

Valérie CHOUMET - Max GOYFFON - Jean-Philippe CHIPPAUX

Bases expérimentales pour une optimisation de la sérothérapie antivenimeuse

La sérothérapie est le seul traitement spécifique des envenimations ophidiennes. Il y a maintenant plus d'un siècle que Von Behring et Kitasato montrèrent en 1890 ⁽¹⁾ l'efficacité chez l'homme de sérums d'origine équine dirigés contre les toxines diphtérique et tétanique dans le traitement de la diphtérie et du tétanos chez l'homme.



Valérie CHOUMET

Mots clés

Sérothérapie antivenimeuse, venins, serpents, immunoglobulines, envenimation.

Serum therapy, venom, snakes, immunoglobuline, envenimization.

Résumés

La sérothérapie est le seul traitement spécifique des envenimations ophidiennes. Les données expérimentales montrent la nécessité d'une adéquation entre, d'une part le mode d'action et les paramètres pharmacocinétiques des principaux composants des venins de serpent et d'autre part, la pharmacodistribution plasmaticque des anticorps du sérum antivenimeux. Certaines modalités d'administration empiriques des sérums antivenimeux pourraient être modifiés et adaptés en fonction des données pharmacocinétiques des toxines responsables des signes cliniques ainsi que du type d'anticorps utilisé.

The only specific treatment in ophidian envenimization is serum therapy. Experimental data shows the necessity of a balance between the mode of action and pharmacokinetics of the main components of snake poison on the one hand and plasmatic pharmacodistribution of antibodies to anti-venom serum on the other hand. A certain amount of empiri-

L'approche initiée par Von Behring et Kitasato fut poursuivie par Calmette qui prépara le premier sérum antivenimeux d'usage médical contre les morsures de cobras de l'Inde. Les réactions secondaires provoquées par l'administration de sérums hétérologues furent très vite mises en évidence et le sérum fut remplacé par des préparations d'immunoglobulines. Par la suite, ces immunoglobulines furent clivées par la pepsine ou par la papaïne, pour donner respectivement des F(ab')₂ et des Fab, fragments d'anticorps pour lesquels le risque de réactions secondaires est réduit. L'évolution technologique récente des anticorps utilisés en thérapeutique a donc conduit à un changement radical du traitement des morsures de serpent. Le haut niveau de pureté des fragments d'immunoglobulines utilisés dans l'immunothérapie moderne permet en effet d'élargir ses indications et d'en simplifier les procédures d'administration. On tend à parler maintenant non plus de sérothérapie mais plutôt d'immunothérapie antivenimeuse.

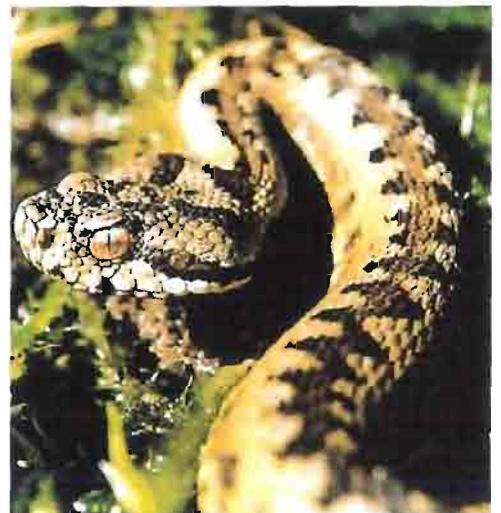
LES VENINS DE SERPENT : COMPOSITION ET TOXICITÉ

Les envenimations ophidiennes constituent un véritable problème de santé publique dans le monde, tout particulièrement dans les pays tropicaux et subtropicaux, où l'incidence de la morbidité et de la mortalité associées aux morsures demeure élevée. Les données épidémiologiques, bien que fragmentaires, permettent d'estimer à plus de 5 millions le nombre de cas d'envenimations par an avec un taux de létalité de 2,5% ⁽²⁾. Les continents les plus touchés sont par ordre décroissant l'Asie (4 millions de cas), l'Afrique (1 million) et les Amériques (350000). La gravité d'une envenimation va dépendre de plusieurs facteurs :

Le type d'appareil d'injection. Les serpents Vipéridés ont l'appareil d'injection le plus performant, permettant d'injecter le venin sous pression en profondeur.

La toxicité intrinsèque du venin, qui peut être estimée d'après la valeur de sa toxicité aiguë chez l'animal (*DL₅₀ ou dose qui tue 50% des animaux*).

La quantité de venin injecté qui dépend de la taille du serpent et de l'état de réplétion des glandes.



Vipera Aspis, zinnikeri. - Photo A.T.

Le lieu d'injection.

L'âge et l'état de santé de la victime.

Les venins de serpent sont des mélanges complexes de protéines sécrétées par des glandes venimeuses qui dérivent de glandes salivaires labiales. Leur fonction première est de participer à l'immobilisation ou à la digestion de la proie. On peut distinguer deux types de composants dans les venins de serpent, les enzymes et les toxines. On trouve également des protéines douées d'activité pharmacologique et qui ne sont ni des enzymes, ni des toxines.

« les envenimations ophidiennes constituent un véritable problème de santé publique dans le monde »

LES ENZYMES :

Les enzymes de nature variée sont très nombreuses dans les venins de serpent. Parmi la trentaine d'activités enzymatiques détectées, la moitié d'entre elles est retrouvée dans tous les venins. Certaines enzymes peuvent exercer un effet toxique local : œdème, suffusions hémorragiques, nécroses. Parmi les enzymes retrouvées dans tous les venins, on distingue :

Les hyaluronidases qui, en hydrolysant les liaisons glycosidiques de certains mucopolysaccharides du tissu conjonctif, facilitent la diffusion des autres composants toxiques du venin.

Les protéases, endopeptidases et exopeptidases, dont l'action est souvent peu spécifique.



Sistrurus Catenatus Catenatus «Massassanga» (Crotalidé). Ontario, Canada. - Photo A.T.

Résumés (suite)

cal administration of anti venom serum could be altered and adapted according to pharmacokinetic data concerning the toxins responsible for clinical signs as well as the type of antibody used.

Bibliographie

1. - Behning E., Kitasato S. Über das Zustands-kommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Tieren. Dtsch. med. Wochenschr., 1890 ; 16, p 1113-1145.
2. - Chippaux J.-P. Snake-bites : appraisal of the global situation. Bull. WHO 1998; 76, p 515-524.
3. - Cohen S., Levi-Montalcini R. A nerve growth stimulating factor isolated from snake venom. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1956; 42, p 571-574.
4. - Marlas G., Joseph D., Huet C. I. Isolation and electron microscope studies of a potent platelet-aggregating glycoprotein from the venom of *Crotalus durissus cascavella*. II- Subunit structure of a potent platelet-aggregating glycoprotein from the venom of *Crotalus durissus cascavella*. Biochimie 1983 ; 65, p 405-416.
5. - Francischetti I. M. B., Saliou B., Leduc M., Carini C.R., Hatmi M., Randon J., Faili A., Bon C. Convulxin, a potent platelet-aggregating protein from *Crotalus durissus terrificus* venom, specifically binds to platelets. Toxicon 1997; 35, p 1217-1228.
6. - Zingali R., Jandrot-Perrus M., Guillin M. C., Bon, C. Bothrojaracin, a new thrombin inhibitor isolated from *Bothrops jararaca* venom: characterization and mechanism of thrombin inhibition. Biochemistry 1993 ; 32, p 10794-10802.

Les phospholipases A_2 qui hydrolysent les glycérophospholipides et la lécithine des membranes cellulaires et entraînent une hémolyse dont l'importance clinique est secondaire.

On trouve également des acétylcholinestérases, des amino-acide-oxydases, des phosphoestérases, des hydrolases, des nucléosidases, des ribonucléases. De nombreuses enzymes agissent sur l'hémostase. Ce sont pour la plupart des enzymes protéolytiques à action procoagulante ou anticoagulante. Ces protéines provoquent une incoagulabilité sanguine et sont présentes et actives surtout dans les venins de Vipéridés. On peut citer :

Les composants agissant sur les parois vasculaires ou hémorragines. Ces métalloprotéases Zinc-dépendantes hydrolysent certains éléments de la paroi vasculaire, entraînant des hémorragies locales spontanées, en nappe persistantes.

Les composants agissant sur les cellules endothéliales des parois vasculaires qui provoquent la libération de certains effecteurs, prostaglandines ou activateurs de plasminogène.

Les activateurs de la protéine C.

Les composants agissant sur l'activation de la prothrombine ou des facteurs V, VIII, X, XIII.

Les composants agissant sur le fibrinogène.

Les enzymes lysant la fibrine.

Les facteurs agissant sur les plaquettes (activateurs ou inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire...).

LES TOXINES :

Les effets toxiques des venins de serpent sont le résultat de l'action conjuguée des toxines qui les composent. Les toxines sont des polypeptides ou des protéines regroupées en plusieurs catégories selon leur constitution chimique ou leur action pharmacologiques. Certaines sont communes à plusieurs espèces ou à plusieurs familles de serpents venimeux, sans toutefois être identiques, d'autres sont plus ou moins spécifiques d'une espèce particulière. On distingue :

Les toxines du système neuro-musculaire qui comprennent les neurotoxines curarisantes (α -neurotoxines), dites toxines à trois doigts qui se fixent sélectivement sur les récepteurs post-synaptiques

de l'acétylcholine. Elles sont caractéristiques des venins d'Elapidés et d'Hydrophidés et les neurotoxines présynaptiques (β -neurotoxines) constituées d'une à cinq chaînes polypeptidiques dont l'une au moins est une phospholipase A_2 . Ces toxines inhibent la libération d'acétylcholine.

Les cardiotoxines, présentes dans les venins de cobras, qui ont une structure à trois doigts comparable à celle des α -neurotoxines. Ces toxines induisent des nécroses cutanées.

Des toxines que l'on ne retrouve que dans certains genres, telles les sarafotoxines, molécules vaso-constrictrices des venins du genre *Atractaspis*, les dendrotoxines et fasciculines des venins de *Dendroaspis*, qui respectivement augmentent la libération d'acétylcholine et inhibent son métabolisme, les myotoxines, petits polypeptides basiques des venins du genre *Crotalus* ou phospholipases A_2 des venins de Vipéridés ou d'Elapidés.

AUTRES COMPOSANTS :

Certains composants agissent sur divers mécanismes biologiques sans pour autant exercer une toxicité chez l'animal. On peut citer le facteur de stimulation de la croissance du nerf qui induit et accélère la différenciation des neurones sensoriels des ganglions sympathiques ⁽³⁾, la convulxine, glycoprotéine capable d'activer les plaquettes sanguines ^(4,5), la bothrojaracine, inhibiteur spécifique et puissant de la thrombine ⁽⁶⁾ et le TSV-PA, un activateur du plasminogène ⁽⁷⁾.

UNE TOXICITÉ VARIABLE

La grande sélectivité d'action des composants des venins rend compte de la morbidité voire de la mortalité liées aux cas d'envenimation. A part quelques exceptions, les venins de serpent comportent plusieurs protéines toxiques qui peuvent agir en synergie et qui sont à l'origine de la toxicité globale du venin. Certaines protéines non toxiques facilitant par exemple la diffusion du venin peuvent également produire une potentialisation de la toxicité de celui-ci. En cas d'envenimation par des serpents de la famille des *Viperidae* (*vipères et crotales*), on constate un œdème, des manifestations générales telles qu'une hypotension, un état de choc ou des hémorragies, des altérations globulaires et parfois

Vipera Aspis Aspis. - Photo A.T.



des effets neurologiques. Les morsures de serpents de la famille des *Elapidae* sont caractérisées principalement par une atteinte de la plaque motrice, d'autres organes tels que le cœur et le rein pouvant également être atteints. Plusieurs auteurs ont décrit l'existence d'une variation dans la symptomatologie de l'envenimation par des serpents appartenant à la même espèce⁽⁹⁾. Ces variations intraspécifiques, en général liées à la localisation géographique des individus⁽⁹⁾, traduisent une variabilité d'origine génétique⁽¹⁰⁾ dont l'expressivité serait liée au régime alimentaire⁽¹¹⁾. Cette variabilité est à prendre en compte lors du processus d'immunisation de l'animal qui fournira le sérum antivenimeux. De nombreuses études ont montré que la toxicité du venin diminue avec l'âge du serpent alors que l'activité protéolytique augmente^(12,13). Cette observation peut être expliquée par le fait qu'un individu jeune, donc de petite taille, a besoin d'un venin puissant pour immobiliser sa proie alors qu'un adulte s'attaque plus volontiers à des proies de grande taille, imposant de ce fait un venin dont l'activité protéolytique est plus élevée.

LES SÉRUMS ANTIVENIMEUX

L'immunothérapie passive anti-ophidienne consiste en l'injection d'anticorps neutralisants d'origine hétérologue (*chèvre, cheval ou mouton*) qui peut être à l'origine de réactions secondaires. Celles-ci peuvent être simplement dues à l'administration de protéines étrangères (*hypersensibilité de type I*), mais aussi à une sensibilisation préalable du patient au sérum de cheval (*d'hypersensibilité de type III ou IV selon le délai d'apparition*) ou encore à la présence de complexes immuns difficilement éliminés par l'organisme. Ces réactions secondaires sont en général bénignes, surtout les réactions d'hypersensibilité de type I, mais elles peuvent parfois avoir un caractère brutal voire dramatique (*choc anaphylactique*).

Les sérums antivenimeux sont obtenus par l'hyperimmunisation graduelle des animaux avec un ou plusieurs venins médicalement importants provenant d'un pays ou d'une région géographique spécifique. Si un seul venin est utilisé pour l'immunisation, le sérum antivenimeux est dit monovalent, lorsque plusieurs venins sont utilisés, il est dit polyvalent. Du fait de la complexité de la composition des venins, un sérum polyvalent possède un pouvoir de neutralisation plus faible qu'un sérum monovalent dont on peut notablement diminuer la dose administrée, ce qui réduit le risque de réactions secondaires. Toutefois, Christensen⁽¹⁴⁾ a observé que l'association de plusieurs venins rigoureusement choisis potentialise le pouvoir neutralisant du sérum polyvalent et améliore significativement son efficacité. Généralement, les cliniciens préfèrent utiliser des sérums polyvalents : d'une part, les symptômes cliniques sont rarement révélateurs d'une espèce, d'autre part, les indications thérapeutiques en sont simplifiées.

Les sérums d'animaux hyperimmunisés ne sont plus utilisés à l'état brut. Des améliorations successives ont été apportées à la préparation des sérums antivenimeux pour obtenir une plus grande effica-



Crotalus Horridus Horridus «Crotale des bois». Pennsylvanie, USA. - Photo A.T.

ce et une meilleure tolérance. Les immunoglobulines sont soumises à une protéolyse ménagée. L'immunoglobuline G (IgG) est une protéine de masse molaire égale à 150 kDa, qui se compose de deux fragments Fab porteurs de la spécificité immunologique (*Fab = fragment antigen binding*) et d'un fragment Fc réagissant avec le complément. Une digestion par la pepsine libère un fragment F(ab')₂, de masse molaire moyenne de 90 kDa et porteur de deux sites de fixation de l'antigène, comme l'immunoglobuline native. Un traitement par la papaine sépare le fragment Fc des fragments Fab, de masse molaire moyenne de 50 kDa, et porteurs, chacun, d'un seul site de fixation à l'antigène.

OPTIMISATION DE LA SÉROTHÉRAPIE ANTIVENIMEUSE

L'immunothérapie antivenimeuse, utilisée depuis plus d'un siècle, demeure empirique en l'absence de données cliniques et expérimentales qui pourraient fonder une utilisation plus rationnelle. En effet, pour que ce traitement soit le plus efficace possible en réduisant au maximum les risques, le clinicien doit prendre en compte un certain nombre de paramètres afin d'assurer une prise en charge adéquate du patient envenimé :

La spécificité du sérum antivenimeux.

Le degré de sévérité de l'envenimation qui conditionne la dose de sérum injecté.

Le devenir du venin dans l'organisme en absence et en présence des anticorps du sérum antivenimeux qui conditionne le mode d'administration de ce sérum (*délai optimal après l'envenimation, voie d'injection, type de fragments d'anticorps à injecter...*).

SPÉCIFICITÉ DE LA SÉROTHÉRAPIE :

L'identification de l'espèce responsable de l'envenimation est un problème majeur lors de l'étude clinique des morsures de serpent, car dans les rares cas où la victime apporte l'animal, son identification est loin d'être assurée. Dans le doute, on aura recours à un sérum polyvalent dirigé contre les principales espèces venimeuses connues dans la zone géographique où se situe l'accident

Bibliographie (suite)

7. - Zhang Y., Wisner A., Xiong Y., Bon, C. A novel plasminogen activator from snake venom: purification, characterization and molecular cloning. *J. Biol. Chem.* 1995; 270, p 10246-10255.
8. - Chippaux, J. P., Williams, V., White, J. Snake venom variability: methods of study, results and interpretation. *Toxicon* 1991; 29, p 1279-1303.
9. - Rael, E. D., Knight, R. A., Zepeda, H. Electrophoretic variants of Mojave rattlesnake (*Crotalus scutulatus scutulatus*) venoms and migration differences of Mojave toxin. *Toxicon* 1984; 22, p 980-985.
10. - Nkinin S. W., Chippaux J. P., Piétin D., Doljanski Y., Trémeau O., Ménez A. L'origine génétique de la variabilité des venins: impact sur la préparation des sérums antivenimeux. *Bull. Soc. Path. Exot.* 1997; 90, p 277-281.
11. - Daltry J. C., Würster W., Thorpe R. S. Diet and snake venom evolution. *Nature* 1996; 379, p 533-536.
12. - Minton S. A. - Observations on toxicity and antigenic makeup of venoms from juvenile snakes. In: *Animal Toxins*, pp 211-222, Russell, F. E. et Saunders, P. R., eds., Pergamon Press, Oxford, 1967, pp 211-222.
13. - Lomonte B., Gene J. A., Gutierrez J. M., Cerdas L. Comparative study of venoms of newborn and adult rattlesnakes (*Crotalus durissus durissus*). *Toxicon* 1983; 21, 379-384.
14. - Christensen P. A. (1968) The venoms of Central and South African snakes. In *Venomous Animals and their Venoms*, ed. Bucherl W., Buckley E. and Deulofeu V., Academic Press, New York, 1968, Vol. 1 : pp 437-461.

Bibliographie (suite)

15. - Cox, J. C., Moisisid, A. V., Shepherd, J. M., Drane, D. P., Jones, S. L. *A novel format for a rapid sandwich EIA and its application to the identification of snake venoms.* J. Immunol. Methods 1992 ; 146, p 213-218.

16. - Chinonavanig, L., Karnchanachetane, C., Pongsettakul, P., Ratanabanangkoon, K. *Diagnosis of snake venoms by a reverse latex agglutination test.* Journal of Toxicology - Clinical Toxicology. 1991 ; 29, p 493-503.

17. - Selvanayagam, Z. E., Gopalakrishnakone, P. *Test for detection of snake venoms, toxins and venom antibodies: review on recent trends (1987-1997).* Toxicon 1999; 37, p 565-586.

18. - Chippaux J. -P., Goyffon. M. *Venoms, antivenoms and immunotherapy.* Toxicon 1998; 36, p 823-846.

19. - Audebert F., Sorkine M., Bon C. *Envenoming by viper bites in France: clinical gradation and biological quantification by ELISA.* Toxicon 1992 ; 30, 599-609.

20. - Audebert, F., Grosselet, O., Sabouraud, A., Bon, C. *Quantitation of venom antigens from European vipers in human serum or urine by ELISA.* J. Anal. Toxicol. 1993 ; 17, p 236-240.

21. - Sabouraud, A., Schermann, J.-M. *Immunothérapie des intoxications médicamenteuses.* Thérapie 1994; 49, p 41-8.

22. - Labrousse H., Nishikawa A.K., Bon C., Avrameas S. *Development of a rapid and sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring venom antigens after an experimental snake bite.* Toxicon 1988; 26, p 1157-1167.

d'envenimation. Cependant, dans certains pays, seuls des sérums monovalents sont disponibles et le choix du sérum adéquat est rendu très difficile du fait de la similarité des symptômes cliniques après morsure par des espèces différentes. Plusieurs techniques ont été mises au point afin de permettre une identification rapide de l'espèce responsable. Les plus utilisées sont les techniques ELISA ou l'agglutination de particules de latex revêtues d'immunoglobulines anti-venin ^(15,16,17).

DÉTERMINATION DE LA SÉVÉRITÉ DE L'ENVENIMATION :

Pour neutraliser le venin, les anticorps du sérum antivenimeux doivent interagir avec tous les antigènes de venin présents dans l'organisme. Afin que cette neutralisation soit totale, il est nécessaire de connaître la quantité de venin présente dans l'organisme, élément qui permet également d'évaluer la gravité de l'envenimation. Les signes cliniques observés après envenimation sont également révélateurs de la gravité et peuvent orienter rapidement le clinicien vers un traitement approprié. Toutefois, certains signes cliniques sont d'évolution lente, telles les hémorragies observées après envenimation par *Echis ocellatus* ou l'œdème dans le cas des envenimations vipérides ⁽¹⁸⁾. La quantification précoce du venin présent dans l'organisme est donc un élément important pour l'établissement d'une sérothérapie adéquate. Les techniques ELISA sont actuellement les mieux adaptées pour le dosage du venin dans les échantillons biologiques. Ces techniques peuvent être réalisées dans un temps suffisamment court pour permettre un diagnostic et surtout une évaluation précoce de la gravité de l'envenimation ^(19,20). Cependant, dans les pays tropicaux, la quantité de sérum injectée au cours du traitement d'une envenimation ophidienne demeure très souvent empirique.



Naja Sumatrana. Sumatra, Indonésie. - Photo A.T.

ÉTUDE DE LA PHARMACODISTRIBUTION PLASMATIQUE DU VENIN ET DES ANTICORPS DU SÉRUM ANTIVENIMEUX :

L'analyse de la diffusion du venin dans l'organisme ainsi que celle de l'effet de la sérothérapie sur sa répartition devrait permettre une approche plus

rationnelle du traitement des envenimations. En effet, si le mécanisme de détoxication de l'organisme par les anticorps dans le cas des intoxications par les médicaments (*antidépresseurs tricycliques, colchicine, digitaliques*) a été étudié ⁽²¹⁾, le mécanisme d'action des anticorps du sérum antivenimeux est mal connu. Labrousse et al. ⁽²²⁾ ont montré l'existence d'une immunoneutralisation des protéines du venin circulant dans

le compartiment central. S'agit-il du seul mécanisme de détoxication?

QUELQUES NOTIONS DE PHARMACOCINÉTIQUE :

La pharmacocinétique est l'étude du devenir d'une substance exogène au cours du temps dans un

CIR MEDICAL
 CD 113
 BP 355
 78410
 AUBERGENVILLE
 ☎ : 01.30.91.01.19
 Fax: 01.30-95.65.48

MEDICAL

FABRICANT DE

MATERIEL DE SECOURS

Matelas et attelles à dépression - Colliers cervicaux - Brancards -
 - Sacs et valises de secours - Chaises d'évacuation -
 - Oxygénothérapie - draps et couvertures isothermiques... etc.

modèle défini (*organisme entier, modèle cellulaire ou tissulaire*). Un certain nombre de paramètres sont pris en compte et mesurés, dont la définition est la suivante ⁽²³⁾ :

Le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) est le temps nécessaire pour atteindre la moitié de la concentration initiale. Il peut s'agir de la demi-vie de résorption si la substance est administrée par la voie extravasculaire, de distribution ($t_{1/2a}$) ou d'élimination ($t_{1/2b}$).

Le volume de distribution (Vd) est un volume fictif dans lequel se répartirait la substance étudiée pour avoir une concentration égale à celle qui est mesurée dans le plasma. Ce terme caractérise l'étendue de la répartition de la substance étudiée.

La clairance (Cl) est définie comme étant la capacité de l'organisme à épurer un volume unitaire plasmatique après que la substance d'intérêt a atteint la circulation générale. La clairance corporelle totale (Cl_T) représente la somme des épurations par le rein, le foie, le poumon et d'autres tissus.

La biodisponibilité (F) est mesurée lorsque la substance est administrée par voie extravasculaire et se définit comme la quantité de molécules disponible au site d'action et la vitesse à laquelle elle devient disponible à ce site. Elle dépend de la quantité de molécules résorbées (*valeur du pic de concentration plasmatique*) et du temps pour atteindre ce pic (T_{max}).

Le suivi des concentrations plasmatiques de la substance étudiée peut être réalisé par différentes techniques qui dépendront de l'état physique de celle-ci : les substances protéiques peuvent être marquées au moyen d'un isotope radioactif et l'on mesurera donc la radioactivité totale ou associée aux protéines pour chaque prélèvement, ou bien, si l'on dispose d'anticorps spécifiques de ces substances, des tests de dosage ELISA pourront être mis au point.

PHARMACOCINÉTIQUE DU VENIN ET DES ANTICORPS DU SÉRUM ANTIVENIMEUX :

Des études pharmacocinétiques expérimentales de plusieurs venins de serpent ont été réalisées chez l'animal et ont permis de déterminer un certain nombre de paramètres dont l'analyse est importante dans la compréhension du mécanisme d'action du venin. Ces études montrent que la distribution des composants du venin est rapide (0,2 à 0,5 h) et que leur demi-vie d'élimination est lente (10 à 40 h). Après administration par voie extravasculaire, le

Vipera Aspis Aspis. - Photo A.T.



Paramètres pharmacocinétiques mesurés pour plusieurs venins de serpent						
Venin	$T_{1/2} a$ (hr)	$T_{1/2} b$ (hr)	Vd (l.kg ⁻¹)	Cl_T (ml.mn ⁻¹ .kg ⁻¹)	F%	réf.
Walterinnesia aegyptia (i.v.)	0,3	10,8	0,596	0,68		24
Naja melanoleuca (i.v.)	0,44	18,8	0,48	0,18		"
Naja nivea (i.v.)	0,5	28,6	0,51	0,12		"
Naja nigricollis (i.v.)	0,36	36,3	0,5	0,11		"
Naja haje (i.v.)	0,37	29,1	0,38	0,09		"
Vipera russelli (i.v.)	0,265	8,9	-	-		25
Vipera aspis (i.v.)	0,7	12,2	1,2	1,33		"
Vipera aspis (i.v.)	0,25	27	0,4	0,3		26
Walterinnesia aegyptia (i.m.)	-	-	-	-	82	24
Vipera aspis (i.m.)	-	36	-	-	65	25

Tableau 1 :

venin apparaît en quelques minutes dans le sang. La fraction de venin résorbée à partir du site d'injection varie en fonction de la nature du venin. Elle est de 65% dans le cas du venin de Vipera aspis et de 82% (tableau 1) dans le cas du venin de Walterinnesia aegyptia.

« l'efficacité des différents sérums antivenimeux dépend de leur mode de neutralisation in vivo »

Les paramètres pharmacocinétiques des anticorps des sérums antivenimeux ont été également étudiés chez l'animal. Après administration intraveineuse, les IgG ont un volume de distribution équivalent à celui du compartiment vasculaire alors que les F(ab)^{'2} et les Fab se distribuent dans l'espace extravasculaire. Les

IgG et les F(ab)^{'2} ont une demi-vie d'élimination longue (40 à 100 h) alors qu'elle est de 10 h pour les Fab. Une faible portion des anticorps injectés atteint le compartiment vasculaire après injection par la voie extravasculaire (*intramusculaire ou sous-cutanée*).

La détermination des paramètres pharmacocinétiques des venins et des sérums antivenimeux fait apparaître un certain nombre de différences. Lorsqu'ils sont administrés par voie intramusculaire, de façon à mimer l'envenimation accidentelle chez l'homme, les venins ont en général une demi-vie et un volume de distribution plus élevés que les IgG et les F(ab)^{'2}. Cependant, leur demi-vie d'élimination est longue et se rapproche de celle des IgG et F(ab)^{'2}. Ces différences pourraient avoir des conséquences sur l'efficacité thérapeutique de certaines préparations d'anticorps.

Par ailleurs, l'efficacité des différents sérums antivenimeux dépend également de leur mode de neutralisation in vivo. Le mode d'action in vivo de la sérothérapie antivenimeuse a été déterminé à l'aide d'un modèle, celui d'une envenimation expérimentale par le venin de Vipera aspis traitée par le sérum antivenimeux ⁽²⁷⁾ (Figure 1). Il s'agit d'un phénomène dynamique dont la première étape consiste en la complexation des antigènes de venin par les anticorps du sérum antivenimeux (*immuno-*

Bibliographie (suite)

23. - Labaune, J. P. Pharmacocinétique : principes fondamentaux. Masson, Paris, 1988.
 24. - Ismail M., Abd-Elsalam M. A., Al-Ahaidib M. S. Pharmacokinetics of ¹²⁵I-labelled Walterinnesia aegyptia venom and its specific antivenins : flash absorption and distribution of the venom and its toxin versus slow absorption and distribution of IgG, F(ab)^{'2} and F(ab) of the antivenin. Toxicon 1998; 36, p 93-114.
 25. - Thwin M. M., Mee K. M., Kyin M. M., Than T. Kinetics of envenomation with Russell's viper (Vipera russelli) venom and of antivenom use in mice. Toxicon 1988 ; 26, p 373-378.
 26. - Audebert F., Urtizberea M., Sabouraud A., Schermann J. M., Bon C. Pharmacokinetics of Vipera aspis venom after experimental envenomation in rabbits. J. Pharm. Ex. Ther 1994; 268, p 1512-1517.
 27. - Rivière G., Choumet V., Audebert F., Sabouraud A., Debray M., Schermann J. M., Bon C. Effect of antivenom on venom pharmacokinetics in experimentally envenomed rabbits : toward an optimization of antivenom therapy. J Pharm Exp Ther 1997 ; 281, p 1-8.

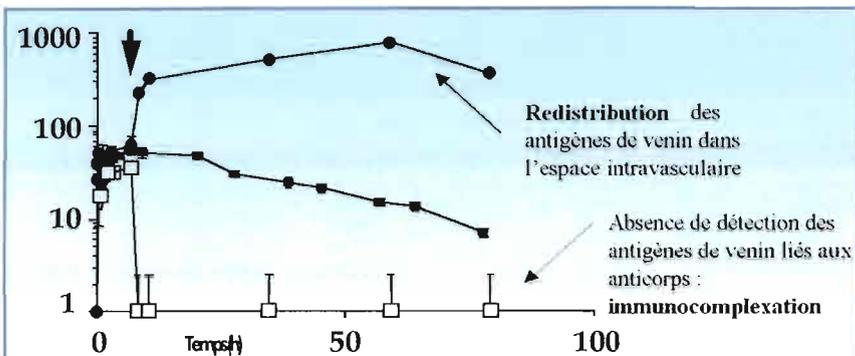


Figure 1 : Effet de l'injection d'une dose neutralisante de sérum antivenimeux sur la toxicocinétique du venin de *Vipera aspis*. Le venin injecté est injecté par voie intramusculaire et 7 heures après, le sérum antivenimeux est administré par voie intraveineuse. Les concentrations plasmatiques de venin libre sont mesurées par ELISA (□) et les concentrations de venin total (libre et lié aux anticorps du sérum antivenimeux) sont détectées par comptage de la radioactivité précipitable par le TCA (●). (○) animaux contrôles envenimés mais n'ayant pas reçu de sérum antivenimeux.

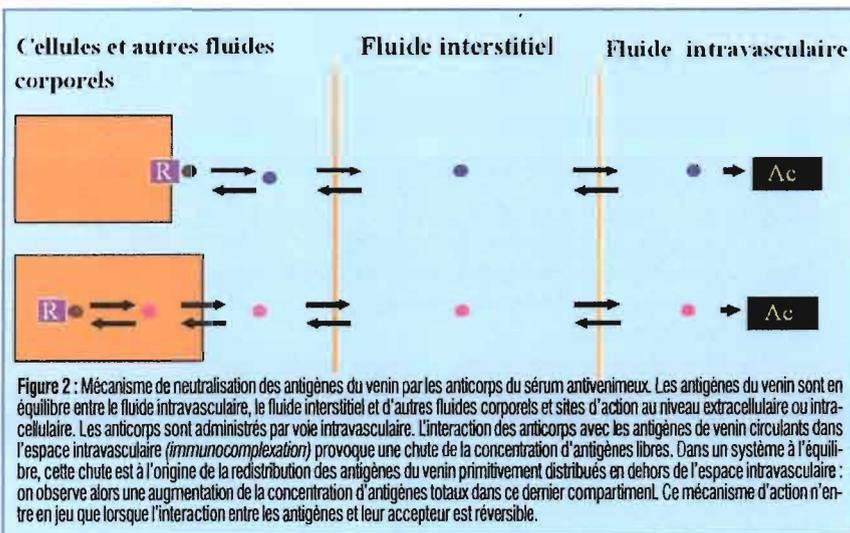


Figure 2 : Mécanisme de neutralisation des antigènes du venin par les anticorps du sérum antivenimeux. Les antigènes du venin sont en équilibre entre le fluide intravasculaire, le fluide interstitiel et d'autres fluides corporels et sites d'action au niveau extracellulaire ou intracellulaire. Les anticorps sont administrés par voie intravasculaire. L'interaction des anticorps avec les antigènes de venin circulants dans l'espace intravasculaire (*immunocomplexation*) provoque une chute de la concentration d'antigènes libres. Dans un système à l'équilibre, cette chute est à l'origine de la redistribution des antigènes du venin primitivement distribués en dehors de l'espace intravasculaire : on observe alors une augmentation de la concentration d'antigènes totaux dans ce dernier compartiment. Ce mécanisme d'action n'entre en jeu que lorsque l'interaction entre les antigènes et leur accepteur est réversible.

Bibliographie (suite)

28. - Ariaratnam C. A., Meyer W. P., Pereira G., Eddleston M., Kuleratne S. A. M., Attapattu W., Sheriff R., Richards A. M., Theakston R. D. G. and Warrell D. A. A new monospecific ovine fragment antivenom for treatment of envenoming by the Sri Lankan Russell's viper (*Daboia russelli russelli*): a preliminary dose-finding and pharmacokinetic study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999; 61, p 259-265.
29. - Karlson-Stiber C., Persson H., Heath A., Smith D., Al-Abdulla I. H. and Sjöström L. First clinical experiences with specific sheep Fab fragments in snake bite. Report of a multicenter study of *Vipera berus* envenoming. *J Int Med* 1997; 241, p 53-58.
30. - Dart R. C., Seifert S. A., Carroll L., Clark R. F., Hall E., Boyer-Hassen L. V., Curry S. C., Kitchens C. S. and Garcia R. A. Affinity-purified, mixed monospecific crotalid antivenom ovine Fab for the treatment of crotalid venom poisoning. *Ann Emerg Med* 1997; 30, p 33-39.

Cet article a été soumis au comité de lecture d'Urgence Pratique et validé.



Vipera berus berus «Pellade». Bourg Lastic (63). - Photo A.T.

complexation) dans le compartiment vasculaire, processus qui provoque alors un déplacement des composants du venin des tissus vers le compartiment vasculaire (Figure 2).

Les paramètres dont la connaissance est nécessaire pour une meilleure administration de la sérothérapie antivenimeuse (*dose minimale effective, délai optimal d'administration du sérum antivenimeux après l'envenimation, voie d'administration, type de fragments à utiliser*) ont également été précisés (27). Les conclusions de cette étude montrent que pour être efficace dans le cas d'une envenimation vipérine, une quantité minimale neutralisante de sérum antivenimeux doit être injectée par voie intraveineuse sous forme de F(ab)² dans les heures qui suivent l'envenimation. L'efficacité d'une injection unique de fragments de type Fab est moindre. En



Naja Haje Arabica. Yémen 98. - Photo D. Heudin.

effet, bien qu'une immunocomplexation totale du venin soit obtenue rapidement, celle-ci est de courte durée puisque dans l'heure qui suit, des concentrations plasmatiques toxiques de venin sont de nouveau détectées par ELISA. En raison de leur courte demi-vie, les Fab ont une action de courte durée, cependant que le venin de *Vipera aspis* est éliminé lentement. Ces résultats expérimentaux sont en bon accord avec les observations des cliniciens qui ont constaté la réapparition de symptômes d'envenimation causés par des serpents différents (*Crotalidés nord-américains, Vipéridés africains et asiatiques*), quelques heures après l'administration de Fab (28,29,30). La récurrence des signes cliniques de l'envenimation est d'ailleurs en bonne corrélation avec la réapparition de venin libre dans le sang des patients.

CONCLUSION

Les données expérimentales apportent une meilleure compréhension de la cinétique d'apparition des symptômes au cours des envenimations et du mode d'action des anticorps administrés au cours de la sérothérapie. Elles montrent la nécessité d'une adéquation entre d'une part le mode d'action et les paramètres pharmacocinétiques des principaux composants des venins de serpent et d'autre part, la pharmacodistribution plasmatique des anticorps du sérum antivenimeux. Ainsi, certaines modalités d'administration des sérums antivenimeux (*dose optimale, délai d'administration après l'envenimation, voie d'injection, type de fragments d'anticorps à injecter*), déterminés de façon empirique au cours de l'utilisation maintenant séculaire de la sérothérapie antivenimeuse par les cliniciens, pourraient être modifiés et adaptés en fonction de données pharmacocinétiques des toxines responsables des signes cliniques et du type d'anticorps utilisé.



INSTITUT PASTEUR

Valérie CHOUMET

Unité des Venins, Institut Pasteur,
25, rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15, France

Max GOYFFON

LERAI, Muséum National d'Histoire Naturelle,
57, rue Cuvier, 75005 Paris, France

Jean-Philippe CHIPPAUX

IRD, B.P. 1386, Dakar, Sénégal

Choumet V., Goyffon M., Chippaux Jean-Philippe. (2002).

Bases expérimentales pour une optimisation de la sérothérapie antivenimeuse.

Urgence Pratique, (51), 9-14.

ISSN 1244-1791