

Aspects actuels et futurs de l'immunothérapie antivenimeuse

J.-P. CHIPPAUX, M. GOYFFON



Fonds Documentaire IRD

Cote: B*26121 Ex: unique

Points essentiels

- La préparation des sérums antivenimeux (SAV) a connu des améliorations successives : élimination des protéines non immunes, protéolyse ménagée des immunoglobulines G.
- Les SAV actuels sont le plus souvent présentés sous la forme de fragments $F(ab')_2$ dont les propriétés biologiques restent voisines de celles des IgG d'origine.
- Il est possible de préparer des fragments Fab de masse molaire inférieure, aux propriétés biologiques différentes. Le choix entre ceux-ci et les $F(ab')_2$ n'est pas encore tranché.
- La stabilité des SAV conservés au froid à 4°C et à l'abri de la lumière est excellente. La forme lyophilisée est rarement disponible.
- Les méthodes de purification et de protéolyse ont considérablement amélioré la tolérance des SAV.
- En l'absence de technique de routine permettant de doser la quantité de venin présente dans l'organisme, l'utilisation des SAV reste encore largement empirique. La voie veineuse est la plus efficace et la mieux contrôlée.
- Des améliorations peuvent encore être apportées : choix des antigènes, préparation d'immunoglobulines spécifiques purifiées, préparation d'anticorps recombinants spécifiques, traitements adjuvants potentialisant l'action des anticorps, adaptation des doses administrées aux quantités d'antigènes circulants.

Découverte il y a un peu plus d'un siècle, la sérothérapie est le seul traitement spécifique des envenimements. La sérothérapie se fonde sur le transfert de l'immunité passive, c'est-à-dire les propriétés d'un anticorps spécifique préalablement fabriqué par un organisme tiers et injecté à la victime d'un envenimement. L'évolution technologique récente des anticorps hétérologues utilisés en thérapeutiques devrait conduire à un changement radical du traitement des morsures de serpents. Le haut

niveau de pureté des fragments d'immunoglobulines utilisés dans l'immunothérapie moderne permet d'élargir ses indications et de simplifier les procédures d'administration. De nouvelles améliorations encore possibles renforceront l'efficacité de l'immunothérapie.

Fabrication des sérums antivenimeux (SAV)

Les anticorps sont fabriqués par un animal à qui est inoculé du venin en quantité croissante associé à un adjuvant favorisant la présentation des antigènes au système immunitaire. Généralement, on immunise l'animal contre un ensemble de venins provenant des espèces venimeuses les plus fréquentes dans une région.

Autrefois utilisés bruts, les sérums ont connu des améliorations successives en vue d'une plus grande efficacité et d'une meilleure tolérance. Cellules sanguines et protéines non immunes sont éliminées respectivement par centrifugation, puis par précipitation au sulfate d'ammonium. Les immunoglobulines sont traitées par protéolyse ménagée (Fig. 1). L'immunoglobuline G (IgG) est une protéine volumineuse de masse molaire égale à environ 150 kDa, qui se compose de deux fragments Fab (fragment antigen binding) thermostables porteurs de la spécificité immunologique et d'un fragment Fc thermolabile réagissant avec le complément. Une digestion par la pepsine libère le fragment F(ab')₂, de masse molaire moyenne de 90 kDa et porteurs de deux sites de fixation de l'antigène, comme l'immunoglobuline native. Un traitement par la papaïne sépare le fragment Fc des fragments Fab individualisés, de masse molaire moyenne de 50 kDa et porteurs, chacun, 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 ou au fragment F(ab')₂.

Avant le conditionnement final, le produit obtenu subit alors divers contrôles :

- bactériologiques par ensemencement de milieux de culture appropriés ;
- toxicologiques par inoculation chez l'animal pour vérifier l'absence de pyrogène ;
- immunologiques pour mesurer l'efficacité protectrice [1].

La stabilité des fragments d'immunoglobulines est bonne sous réserve de respecter quelques précautions. Sous forme liquide, les sérums doivent être conservés au réfrigérateur à + 4°C, ce qui est parfois malaisé en période estivale ou en zone tropicale. Toutefois, ils restent stables à température ambiante pourvu qu'ils soient à l'abri de la lumière pendant plusieurs semaines [2, 3]. Lorsqu'ils sont conservés dans des conditions correctes, les fragments d'immunoglobulines gardent intactes leurs propriétés au moins 5 ans sous forme liquide et davantage sous forme lyophilisée : les normes réglementaires sont bien en deçà des observations expérimentales.

Mode d'action et base de l'efficacité de l'immunothérapie

La fixation du complément aux anticorps correspond à la formation de l'immun-complexe, insoluble donc précipitant, ce qui favorise son élimination par les cellules phagocytaires du foie, de la rate et des poumons. La neutralisation de l'antigène, également liée à l'action des anticorps, est une propriété distincte de la précipitation. La neutralisation traduit un changement structurel empêchant le fonc-

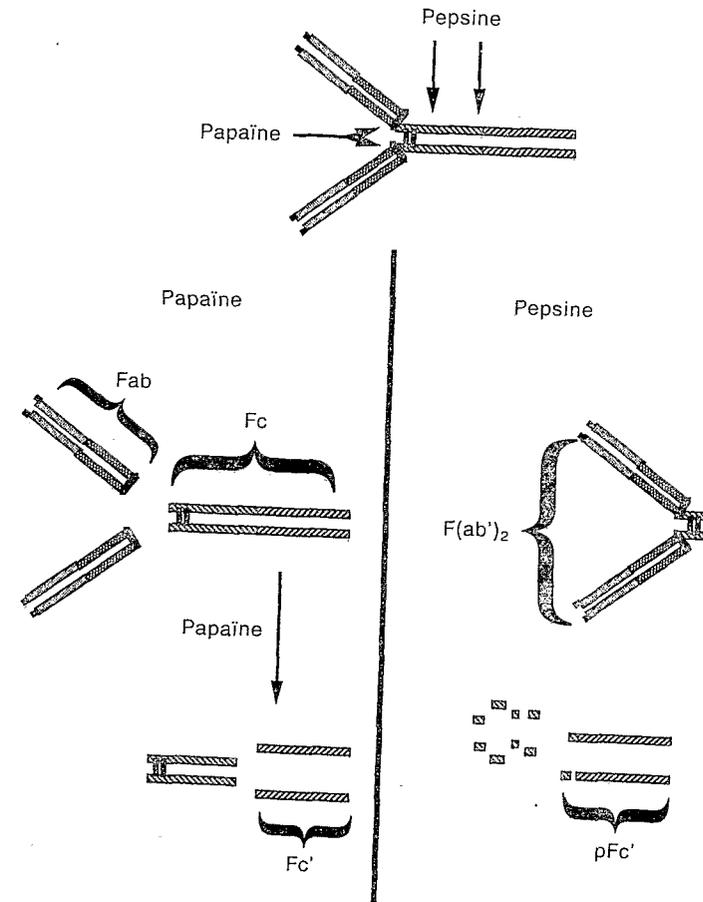


Fig. 1 - Clivage de l'IgG.

tionnement normal de l'antigène natif. Si le changement structurel affecte le site actif de l'antigène, l'activité de ce dernier sera modifiée. Boulain, Menez [4] et Boulain *et al.* [5] ont pu reconnaître deux types d'anticorps :

- les anticorps protecteurs qui reconnaissent un épitope proche du site toxique de l'antigène et empêchent sa fixation sur le récepteur ; cette fonction est assurée par des anticorps polyclonaux et est exploitée au cours de l'immunothérapie ;
 - les anticorps curatifs, capables de distinguer un épitope éloigné du site actif et qui peuvent se lier à l'antigène, alors même qu'il est déjà accroché à son récepteur, pour l'en arracher ; cette propriété a été démontrée à l'aide d'anticorps monoclonaux.
- On sait maintenant que la plupart des substances toxiques diffusent préférentiellement dans les tissus profonds où elles sont en concentration 2 à 3 fois plus

importante que dans le sang (Tab. I et Fig. 2). Le venin traverse très rapidement les tissus superficiels où le pic est atteint en 15 ou 20 minutes avec les venins de *Naja* par exemple [6]. Dans les tissus profonds, le pic de venin est atteint en 2 à 4 heures selon les venins. Ceci explique l'apparition des troubles cliniques entre 30 minutes et 1 heure [7]. On observe ensuite un phénomène de redistribution du venin à partir des tissus profonds vers le sang pour lequel le venin présente généralement une affinité moins grande. Cette redistribution est probablement favorisée par l'élimination du venin. À ce phénomène pourrait s'ajouter une libération lente du venin à partir du siège de la morsure.

Tableau I
Comparaison entre IgG, F(ab')₂, F(ab).

Propriétés	IgG	F(ab') ₂	F(ab)
Obtention	Précipitation	Précipitation + pepsine	Précipitation + papaïne
Distribution	> 3 heures	3 heures	1 heure
Élimination	> 100 heures	60 heures	10 heures
Affinité tissulaire	1	2	5
Fixation du complément	Oui	Non*	Non
Affinité immunologique	1 à 2	1 à 2	1
Excrétion	Cellules immuno-compétentes	Cellules immuno-compétentes	Rénale

* Activation du complément par la voie alterne.

Il faut donc que les anticorps diffusent également dans les tissus profonds ou qu'ils exercent un phénomène d'attraction du venin vers le sang en facilitant l'élimination du venin qui s'y trouve (Fig. 2). Les anticorps présentent une affinité plus faible pour les tissus et une distribution nettement plus lente que la plupart des constituants des venins. La concentration maximale des IgG est atteinte en 6 heures dans les tissus superficiels et 30 heures pour les tissus profonds [6]. Les F(ab')₂ diffusent mieux et plus rapidement : en 1 heure dans les tissus superficiels et 6 heures dans les tissus profonds. Cela est parfaitement illustré par la démonstration de l'équipe de C. Bon *et al.* [8] qui montre la redistribution du venin dans le sang au cours de l'immunothérapie. On comprend dès lors que :

- les anticorps doivent être en excès dans le sang pour « aspirer » le venin des tissus ;

- la persistance des anticorps dans le sang doit être suffisamment longue pour permettre l'élimination du venin fixé aux tissus (3 à 10 jours selon les espèces et les auteurs) ;

- plus le délai entre la pénétration du venin et l'administration des anticorps est important, plus la quantité d'anticorps devra être élevée.

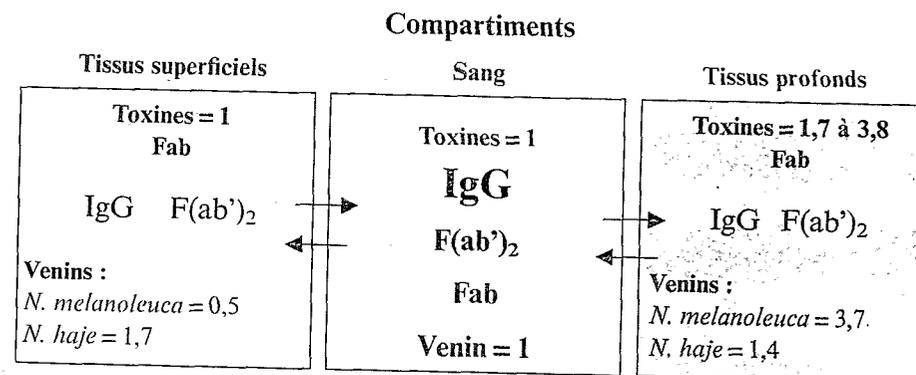


Fig. 2 - Diffusion du venin et du SAV (d'après Ismail *et al.*, 1996).

Effets secondaires de l'immunothérapie

Les réactions secondaires observées au cours de l'immunothérapie sont dues à l'administration de protéines étrangères (hypersensibilité de type I), à la sensibilisation préalable du patient au sérum de cheval (d'hypersensibilité de type III ou IV selon le délai d'apparition) ou à la présence de complexes immuns difficilement éliminés par l'organisme (Tab. II). Ces réactions sont en général bénignes, surtout les réactions d'hypersensibilité de type I, mais elles peuvent parfois avoir un caractère brutal (anaphylaxie).

Les réactions précoces apparaissent soit chez des sujets sensibilisés, ayant reçu antérieurement une immunothérapie antivenimeuse ou antitoxinique (sérum antitétanique, par exemple), soit chez des sujets vierges de toute immunothérapie anté-

Tableau II
Hypersensibilité.

	Anticorps	Antigènes	Cellules	Mécanismes
HS I	IgE	Non spécifiques	Mastocytes	Libération d'histamine
HS II	IgG/IgM	Cellulaires	Cellules K	Activation du C' (cytotoxicité)
HS III	IgG/IgM	Solubles	Polynucléaires	Activation du C' saturation complexes immuns
HS IV	-	Variables	Lymphocytes T	Libération des lymphokines

rieure. Dans le premier cas, on parlera de réaction anaphylactique, dans le second de réaction anaphylactoïde [9]. 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 [10].

Les réactions tardives sont plus mal connues que les précédentes. Les anticorps hétérologues du SAV demandent environ 3 semaines pour être éliminés de l'organisme qui, pendant ce temps, produit ses propres anticorps dirigés contre l'ensemble des antigènes circulants (venins et anticorps hétérologues). Dans certains cas, des complexes précipitants vont se former rapidement, d'où le nom de « maladie du 9^e jour » donné parfois à cette réaction tardive encore connue sous le nom de « maladie sérique » ou « maladie des complexes immuns » [11]. 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 2 à 4 jours. Le traitement est en général inutile. Si les symptômes sont accentués, on peut recourir aux corticoïdes ou aux antihistaminiques. Cependant ce type d'accident, comme le précédent, constitue une contre-indication à une immunothérapie 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 [12]. Un récent essai clinique effectué avec un F(ab')₂ administré par voie veineuse a montré que l'incidence des effets secondaires graves était inférieure à 1% [13]. On considère généralement que la valeur prédictive des tests cutanés ou conjonctivaux n'est pas satisfaisante [14]. Par ailleurs, un test positif ne dispense pas d'une immunothérapie si l'état clinique du malade la justifie. Aussi ces tests tendent-ils à être abandonnés.

Choix du type d'anticorps (Tab. I)

En dehors des considérations techniques et financières, deux critères fondent le choix du type d'anticorps :

- l'efficacité, liée à l'affinité des anticorps pour le venin, la rapidité de diffusion au niveau des tissus où se trouve le venin, leur persistance dans l'organisme et leur mode d'élimination ;
- la tolérance clinique.

La concentration maximale des IgG est atteinte en 6 heures dans les tissus superficiels et 30 heures pour les tissus profonds [6]. Les F(ab')₂ diffusent donc mieux et plus rapidement que les IgG : en 1 heure dans les tissus superficiels et 6 heures dans les tissus profonds [6]. La demi-vie des F(ab')₂ est d'environ 50 heures [15]. Le filtre glomérulaire rénal étant imperméable aux molécules de masse molaire supérieure à 50-60 kDa, les anticorps sous forme d'IgG ou de F(ab')₂ seront éliminés par les cellules du système immunitaire. En ce qui concerne les fragments Fab, ils ont une élimination 10 à 20 fois plus rapide que celle des IgG [16, 17] et ont un volume de distribution 5 fois supérieur au compartiment vasculaire [18, 19]. Par ailleurs, ils se situent au seuil de filtration rénale et sont éliminés par les urines.

L'utilisation des IgG totales présente des inconvénients majeurs. La quantité de protéines injectée est élevée et la fraction Fc des IgG fixe le complément entraînant des réactions secondaires importantes. Le choix du fragment F(ab')₂ ou Fab n'est pas évident et les avantages doivent être comparés aux inconvénients respectifs (Tab. I). Le fragment Fab est *a priori* le mieux toléré et son pouvoir neutralisant a été largement confirmé [20, 21]. En revanche, son excellente diffusion dans les tissus profonds semble favoriser le maintien des complexes immuns à ce niveau, ce qui retarde leur élimination [19] et accroît le risque de lésions profondes. Par ailleurs, la demi-vie brève des Fab libres réduit leur durée d'action. Enfin, l'excrétion par voie urinaire de complexes immuns venin-Fab est lente, voire difficile et peut entraîner des lésions rénales que l'utilisation des F(ab')₂ permet d'éviter [18, 22].

La purification des anticorps permet de réduire considérablement le risque d'effets secondaires. L'emploi d'un animal autre que le cheval est avancé par certains auteurs comme un facteur capable de réduire significativement le risque de réactions d'hypersensibilité.

De récents essais cliniques menés avec des F(ab')₂ hautement purifiés ont confirmé que leur tolérance était excellente, y compris en injection intraveineuse directe, ce qu'une envenimation sévère peut nécessiter [23, 24].

On sait que les IgGT de cheval, responsables de l'activité neutralisante, sont fortement sensibilisantes. Il a donc été proposé de remplacer le cheval par le mouton ou la chèvre dont les IgG ont également un fort pouvoir neutralisant. Les agents transmissibles non conventionnels (tremblante du mouton) induisent, en France du moins, de fortes réticences à utiliser ces animaux. En l'état actuel des connaissances, mieux vaut sans doute aussi éviter les bovidés, au reste exceptionnellement utilisés pour des sérums thérapeutiques. Dans ce contexte particulier des ATNC, la possibilité d'obtenir des anticorps neutralisants chez la poule mérite attention [25, 26]. 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. Toutefois, les IgG de poules sont fortement allergisantes et le rendement général apparaît nettement plus faible que chez le cheval [27].

Application pratique de l'immunothérapie

Si l'efficacité expérimentale de l'immunothérapie est parfaitement démontrée, son utilisation pratique reste encore largement empirique. L'efficacité de l'immunothérapie, donc sa posologie, dépend essentiellement du titre en anticorps, de leur spécificité, de leur vitesse de diffusion dans l'organisme et de la quantité de venin inoculée. Bien entendu, le délai entre la pénétration du venin et la mise en route du traitement est important à considérer. On ignore généralement la quantité exacte de venin injectée par l'agresseur, mais la symptomatologie peut en permettre une évaluation relativement fiable. L'apparition de méthodes de dosage *in vitro* de venin circulant devrait faciliter l'appréciation de la quantité de venin injectée et donc permettre de préciser la posologie nécessaire dans chaque cas. La voie d'administration intraveineuse a conduit à une nette amélioration des performances thérapeutiques. Enfin, l'utilisation de médicaments symptomatiques, antagonistes ou non du venin, permet de potentialiser le SAV.

Avenir de l'immunothérapie

Diverses solutions peuvent être envisagées pour améliorer l'immunothérapie afin d'obtenir une plus grande efficacité et une sécurité d'emploi accrue.

La production peut être améliorée par un meilleur choix de venins ou des procédés d'immunisation plus efficaces (liposomes, microsphères, adjuvants [28]).

La purification des anticorps peut être augmentée par immuno-affinité qui permet de ne retenir que les anticorps spécifiquement dirigés contre le venin, la fragmentation des anticorps ou l'obtention de fragments par biologie moléculaire (fragment Fv, anticorps monoclonaux).

L'utilisation d'autres espèces que les équidés pour la fabrication des anticorps a été discutée.

Enfin, il est possible d'améliorer les protocoles thérapeutiques en mesurant les quantités d'antigènes circulants, en associant des traitements adjuvants qui potentialisent les anticorps et en améliorant la prise en charge des victimes immédiatement après la morsure (information du public et du personnel de santé, premiers soins, évacuations).

La vaccination a été envisagée comme une solution de rechange à l'immunothérapie. Les essais menés au Japon se sont révélés très décevants : la morbidité et la mortalité sont restées inchangées [29, 30]. 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.

Conclusion

Des estimations chiffrent à environ cinq millions le nombre de cas d'envenimations par morsure de serpent dans le monde [31], entraînant de 30 000 à 40 000 décès [32]. Le seul traitement spécifique est l'administration d'anticorps neutralisants, le plus souvent présentés sous forme de fragments F(ab')₂, plus diffusibles dans l'organisme et mieux tolérés. Compte tenu de la purification des sérums, desquels sont éliminés 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, dans l'utilisation de fragments d'anticorps neutralisants et dans la connaissance des cinétiques de diffusion des venins et de l'antivenin. Dans les pays tropicaux, les problèmes liés à la conservation de l'antivenin et au coût de l'immunothérapie 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.

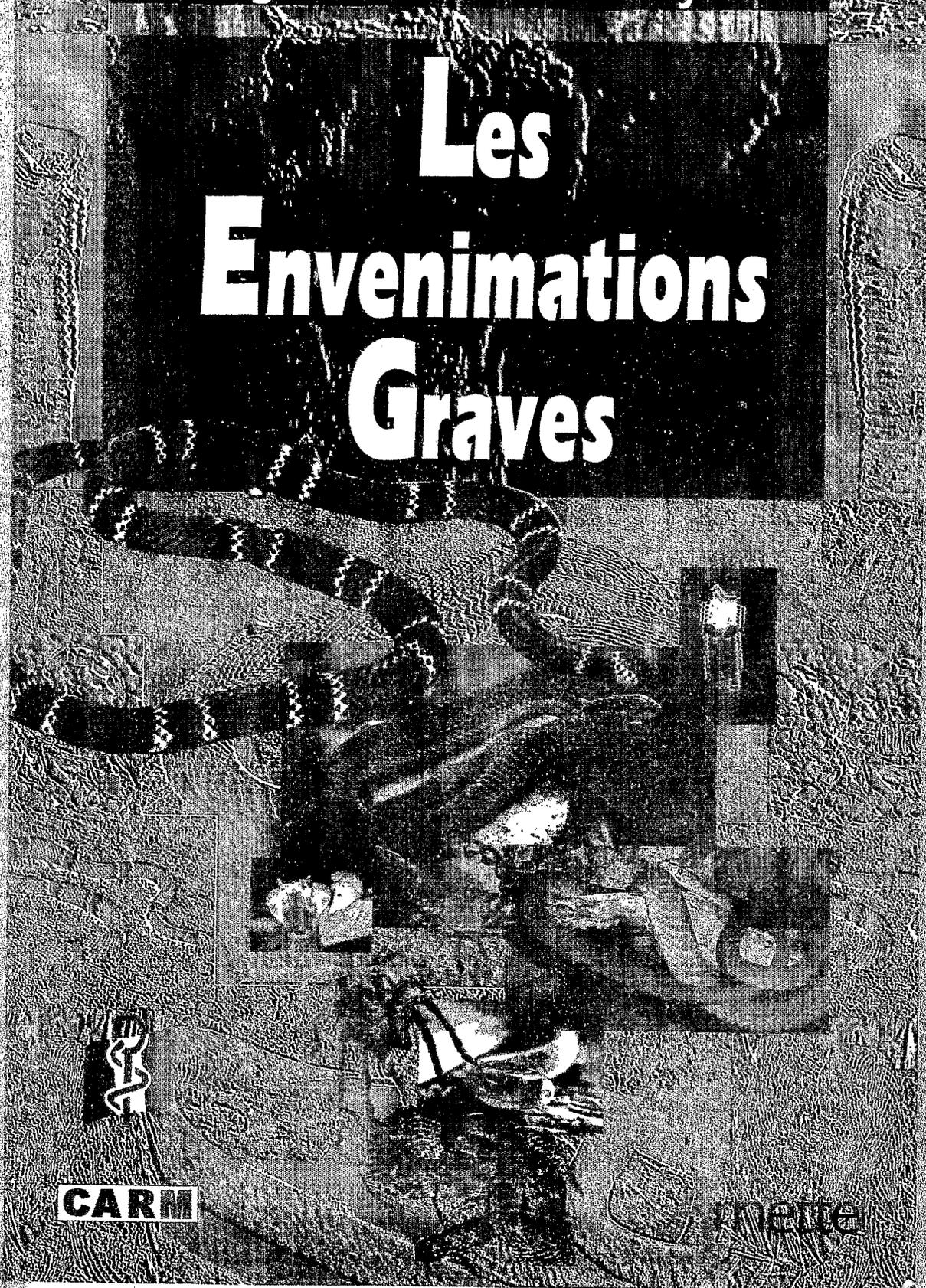
RÉFÉRENCES

- [1] Chippaux JP, Goyffon M. Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon* 1998; 36: 823-46.
- [2] Goyffon M. Données non publiées. 1985.
- [3] Rojas G, Espinoza M, Lomonte B, Gutierrez JM. Effect of storage temperature on the stability of the liquid polyvalent antivenom produced in Costa Rica. *Toxicon* 1990; 28: 101-5.
- [4] Boulain JC, Ménez A. Neurotoxin-specific immunoglobulins accelerate dissociation of the neurotoxin-acetylcholine receptor complex. *Science* 1982; 217: 732-3.
- [5] Boulain JC, Fromageot P, Ménez A. Further evidence showing that neurotoxin-acetylcholine receptor dissociation is accelerated by monoclonal neurotoxin-specific immunoglobulin. *Mol Immunol* 1985; 22: 553-6.
- [6] Ismail M, Aly MHM, Abd-Elsalam MA, Morad AM. A three-compartment open pharmacokinetic model can explain variable toxicities of cobra venoms and their toxins. *Toxicon* 1996; 34: 1011-26.
- [7] Chippaux JP. Les morsures de serpents en Afrique intertropicale. *Cahiers Santé* 1992; 2: 221-34.
- [8] Audebert F, Urtizberea M, Sabouraud A, Scherrmann JM, Bon C. Pharmacokinetics of *Vipera aspis* venom after experimental envenomation in rabbits. *J Pharmacol Exper Ther* 1994; 268: 1512-7.
- [9] David B. Mécanismes immuno-pathologiques liés à l'allergie. *Rev Techn Biol* 1988; 1: 6-20.
- [10] Pugh RNH, Theakston RDG. Antivenom reactions and complement depletion in snake-bite. *Ann Trop Med Parasitol* 1987; 81: 73-5.
- [11] You B, Moneret-Vautrin DA, Grilliat JP. Données actuelles sur la maladie sérique. La vascularite iatrogène bénigne. *Conc Med* 1983; 105: 4851-61.
- [12] Chippaux JP, Goyffon M. Production and use of snake antivenin. In: *Reptile venoms and toxins* (AT Tu). New York: M Dekker Inc, 1991; 5: 529-55.
- [13] Chippaux JP, Lang J, Amaddi Eddine S, Fagot P, Rage V, Le Mener V, VAO Investigators. Clinical safety and efficacy of a polyvalent F(ab')₂ equine antivenom in 223 African snake envenomations: a field trial in Cameroon. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997; 92: 657-62.
- [14] Malasit P, Warrell DA, Chanthavanich P, Viravan C, Mongkolsapaya J, Singthong B *et al*. Prediction, prevention, and mechanism of early (anaphylactic) antivenom reactions in victims of snake bites. *Brit Med J* 1986; 292: 17-20.
- [15] Pépin-Covatta S, Lutsch C, Grandgeorge M, Lang J, Scherrmann JM. Immunoreactivity and pharmacokinetics of horse anti-scorpion venom F(ab')₂-scorpion venom interaction. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996; 141: 272-7.
- [16] Smith TW, Lloyd BL, Spicer N, Haber E. Immunogenicity and kinetics of distribution and elimination of sheep digoxin-specific IgG and Fab fragments in the rabbit and the baboon. *Clin Exp Immunol* 1979; 36: 384-96.
- [17] Scherrmann JM, Pépin S. Biodynamics of antigen-antibody neutralization in vivo. In: *Envenomings and their treatments*. Bon C, Goyffon M, eds. Lyon: Fondation Marcel Méricieux. 1996: 109-15.
- [18] Scherrmann JM. Antibody treatment of toxin poisoning: recent advances. *Clin Toxicol* 1994; 32: 363-75.
- [19] Rivière G, Choumet V, Audebert F, Sabouraud A, Debray M, Scherrmann JM *et al*. Effect of antivenom on venom pharmacokinetics in experimentally envenomed rabbits: towards an optimization of antivenom therapy. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 281: 1-8.
- [20] Choumet V, Jiang M, Radvanyi F, Ownby C, Bon C. Neutralization of lethal potency and inhibition of enzymatic activity of a phospholipase A2 neurotoxin, crotoxin, by non-precipitating antibodies (Fab). *FEBS Lett* 1989; 244: 167-73.
- [21] Smith DC, Reddi KR, Laing G, Theakston RDG, Landon J. An affinity purified ovine antivenom for the treatment of *Vipera berus* envenoming. *Toxicon* 1992; 30: 865-71.
- [22] Timsina MP, Hewick DS. Digoxin-specific Fab fragments impair renal function in the rabbit. *J Pharm Pharmacol* 1992; 44: 867-9.
- [23] Chippaux JP. Snake-bites: appraisal of the global situation. *Bull WHO* 1998; 76: 515-24.
- [24] Chippaux JP. L'envenimation ophidienne en Afrique : épidémiologie, clinique et traitement. *Ann IP/actualités* 1999; 10: 161-71.
- [25] Thalley BS, Carroll SB. Rattlesnake and scorpion antivenoms from the egg yolks of immunized hens. *Bio/Technol* 1990; 8: 934-8.

- [26] Carroll SB, Thalley BS, Theakston RDG, Laing G. Comparison of the purity and efficacy of affinity purified avian antivenoms with commercial equine crotalid antivenoms. *Toxicon* 1992; **30**: 1017-25.
- [27] Wilde H, Thipkong P, Sitprija V, Chaiyabutr N. Heterologous antisera and antivenoms are essential biologicals: perspectives on a worldwide crisis. *Ann Intern Med* 1996; **125**: 233-6.
- [28] Nkinin SW, Chippaux JP, 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* (sous presse).
- [29] Sawai Y. Vaccination against snake bite poisoning. In: Snake venoms (CY Lee). Berlin: Springer Verlag, 1979: 881-97.
- [30] OMS. Caractérisation des venins et standardisation des sérums antivenimeux: progrès réalisés. *Publ Offset* 1981; **58**: 49.
- [31] Chippaux JP, Goyffon M. La sérothérapie antivenimeuse : ses applications, ses limites, son avenir. *Bull Soc Path Ex* 1991 **84**: 286-97.
- [32] Warrell DA. Clinical features of envenoming from snake bites. In: Envenomings and their treatments. Bon C, Goyffon M, eds. Lyon: Fondation Marcel Mérieux 1996: 63-76.

Georges Mion & Max Goyffon

Les Envenimations Graves



CARM

matte

G. MION, M. GOYFFON

Coordonnateurs

LES ENVENIMATIONS GRAVES

Avec la collaboration de

*F. Abroug, L. Besbes-Ouanes E. Cantais, J.-P. Carpentier,
J.-P. Chippaux, V. Choumet, H. Darbon, L. de Haro,
M. Goyffon, B. Lenoir, A. Ménez, G. Mion, S. Nourira,
F. Olive, B. Palmier, D. Petit, E. Peytel, L. Pollet,
C. Ponchel, J.-F. Quinot, B. Rouvin, M. Rüttimann,
R. Saby, J.-M. Saïssy, M. Sorkine, J.-C. Tortosa*

Préface : J.-M. Saïssy

Arnette

Rueil - Palmarion

2000