) dans les liposomes peut améliorer la réponse immunologique. Le LPS étant un composé toxique non utilisable chez l'homme, d'autres adjuvants ont été testés (Fries *et al.*, 1991; Fries *et al.*, 1992). Toutefois, la réponse varie selon l'espèce animale testée et peut être négative, en particulier chez le cheval. (Freitas *et al.*, 1991).

### • Amélioration des qualités du produit :

‣ *purification des SAV par immunoaffinité*: le sérum d'un cheval hyperimmunisé contient en plus des anticorps spécifiques une grande quantité d'anticorps non spécifiques. Pour ne conserver que les anticorps intéressants, on peut purifier les sérums par immunoaffinité sur des gels couplés chimiquement à des antigènes du venin (Russell *et al.*, 1985). Les protéines ne réagissant pas avec le gel sont éluées, tandis que les anticorps spécifiques sont retenus. Ceux-ci sont élués à leur tour par une modification du pH qui déstabilise la liaison antigène-anticorps. Les anticorps ainsi recueillis sont spécifiques du

venin utilisé et ont une capacité neutralisante spécifique plus élevée. Les doses à administrer sont donc moins importantes, ce qui peut contribuer à réduire l'incidence des réactions secondaires. En revanche, le prix de revient s'en trouve augmenté, et les anticorps risquent d'être contaminés par du venin relargué par le gel de couplage.

► **isolement des IgG<sub>T</sub>**: les Ig de cheval appartiennent à plusieurs sous-classes dont on a cherché à connaître celles qui sont impliquées dans l'activité neutralisante du venin (Widders *et al.*, 1986; Fernandes *et al.*, 1991). Il apparaît qu'au cours de l'immunisation, la sous-classe des IgG<sub>T</sub> est produite de façon dominante. D'autre part, une fois déplétées en IgG<sub>T</sub>, les IgG restantes n'ont plus de capacité neutralisante. L'utilisation thérapeutique des IgG<sub>T</sub> après leur isolement, réduirait la quantité de protéines hétérologues injectées. Cependant les IgG<sub>T</sub>, fortement glycosylées, ont un réel potentiel allergisant.

► **fragmentation des anticorps**: par digestion enzymatique ménagée, on peut obtenir différents types de fragments actifs. On a vu que la digestion par la pepsine fournit des fragments F(ab)<sub>2</sub> couramment utilisés aujourd'hui. La digestion par la papaïne conduit à des fragments Fab, de masse molaire encore inférieure, mais ne possédant qu'un site de fixation de l'anticorps et non deux comme l'anticorps intact ou les F(ab)<sub>2</sub>: de ce fait, leur cinétique de neutralisation de l'antigène est différente. Leur diffusibilité et leur élimination par voie rénale leur confèrent des caractéristiques pharmacocinétiques particulières, avec une demi-vie biologique plus courte. Leurs avantages théoriques sont importants: distribution tissulaire meilleure, captation du venin dans les espaces extra-vasculaires, absence de fixation du complément, immunogénicité diminuée. Le pouvoir neutralisant des Fab a été prouvé expérimentalement (Choumet *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1992). Cependant, le volume de distribution des Fab varie selon l'espèce et peut ne pas être supérieur à celui des IgG (Johnston *et al.*, 1988). D'autre part, l'administration par voie intraveineuse de Fab anti-digoxine provoque chez le lapin une perturbation de la fonction rénale, marquée par une diminution notable de la clairance de la créatinine (Timsina et Hewick, 1992a et 1992b).

Il est possible aussi de préparer des fragments Fv qui sont des dimères constitués par l'association du premier domaine de la chaîne lourde et de la chaîne légère des Ig. D'abord obtenus par clivage chimique (Takahashi *et al.*, 1991), ils ont été ultérieurement synthétisés par les techniques de la biologie moléculaire (Ward, 1992). Leurs caractéristiques pharmacocinétiques n'ont pas encore été établies, mais leurs potentialités sont intéressantes. La biologie moléculaire permet de construire aussi la chaîne unique ou scFv des fragments variables de l'anticorps (Dewez *et al.*, 1996), mais leur utilisation en sérothérapie n'a pas encore été expérimentée.

► **anticorps monoclonaux**: les anticorps monoclonaux offrent à première vue une solution de rechange aux anticorps polyclonaux actuels de la sérothérapie. Ils sont obtenus après fusion de lymphocytes B spléniques de souris hyperimmunisées avec des cellules de myélomes murins. Les cellules hybrides ou hybridomes ont un potentiel de développement illimité et sécrètent des anticorps de spécificité déterminée. Les anticorps monoclonaux dérivant d'un seul clone cellulaire ne peuvent se combiner qu'à une seule région de la protéine, le déterminant antigénique. Par opposition, les anticorps polyclonaux issus de multiples clones cellulaires peuvent se combiner à tous les déterminants antigéniques de la protéine antigène. Un certain nombre d'anticorps monoclonaux neutralisants a été décrit et les mécanismes de neutralisation du pouvoir létal des toxines par ces anticorps ont été étudiés. Un anticorps monoclonal dirigé contre la neurotoxine postsynaptique de *Naja nigricollis* entraîne la dissociation du complexe antigène toxique-récepteur postsynaptique de l'acétylcholine par formation d'un complexe ternaire récepteur-antigène-anticorps, et cet anticorps neutralise chez le lapin l'action de la toxine (Boulain *et al.*, 1985; Gatineau *et al.*, 1988). Un anticorps monoclonal inhibant *in vitro* l'activité enzymatique de la crotoxine, neurotoxine phospholipase A2 du venin de *Crotalus durissus terrificus* agissant au niveau présynaptique de la jonction neuromusculaire, neutralise aussi *in vivo* le pouvoir létal de cette toxine (Choumet *et al.*, 1992). Des anticorps

murins pouvant entraîner chez l'homme une réaction immunitaire, on a cherché à réduire cette réaction par "humanisation", c'est à dire par greffe des régions hypervariables de l'anticorps murin portant la fonction neutralisante sur les régions constantes d'un anticorps humain (Hale *et al.*, 1988). De telles molécules chimériques, issues des techniques de la biologie moléculaire, ont déjà été réalisées contre des récepteurs lymphocytaires (Brown *et al.*, 1991) ou en thérapie antivirale (Co *et al.*, 1991). Elles ont des paramètres pharmacocinétiques plus favorables que les anticorps monoclonaux murins et ne semblent pas provoquer de réponse immunitaire. Ces procédés peuvent être appliqués à des Fab ou à des Fv (Ward, 1992). Outre que ces techniques sont coûteuses, l'utilisation en thérapie humaine des anticorps monoclonaux est évitée dans la mesure où ils proviennent de cellules tumorales.

► *utilisation d'autres espèces que les équidés*: d'autres espèces que le cheval peuvent fournir un SAV utilisable en thérapeutique: on peut ainsi éviter les réactions d'hypersensibilité dues à l'injection antérieure d'un sérum équin. Les ovins ont été parfois préconisés (Smith *et al.*, 1992; Sells *et al.*, 1994; Laing *et al.*, 1995). Ils ont, entre autres avantages, celui de ne pas produire d'IgG $\gamma$  sensibilisantes (Landon et Smith, 1996). Quelques SAV (Chippaux et Goyffon, 1983; Theakston et Warrell, 1991) sont déjà préparés à partir du mouton (sérum anti-*Crotalus durissus terrificus*, anti-vipère de Russell). Cependant les agents transmissibles non conventionnels (ATNC) étendent leur ombre sur le mode actuel de préparation des SAV, et dans la mesure où de nombreuses inconnues subsistent sur le mode de transmission de ces affections, où la détection précoce de l'agent pathogène n'est pas résolue de façon simple, on peut hésiter à recommander la généralisation de SAV obtenus par hyperimmunisation du mouton, animal sensible à la tremblante. En l'état actuel des connaissances, mieux vaut sans doute aussi éviter les bovidés, au reste exceptionnellement utilisés pour des sérums thérapeutiques. Il existe aussi quelques SAV caprins, anti-*Bungarus multicinctus*, anti-*Calloselasma rhodostoma*, anti-*Vipera latasti*, ou préparés chez le lapin (anti-*Naja naja*). Dans ce contexte particulier des ATNC, la possibilité d'obtenir des anticorps neutralisants chez la poule (Thalley et Carroll, 1990, Carroll *et al.*, 1992) mérite attention. Les anticorps aviaires ont un pouvoir protecteur élevé, et la propriété de ne pas réagir avec le complément humain, ce qui diminue la fréquence de réactions secondaires. S'affranchira-t-on, grâce à la biologie moléculaire, de la préparation *in vivo* des SAV? On est encore loin de la production industrielle d'anticorps ou de fragments d'anticorps recombinants, aux prix de revient élevés.

#### • Amélioration dans l'utilisation du produit :

► *dosages immunologiques*: quels que soient leurs modes de production, les anticorps monoclonaux peuvent être utilisés pour doser le venin circulant, ou la quantité de SAV circulante, généralement au moyen de tests ELISA. Les limites de ces tests ont été signalées (Ho *et al.*, 1986, Audebert, 1993). Cependant, ils offrent la possibilité d'ajuster au mieux les quantités de SAV à administrer (Labrousse *et al.*, 1988).

► *potentialisation du SAV*: dans le souci de diminuer les quantités de SAV à injecter, à la fois pour réduire les réactions secondaires et le coût du traitement, on s'attache à rechercher des adjuvants qui renforceraient le pouvoir neutralisant du SAV ou qui exerceraient une action antagoniste sur les venins. On a montré que l'héparine inhibe les effets myotoxiques du venin de *Bothrops jararaca* et qu'elle augmente l'efficacité du SAV (Melo et Suarez-Kurtz, 1988). L'effet léthal de divers venins de serpents peut être diminué par certains médicaments usuels, tels que la chloroquine et la chlorpromazine, à l'égard des venins de *Bungarus cæruleus* et *B. multicinctus*, ou la dexaméthasone vis-à-vis du venin d'*Oxyuranus scutellatus* (Crosland, 1989a et 1989b). D'autres médicaments, tels que le diltiazem, la nicergoline, le verapamil assurent aussi une protection contre l'effet léthal de ces venins (Crosland, 1991). Plus récemment, Chippaux *et al.* (1996) ont confirmé ces résultats avec l'atropine, la prométhazine, l'héparine capables de diminuer l'effet léthal des

venins et de potentialiser le SAV, mais ces effets varient d'un venin à l'autre: une substance active contre le venin de *Dendroaspis jamesoni* (atropine) peut être dépourvue d'efficacité chez *Echis ocellatus*, et vice-versa (héparine).

• Vaccination : elle a été envisagée comme un solution de rechange à la sérothérapie. Techniquement, on dispose d'anatoxines efficaces injectables ou présentables sous forme de liposomes actifs par voie entérale. Au Japon, l'analyse clinique des morsures de *Trimeresurus* sp. a fait ressortir que les victimes d'envenimations graves dues à l'introduction massive de venin dans l'organisme pourraient bénéficier d'une immunité même faible vis-à-vis du venin, qui retarderait l'apparition des symptômes et permettrait un traitement plus efficace. Les facteurs hémorragiques ont été purifiés, inactivés par le formol et injecté avec des adjuvants à des volontaires. Au bout de la troisième injection, un titre en anticorps suffisant a été atteint. Cependant, la morbidité et la mortalité sont restées inchangées et la tentative s'est soldée par un échec (Sawai, 1979; O.M.S., 1981). En fait, on ignore encore la rapidité de la réponse immune de l'homme à la pénétration des antigènes du venin lors de l'envenimation.

## VII - CONCLUSION

Les estimations actuelles chiffrent à environ cinq millions le nombre de cas d'envenimations par morsures de serpent dans le monde (Chippaux et Goyffon, 1991a) entraînant de 30 000 à 40 000 décès (Warrell, 1996). Le seul traitement spécifique est l'administration d'anticorps neutralisants le plus souvent présentés sous forme de fragments F(ab)<sub>2</sub>, plus diffusibles dans l'organisme et mieux tolérés. Compte tenu de la purification des sérums, desquels sont éliminées entre autres protéines indésirables l'albumine et le complément, on ne devrait plus parler de sérothérapie mais d'immunothérapie. Les progrès les plus récents portent sur les possibilités, grâce aux tests ELISA, d'ajuster avec précision les volumes de SAV à administrer. Bien d'autres progrès restent à accomplir, dans le choix des antigènes, l'utilisation de fragments d'anticorps neutralisants, dans la connaissance des cinétiques de diffusion des venins et du SAV. En pays tropical, les problèmes liés à la conservation du SAV et au coût de la sérothérapie ne sont pas résolus.

Les éventuels effets secondaires de l'immunothérapie ne doivent pas inciter à renoncer à cette thérapeutique ni à en retarder la mise en route. La posologie dépend du serpent agresseur, de l'état de la victime et de l'évolution clinique. Des doses élevées peuvent être nécessaires, et le délai séparant la morsure de l'administration du SAV n'est pas un motif d'abstention. La voie veineuse est la plus logique, la plus efficace, la mieux contrôlée.

Enfin, une évaluation plus précise des populations à risque conduirait sans doute à rechercher des mesures préventives et, pourquoi pas, à reconsidérer l'intérêt d'une immunoprophylaxie.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AL-ABDULLA, I.H., SIDKI, A.M. et LANDON (1991) - An indirect hemolytic assay for assessing antivenoms. *Toxicol.* 29 : 1043-1046.

AUDEBERT, F. (1993) - Analyse clinique et pharmacocinétique des envenimations par les vipères européennes. Thèse Doct. sc., Paris 7, 166 p.

AUDEBERT, F., GROSSELET, O., SABOURAUD, A. et BON C. (1993) - Quantitation of venom antigens from European vipers in human serum or urine by ELISA. *J. anal. Toxicol.*, 17 : 236-240.

- AUDEBERT, F., SORKINE, M. et BON, C. (1992) - Envenoming by viper bites in France: clinical gradation and biological quantification by ELISA. *Toxicon*, **30** : 599-609.
- AUDEBERT, F., SORKINE, M., ROBBE-VINCENT, A. et BON, C. (1994a) - Viper bites in France : clinical and biological evaluation; kinetics of envenomations. *Hum.exper.Toxicol.*, **13** : 683-688.
- AUDEBERT, F., URTIZBEREA, M., SABOURAUD, A., SCHERRMANN, J.M., et BON, C. (1994b) - Pharmacokinetics of *Vipera aspis* venom after experimental envenomation in rabbits. *J.Pharmacol.exper.Ther.*, **268** : 1512-1517.
- BARBOSA, C.F., RODRIGUES, R.J., OLORTEGUI, C.C., SANCHEZ, E.F. et HENEINE, L.G.D. (1995) - Determination of the neutralizing potency of horse antivenom against bothropic and crotalic venoms by indirect enzyme immunoassay. *Braz.J.med.biol.Res.*, **28** : 1077-1080.
- BARRAU, P., HUFNAGEL, G., POITRINEAU, Y., DEFFOND, I., VIALARD, M.S. et FONTANELLA, J.M. (1995) - Sérothérapie intraveineuse dans une morsure grave de vipère européenne. *Rev. SAMU*, **3** : 1-4.
- BLAYLOCK, R.S. (1983) - Time of onset of clinical envenomation following snakebite. *S.Afr.Med.J.*, **64** : 357-360.
- BOCHE, R.D. et RUSSELL, F.E. (1968) - Passive hemagglutination studies with snake venom and antivenin. *Toxicon*, **6**: 125-130.
- BON, C. (1991) - Venins de serpents et sérums antivenimeux. *Bull.Soc.Herp.Fr.*, **57** : 1-18
- BON, C. et GOYFFON, M. (1996) - Envenomings and their treatments. 1 vol., Fond. Marcel Mérieux, Lyon, 343p.
- BOULAIN, J.C. et MENEZ, A. (1982) - Neurotoxin-specific immunoglobulins accelerate dissociation of the neurotoxic-acetylcholine receptor complex. *Science*, **217** : 732-733.
- BOULAIN, J.C., FROMAGEOT, P. et MENEZ, A. (1985) - Further evidence showing that neurotoxin-acetylcholine receptor dissociation is accelerated by monoclonal neurotoxin-specific immunoglobulin. *Mol.Immunol.*, **22** : 553-556.
- BROWN, P.S.Jr, PARENTEAU, G.L., DIRBAS, F.M., GARSIA, R.J., GOLDMAN, C.K., BUKOWSKI, M.A., JUNGHANS, R.P., QUEEN, C., HAKIMI, J., BENJAMIN, W.R., CLARK, R.E. et WALDMANN, T.A. (1991) - Anti-Tac, a humanized antibody to the interleukin 2 receptor, prolongs primate cardiac allograft survival. *Proc.natl.Acad.Sci.*, **88** : 2663-2667.
- BRYGOO, E.R. (1985) - La découverte de la sérothérapie antivenimeuse en 1984. Phisalix et Bertrand ou Calmette? *Bull.Soc.Anc.élèves Inst.Past.*, **4** : 10-22.
- BUCHER, B., CANONGE, D., THOMAS, L., TYBURN, B., ROBBE-VINCENT, A., CHOUMET, V., BON, C., KETTERLE, J. and the Research group on snake bites in Martinique (1996) - Correlation between clinical indicators of severity and serum levels of venom in patients bitten by *Bothrops lanceolatus* in Martinique. *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, sous presse.
- BURGESS, J.L., DART, R.C., EGEN, N.B. et MAYERSOHN, M. (1992) - Effects of constriction bands on rattlesnake venom absorption: a pharmacological study. *Ann. Emerg. Med.*, **21** : 1086-1093.
- CALMETTE, A. (1894) - L'immunisation artificielle des animaux contre le venin des serpents et la thérapeutique expérimentale des morsures venimeuses. *C.R.Soc.Biol.*, **46**: 120 et *C.R.Acad.Sc.*, **118** : 288.
- CARDOSO, D.F., MOURA DA SILVA, A.M. et MOTA, I. (1994) - Suppression of the antivenom antibody response by serum therapy. *Braz.J.med.biol.Res.*, **27** : 33-41.
- CARROLL, S.B., THALLEY, B.S., THEAKSTON, R.D.G. et LAING, G. (1992) - Comparison of the purity and efficacy of affinity purified avian antivenoms with commercial equine crotalid antivenoms. *Toxicon*, **30** : 1017-1025.
- CHAPMAN, D.S. (1968) - The symptomatology, pathology and treatment of the bites of venomous snake of Central and Southern Africa. In : *Venomous animals* (W. Bucherl, E. Buckley and V. Deulofeu), Academic Press, New York, **1** : 463-527.

- CHIPPAUX, J.P. (1982) - Complications locales des morsures de serpent. *Méd.trop.*, **42** : 177-183.
- CHIPPAUX, J.P. (1992) - Les morsures de serpents en Afrique intertropicale. *Cahiers Santé*, **2** : 221-234.
- CHIPPAUX, J.P. (1996) - La sérothérapie antivenimeuse en Afrique, cent ans après Calmette. *Méd.Afrique Noire*, **43** : 45-49.
- CHIPPAUX, J.P. et BRESSY, C. (1980) - L'endémie ophidienne des plantations de Côte d'Ivoire. *Bull.Soc.Path.exot.*, **74** : 458-467.
- CHIPPAUX, J.P. et GOYFFON, M. (1983) - Producers of antivenomous sera. *Toxicon*, **21** : 739-752
- CHIPPAUX, J.P. et GOYFFON M. (1991a) - La sérothérapie antivenimeuse: ses applications, ses limites, son avenir. *Bull.Soc.Path.Ex.*, **84** : 286-297.
- CHIPPAUX, J.P. et GOYFFON, M. (1991b) - Production and use of snake antivenin. *In* : Reptile venoms and toxins. (A.T. Tu) op. cité, 529-555.
- CHIPPAUX, J.P., RAKOTONIRINA, V.S., RAKOTONIRINA, A. et DZIKOUK, G. (1996) - Substances médicamenteuses ou végétales antagonistes du venin ou potentialisant le sérum antivenimeux. (1996) - *Bull.Soc.Path.exot.*, sous presse.
- CHIPPAUX, J.P., WILLIAMS V. et WHITE J. (1991) - Snake venom variability: methods of study, results and interpretation. *Toxicon*, **29** : 1271303.
- CHOUMET, V., FAURE, G., ROBBE-VINCENT, A., SALIOU, B., MAZIE, J.C. et BON, C. (1992) - Immunochemical analysis of a snake venom phospholipase A2 neurotoxin, crotoxin, with monoclonal antibodies. *Mol.Immunol.*, **29** : 871-882.
- CHOUMET, V., JIANG, M., RADVANYI, F., OWNBY, C. et BON, C. (1989) - Neutralisation of lethal potency and inhibition of enzymatic activity of a phospholipase A2 neurotoxin, crotoxin, by non-precipitating antibodies (Fab). *FEBS Lett.*, **244** : 167-173.
- CHRISTENSEN, P.A. (1968) - The venoms of Central and South African snakes. *In* : Venomous animals (W. Bucherl, E. Buckley et V. Deulofeu), Academic Press, New York, **1** : 437-461.
- CO, M.S., DESCHAMPS, M., WHITLEY, R.J. et QUEEN, C. (1991) - Humanized antibodies for antiviral therapy. *Proc.natl.Acad.Sci.*, **88** : 2869-2873.
- COULTER, A.R., COX, J.C., SUTHERLAND, S.K. et WADDELL, C.J. (1978) - A new solid-phase sandwich radioimmunoassay and its application to the detection of snake venom. *J.immunol.Meth.*, **23** : 241-252.
- COULTER, A.R., HARRIS, R.D. et SUTHERLAND, S.K. (1980) - Enzyme immunoassay for the rapid clinical identification of snake venom. *Med.J.Austr.*, **1** : 433-435.
- COULTER, A.R., SUTHERLAND, S.K. et BROAD, A.J. (1974) - Assay of snake venoms in tissue fluid. *J.immunol.Meth.*, **4** : 297-300.
- COX, J.C., MOISIDIS, A.V., SHEPERD, J.M., DRANE, D.P. et JONES, S.L. (1992) - A novel format for a rapid sandwich EIA and its application to the identification of snake venoms. *J.immunol.Meth.*, **146** : 213-218.
- CROSLAND, R.D. (1989a) - Development of drug therapies for snake venom intoxication. *In*: Natural toxins. Characterization, pharmacology and therapeutics (C.L. Ownby et G.V. Odell), Pergamon Press, Oxford, 165-175.
- CROSLAND, R.D. (1989b) - Effect of chlorpromazine and quinacrine on the lethality in mice of the venoms and neurotoxins from several snakes. *Toxicon*, **27** : 655-663.
- CROSLAND, R.D. (1991) - Effect of drugs on the lethality in mice of the venoms and neurotoxins from sundry snakes. *Toxicon*, **29** : 613-631.

- DALTRY, J.C., WUSTER, W. et THORPE, R.S. (1996) - Diet and snake venom evolution. *Nature*, **379** : 537-540.
- DANIEL, J.P., HENEINE, L.D.G., TAVARES, C.A.P., NASCIMENTO, M.C.S. et HENEINE, I.F. (1987) - Generation of protective immune sera by *Crotalus durissus terrificus* venom detoxified by controlled iodination. *Braz.J.med.biol.Res.*, **20** : 713-720.
- DART, R., HURLBUT, K., GARCIA, R. et BOREN J. (1996) - Snakebite severity score. *Toxicon*, **34** : p.145 (rés.)
- DAVID, B. (1988) - Mécanismes immuno-pathologiques liés à l'allergie. *Techn.Biol.*, **1** : 6-20.
- DE HARO, L. (1992) - Envenimations par serpents exotiques: bilan du Centre anti-poisons de Marseille. Thèse doct.méd., Marseille, 304 p.
- DELORI, P., VAN RIETSCHOTEN, J., ROCHAT, H. et MIRANDA, F. (1977) - Theoretical considerations on antivenomous serotherapy: some basic principles. *Bull. Inst. Pasteur*, **74** : 125-130.
- DEWEZ, D., MOUSLI, M., DEVAUX, C., BILLIALD, P. et GOYFFON, M. (1996) - Construction de fragments variables d'anticorps simple brin (scFv) anti-alpha-toxine de scorpion chez *E. coli*. Commun. 23<sup>ème</sup> Forum Jeunes Cherc., Poitiers.
- DOS SANTOS, M.C., DINIZ, C.R., WHITAKER PACHECO, M.A. et DIAS DA SILVA, W. (1988) - Phospholipase A2 injection in mice induces immunity against the lethal effects of *Crotalus durissus terrificus* venom. *Toxicon*, **26** : 207-213.
- DOS SANTOS, M.C., YAMAGUCHI, I.K., CARICATTI, C.P., HIGASHI, H.G. et DIAS DA SILVA, W. (1989) - Immunization of equines with phospholipase A2 protects against the lethal effects of *Crotalus durissus terrificus* venom. *Braz.J.med.biol.Res.*, **22** : 509-512.
- DOUCET, J. (1975) - Au sujet du traitement des morsures de serpent. *Conc.méd.*, **97** : 4395-4396.
- DUCANCEL, F., GUIGNERY-FRELAT, G., TAMIYA, T., BOULAIN, J.C. et MENEZ, A. (1985) - Postsynaptically-acting toxins and proteins with phospholipase structure from snake venoms: complete amino-acid sequences deduced from cDNAs and production of a toxin with staphylococcal protein A gene fusion vector. *In: Natural toxins* (C.L. Ownby et G.V. Odell), Pergamon Press, Oxford, 79-83.
- EBISAWA, I. (1973) - Serum accidents reactions following administration of antitoxin. *Snake*, **5**, 151-155.
- FERNANDES, I., TAKEHARA, H.A. et MOTA, I. (1991) - Isolation of IgG $\gamma$  from hyperimmune horse antisnake venom serum. Its protective ability. *Toxicon*, **29** : 1373-1379.
- FREITAS, T.V., FORTES-DIAS, C.L., DINIZ, C.R., VELARDE, D.T. et FREITAS, C.F. (1991) - Immunization of horses with *Crotalus durissus terrificus* (South American rattlesnake) venom. A comparison of four different procedures. *Braz.J.med.biol.Res.*, **24** : 281-290.
- FREITAS, T.V., TAVARES, A.P., THEAKSTON, R.D.G., LAING, G. et NEW, R.R.C. (1988) - Use of liposomes for protective immunization against *Crotalus durissus* (tropical rattlesnake) venom. *Toxicon*, **27** : 341-347.
- FRIES, L.F., GORDON, D.N., RICHARDS, R.L., EGAN, J.E., HOLLINGDALE, M.R., GROSS, M., SILVERMAN, C. et ALVING, C.R. (1992) - Liposomal malaria vaccine in humans: a safe and potent adjuvantal strategy. *Proc.natl.Acad.Sci.U.S.A.*, **89** : 358-362.
- FRISCH, B., MULLER, S., BRIAND, J.P., VAN REGENMORTEL, M.H. et SCHUBER, F. (1991) - Parameters affecting the immunogenicity of a liposome-associated synthetic hexapeptide antigen. *Eur.J.Immunol.*, **21** : 185-193.
- GARFIN, S.R., CASTILONIA, R.R., MUBARAK, S.J., HARGENS, A.R., AKESON, W.H. et RUSSELL, F.E. (1985) - The effect of antivenin on intramuscular pressure elevations induced by rattlesnake venom. *Toxicon*, **23** : 677-680.
- GATINEAU, E., LEE, C.Y., FROMAGEOT, P. et MENEZ, A. (1988) - Reversal of snake neurotoxin binding to mammalian acetylcholine receptor by specific antiserum. *Eur.J.Biochem.*, **171** : 535-539.

- GAWADE, S.P. et GAITONDE, B.B. (1980) - Immunological studies on monovalent *Enhydryna schistosa* antivenin. *Indian J.med. Res.*, **72** : 895-900.
- GLENN, J.L., STRAIGHT, R.C., WOLFE, M.C., et HARDY D.L. (1983) - Geographical variation in *Crotalus scutulatus scutulatus* (Mojave rattlesnake) venom properties. *Toxicon*, **21** : 119-130.
- GOYFFON, M. et CHIPPAUX, J.P. (1984) - Animaux venimeux exotiques et sérums antivenimeux en France. *J.Toxicol.méd.*, **4**, 123-129.
- GOYFFON, M. et CHIPPAUX, J.P. (1990) - Animaux venimeux terrestres. *Encycl.méd.-chir.*, Paris, Intoxications, 16078 A10, 14 p.
- GOYFFON, M. et HEURTAULT, J. (1995) - La fonction venimeuse. 1vol, Masson, Paris, 284 p.
- GREENWOOD, B.M., WARRELL, D.A., DAVIDSON, N.McD., ORMEROD, L.D. et REID, H.A. (1974) - Immunodiagnosis of snake bite. *Brit.med.J.*, **4**, 743.
- GUTIERREZ, J.M., AVILA, C., ROJA, E. et CERDAS, L. (1988) - An alternative *in vitro* method for testing the potency of the polyvalent antivenom produced in Costa Rica. *Toxicon*, **26** : 411-413.
- GUTIERREZ, J.M., CHAVES, F., BOLANOS, R., CERDAS, L., ROJAS, E., ARROYO, O. et PORTILLA, E. (1981) - Neutralización de los efectos locales del veneno de (*Bothrops asper*) por un antiveneno polivalente. (1981) - *Toxicon*, **19** : 493-500.
- GUTIERREZ, J.M., GENE, J.A., ROJAS, G. et CERDAS, L. (1985) - Neutralization of proteolytic and hemorrhagic activities of Costa Rican snake venoms by a polyvalent antivenom. *Toxicon*, **23** : 887-893.
- GUTIERREZ, J.M., ROJAS, G. et CERDAS, L. (1987) - Ability of a polyvalent antivenom to neutralize the venom of *Lachesis muta melanocephala*, a new Costa Rican subspecies of the bushmaster. *Toxicon*, **25** : 713-720.
- GUTIERREZ, J.M., ROJAS, G., LOMONTE, B., GENE, J.A., CHAVES, F., ALVARADO, J. et ROJAS, E. (1990) - Standardization of assays for testing the neutralizing ability of antivenoms. *Toxicon*, **28** : 1127-1129.
- HALE, G., DYER, M.J.S., CLARK, M.R., PHILLIPS, J.M., MARCUS, R., RIECHMANN, L., WINTER, G. et WALDMANN, H. (1988) - Remission induction in non-Hodgkin lymphoma with reshaped human monoclonal antibody CAMPATH-1H. (1988) - *Lancet*, **2** : 1394-1399.
- HARVEY, A.L., BARFARAZ, A., THOMSON, E., FAIZ, A., PRESTON, S. et HARRIS, J.B. (1994) - Screening of snake venoms for neurotoxic and myotoxic effects using simple *in vitro* preparations from rodents and chicks. *Toxicon*, **32** : 257-265.
- HO, M., SILAMUT, K., WHITE, N.J., KARBWANG, J., LOOAREESUWAN, J., PHILLIPS, R.E. et WARRELL, D.A. (1990) - Pharmacokinetics of three commercial antivenoms in patients envenomed by the Malayan pit viper in Thailand. *Am.J.trop.Med.Hyg.*, **42** : 260-266.
- HO, M., WARRELL, M.J., WARRELL, D.A., BIDWELL, D. et VOLLER, A. (1986) - A critical reappraisal of the use of enzyme-linked immunosorbent assays in the study of snake bite. *Toxicon*, **24** : 211-221.
- HOMMA, M. et TU, A.T. (1970) - Antivenin for the treatment of local tissue damage due to envenomation by Southern Asian snakes. *Am.J.trop.Med.Hyg.*, **19** : 880-884.
- ISMAIL, M., SHIBI, A.M., MORAD, A.M. et ABDULLAH, M.E. (1983) - Pharmacokinetics of <sup>125</sup>I-labelled antivenin to the venom from the scorpion *Androctonus amoreuxi*. *Toxicon*, **21** : 47-56.
- JOHNSTON, P.C., STEVENSON, I.H. et HEWICK, D.S. (1988) - The use of an enzyme-linked immunosorbent assay to study the disposition of sheep digoxin-specific immunoglobulin and Fab fragments in rats. *Clin.exp.Immunol.*, **74** : 489-493.
- KHIN-OHN-LWIN, AYE-AYE-MYINT, TUN-PE, THEINGIE-NVE et MIN-NAING (1984) - Russell's viper venom levels in serum of snake bite victims in Burma. *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **78** : 165-167.
- KHOLE, V. (1991) - Toxicity of snake venoms and their components. *In* : Reptile venoms and toxins (A.T. Tu) op. cité, 405-470.

- KRIFI, M.N., EL AYEB, M. et DELLAGI, K. (1996) - New procedures and parameters for better evaluation of *Androctonus australis garzonii* (Aag) and *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) scorpion envenomations and specific serotherapy treatment. *Toxicon*, **34** : 257-266.
- LABROUSSE, H., NISHIKAWA, A.K., BON C. et AVRAMEAS, S. (1988) - Development of a rapid and sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring venom antigens after an experimental snake bite. *Toxicon*, **26** : 1157-1167.
- LAGRAULET, J. et PAYS, J.F. (1984) - Problèmes posés par le traitement des morsures de vipères en France. *Bull. Mém. Soc. Méd. Paris*, **4** : 103-108.
- LAING, G.D., LEE, L., SMITH, D.C., LANDON, J. et THEAKSTON, R.D.G. (1995) - Experimental assessment of a new, low-cost antivenom for treatment of carpet viper (*Echis ocellatus*) envenoming. *Toxicon*, **33** : 307-313.
- LAING, G.D. et THEAKSTON, R.D.G. (1993) - Immunization against *Echis ocellatus* (carpet viper) venom using liposomes incorporating immunostimulants: role of lipopolysaccharide in conferring protection in a mouse model. *Toxicon*, **31** : 615-626.
- LAING, G., THEAKSTON, R.D.G. et NEW, R.R.C. (1988) - Use of liposomes incorporating immunostimulant for parenteral and oral immunization against snake venom. *In: Progress in venom and toxin research* (P. Gopalakrishnakone et C.K. Tan), Univ. Singapore, Singapour, 283-295.
- LANDON, J. et SMITH, D.C. (1996) - Development of novel antivenins based on specific ovine Fab. *In: Envenoming and their treatments* (C. Bon et M. Goyffon), op. cité, 173-180.
- LEE, S.Y., LEE, C.Y., CHEN, Y.M. et KOCHVA, E. (1986) - Coronary vasospasm as the primary cause of death due to the venom of the burrowing asp, *Atractaspis engaddensis*. *Toxicon*, **24** : 285-291.
- LITCHFIELD, J.T.Jr et WILCOXON, F. (1949) - A simplified method of evaluating dose-effect experiment. *J. Pharm. Ther.*, **96** : 99-113.
- MALASIT, P., WARRELL, D.A., CHANTHAVANICH, P., VIRAVAN, C., MONGKOLSAPAYA, J., SINGHTHONG, B. et SUPICH, C. (1986) - Prediction, prevention, and mechanism of early (anaphylactic) antivenom reactions in victims of snake bites. *Brit. med. J.*, **292** : 17-20.
- MELO, P.A. et SUAREZ-KURTZ, G. (1988) - Release of creatine kinase from skeletal muscles by *Bothrops* venoms: heparin potentiation of inhibition by antivenin. *Braz. J. med. biol. Res.*, **21** : 545-548.
- MENEZ, A. (1987) - Les venins de serpents. *La Recherche*, **190**, 886-893.
- MENEZ, A. (1991) - Immunology of snake toxins. *In: Snake toxins* (A.L. Harvey), Pergamon Press, Oxford, 35-90.
- MENEZ, A. (1993) - La structure des toxines des animaux venimeux. *Pour la Science*, **190** : 34-40.
- MENEZ, A. (1995) - Les venins et toxines de serpents. *In: La fonction venimeuse* (M. Goyffon et J. Heurtault), op. cité: 200-220.
- MENEZ, A., BOULAIN, J.C., BOUET, F., COUDERC, J., FAURE, G., ROUSSELET, A., TREMEAU, O., GATINEAU, E. et FROMAGEOT, P. (1984) - On the molecular mechanisms of neutralization of a cobra neurotoxin by specific antibodies. *J. Physiol.*, **79** : 196-206.
- NEW, R.R.C., THEAKSTON, R.D.G., ZUMBUEHL, O., IDDON, D. et FRIEND, J. (1985) - Liposomal immunization against snake venoms. *Toxicon*, **23** : 215-219.
- NKININ, S.W., PIETIN, D., DOLJANSKI, Y., TREMEAU, O., MENEZ, A. et CHIPPAUX, J.P. (1996a) - Genetic origin of the variability of venoms: impact on the preparation of antivenoms. *Toxicon*, **34** : p. 167 (rés.).

- NKININ, S.W., CHIPPAUX, J.P., PIETIN, D., DOLJANSKI, Y., TREMEAU, O. et MENEZ, A. (1996b) - L'origine génétique de la variabilité des venins: impact sur la préparation des sérums antivenimeux. *Bull.Soc.Path.exot.*, 1996, sous presse.
- O.M.S. (1981) - Caractérisation des venins et standardisation des sérums antivenimeux: progrès réalisés. *Publ.offset n°58*, 49 p.
- OWNBY, C.L., COLBERG, T.R. et ODELL G.V. (1986) - *In vivo* ability of antimyotoxin a serum plus polyvalent (Crotalidæ) antivenom to neutralize prairie rattlesnake (*Crotalus viridis viridis*) venom. *Toxicon*, **24** : 197-200.
- PHISALIX, C. et BERTRAND, G. (1894) - Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. *C.R.Soc.Biol.*, **46**: 111 et *C.R.Acad.Sc.*, **118** : 356-358.
- PUGH, R.N.H. et THEAKSTON, R.D.G. (1987) - Antivenom reactions and complement depletion in snakebite. *Ann.trop.Med.Parasitol.*, **81** : 73-75.
- RAMON, G. (1924) - Des anatoxines. *C.R.Acad.Sc.*, **178** : 1436-1439.
- REED, L.J. et MUENCH, H. (1938) - A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am.J.Hyg.*, **27** : 493-497.
- REID, H.A. (1980) - Antivenoms reaction and efficacy. *Lancet*, **1**, 1024-1025.
- REID, H.A. et THEAKSTON, R.D.G. (1984) - Les morsures de serpent. *Bull. O.M.S.*, **62** : 27-38.
- ROJAS, G., ESPINOZA, M., LOMONTE, B. et GUTIERREZ, J.M. (1990) - Effect of storage temperature on the stability of the liquid polyvalent antivenom produced in Costa Rica. *Toxicon*, **28** : 101-105.
- ROUSSELOT, J.M., BERTHIER, J.C., ROZE, J.C., FLORET, D. et VIDAILHET, M. (1991) - Envenimation vipérine grave. A propos de 7 observations pédiatriques. *Arch.franç.Pédiatr.*, **48** : 589-592.
- RUNGSIWONGSE, J. et RATANABANANGKON, K. (1991) - Development of an ELISA to assess the potency of horse therapeutic antivenom against Thai cobra venom. *J.immunol.Meth.*, **136** : 37-43.
- RUSSELL, F.E. (1980) - Snake venom poisoning. 1 vol., J.B. Lippincott Comp., Philadelphie, 562 p.
- RUSSELL, F.E. (1988) - Snake venom immunology: historical and practical considerations. *J.Toxicol.Toxin Rev.*, **7** : 1-82.
- RUSSELL, F.E., SULLIVAN, J.B., EGAN, N.B., MARKLAND, F.S., WINGERT, W.A. et BAR-OR, D. (1985) - Preparation of a new antivenom by affinity chromatography. *Am.J.trop.Med.Hyg.*, **34** : 141-150.
- SAWAI, Y. (1979) - Vaccination against snake bite poisoning. In : Snake venoms (C.Y. Lee), Springer Verlag, Berlin, 881-897.
- SAWAI, Y. (1980) - Serum sickness. *Snake*, **12** : 187-188.
- SELLS, P.G., HOMMEL, M. et THEAKSTON, R.D.G. (1989) - Venom production in snake venom gland cells cultured *in vitro*. *Toxicon*, **27** : 1245-1249.
- SELLS, P.G., JONES, R.G.A., LAING, G.D., SMITH, D.C. et THEAKSTON, R.D.G. (1994) - Experimental evaluation of ovine antisera to Thai cobra (*Naja kaouthia*) venom and its alpha-neurotoxin. *Toxicon*, **32** : 1657-1665.
- SJOSTROM, L., KARLSON-STIBER, C., PERSSON, H., AL-ABDULLA, I.H. et SMITH, D.C. (1996) - Development and clinical application of immunoassays for European adder (*Vipera berus berus*) venom and antivenom. *Toxicon*, **34** : 91-98.
- SMITH, D.C., REDDI, K.R., LAING, G., THEAKSTON, R.D.G. et LANDON (1992) - An affinity purified ovine antivenom for the treatment of *Vipera berus* envenoming. *Toxicon*, **30** : 865-871.
- SMITH, T.W., LLOYD, B.L., SPICER, N. et HABER, E. (1979) - Immunogenicity and kinetics of distribution and elimination of sheep digoxin-specific IgG and Fab fragments in the rabbit and the baboon. *Clin.exp.Immunol.*, **36** : 384-396.

- SOKOLOVSKY, M. (1992) - Endothelins and sarafotoxins: physiological regulation, receptor subtype and transmembrane signaling. *Pharmac. Ther.*, **54** : 129-149.
- SORKINE, M., AUDEBERT, F. et BON C. (1996) - Clinical and biological evaluation of viper bites in France. *In: Envenomings and their treatments* (C. Bon et M. Goyffon), op. cité, 77-82.
- SORKINE, M. et BON, C. (1995) - Envenimations par vipères françaises. *In: Réanimation des intoxications aiguës* (F. Baud), Masson, Paris, 244-250.
- SREEHARAN, N. et GANESHAMOORTHY, J. (1985) - Management of envenomised snake bites with low dose antivenom. *Toxicon*, **23** : 625-626.
- STAHEL, E.R., WELLAUER, R. et FREYVOGEL, T.A. (1985) - Vergiftungen durch einheimische Vipern (*Vipera berus* und *Vipera aspis*). *Schweiz. med. Wschr.*, **115** : 890-896.
- SUTHERLAND, S.K. et LOVERING, K.E. (1979) - Antivenoms: use and adverse reactions over a 12 month period in Australia and Papua New Guinea. *Med. J. Austr.*, **2** : p. 671.
- TAKAHASHI, H., IGARASHI, T., SHIMADA, I. et ARATA, Y. (1991) - Preparation of the Fv fragment from a short-chain mouse IgG2a anti-dansyl monoclonal antibody and use of selectively deuterated Fv analogues for two-dimensional <sup>1</sup>H NMR analyses of the antigen-antibody interactions. *Biochemistry*, **30** : 2840-2847.
- THALLEY, B.S. et CARROLL, S.B. (1990) - Rattlesnake and scorpion antivenoms from the egg yolks of immunized hens. *Bio/Technol.*, **8** : 934-938.
- THAN, T., THWIN, M.M., U, H.P. et SAN, M.K. (1985) - Distribution of <sup>125</sup>I-labelled Russell's viper (*Vipera russelli*) in mice. *The Snake*, **17** : 124-130.
- THEAKSTON, R.D.G. (1983) - The application of immunoassay techniques, including enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), to snake venom research. *Toxicon*, **21** : 341-352.
- THEAKSTON, R.D.G. (1986) - Characterization of venoms and standardization of antivenoms. *In: Natural toxins, animal, plant and microbial* (J.B. Harris), Clarendon Press, Oxford, 287-303.
- THEAKSTON, R.D.G. (1990) - Comments on letter of Gutierrez *et al.* on standardization of assays for testing the neutralizing activity of antivenoms. *Toxicon*, **28** : 1131-1132.
- THEAKSTON, R.D.G. (1991) - Immunological aspects of snake venom research. *In: Reptile venoms and toxins* (A.T. Tu), op. cité, 495-527.
- THEAKSTON, R.D.G., LLOYD-JONES, M.J. et REID, H.A. (1977) - Micro-ELISA for detecting and assaying snake venom and venom antibody. *Lancet*, **2** : 639-641.
- THEAKSTON, R.D.G. et REID, H.A. (1979) - Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in assessing antivenom potency. *Toxicon*, **17** : 511-515.
- THEAKSTON, R.D.G. et WARRELL, D.A. (1991) - Antivenoms: a list of hyperimmune sera currently available for the treatment of envenoming by bites and stings. *Toxicon*, **29** : 1419-1470.
- THEAKSTON, R.D.G., ZUMBUEHL, O. and NEW, R.R.C. (1985) - Use of liposomes for protective immunization in sheep against *Echis carinatus* snake venom. *Toxicon*, **23** : 921-925.
- THOMAS, L. (1996) - Communication personnelle.
- THOMAS, L., KETTERLE, J., LANG, J., TYBURN, B., RIEUX, D., BIAO, T. et le groupe de recherche sur la morsure de serpent en Martinique (1996a) - La morsure de serpent (*Bothrops lanceolatus*) en Martinique: effets de la perfusion précoce d'un sérum antivenimeux F(ab')<sub>2</sub> spécifique sur l'évolution de l'envenimation. *In: Perspectives en réanimation: les envenimations* (F. Abroug), Arnette - Blackwell, Paris, 103-114.
- THOMAS, L., TYBURN, B. and the Research group on snake bites in Martinique. (1996) - *Bothrops lanceolatus* bites in Martinique: clinical aspects and treatment. *In: Envenomings and their treatments* (C. Bon et M. Goyffon), op. cité, 255-265.

- THOMAS, L., TYBURN, B. and the Research group on snake bites in Martinique. (1996) - *Bothrops lanceolatus* bites in Martinique: clinical aspects and treatment. In: Envenomings and their treatments (C. Bon et M. Goyffon), op. cité, 255-265.
- THOMAS, L., TYBURN, B., BUCHER, B., PECOUT, F., KETTERLE, J., RIEUX, D., SMADJA, D., GARNIER, D., PLUMELLE, Y. and the Research group on snake bites in Martinique. (1995) - Prevention of thromboses in human patients with *Bothrops lanceolatus* envenoming in Martinique: failure of anticoagulants and efficacy of a monospecific antivenom. *Am.J.trop.Med.Hyg.*, **52** : 419-426.
- THOMAS, L., TYBURN, B., LANG, J., et KETTERLE, J. (1996b) - Early infusion of a purified monospecific F(ab')<sub>2</sub> antivenom serum for *Bothrops lanceolatus* bites in Martinique. *The Lancet*, **347** : p. 406.
- THWIN, M.M., MEE, K.M., KYIN, M.M. et THAN, T. (1988) - Kinetics of envenomation with Russell's viper (*Vipera russelli*) venom and of antivenom use in mice. *Toxicon*, **26** : 373-378.
- TIMSINA, M.P. et HEWICK, D.S. (1992a) - The plasma disposition and renal elimination of digoxin-specific Fab fragments and digoxin in the rabbit. *J.Pharm.Pharmacol.*, **44** : 796-800.
- TIMSINA, M.P. et HEWICK, D.S. (1992b) - Digoxin-specific Fab fragments impair renal function in the rabbit. *J.Pharm.Pharmacol.*, **44** : 867-869.
- TU, A.T. (1991) - Reptile venoms and toxins. Handbook of natural toxins, 5. Marcel Dekker Inc., New York, 827 p.
- TU, A.T. et SALAFRANCA, E.S. (1974) - Immunological properties and neutralization of sea snake venoms (II). *Am.J.trop.Med.Hyg.*, **23** : 135-138.
- WARD, E.S. (1992) - Antibody engineering: the use of *Escherichia coli* as an expression host. *FASEB J.*, **6** : 2422-2426.
- WARREL, D. A., (1996) - Clinical features of envenoming from snake bites. In: Envenomings and their treatments (C. Bon et M. Goyffon), op. cité, 63-76.
- WARRELL, D.A., LOOAREESUWAN, S., THEAKSTON, R.D.G., PHILLIPS, R.E., CHANTHAVANICH, P., VIRIVAN, C., SUPANARANOND, W., KARBWANG, J., HO, M., HUTTON, R.A. et VEJCHO, S. (1986) - Randomised comparative trial of three monospecific antivenoms for bites by the Malayan pit viper (*Calloselasma rhodostoma*) in Southern Thailand: clinical and laboratory correlations. *Am.J.trop.Med.Hyg.*, **35** : 1235-1247.
- WIDDERS, P.R., STOKES, C.R. et BOURNE, F.J. (1986) - Investigation of the antigenic relationship between equine IgG and IgG<sub>T</sub>. *Vet.Immunol.Immunopathol.*, **13** : 255-259.
- WINSON, C. (1976) - Control of antivenom treatment in *Echis carinatus* (Carpet viper) poisoning. *Trans.Roy.Soc.trop.Med.Hyg.*, **70** : 85-87.
- YOU, B., MONERET-VAUTRIN, D.A. et GRILLIAT, J.P. (1983) - Données actuelles sur la maladie sérique. La vascularite iatrogène bénigne. *Conc. méd.*, **105** : 4851-4861.
- ZECCHINI, B. (1992) - Les serpents de France: systématique, biologie des venins, clinique et thérapeutique des morsures. *Thèse doct.méd.*, Marseille, 132 p.

M. GOYFFON  
 LERAI  
 Muséum national d'Histoire naturelle  
 57, rue Cuvier  
 75005 PARIS - FRANCE  
 J.P. CHIPPAUX  
 CERMES  
 B.P. 10887  
 NIAMEY - NIGER  
 V. CHOUMET  
 Unité des Venins  
 INSTITUT PASTEUR  
 25-28, rue du Docteur- Roux  
 75015 PARIS - FRANCE

# ENVENIMATIONS PAR SERPENTS EXOTIQUES : BILAN DU CENTRE ANTI-POISONS DE MARSEILLE

par

Luc de HARO, Maryvonne HAYEK-LANTHOIS,  
Jean-Pierre JOUGLARD, Jean-Marc DAVID et Jacqueline JOUGLARD

**Résumé** - Les serpents exotiques sont chaque année en France plus nombreux. Cela est dû à la fois au développement des élevages professionnels, et au nombre accru des collectionneurs amateurs. Mais la présence de tels reptiles sur notre territoire peut poser des problèmes médicaux graves. En effet, le corps médical français n'est pas formé pour prendre en charge des envenimements après morsure par ces ophidiens.

Afin de mieux évaluer la situation actuelle, nous avons effectué le bilan des morsures par serpents exotiques ayant motivé une consultation ou une hospitalisation au centre anti-poisons de Marseille. Nous avons ainsi collecté 21 observations concernant quatre familles: Colubridae, Elapidae, Crotalidae et Viperidae. Plusieurs cas recueillis se sont avérés très graves: deux décès, quatre séquelles définitives, quatre cas ayant nécessité une ventilation assistée. L'augmentation du nombre de morsures au cours de ces dernières années, et leur extrême gravité, nous ont donc décidés à mettre en place dans notre centre une sérothèque susceptible de traiter les envenimements entraînés par les principaux serpents importés.

**Mots clés** : Envenimation. Serpents exotiques. Centre anti-poisons. Sérothérapie antivenimeuse.

**Summary** - The importation of exotic snakes into France is currently on the increase. This is both due to the development of professional breeding and to the increasing number of amateur collectors. However the presence of these reptiles is not without causing potentially serious medical problems. Moreover, physicians in France are not trained in treating poisoning caused by these ophidians. With a view to assessing the current position, we looked at all consultations and admissions at the poison centre of Marseille caused by exotic snake bites. These totalled 21 cases from four families: Colubridae, Elapidae, Crotalidae and Viperidae. Several of these proved to be very serious: two patients died, four suffered long-term complications and four required mechanical ventilation. The increase in the number of snake bites seen in the last few years has led us to provide a range of sera to allow poisoning by the main imported snake to be treated.

**Key words** : Envenomation. Exotic snakes. Poison centre. Antivenoms

## I - INTRODUCTION

Les serpents fascinent les hommes depuis toujours. Posséder un tel animal attire de nombreux collectionneurs amateurs. Pour satisfaire ces éventuels acheteurs, les importations d'ophidiens exotiques, bien plus colorés que nos espèces autochtones, ne cessent d'augmenter. Parmi ces reptiles tropicaux, nombreux sont les spécimens venimeux dont la toxicité peut faire frémir plus d'un médecin. A ces "animaux de compagnie" s'ajoutent les serpents maintenus dans les élevages professionnels, et destinés à la production de venin servant à l'élaboration de sérums anti-venimeux, ainsi que ceux présentés dans les zoos. Que ce soit chez les amateurs ou chez les professionnels, il existe donc dans notre pays toute une population qui est en contact quotidien avec des serpents venimeux exotiques les plus divers (Chippaux, 1981). De cette diversité d'espèces découle une grande variabilité dans les toxicités potentielles (Goyffon et

Chippaux, 1984 - 1990). Il en résulte une situation qui, du point de vue médical, est loin d'être satisfaisante. En effet, les médecins français n'ont, au cours de leur cursus, aucune formation particulière pour pouvoir prendre en charge des envenimements entraînés par des ophidiens exotiques. Pour cette raison, en cas d'accident, les médecins toxicologues des centres anti-poisons sont consultés par les autres praticiens.

Afin de mieux évaluer la situation, nous avons effectué le bilan des envenimements par serpents exotiques pour lesquelles le centre anti-poisons de Marseille a été consulté.

## II - MÉTHODE

Le centre anti-poisons de Marseille traite quotidiennement 90 à 110 cas d'intoxication, et ceci soit par conseil thérapeutique téléphonique, soit par consultation, soit encore par hospitalisation dans notre centre. Toutes ces observations sont informatisées, créant ainsi une banque de cas comportant tous les dossiers depuis 1973, date du début de l'informatisation. Cette banque est interrogeable à partir d'une sélection des agents intoxicants. Ceci nous permet de retrouver toutes les observations d'envenimements par serpents exotiques auxquels nous avons été confrontés. Le secteur géographique du centre anti-poisons de Marseille recouvre les régions Provence-Alpes-Côte d'Azur, Corse et Languedoc-Roussillon. Notre bilan comprend donc les cas de morsure par serpents non autochtones ayant entraîné une consultation ou une hospitalisation dans notre centre entre 1973 et 1992 inclus.

## III - RÉSULTATS

Nos recherches nous ont permis de retrouver 21 observations de morsure par serpents exotiques collectées dans notre service entre 1973 et 1992 inclus. Ces observations sont résumées dans le tableau I. Nous pouvons ainsi constater que **quatre familles d'ophidiens**

**Tableau I :** les 21 observations de morsures par serpents exotiques collectées au centre anti-poisons de Marseille.

Coag. = Coagulation ; Neuro. = Neurologique ; Sympto. = Traitements symptomatiques

SAV = Sérothérapie antivenimeuse ; VA = Ventilation assistée ; Chir. = Reprise chirurgicale des lésions

Espèces	Circonstances	Signes locaux	Troubles coag.	Troubles neuro.	Traitements	Evolution
<i>Elaphe obsoleta</i>	Professionnel	Importants	0	0	Sympto.	Guérison
<i>Naja kaouthia</i>	Amateur	Modérés	0	Modérés	SAV	Guérison
<i>Naja kaouthia</i>	Professionnel	Modérés	0	Importants	VA	Guérison
<i>Naja kaouthia</i>	Professionnel	Modérés	Modérés	Importants	VA- chir.	Guérison
<i>Naja haje</i>	Professionnel	Modérés	0	0	Sympto.	Guérison
<i>Naja melanoleuca</i>	Amateur	Modérés	Modérés	Importants	VA	Guérison
<i>Calloselasma rhodostoma</i>	Professionnel	Importants	0	0	SAV- chir.	Guérison
<i>Bothrops atrox</i>	Professionnel	Importants	Importants	0	Chir.	Guérison
<i>Sistrurus miliaris</i>	Amateur	Modérés	0	0	Sympto.	Guérison
<i>Sistrurus miliaris</i>	Amateur	Modérés	0	Modérés	Sympto.	Guérison
<i>Crotalus atrox</i>	Amateur	Importants	Importants	Modérés	Chir.	Séquelles
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	Professionnel	Importants	0	Importants	VA	Guérison
<i>Cerastes cerastes</i>	Professionnel	Importants	Modérés	0	Chir.	Séquelles
<i>Cerastes cerastes</i>	Professionnel	Importants	0	0	Chir.	Séquelles
<i>Cerastes cerastes</i>	Professionnel	Importants	0	0	Chir.	Séquelles
<i>Bitis arietans</i>	Professionnel	Modérés	0	0	Sympto.	Guérison
<i>Echis leucogaster</i>	Professionnel	Importants	Importants	0	SAV- chir.	Guérison
<i>Echis pyramidum</i>	Voyageur rapatrié	Importants	Importants	0	Sympto.	Décès
<i>Echis pyramidum</i>	Voyageur rapatrié	Importants	Modérés	0	Sympto.	Décès
<i>Vipera lebetina</i>	Professionnel	Importants	Importants	0	Sympto.	Guérison
<i>Vipera latastei</i>	Voyageur rapatrié	Modérés	0	0	Sympto.	Guérison

sont concernées : 1 cas entraîné par un Colubridae (genre *Elaphe*), 5 par des Elapidae (genre *Naja*), 6 par des Crotalidae (genres *Calloselasma*, *Bothrops*, *Sistrurus*, *Crotalus*) et 9 par des Viperidae (genres *Cerastes*, *Bitis*, *Echis*, *Vipera*).

Les **circonstances** ont été de 3 types: 13 accidents de travail (62% des cas) chez des éleveurs professionnels ou des revendeurs dans des animaleries, 5 morsures chez des éleveurs amateurs qui possédaient les serpents chez eux (24% des cas), et enfin 3 morsures par serpents sauvages (14% des cas) avec rapatriement des victimes en France.

La **localisation des morsures** (fig. 1) montre une nette différence par rapport à ce qui est observé dans la nature. En effet, nous avons eu à traiter 17 cas d'inoculation de venin au niveau des mains (81%), et seulement 3 au niveau des pieds (14%) et 1 au niveau du cou (5%). Par comparaison, les chiffres recueillis en France lors de morsures par vipères autochtones (Fretey, 1989) montrent une proportion plus importante d'agression au niveau des membres inférieurs. Ceci est facilement compréhensible par le fait que ce sont les

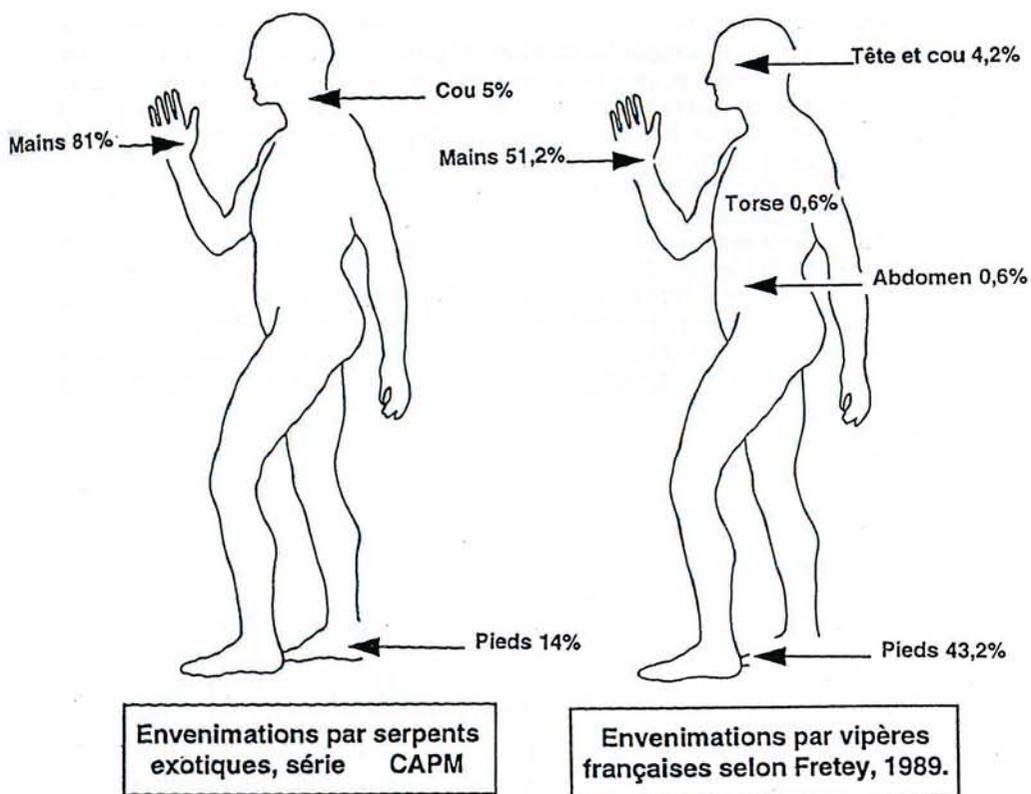


Figure 1 : régions corporelles mordues.

promeneurs qui se font mordre lorsqu'il dérangent les vipères françaises, alors que c'est surtout en manipulant les serpents exotiques que les éleveurs amateurs ou professionnels sont victimes de leurs reptiles.

**Du point de vue clinique**, les symptômes observés ont été très différents selon les familles en cause. Ainsi, les **Elapidae** ont été tout à fait remarquables par l'importance des troubles neurologiques entraînés, pouvant aller jusqu'à la paralysie des muscles respiratoires qui est le stade final du syndrome dit "cobraïque". Les signes locaux et les troubles de la coagulation sont par contre restés très bénins avec de tels serpents dont le venin est surtout riche en neurotoxines.

A l'inverse, **Crotalidae** et **Viperidae** ont été à l'origine de véritables exodigestions des tissus au niveau loco-régional, et de troubles de la coagulation majeurs ayant entraîné le décès du patient dans 2 cas. Pour ces deux familles, la neurotoxicité n'a été importante que dans l'envenimation par *Crotalus durissus terrificus* qui est un des rares crotalidae à être véritablement neurotoxique.

Pour ce qui est des **Colubridae**, la toxicité reste inattendue, puisque les venins de certaines espèces sont neurotoxiques, et d'autres n'entraînent que des signes locaux (ce qui a été le cas pour la morsure par *Elaphe obsoleta*).

La **thérapeutique** est symptomatique et/ou spécifique. Ainsi, intubation et ventilation assistée ont été nécessaires lorsque les patients ont présenté une paralysie des muscles respiratoires, ce qui a été le cas pour trois des cinq morsures par cobras du genre *Naja*, et pour l'envenimation par *Crotalus durissus terrificus*. Lorsque les lésions locales ont évolué de façon non satisfaisante, une reprise chirurgicale a été nécessaire. Cela a été pratiqué pour une seule morsure par Elapidae, mais surtout pour trois envenimations par Crotalidae et pour quatre par Viperidae. Nous retrouvons ici la notion de toxicité loco-régionale bien plus importante chez ces deux dernières familles.

La **sérothérapie anti-venimeuse** n'a été employée que lorsqu'elle était disponible, ce qui n'a pas toujours été le cas. Ainsi, dans les symptomatologies graves qui n'ont pu bénéficier d'un tel traitement, l'absence d'utilisation de sérum adapté au venin du serpent en cause n'est pas un choix du médecin, mais plutôt une indisponibilité du produit au moment souhaitable. La sérothérapie n'a donc été employée que dans trois cas, mais pour au moins une dizaine d'autres envenimations, son indisponibilité a été regrettée par les thérapeutes.

NOMBRE DE CAS

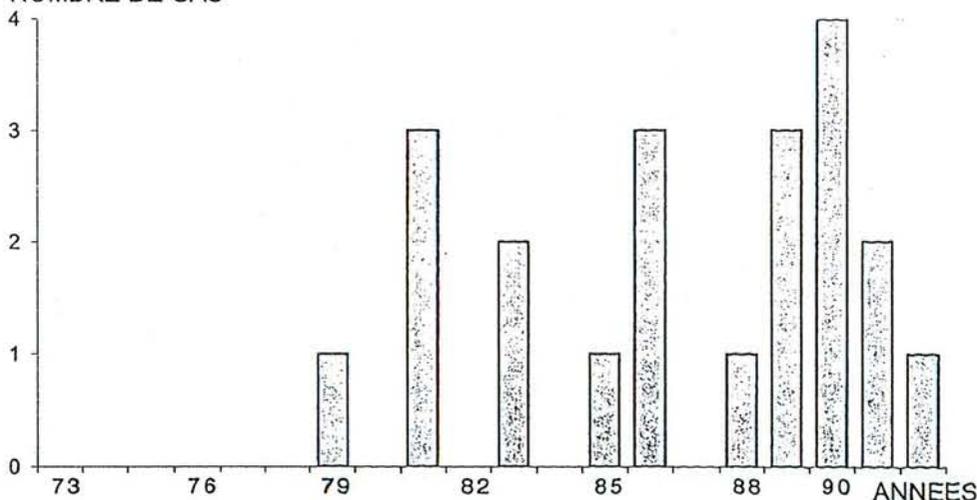


Figure 2 : répartition annuelle des envenimations par serpents exotiques de notre série.

L'évolution de ces envenimations a été bonne pour tous les patients mordus par les Colubridae et les Elapidae (pour cette dernière famille, une fois le cap de la neurotoxicité passé, la récupération est généralement sans séquelle). Par contre, pour les Crotalidae et les Viperidae, deux morsures ont abouti au décès du patient, et quatre à des séquelles définitives à type de perte de motricité ou de substance au niveau d'une main. On peut ainsi mesurer la gravité de tels accidents.

Enfin, nous avons précisé dans la figure 2 les années au cours desquelles ces accidents sont survenus. Nous pouvons constater que la plupart des cas ont été collectés au cours des dernières années. Nous ne pouvons expliquer une telle tendance de façon catégorique. Cependant, nous pouvons supposer qu'une relative augmentation du nombre de morsure par serpents exotiques que nous avons traitées est peut être la conséquence de l'importation de plus en plus importante de tels reptiles dans notre pays.

#### IV - DISCUSSION

Ce bilan nous permet de mieux évaluer la situation actuelle. Plusieurs problèmes sont ainsi posés aux cliniciens et aux toxicologues. Tout d'abord, les cas semblent être de plus en plus nombreux. Si la croissance continue au même rythme, les médecins doivent se préparer à prendre en charge des envenimations de plus en plus fréquentes et diverses. Cela implique une mise à jour de nos connaissances sur la toxicité des serpents du monde entier.

Chaque famille d'ophidiens impose une prise en charge particulière. Ainsi, les Elapidae sont à l'origine d'envenimations qui sont de grandes urgences médicales. En effet, nous avons vu que ces accidents évoluent relativement bien si un traitement adéquat (intubation, ventilation assistée) permet de suppléer au déficit musculaire respiratoire entraîné par les neurotoxines présentes dans le venin (Menez, 1987). Cependant, cela implique la présence d'équipes de secours auprès de la victime dans l'heure au plus qui suit la morsure. Au moindre retard, le patient peut mourir d'arrêt respiratoire. Nous ne sommes pas à l'abri d'une telle mésaventure dans notre région où SAMU et pompiers sont bien souvent débordés en période estivale.

Pour les Crotalidae et les Viperidae, le problème est bien différent (sauf pour les quelques espèces neurotoxiques). Nous avons constaté que ce sont les signes loco-régionaux et les troubles de la coagulation qui dominent les symptomatologies observées. Lorsque de telles atteintes se sont développées, il est bien illusoire d'espérer une guérison complète avec uniquement des traitements symptomatiques. Ceci explique les deux décès constatés après morsure d'*Echis* alors que les patients ont été traités en réanimation. En effet, lorsque le médecin assiste à une grande défaillance multi-viscérale, le seul traitement efficace est la sérothérapie spécifique effectuée sous contrôle médical. Malheureusement, de tels sérums pouvant neutraliser le venin de serpents exotiques ne sont pas facilement disponibles en France, d'où l'évolution vers les complications, les séquelles ou les décès après morsure d'ophidiens de ces deux familles.

Enfin, pour les Colubridae, la situation est encore plus délicate, car extrêmement confuse. De nombreuses espèces sont importées et vendues sous l'appellation de couleuvres, ce qui implique une fausse image d'innocuité. Bien loin d'être tous inoffensifs, ces serpents sont en fait fort méconnus, et l'on ne sait que très peu de chose sur leur toxicité. Ainsi, nous avons été très surpris de constater des troubles locaux non négligeables (oedème important, douleur irradiant dans tout le membre) associés à des signes généraux (nausées, vomissements, malaise) après morsure par *Elaphe obsoleta*, alors que ce serpent ratier nord-américain n'est pas connu comme étant véritablement venimeux. En fait, il semble que même lorsqu'ils sont dépourvus d'appareil inoculateur aussi perfectionné que chez les deux familles précédentes, la salive des colubridae peut être à

l'origine de symptômes quelques fois importants. La sécurité maximale impose donc que toute morsure par couleuvre tropicale que l'on ne connaît pas parfaitement soit médicalement surveillée pour éviter l'apparition d'une complication grave.

Afin de nous préparer le mieux possible à recevoir des patients envenimés par des reptiles tropicaux, nous avons d'une part tenté d'améliorer nos connaissances sur ces animaux en bénéficiant à la fois d'une formation spéciale et en complétant nos données bibliographiques. D'autre part, nous avons mis en place avec l'accord de notre ministère de tutelle une sérothèque au centre anti-poisons de Marseille comprenant une gamme de produits susceptibles de traiter les envenimations entraînées par les principaux serpents importés (Warrell et Theakston, 1991). Il est impossible à l'heure actuelle d'avoir des sérums pour toutes les espèces élevées en France. Nous avons cependant acquis les spécialités pouvant être utilisées pour traiter les morsures par la majorité des Crotalidae nord-américains, les elapidae des genres *Naja* et *Dendroaspis*, les Viperidae des genres *Vipera*, *Echis*, *Bitis* et *Cerastes*. Ces sérums sont ainsi maintenus à la disposition de tout médecin souhaitant les utiliser.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHIPPAUX, JP. (1981) - Conduite à tenir en présence d'une envenimation par serpent exotique. *Confrontations*, 55 : 13-23.

CHIPPAUX, JP. et GOYFFON, M. (1989) - Les morsures par serpents non autochtones en France. *Press. Méd.*, 18 (17) : 859-63.

de HARO, L. (1992) - Envenimations par serpents exotiques: bilan du centre anti-poisons de Marseille. Thèse. Université Aix-Marseille II. Faculté de médecine la Timone.

FRETEY, J. (1989) - Guide des reptiles de France. Hatier, éd., Paris, 255p.

GOYFFON, M. et CHIPPAUX, JP. (1984) - Animaux venimeux exotiques et sérums antivenimeux en France. *J. Toxicol. Méd.*, 4 (2) : 123-9.

GOYFFON, M. et CHIPPAUX, JP. (1990) - Animaux venimeux terrestres. Éditions techniques. Intoxications, pathologies du travail. 16 078 A10 *Encycl. Méd. Chir.*, Paris, 4 : 14p.

MENEZ, A. (1987) - Les venins de serpents. *La recherche*, 18 (190) : 886-93.

WARRELL, DA. et THEAKSTON, R. (1991) - Antivenoms: a list of hyperimmune sera currently available for the treatment of envenoming by bites and stings. *Toxicon*, 29 (12) : 1419-70.

L. de HARO, M. HAYEK-LANTHOIS, J.M. DAVID, J. JOUGLARD  
Centre anti-poisons de Marseille,  
Hôpital Salvator, 249 boul. Sainte Marguerite,  
13 009 MARSEILLE (France)

J.P. JOUGLARD  
Chirurgie plastique et reconstructive,  
Hôpital Ambroise Paré, 1 rue d'Eylau,  
13 006 MARSEILLE (France)

# UN TYPE D'ENQUETE SUR LES ENVENIMENTS VIPÉRINES DANS UN DÉPARTEMENT FRANÇAIS : L'YONNE

par

Jean-Philippe CHIPPAUX, Dominique BRY et Max GOYFFON

**Résumé** - Les auteurs ont effectué une enquête épidémiologique sur les morsures de serpent dans le département de l'Yonne. L'incidence annuelle moyenne est d'environ 6 morsures pour 100.000 habitants. La disparité géographique est relativement importante. Dans le nord du département, l'incidence est voisine de 2, dans le sud elle atteint 15 morsures pour 100.000 habitants. Cette enquête permet aux auteurs de faire quelques remarques méthodologiques. Il conviendrait d'associer aux classiques enquêtes hospitalières un sondage effectué auprès des médecins installés en zone rurale. Enfin, les auteurs comparent les rendements obtenus lors de sondages par téléphone (92% de réponses) et par courrier (67% de réponses). Le coût du sondage par téléphone est environ le double de celui du sondage par courrier.

**Mots clés** : Enquête épidémiologique. Morsures de serpents. France.

**Summary** - Authors made an epidemiological survey of snake bites in the French District of Yonne. Annual incidence is about 6 bites per 100,000 people. Authors note important variations : 2 bites per 100,000 people in the North of the District, near 15 bites a year per 100,000 people in the South. Authors emphasize methodological aspects of epidemiological survey devoted to snake bites in developed countries. It appears necessary to associate an hospital survey with a Gallup in the rural physician population. This could be done by phone (92% of responses) or by mail (twice cheap but 67% of responses).

**Key words** : Epidemiological survey. Snake bites. France.

## I - INTRODUCTION

Dans le but d'effectuer une enquête nationale sur les envenimations vipérines, nous avons choisi le département de l'Yonne pour éprouver notre méthodologie et définir divers paramètres de correction qui serviront de base à nos futures estimations d'incidence et de morbidité. Les résultats de cette enquête nous ont paru susceptibles d'être utilisés comme références lors d'enquêtes régionales ultérieures.

Le département de l'Yonne présente l'avantage d'associer divers faciès écologiques (plaines cultivées, forêts, massifs vallonnés), démographiques (population urbaine, rurale concentrée et rurale dispersée) ainsi qu'un climat intermédiaire entre les dominances atlantique à l'ouest et continentale à l'est. L'agriculture y est relativement développée sous différentes formes économiques (monoculture, maraîchage, vigne, élevage). Le tourisme estival est important et le secteur tertiaire reste modéré. La population est estimée à 325.000 habitants en 1984, dont la moitié est urbaine. Le nombre d'habitants par médecin généraliste (1325 h./m.) est voisin de la moyenne nationale.

## II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'Yonne compte 245 médecins généralistes installés seuls ou en association. Parmi eux, 109 exercent en agglomération (ville = V) et 136 à la campagne (rural = R). Nous avons interrogé tous les médecins ruraux et 84 praticiens urbains (77%) selon l'une des deux méthodes suivantes :

- par courrier : 65 questionnaires ont été expédiés à 102 médecins (en tenant compte des associations). Une enveloppe timbrée et pré-adressée était jointe systématiquement.
- par téléphone : 118 médecins, correspondant à 81 cabinets, ont été sollicités.

Dans les deux cas, le questionnaire comportait sept questions ouvertes (temps d'installation, nombre de morsures observées, âge des victimes, gravité et symptomatologie de l'envenimation, traitement, attitude thérapeutique de principe).

Le deuxième volet de l'enquête a porté sur le secteur hospitalier. Un questionnaire analogue a été proposé aux responsables des services d'accueil des hôpitaux départementaux, en limitant le temps d'enquête rétrospective à 5 ans. A Sens, Joigny et Auxerre, l'enquête s'est limitée au questionnaire. A Avallon et Tonnerre où les morsures sont plus fréquentes que dans le reste du département, nous avons étudié les dossiers médicaux.

## III - RÉSULTATS

177 praticiens ont accepté de participer à notre enquête. Le tableau I précise le rendement des réponses en fonction de la méthodologie de l'enquête et de l'origine des médecins. 80,5% des généralistes sollicités ont répondu, ce qui correspond à 72,2% des médecins généralistes installés dans le département.

Tableau I : comparaison méthodologique des résultats.

	Nombre de médecins sollicités	Nombre de médecins participants	Rendement
Courrier	102	68	67%
Téléphone	118	109	92%
Ville	84	73	87%
Rural	136	104	76%

La durée moyenne d'installation des médecins interrogés est de 10,9 années/médecin, et il a été relevé un total de 137 morsures de serpent, comportant des lésions cutanées plus ou moins importantes, associées ou non à une envenimation clinique. Ceci permet d'évaluer le nombre annuel de morsures vues par ces 177 praticiens à 12,6. En pratique, la disparité géographique est importante (tableau II). 26 morsures (19%) ont été constatées par les médecins installés en ville ayant répondu, soit 67% du nombre de généralistes urbains. Le reste des accidents est signalé par les praticiens ruraux dont 76% ont bien voulu répondre.

Tableau II : résultats de l'enquête.

R = zone rurale ; V = zone urbaine ; T = total

	Cas vus par généralistes (11 ans)	Cas vus par hôpitaux (5 ans)	Victimes hospitalisées (5 ans)
Sens	R. 6 V. 4 T. 10	6	2
Joigny	R. 14 V. 5 T. 19	7	3
Auxerre	R. 27 V. 8 T. 35	12	4
Puisaye	R. 22 T. 22	-	-
Avallon Tonnerre	R. 42 V. 9 T. 51	29	20

Le nombre de morsures admises en milieu hospitalier suit la même disparité géographique que ce qui est signalé par les généralistes. Il est d'ailleurs acquis qu'une proportion définie des admissions hospitalières est adressée par les généralistes. 95% des médecins urbains envoient systématiquement les morsures de serpent à l'hôpital. A la campagne, 41% des praticiens ont une attitude plus attentiste. Ils n'évacuent sur l'hôpital du département que les envenimations patentées. Il est possible d'en déduire que peu de victimes consultent directement en secteur hospitalier (sans doute moins de 25% des effectifs signalés par les services d'urgence). Pour ce qui est du calcul de l'incidence (nombre annuel de morsures de serpent pour 100.000 habitants), nous avons considéré que 75% des victimes dénombrées en secteur hospitalier l'avaient déjà été chez les médecins généralistes. Dans le tableau III, l'incidence minimale observée correspond aux chiffres bruts obtenus par cette enquête. L'incidence maximale évaluée tient compte des déflections dans les réponses comme si elles n'étaient dues qu'au hasard. Nous avons reporté chez les médecins non participants le même pourcentage d'accidents constaté que chez les praticiens ayant répondu à l'enquête.

La gravité des morsures signalées par les généralistes est le plus souvent réduite. 24 cas (17,5%) sont strictement asymptomatiques, 92 (67,2%) sont suivis d'un oedème local mais chez 21 victimes (15,3%) l'envenimation s'est révélée sévère. L'oedème était important, extensif, parfois accompagné de troubles généraux ou systémiques: signes cliniques et biologiques d'inflammation, choc (3,6%), hémorragies (1,5%). Une victime adulte a présenté un oedème aigu du poumon, et deux autres, dont un enfant d'ailleurs décédé au cours du transfert, un coma. Chez deux malades, l'hospitalisation a été supérieure à 10 jours. Peu de séquelles sont notées: quatre cicatrices dont deux sont associées à des troubles trophiques, et deux phlébites récidivantes.

Tableau III : évaluation de l'incidence des morsures de serpent. (Abréviations : cf. tableau 2)

		Nombre de généralistes	Nombre de participants	Incidence minimale observée	Incidence maximale observée
Sens	R	24	15	1,80	2,30
	V	32	6		
	T	56	21		
Joigny	R	24	23	3,75	3,90
	V	22	20		
	T	46	43		
Auxerre	R	28	26	4,65	5,15
	V	38	30		
	T	66	56		
Puisaye	R	27	17	8,75	12,45
	T	27	17		
Avallon Tonnerre	R	33	23	13,25	16,20
	V	17	17		
	T	50	40		
YONNE		245	177	5,45	6,95

Une dizaine de victimes, adressées ou non par un généraliste, sont enregistrées chaque année par les services d'accueil des six hôpitaux du département. En moyenne, on compte 6 hospitalisations par an, pour l'essentiel rencontrées à Avallon et Tonnerre. Nous avons étudié les dossiers de 20 victimes hospitalisées pendant 5 ans. La gravité est faible dans 12 cas, relativement sévère dans 4 cas (syndrome hémorragique ou nécrose). Le tableau clinique classique reste le syndrome inflammatoire local avec œdème plus ou moins diffus, parfois une escarre localisée sans trouble biologique patent.

Les syndromes hémorragiques sont d'interprétation délicate, d'autant plus que l'effectif de ces cas est réduit. Dans l'un d'eux, l'afibrinogénémié est manifeste, dans un autre, l'effondrement du nombre des plaquettes peut laisser supposer l'existence d'une coagulation intravasculaire disséminée. Le traitement de base a été l'héparinothérapie: Calciparine\* éventuellement relayée par l'héparine. La sérothérapie n'a été utilisée que lors d'une envenimation grave, surtout chez l'enfant (trois fois) ou lorsque le malade en a fait la demande (une fois).

#### IV - DISCUSSION

Le taux de réponse à notre enquête (80% des médecins sollicités) montre l'intérêt montré aux morsures de serpent. Il est certain que l'enquête téléphonique représente le taux maximal de succès (92% de rendement) alors que le questionnaire par courrier (67% de rendement) est plus économique. Le coût unitaire de la lettre (avec l'enveloppe-réponse timbrée) est d'environ 5 francs, celui de l'appel téléphonique 10,5 francs en moyenne. Le contenu des réponses est équivalent dans les deux systèmes. L'appel téléphonique ne semble ni favoriser ni orienter les réponses. Les critères guidant le choix sont surtout logistiques.

Les résultats que nous avons obtenus concernent près de 72% des généralistes installés (67% en ville et 76% à la campagne). Il en découle une erreur d'appréciation de l'incidence des morsures "par défaut". Dans notre enquête, cette erreur est vraisemblablement réduite. Si on admet que les médecins sollicités n'ayant pas répondu n'ont rencontré aucune morsure, notre estimation est exacte. A l'inverse, si l'absence de réponse a une cause différente, nous pouvons penser qu'il existe la même proportion d'événements rencontrés chez les médecins n'ayant pas participé à l'enquête que chez les autres. Dans la première hypothèse, l'incidence est égale aux données observées. La seconde hypothèse nécessite une évaluation (tableau 3: incidence maximale évaluée). Lors d'une enquête touchant un effectif de médecins plus faible, le risque d'erreur n'est plus aussi limité.

En zone urbaine, l'incidence est faible, sinon nulle dans les grandes villes. Il paraît logique d'éliminer de la statistique les généralistes installés en ville, qui de toute façon adressent leur patient à l'hôpital. En zone rurale, l'incidence est variable selon la région: il est donc indispensable de prendre en compte le facteur géographique. Le tableau 2 montre qu'il est possible d'apprécier ainsi les disparités locales de l'incidence, mais il est impossible de préciser l'incidence réelle. Le nombre de victimes signalées par les hôpitaux n'est jamais une fraction constante du nombre de cas vus par les généralistes. Il sera donc utile de faire préciser à ceux-ci la proportion de victimes adressées à l'hôpital. Ainsi, avec un effectif raisonnable de sujets interrogés, il devient possible d'estimer l'incidence locale des envenimations.

## V - CONCLUSIONS

Cette enquête avait pour objectif de préciser certains caractères épidémiologiques propres aux morsures de serpent afin d'en tirer des conséquences méthodologiques. Il apparaît qu'une étude de l'incidence des morsures de serpent ne saurait se limiter aux seules données hospitalières. On peut, en revanche, s'abstenir d'interroger les praticiens installés en ville. Les généralistes ruraux, après tirage au sort, seront questionnés soit par téléphone, ce qui autorise un nombre réduit de sujets, soit par courrier. Confrontées aux statistiques hospitalières, ces informations pourront servir de base à l'évaluation de l'incidence des morsures et de leur gravité.

Enfin, nous proposons une estimation relativement précise de l'incidence des envenimations vipérines dans le département de l'Yonne. Nous pensons qu'il s'agit de valeurs "raisonnables" utilisables comme élément de comparaison lors d'enquêtes ultérieures.

J.P. CHIPPAUX  
CERMES  
B.P. 10887  
NIAMEY (Niger)

D. BRY  
Service des Urgences et Réanimation  
Hôpital d'Avallon  
89200 AVALLON (France)

M. GOYFFON  
LERAI  
Muséum National d'Histoire Naturelle  
57, rue Cuvier  
75005 PARIS (France)



# Envenomings and their Treatments

Edited by C. Bon and M. Goyffon

*Proceedings of the First International Congress, held at the Institut Pasteur, Paris, France, on 7–9 June 1995*

*Compte-rendu du 1er Congrès International sur les Envenimements et leurs Traitements, qui a eu lieu à l'Institut Pasteur, Paris, France, 7–9 juin 1995*

Held with the support of the Institut Pasteur, the European Commission, the Institut National de la Santé et de la Recherche, the Fondation Marcel Mérieux, the Délégation Générale pour l'Armement, Pasteur-Mérieux Sérums et Vaccins and TAb Wales Ltd



**Institut Pasteur**



**PASTEUR MÉRIEUX**  
Sérums & Vaccins

## Table of contents

Organizing and Advisory Committees .....	i		
Foreword .....	iii		
Introduction			
Serum therapy was discovered 100 years ago.....	3		
C. Bon			
Ecology of venomous animals and epidemiology of envenoming			
Venomous snake systematics: Implications for snake bite treatment and toxicology .....	13		
W. Wüster and C.J. McCarthy			
New epidemiological aspects of scorpionism .....	25		
M. Geffroy			
Venomous sea creatures: significance as human health hazards .....	31		
D. Mebs			
Experience of envenoming at the Marseilles Poison Centre .....	37		
J. Jouglard, L. de Haro, J.M. David and J. Arditi			
Effects of human activities on the environment and on the distribution of dangerous species of scorpions .....	49		
W.R. Lourenço and J.L. Cloudsley-Thompson			
Clinical and biological aspects of envenoming			
Clinical features of envenoming from snake bites .....	63		
D.A. Warrell			
Clinical and biological evaluation of viper bites in France .....	77		
M. Sorkine, F. Audebert and C. Bon			
Use of antibodies as antivenoms: A primitive solution for a complex problem? .....	83		
R.C. Dart and R.S. Horowitz			
Clinical aspects of envenoming by marine animals .....	95		
P.J. Feiner, J.A. Williamson and J.W. Burnett			
Toxicokinetics: Preparation of antivenoms			
Biodynamics of antigen-antibody neutralization <i>in vivo</i> .....	109		
J.M. Scherrmann and S. Pepin			
Snake bite: The kinetics of envenoming and therapy .....	117		
R.D.G. Theakston			
Toxicokinetics of <i>Vipera aspis</i> envenoming and antivenom therapy .....	127		
V. Choumet, F. Audebert, G. Rivière, M. Sorkine, M. Urtizberea, A. Sabouraud, J.-M. Scherrmann and C. Bon			
Serotherapy of scorpion envenoming: Pharmacokinetics of antivenoms and a critical assessment of their usefulness .....	135		
M. Ismail and M.A. Abd-El salam			
Antivenom production and organization of the public health system for the treatment of envenoming in Brazil .....	155		
I. Raw, H.G. Higashi and A.M.A. Kelen			
Preparation of improved F(ab') <sub>2</sub> antivenoms. An example: new polyvalent European viper antivenom (equine) .....	161		
M. Grandgeorge, J.L. Véron, C. Lutsch, M.F. Makula, P. Riffard, S. Pépin and J.M. Scherrmann			
Development of novel antivenoms based on specific ovine Fab .....	173		
J. Landon and D.C. Smith			
New procedures for preparing antivenoms			
Immunological and chemical properties of a non-toxic protein purified from the venom of the scorpion <i>Tityus serrulatus</i> (Lutz & Mello Campos, 1922) .....	183		
C. Chavez-Olortegui, A.M. Moreira Ferreira, M. do Nascimento Cordeiro, W.S. Maria, M. Richardson & C.R. Diniz			
Multidisciplinary approach for immunoprevention of scorpion envenoming .....	197		
M. El Ayebl, I. Zenouaki, B. Bouhaouala-Zahar, H. Karoui, R. Kharrat, F. Ducancel, J.C. Boulain, A. Ménez, J.M. Sabatier, C. Devaux, K. Mabrouk, J. van Rietschoten and H. Rochat			
Molecular properties of scorpion toxins in relation to treatment of scorpion envenoming .....	211		
H. Rochat, R. Guleu and C. Devaux			
Evaluation of the neutralizing ability of antivenoms for the treatment of snake bite envenoming in Central America .....	223		
J.M. Gutiérrez, G. Rojas, G. Bogarín and B. Lamonte			
		<b>Treatment of snake envenomings</b>	
		Snake venom poisoning in the United States of America .....	235
		F.E. Russell	
		Therapeutic approach to snake bite in tropical Africa .....	247
		J.-P. Chippaux, S. Anadi-Eddine, P. Fogol, V. Rage and J. Lang	
		<i>Bothrops lanceolatus</i> bites in Martinique: Clinical aspects and treatment .....	255
		L. Thomas, B. Tyburn and the Research Group on Snake Bite in Martinique	
		Treatment of snake bite in Australia .....	267
		J. White	
		Clinical features and principles of treatment of envenoming by European vipers .....	281
		H. Persson and C. Karlson-Silber	
		Alternative treatment modalities in the management of poisonous snake bites .....	293
		B.S. Gold	
		<b>Treatment of envenomings by arthropods</b>	
		Treatment of scorpion envenoming in Brazil .....	301
		L. Freire-Maia, J.A. Campos and C.F.S. Amaral	
		Scorpion stings and their treatment in Mexico .....	311
		E.S. Calderón-Aranda, M. Dehesa-Davila, A. Chávez-Haro and L.D. Pessani	
		An overview of spider bite and its treatment .....	321
		J. White	
		Subject index .....	337

## **SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE**

Association fondée en 1971  
agrée par le Ministère de l'Environnement le 23 février 1978

### **Siège social**

Université de Paris VII, Laboratoire d'Anatomie Comparée  
2, Place Jussieu - 75251 PARIS Cedex 05

---

### **Secrétariat**

Jean-Marie EXBRAYAT, Laboratoire d'Histologie / E.P.H.E. - Université catholique de  
Lyon. 25, rue du Plat, 69288 LYON Cedex 02  
Tel : 72 32 50 36  
Fax : 72 33 50 19

### **Trésorier**

Jean-Jacques BOISARD  
Réserve Africaine, 11130 SIGEAN

---

### **ADRESSES UTILES**

**Responsable de la rédaction du bulletin :** R. VERNET, École Normale Supérieure, Laboratoire d'Écologie, 46,  
rue d'Ulm - 75230 PARIS Cedex 05.

**Responsable de la commission de répartition :** J. CASTANET, Laboratoire d'Anatomie Comparée, Université de  
Paris VII. 2, place Jussieu, 75251 PARIS Cedex 05.

**Responsable de la commission de protection :** J. LESCURE, Laboratoire Amphibiens-Reptiles, Muséum  
National d'Histoire Naturelle, 25 rue Cuvier - 75005 PARIS.

**Responsable de la commission d'ethnoherpétologie et histoire de l'herpétologie :** R. PUJOL, Laboratoire  
d'Ethnobiologie-Biogéographie. Muséum National d'Histoire Naturelle. 57 rue Cuvier, 75005 PARIS.

**Responsable de la commission de terrariophilie :** R. SIMON, 12 rue Q. M. Bondon - 29470 PLOUGASTEL DAULAS.

**Responsable de la circulaire d'annonces :** J. ANDRÉ, 8 rue Paul Gauguin, 77550 MOISSY CRAMAYEL.

**Responsable des archives et de la bibliothèque :** G. MATZ, Université d'Angers, Laboratoire de Biologie  
animale, 2 Bld Lavoisier - 49045 ANGERS Cedex.

**Responsable section parisienne :** J. L. ROCHELET, 21 Avenue de la Pommeraie, 78520 LIMAY.

**Responsable de la photothèque SHF :** D. HEUCLIN, La Morcière - Vaux en Couhé - 86700 COUHE-VERAC.

**Responsable du groupe Cistude :** A. VEYSSET, 3 rue Archimède - 91420 MORANGIS

**Responsable du groupe venins :** M. LIANO, 1101 rue de Nointel. Autreville, BREUIL-LE-SEC, 60600 CLERMONT.

**Responsable groupe vétérinaire :** F. PERRIN, Ménagerie du Jardin des Plantes, 57 rue Cuvier, 75005 PARIS.

**Responsable du Club junior :** F. SERRE - COLLET, 35 rue E. Vaillant, 94140 ALFORTVILLE.

# SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

Association fondée en 1971  
agrée par le Ministère de l'environnement le 23 février 1978

## CONSEIL D'ADMINISTRATION

**Président :** Bernard LE GARFF, Laboratoire d'Évolution des Systèmes Naturels et Modifiés. Université de Rennes I. Avenue de Général Leclerc, 35042 RENNES, Cédex.

**Vice-Présidents :** Jean-Pierre BARON, École maternelle annexe, rue de Jericho prolongée, 17000 LA ROCHELLE.  
Jacques CASTANET, laboratoire d'Anatomie Comparée, Université de Paris VII.  
2 place Jussieu, 75251 PARIS Cedex 05.

**Secrétaire général :** Jean-Marie EXBRAYAT, Laboratoire d'Histologie / E.P.H.E. - Université Catholique de Lyon, 25 rue du Plat, 69288 LYON Cedex 02.

**Secrétaire adjoint :** Sabine RENOUS, Laboratoire d'Anatomie Comparée, Muséum National d'Histoire Naturelle, 55 rue Buffon, 75005 PARIS.

**Trésorier :** Jean-Jacques BOISARD, Réserve Africaine, 11130 SIGEAN.

**Trésorier adjoint :** Alain DUPRÉ, 10 place de la gare, 92330 NEUILLY sur MARNE.

**Autres membres du conseil :** Raymond CHABAUD, Vincent BELS, Robert GUYÉTANT, Daniel HEUCLIN, Alexandre TEYNIÉ.

**Membres d'Honneur :** Guy NAULLEAU (Cebas/CNRS, 79360 CHIZÉ), Gilbert MATZ (Fac. Sciences, ANGERS).

## ADMISSIONS

Les admissions à la S.H.F. 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 1996 / MEMBERSHIP

Tarifs (France, Europe, Afrique) :	Taux annuel	Bulletin	Total
- adhérents de moins de 25 ans	40	+ 80	= 120 FRF
- adhérents de plus de 25 ans	100	+ 80	= 180 FRF
- bienfaiteurs : minimum			= 350 FRF
- membre conjoint			= 100 FRF
Tarifs (Amérique, Asie, Océanie) :	20	+ 20	= 40 US \$

## ABONNEMENTS / SUBSCRIPTION to SHF Bulletin

France, Europe, Afrique	= 200 FRF
Amérique, Asie, Océanie	= 45 US \$

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

## To our members in America, Asia or Pacific area

The SHF Bulletin is a quarterly. Our rates include the airmail postage in order to ensure a prompt delivery.

## Modalités de règlement

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).
3. Nous rappelons que les dons ou cotisations de soutien sont le bienvenus.

## Changement d'adresse

N'omettez pas de signaler sans retard au secrétaire tout changement d'adresse.

## BIBLIOTHÈQUE

Les périodiques obtenus par la S.H.F. en échange avec les autres sociétés (liste publiée dans le bulletin) ainsi qu'une bibliothèque de tirés-à-part sont regroupés au Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences, 2 Bld Lavoisier - 49045 Angers Cedex. Les articles de ces périodiques peuvent être consultés sur demande adressée à G. MATZ. En outre, nous demandons aux auteurs d'envoyer leurs travaux récents en 2 exemplaires à cette bibliothèque.

