

L'origine génétique de la variabilité des venins : impact sur la préparation des sérums antivenimeux.

S. W. Nkinin (1), J.-P. Chippaux (2), D. Piétin (3), Y. Doljansky (3), O. Trémeau (4) & A. Ménez (4)

(1) Centre Pasteur du Cameroun, B.P. 1274, Yaoundé, Cameroun.

(2) ORSTOM et CERMES, B.P. 10887, Niamey, Niger.

(3) LATOXAN, 05150 Rosans, France.

(4) D.I.E.P., Centre d'Étude de Sacley, 91191 Gif-Sur-Yvette Cedex, France.

(5) Manuscrit n° 1759. «Toxicologie». Accepté le 6 juin 1997.

Correspondant et tirés-à-part : JP Chippaux

Summary: Genetic origin of the variability of venoms: impact on the preparation of antivenom sera (SAV).

Key-words: Antivenoms - Crotalus atrox - Naja haje - Neurotoxin- α - Venoms

One of the main possible origin of the biochemical variations of venoms could be genetic. We studied the venom of members of litters born in a snake farm (12 Crotalus atrox and 21 Naja haje). We first used the electrophoresis in cellulose acetate (AE). Then, variations were confirmed by immunoelectrophoresis (AIE) using an antivenom (IPSER Africa[®], Pasteur Mérieux Sérums & Vaccins) and immunosera prepared on rabbit from i) venom presenting the maximum of bands in electrophoresis (complete venom) and ii) pure toxins (neurotoxin- α and cardiotoxin- γ). At last, the toxicity of some samples was measured and the ability of SAV to neutralise the corresponding sample was measured. The AE of C. atrox venoms showed a good homogeneity, probably due to a good genetic stability of the investigated group. On the other hand, N. haje venoms have revealed a great heterogeneity. The 13 samples were allocated to five groups according to the absence of some fractions compared to the complete venom. The AIE showed that the neurotoxin- α is present in every sample, but variable in quantity, even when it did not appear on AE. We suggest that these pattern variations are due either to relative variations of protein fractions in samples or to modifications of the chemical composition of the neurotoxin- α . However, the variation of toxicity between the different samples questioned the neutralisation ability of antivenoms. We propose that venom sample choice for SAV production should be based on biochemical criteria and toxicity of samples rather than random pooling.

Résumé :

Mots-clés : Crotalus atrox - Naja haje - Neurotoxine- α - Sérums antivenimeux - Venins

L'une des principales causes des variations biochimiques des venins semble être génétique. Nous avons étudié le venin des membres de fratries nés en élevage (12 Crotalus atrox et 21 Naja haje). Nous avons utilisé en première intention l'électrophorèse en acétate de cellulose (AE). Les variations ont été confirmées par immunoelectrophorèse (AIE) à l'aide de sérums antivenimeux (SAV = IPSER Africa[®], Pasteur Mérieux Sérums & Vaccins) et d'immunsérums préparés sur lapin à partir de venins présentant le maximum de fractions en électrophorèse (venin total) et de toxines pures (neurotoxine- α et cardiotoxine- γ). Par ailleurs, nous avons mesuré la toxicité de certains échantillons et la capacité du SAV à neutraliser ces échantillons. En AE, les venins de C. atrox montrent une bonne homogénéité, traduisant une grande stabilité génétique au sein du groupe analysé. En revanche, les venins de N. haje ont révélé une grande hétérogénéité. Il a été possible d'assigner les 13 échantillons à cinq groupes en fonction de l'absence de certaines fractions par rapport au venin total. L'AIE confirme ces résultats. L'AIE montre que la neurotoxine- α est présente en quantité variable dans tous les échantillons, même lorsqu'elle n'apparaît pas en AE. Nous pensons que ces variations sont liées à la différence de concentration des fractions protéiques dans chaque échantillon et/ou à une modification de la composition chimique de la neurotoxine. Quoiqu'il en soit, la variation de toxicité entre les différents échantillons pose le problème du pouvoir neutralisant des SAV. Le choix des venins servant à la fabrication des SAV devrait reposer sur la composition biochimique et la toxicité des échantillons plutôt que sur un mélange aléatoire des venins.

Fonds Documentaire ORSTOM
Cote : B * 12496 Ex : 1

Introduction

L'une des hypothèses les plus vraisemblables pouvant expliquer la variabilité biochimique de la composition des venins de serpents est qu'elle soit d'origine génétique (5, 6). Selon cette hypothèse, la variabilité pourrait être due à une différence de concentration de chaque fraction (variation quantitative) ou à des modifications structurales de certaines protéines (variation qualitative). Les conséquences cliniques et thérapeutiques de cette variabilité sont une grande diversité des symptômes et de

leur gravité relative, ainsi qu'une efficacité inconstante des sérums antivenimeux (2, 3, 4). L'O.M.S., dès 1981, proposait de constituer une banque de venins de référence pour définir les antigènes devant servir à l'immunisation des animaux utilisés pour la fabrication des sérums antivenimeux (9). Plus pragmatiquement, le choix des antigènes servant à la fabrication des sérums antivenimeux repose sur deux concepts opposés : le mélange aléatoire d'échantillons de venins de diverses origines ou le choix raisonné de venins, voire de fractions isolées, représentatifs de propriétés toxiques définies (4).



L'objectif de ce travail est de confirmer que les variations infra-spécifiques sont d'origine génétique et de déterminer une méthode appropriée pour la sélection d'antigènes utilisables pour la production de sérums antivenimeux. Nous avons étudié le venin de générations successives de serpents élevés au laboratoire et descendants de géniteurs connus. Ces venins ont été analysés en électrophorèse. Les variations biochimiques ont été confirmées par immuno-électrophorèse en utilisant des sérums antivenimeux commerciaux et des immunosérums de lapins préparés au laboratoire à partir de venins rassemblant le plus grand nombre de fractions et de toxines purifiées.

Matériel & méthodes

Venins

Nous avons utilisé des venins individuels provenant de fratries de serpents appartenant à deux espèces : 12 *Crotalus atrox* et 21 *Naja haje*. Tous les serpents étaient élevés au laboratoire de toxines animales (Latoxan). Les *Crotalus atrox* dont nous avons analysé le venin provenaient tous des mêmes géniteurs. En revanche, 13 venins sur les 21 échantillons de *Naja haje* reçus ont pu être attribués avec certitude à une généalogie précise (figure 1). Les venins étaient prélevés par stimulation électrique, puis lyophilisés extemporanément et conservés sous vide à +4°C. Les numéros de code correspondent aux généalogies données en figure 1.

Analyse électrophorétique (AE)

Les venins étaient réhydratés avec de l'eau distillée pour obtenir une solution à 10 %. Nous avons utilisé des bandes d'acétate de cellulose de 5 x 17 cm et 2,5 x 17 cm (Cellogel®, Laboratoire Chémotron, France). Les dépôts ont été effectués à 3,5 cm de la cathode pour les venins de *Crotalus* et à 1 cm de l'anode pour les venins de *Naja*. La migration s'est faite pendant 1 heure à 220 V avec du tampon tris-véronal (pH=9,2 ; FI=0,05) pour les venins de *Naja* et pendant 30 minutes à 220 V également en tampon tris-glycine (pH=9 ; FI=0,025)

pour les venins de *Crotalus*. Nous avons utilisé du rouge ponceau pour la coloration des fractions et leur mesure quantitative a été faite à l'aide d'un CliniScan® (Laboratoire Héléna, France).

Analyse immuno-électrophorétique (AIE)

Seuls les venins de *Naja haje* ont fait l'objet d'une AIE. Nous avons utilisé comme immunosérum de référence le sérum antivenimeux commercialisé par Pasteur Mérieux, Sérum & Vaccins, l'IPSER Africa® (SAV) et nous avons comparé les résultats avec un immunosérum de lapin préparé au laboratoire contre l'un des venins de *Naja haje* (cf. ci-dessous). Une gélose ordinaire (Pastagar®) a été coulée sur des plaques de verre de 5 x 10 cm. Après électrophorèse des venins sur bandes de Cellogel® comme décrit ci-dessus, les bandes ont été déposées sur la gélose au centre de la plaque de verre et les bandes de papier filtre imbibées de l'immunosérum ont été placées de chaque côté à environ 0,5 cm de la bande de Cellogel®. La diffusion a été effectuée pendant 5 jours en chambre humide à la température de la pièce. La coloration des arcs de précipitation a été faite par du rouge ponceau.

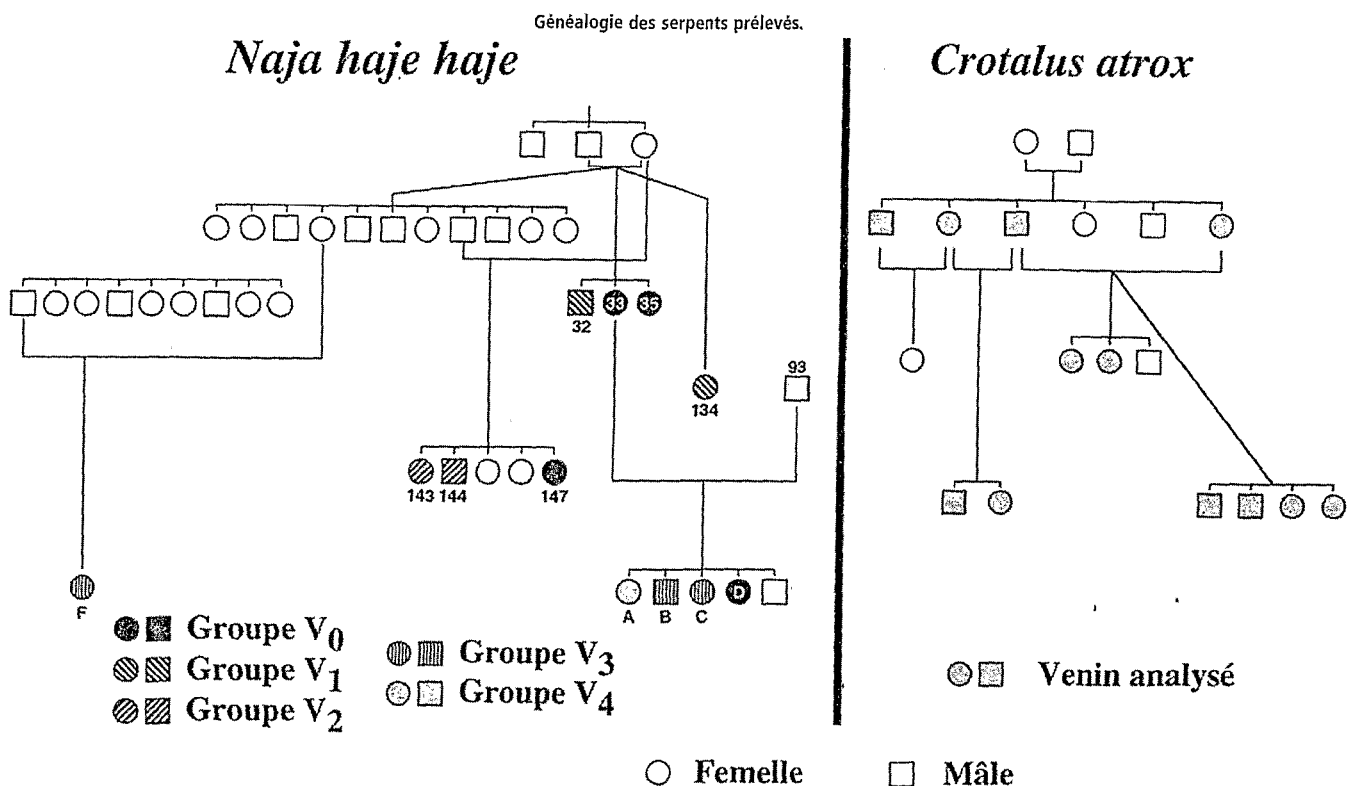
Toxicité des venins et tests de protection du SAV

La dose létale 50 % (DL50) a été déterminée par inoculation de 0,2 ml de solution de venin de concentration croissante de demi en demi, dans la veine caudale de souris Swiss de 18 à 22 g. Chaque dilution a été injectée à 4 souris. Cinq concentrations différentes de chaque venin ou fraction ont été inoculées, les deux doses extrêmes étant choisies les plus proches des DL0 et DL100 théoriques, déterminées par des essais préliminaires.

La détermination de la dose efficace 50 % (DE50) de SAV contre les venins ou fractions testés a été faite après incubation pendant 30 minutes à 37°C d'une dose létale fixe de venin (3 DL50) avec des dilutions croissantes de SAV. Les injections de mélanges ont été pratiquées par voie veineuse sous un volume de 0,2 ml.

Tous les témoins ont reçu un volume identique d'eau distillée. Les résultats ont été notés après 24 heures.

Figure 1.



Production d'immunsérums

Les venins présentant le maximum de fractions en électrophorèse, ainsi que les fractions pures neurotoxine- α et cardiotoxine- γ (purifications effectuées au laboratoire du CEN de Gif-sur-Yvette à partir de venins de *Naja nigricollis*), ont été inoculés à des lapins de 1700 à 2000 g. avec de l'adjuvant de Freund selon la méthode classique (3). Les prélèvements de sang ont été effectués à la veine de l'oreille. Après centrifugation, les immunsérums (IS) ont été congelés et conservés à -20°C .

Identification des différentes fractions

En nous fondant sur les connaissances concernant les venins (11), nous avons comparé la position des bandes électrophorétiques des venins de *Naja* comportant le plus de fractions et la position des fractions pures obtenue par AE dans les mêmes conditions expérimentales. Nous avons confirmé ces résultats grâce aux arcs de précipitations visualisés en AIE et à la toxicité des venins.

Résultats

Électrophorèses

Avec les venins de *Crotalus atrox*, nous n'avons pas observé de bandes électrophorétiques bien individualisées, en raison d'un recouvrement partiel des extrémités de chaque bande. Nous avons dénombré 6 fractions (F_1 à F_6) de la cathode à l'anode. Le point d'application (dépôt) de l'échantillon correspond à la fraction F_3 . La similitude entre les différents échantillons est très grande et nous avons considéré qu'il n'existe qu'un seul type de venin (fig. 2 et 3).

Les venins de *Naja haje* présentent un électrophorégramme constitué de bandes nettement séparées. Le nombre maximum de fractions que nous avons observé est de 8 (F_1 à F_8) à partir de l'anode (fig. 2 et 3). Le point d'application correspond à la fraction F_1 . Nous avons noté une grande hétérogénéité dans les électrophorégrammes des divers échantillons, tant au niveau du nombre de bandes que de la concentration respective de chacune d'elles. Aucune liaison au sexe ou à l'âge n'a été retrouvée. Les 21 venins ont été répartis en 5 groupes appelés V_0 à V_4 (fig. 2 et 3).

Figure 2.

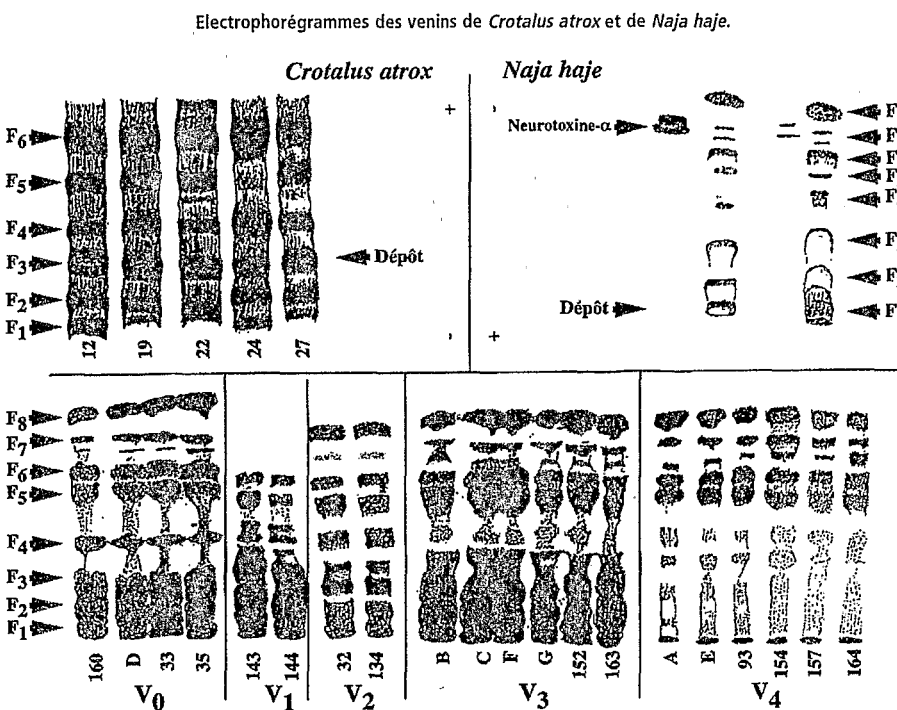
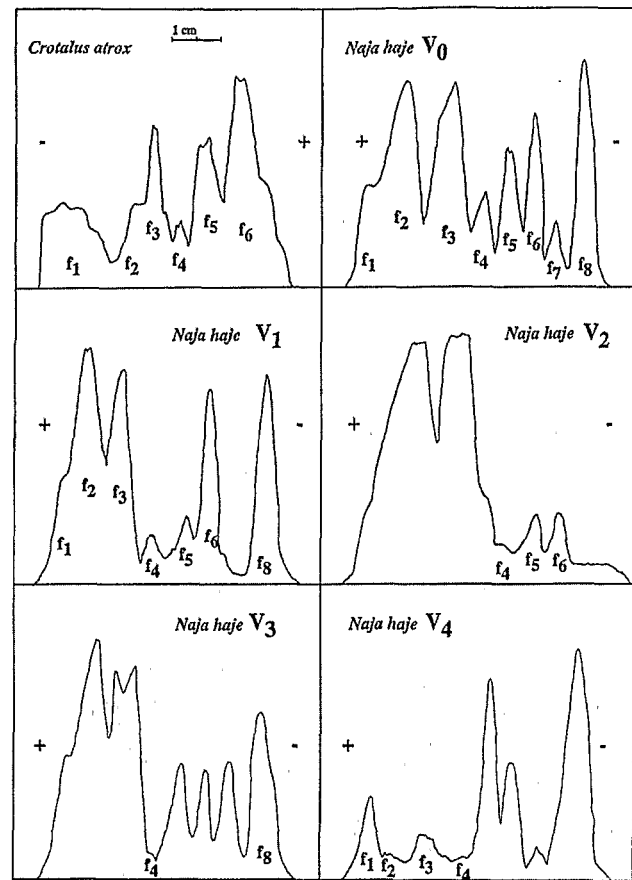


Figure 3.

Courbes d'intégration des électrophorégrammes des différents groupes de venin.



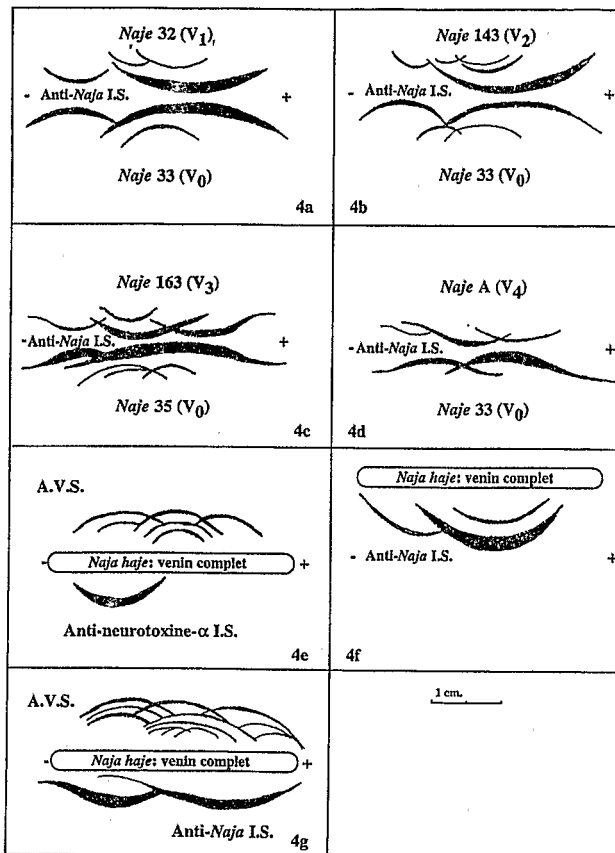
La neurotoxine- α migre à la même distance que la fraction F_7 du venin de *Naja haje* (fig. 3). La cardiotoxine- γ migre au niveau des fractions F_2 et F_3 , donnant une bande ne correspondant à aucune des fractions présentes sur nos électrophorégrammes.

Analyse immuno-électrophorétique

Tous les groupes de venins de *Naja haje* ont répondu avec la même intensité lorsqu'ils ont été mis en présence des immun-sérums, en dépit des différences observées en électrophorèse (Fig 4). Avec l'échantillon de venin de *Naja* présentant le plus de bandes en électrophorèse (groupe V_0), les arcs de précipitation apparaissent en 24 à 48 heures, aussi bien avec le SAV qu'avec l'IS. Avec ce dernier, certains arcs apparaissent toutefois plus épais, moins bien définis, qu'avec le SAV (fig. 4 g). L'absence de quelques arcs dans les immuno-électrophorégrammes des différents échantillons de venins de *Naja* mérite d'être notée. Le groupe V_1 , présentant une faible concentration en fraction F_7 , montre une réduction très nette des deux arcs principaux par rapport à V_0 . En revanche, les venins du groupe V_2 , dépourvus de fractions F_7 et F_8 et pauvres en fractions F_5 et F_6 , présentent un aspect des arcs de base identique à ceux du

Figure 4.

Analyses immunoelectrophorétiques des venins appartenant aux différents groupes observés.



groupe V_1 , alors que l'importance des arcs anodiques révèle leur richesse en fractions acides (F_1 à F_3). Le groupe V_3 , déficient en fraction F_4 , présente les mêmes arcs que le venin complet (groupe V_0). Enfin, les venins du groupe V_4 , ayant une faible concentration en fractions de F_1 à F_3 , montrent une réduction des arcs anodiques principaux.

L'immun-sérum préparé avec la neurotoxine- α donne un arc de précipitation net avec les venins de *Naja* du groupe V_0 , correspondant aux fractions F_5 , F_6 et F_7 (fig. 4e). L'IS préparé avec la cardiotoxine- γ n'a donné aucun arc de précipitation avec le venin de *Naja* complet (groupe V_0).

La toxicité des différents venins et les doses efficaces de SAV sont données dans le tableau I. La présence de fraction F_7 , même en faible quantité, est associée à une toxicité plus élevée. Par ailleurs, le SAV se révèle d'autant plus efficace que le venin est riche en nombre de fractions.

Tableau I.

Résultats des essais de toxicité et de protection.			
toxine ou venin	fractions absentes ou déficientes	DL ₅₀ (μ g/souris)	DE ₅₀ (quantité μ l neutralisant 3 DL ₅₀)
V_0 (n°33)	venin complet	4,8	33,7
V_1 (n° 134)	F7	3,4	40,1
V_2 (n°144)	F5, F6, F7 et F8	19,05	67,4
V_3	F4	non testé	non testé
V_4 (n°154)	F1, F2 et F3	1,42	56,75
neurotoxine- α		2	non testé
neurotoxine- γ		10,3	non testé

Discussion

L'utilisation de venins individuels provenant de serpents d'élevage et d'ascendance contrôlée nous a paru une méthode propre à étudier la nature de la variabilité biochimique des venins. Elle doit permettre de préciser si la variation est quantitative ou qualitative et de proposer des critères ou une méthode de sélection des venins. Cela nous a guidés dans le

choix des techniques d'analyses que nous avons associées pour répondre à cet objectif.

L'analyse électrophorétique permet de séparer et de caractériser les principales fractions protéiques des venins. Nous avons déterminé un système d'analyse (support, force ionique et pH) séparant un nombre suffisant de fractions pour comparer les échantillons entre eux. L'AE présente toutefois quelques inconvénients liés au fait que la séparation des protéines porte sur un mélange riche et complexe. Les variations individuelles observées dans les distances de migration peuvent être dues : 1) à une différence structurale de la protéine, 2) à un effet stérique, 3) à des liaisons électrostatiques entre les protéines ou 4) à des modifications accidentelles de conditions expérimentales pendant la migration.

L'analyse immuno-électrophorétique permet d'identifier plus précisément certaines fractions et de les localiser par rapport à l'électrophorogramme. Elle est plus sensible et plus spécifique mais d'interprétation plus complexe et largement dépendante des immunosérum employés. Cependant, la méthode de transfert entre le Cellologel® et la gélose a pu masquer certaines fractions dont la concentration était faible.

La toxicité du venin (DL₅₀) est tributaire de la proportion relative des différentes protéines toxiques qu'il contient. Outre que sa sensibilité est faible, son interprétation nécessite d'établir un rapprochement entre la toxicité et la présence de fractions déterminées par l'AE ou l'AIE. Il est admis que la neurotoxine des venins de *Naja* est la principale composante toxique de leur venin (3, 11). La toxicité est donc proportionnelle à la quantité de neurotoxine contenue dans le venin. Ainsi, pour un volume constant de venin, une variation de la DL₅₀ entre plusieurs échantillons traduit une variation de concentration de la neurotoxine entre les échantillons. De plus, la mesure du pouvoir neutralisant d'un SAV (DE₅₀) sur divers échantillons permet de mettre en évidence une différence d'affinité entre SAV et venins qui peut être reliée à une variation soit quantitative soit qualitative de toxine. Les épitopes reconnus lors de la mesure de la DE₅₀ correspondent aux anticorps neutralisants et sont distincts des anticorps précipitants révélés par l'AIE (1). Une toxicité élevée associée à une forte neutralisation du SAV suggère une bonne affinité entre les antigènes toxiques du venin et les anticorps neutralisants du SAV. En revanche, une toxicité importante opposée à un faible pouvoir neutralisant du SAV conduit à supposer que le venin contient des toxines non reconnues par le SAV, soit que ce dernier ait été préparé avec un venin dépourvu de ces toxines soit que celles-ci soient faiblement immunogènes.

La grande similitude des protéinogrammes des venins de *Crotalus atrox* suggère une certaine homogénéité des venins. Toutefois, on observe d'assez grandes variations dans la concentration de certaines fractions du venin. Cela suggère l'existence d'une variation quantitative des protéines du venin (5, 7).

Les venins de *Naja haja* présentent une très grande diversité, y compris entre individus appartenant à une même fratrie. La fraction F_7 s'identifierait à la neurotoxine- α native et les fractions F_5 et F_6 pourraient être soit des neurotoxines dont la migration aurait été modifiée en raison d'interactions électrostatiques ou stériques avec les autres protéines du venin, soit des protéines ayant des épitopes similaires à ceux des neurotoxines, donc reconnus en AIE, mais d'une structure suffisamment différente pour modifier la mobilité électrophorétique. Les venins du groupe V_4 possèdent toutes les fractions basiques auxquelles est associée la neurotoxine- α ; ils présentent la plus forte toxicité. La dose efficace de SAV est élevée, ce qui confirme la présence d'une forte concentration de neurotoxine- α dans le venin.

Les venins du groupe V_1 dont la toxicité est relativement forte, sont très pauvres en fraction F_7 mais contiennent toutes les autres fractions basiques. La DE₅₀ du SAV montre une bonne

protection de ce venin par le SAV. Cela indique que les propriétés toxiques et immunologiques de ces fractions basiques sont neutralisées par le SAV. On peut penser qu'elles ont une toxicité et des propriétés immunologiques très proches de celles de la neurotoxine- α mais qu'elles en diffèrent par la structure.

En revanche, les venins du groupe V_2 , dépourvus de la plupart des fractions basiques, notamment F_7 et F_8 , sont les moins toxiques. L'AIE montre un arc cathodique proche de la position typique mais de faible densité et légèrement décalé vers l'anode, ce qui fait douter de son identité (fig. 4b). Paradoxalement, la capacité neutralisante du SAV est la plus faible. Ces résultats suggèrent que la toxicité des venins de ce groupe est liée à une substance distincte des neurotoxines et absente du venin qui a permis la fabrication du SAV ou présentant une faible immunogénicité.

Enfin, le venin possédant toutes les fractions (groupe V_0) présente une toxicité importante. La bonne neutralisation par le SAV confirme son excellente adéquation pour ce venin.

De ces résultats, on peut supposer que la forte neurotoxicité des venins V_0 , V_1 et V_4 , riches en protéines basiques, est probablement associée à la fraction F_7 et, dans une moindre mesure, aux fractions F_5 à F_8 . La variabilité de l'efficacité du SAV, du même ordre de grandeur pour V_0 et V_1 et inférieure de moitié pour V_4 , pourrait être liée à la concentration du venin en neurotoxine. L'hypothèse d'une variation très légère de composition de la neurotoxine dans le groupe V_1 mais n'affectant pas ses propriétés pharmacologiques (toxique) ou immunologique (protection du SAV) est vraisemblable mais non démontrée. L'absence de protéine basique dans les venins du groupe V_2 , associée à une faible toxicité, peut être interprétée soit comme une déficience totale en neurotoxine, soit comme une mutation importante de la neurotoxine affectant l'ensemble de ses propriétés biochimiques (migration électrophorétique), pharmacologiques (faible toxicité) et immunologiques (faible protection par le SAV).

L'absence d'arc en présence d'IS anti-cardiotoxine- γ , alors que les venins de *Naja haje* sont riches en cardiotoxines, indique que la parenté immunologique entre les cardiotoxines de *N. haje* et celles de *N. nigricollis* sont faibles. Ceci est à opposer à la paraspécificité de l'IS anti-neurotoxine- α , préparée également à partir du venin de *N. nigricollis* et qui reconnaît parfaitement la neurotoxine de *N. haje*.

L'origine génétique de la variabilité des venins n'est pas surprenante, même si l'on sait que d'autres facteurs interviennent pour l'expliquer (5, 6). MEBS *et al.* (8) ont mis en évidence l'existence d'une fraction basique chez les femelles de *Crotalus adamanteus*, absente chez les mâles. Une constatation similaire a été faite par DALTRY *et al.* (6) chez *Calloselasma rhodostoma*. THEAKSTON et REID (10) ont montré, chez un même spécimen de *Crotalus atrox*, une variation de toxicité en fonction de l'âge, tandis que WILLIAMS et WHITE (12) ont décrit une variation d'activités enzymatiques chez un spécimen de *Pseudohaje textilis* au cours de l'année. Enfin, DALTRY *et al.* (7) ont récemment montré que la variation biochimique des venins de *Calloselasma rhodostoma* était fortement corrélée au régime alimentaire des populations étudiées.

Conclusion

La variabilité biochimique des venins de serpent porte certainement sur la concentration des différentes fractions. Il est également possible qu'elle concerne la structure biochimique de certaines protéines. Dans le premier cas, on peut incriminer l'expression de gènes à pénétrance variable. Les secondes pourraient s'expliquer par des gènes multialléliques dont le mode de transmission reste à découvrir.

Au plan théorique, il reste à confirmer par des techniques d'analyse plus sophistiquées qu'une même toxine peut être représentée par plusieurs variants dans le venin d'individus distincts appartenant à la même espèce.

Au plan pratique, le choix du venin devant servir à la fabrication des sérums antivenimeux sera raisonné plutôt qu'aléatoire. Il faut, en effet, que ce venin possède un maximum de fractions pour pouvoir représenter le plus grand nombre de variants. Par ailleurs, sa toxicité doit être aussi réduite que possible pour éviter une trop forte représentation des protéines les plus toxiques, sous réserve que ces dernières soient fortement immunogènes, par rapport aux autres substances toxicologiquement actives.

Références bibliographiques

- BOULAIN JC, FROMAGEOT P & MENEZ A - Further evidence showing that neurotoxin-acetylcholine receptor dissociation is accelerated by monoclonal neurotoxin-specific immunoglobulin. *Mol Immunol*, 1985, **22**, 553-556.
- CHIPPAUX JP - Les morsures de serpents en Afrique inter-tropicale. *Cahiers Santé*, 1992, **2**, 221-234.
- CHIPPAUX JP & GOYFFON M - Production and use of snake antivenom. In: Reptiles and Amphibian Venoms « Handbook of natural toxins - AT TU Ed, M Dekker, Inc, 1991, Vol. 5, 529-555.
- CHIPPAUX JP & GOYFFON M - La sérothérapie antivenimeuse : ses applications, ses limites, son avenir. *Bull Soc Path Ex*, 1991, **84**, 286-296.
- CHIPPAUX JP, WILLIAMS V & WHITE J - Snake venom variability: Methods of study, results and interpretation. *Toxicon*, 1991, **29**, 1279-1303.
- DALTRY JC, PONNUDURAI G, SHIN CK, TAN N-H, THORPE RS & WÜSTER W - Electrophoretic profiles and biological activities : intraspecific variation in the venom of the Malayan pit viper (*Calloselasma rhodostoma*). *Toxicon*, 1996, **34**, 67-80.
- DALTRY JC, WÜSTER W & THORPE R S - Diet and snake venom evolution. *Nature*, 1996, **379**, 537-540.
- MEBS D & KORNALIK F - Intraspecific variations in content of a basic toxin in eastern diamondback rattlesnake (*Crotalus adamanteus*) venom. *Toxicon*, 1984, **22**, 831-833.
- THEAKSTON RDG - Characterization of venoms and standardization of antivenoms. In: Natural Toxins, Animal, Plant and Microbial - JB HARRIS ed, Oxford Univ Press, 1986, 287-303.
- THEAKSTON RDG & REID HA - Changes in the biological properties of venom from *Crotalus atrox* with ageing. *Period Biol*, 1978, **80**, 123-133.
- TU AT - Reptiles and Amphibian Venoms « Handbook of natural toxins», AT TU Ed, M Dekker, Inc, 1991, Vol. 5.
- WILLIAMS V & WHITE J - Variation in the composition of the venom from a single specimen of *Pseudonaja textilis* (common brown snake) over one year. *Toxicon*, 1992, **30**, 202-206.

ISSN: 0037-9085 pole 2

BULLETIN

DE LA

SOCIÉTÉ

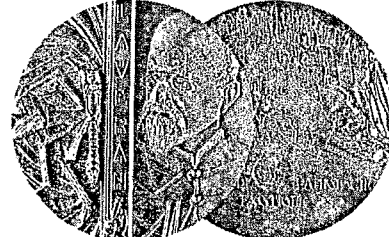
DE

PATHOLOGIE
EXOTIQUE

FONDÉE EN 1908 PAR ALPHONSE LAVERAN
PRIX NOBEL 1907

1997

3 ex
277 →
182 →



T. 90, 1997, N° 4
Parution Novembre 1997

PM 304
22 DEC. 1997
Santé