

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Biochimie

Spécialité : Biochimie

THEME

Herpeto-Terrario (sérum antivenimeux et
immunothérapie)

Promoteur :

M^{elle} MOUANE Aicha

Présenté par :

BEN AMARA Maroua
MANSOURI Chifa
ZERROUK Safa

Année universitaire 2012/2013

REMERCIEMENTS

Avant toute chose nous remercions Dieu le tous puissant, qui nous a ouvert les portes du savoir et qui nous a donné la force et la volonté de poursuivre nos études.

Au terme de cette étude nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous ceux qui ont par leur aide et leur amitié contribué à la réalisation de ce travail.

Notre gratitude s'adresse:

- ❖ *En premier, Nos sincères remerciements chaleureusement à M^{elle} MOUANE. Aicha, notre promotrice, pour avoir accepté de gérer ce travail, mis à notre disposition, un ensemble des documents indispensable pour la réalisation de ce mémoire, et surtout pour son soutien, sans lequel, cet exploit n'aurait pas vu le jour. Qu'elle trouve ici l'expression de notre reconnaissance.*
- ❖ *Nos sincères remerciements également Président et Examineurs de la jury, et la Direction et au corps enseignant de faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie cellulaire et moléculaire pour la qualité des formations données.*
- ❖ *Nos vifs remerciements Directions et à tous les personnes : l'institut de pasteur parmi l'Amir Hanane, Bou hadaa Mounire, Alli Tikelle... et l'université de Houari Boumediene Bâb Zouar de l'algie.*

Merci aussi, à tous ceux qui, de près ou de loin, ont bien voulu nous aider à mener ce travail à bonne fin.

Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATNC : Agent Transmissible Non Conventionnel.

C° : Degré centigrade,(degré Celsius).

Cm : Centimètre.

DL05 : Dose létale 05.

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay.

Fc : Fragment complément.

KDa : Kilo Dalton.

Km : Kilomètre carré.

L. max : Longueur maximale .

LC : Longueur du corps(du bout du museau au début de la queue).

LQ : Longueur de la queue.

LT : Longueur totale (du bout du museau à la nageoire caudale, ou à l'extrémité vertébrale).

m: Indique une mesure moyenne.

mm : Millimètre.

P_H : Potentiel hydrogène.

S.A.V : Serum anti venin.

X : Longitude.

Y : L'altitude.

SOMMAIRE

Introduction générale	
Chapitre I : LES VENINS	
I.1. Généralités sur les venins.....	02
I.2. Les venins des serpents.....	02
I.2.1. Définition des serpents.....	02
I.2.2. L'appareil venimeux des serpents.....	03
I.2.3. Composition le venin de serpent.....	03
I.2.3.1. Composition chimique.....	04
I.2.3.1.1. Les Enzymes.....	04
I.2.3.1.2. Toxine.....	08
I.2.3.1.3. Autre composés.....	11
I.3. Synthèse du venin.....	11
I.4. La toxicité du venin.....	11
I.4.1. Mesure de la toxicité.....	11
I.5. Fonction venimeuse.....	12
I.6. Variabilité des venins.....	12
Chapitre II : LES ESPECES VENIMEUSES DANS LA REGION D'EL OUED	
II.1. Présentation Géographique de la région d'étude d'El Oued.....	14
II.1.2. Situation géographique d'El Oued.....	14
II.1.2. Géomorphologie.....	15
II.1.2.1. La région de Souf.....	15
II.1.2.2. La région d'Oued Righ.....	16

II.1.2.3. La région des dépressions.....	16
II.3.3. Le climat.....	16
II.2. Les espèces des serpents venimeuses dans la région d'El Oued.....	17
Chapitre III : LES SERUMS ANTIVENIMEUX	
III.1. Généralité.....	24
III.2. Fabrication des sérums antivenimeux et standardisation.....	24
III.2.1. Immunisation de l'animal.....	25
III.3. Mode d'action et base de l'efficacité de l'immunothérapie.....	27
III.4. Effets secondaires de l'immunothérapie.....	29
III.4.1. Effets précoces.....	29
III.4.2. Effets tardifs.....	30
III.5. Choix du type d'anticorps.....	31
III.6. Standardisation.....	32
III.7. Paraspécificité.....	34
III.8. Vérification du pouvoir neutralisant.....	34
III.9. Conservation des sérums antivenimeux.....	35
III.10. Avenir de l'immunothérapie.....	35
Conclusion générale.....	37
Résumé.....	38
Références bibliographiques.....	39
Annexes.....	47
Résumé et mots-clés	

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Site d'action des phospholipases	05
Figure 2	Site d'action d'Acétylcholinestéras	06
Figure 3	Site d'action de la phosphoestérase	06
Figure 4	Site d'action de la L-amino-acide-oxydase	07
Figure 5	La carte géographique de la wilaya d'El Oued	15
Figure 6	<i>Cerastescerastes</i>	17
Figure 7	<i>Cerastes vipera</i>	20
Figure 8	<i>Echis leucogaster</i>	22
Figure 9	Fractionnement des immunoglobulines thérapeutiques	26
Figure 10	<i>Cerastescerastes</i> (vipera cornue) fréquent des milieux très variés (Hammada, daya, reg, éboulis rocheux, lits d'oueds, dunesest)	47
Figure 11	Les crochets des <i>cerastescerastes</i> en avant du maxillaire mobile (Solénoglyphes)	48
Figure 12	La nutrition de <i>cerastescerastes</i>	49
Figure 13	La reproduction de <i>cerastescerastes</i> (Ovipare)	50
Figure 14	L'habitat des <i>cerastes vipera</i> (Erg)	51
Figure 15	Les crochets des <i>cerastes vipera</i> en avant du maxillaire mobile (Solénoglyphes)	52
Figure 16	La nutrition de <i>cerastes vipera</i>	53

Figure 17	La reproduction de <i>cérastes vipera</i> (Ovovivipare)	54
Figure 18	<i>Echis leucogaster</i> fréquente les zones steppiques	55
Figure 19	La nutrition d' <i>Echis leucogaster</i>	55

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	La classification des espèces venimeuses dans la région d'El Oued	17
Tableau 2	Comparaison entre IgG, F(ab') ₂ , F(ab)	28
Tableau 3	Hypersensibilité	31

Introduction générale

Parmi des nombreux problèmes de santé publique que l'on rencontre dans le monde, les envenimations ophidiennes sont accidentelles et constituent une urgence médico-chirurgicale. Plus des 2,5 millions de morsure surviennent chaque année dans le monde, provoquant plus de 125000 décès (Kohli H. S. *et* Sakuja V.,2003).

D' El' Oued ,les envenimations par morsure de serpents sont principalement dues à trois espèces de *Viperidae* (*Cérestescéastes*, *CéastesVepira*, *Echis leucogaster*).

Les *Viperidae* appartiennent à la classe des reptiles, ordre des squamates, sous ordre des *Ophidiens*. Ils sont dotés d'un appareil venimeux très efficace permettant une injection très profonde du venin(Bellairs A., 1971; Ernest C. H. *et* Zug R.,1999).

Plusieurs études biochimiques ont été réalisées sur les venins de vipères, le fractionnement de ces venin a permis d'identifier les différents enzymes qu'ils contiennent (Hadjam A.*et*Hassen Z.,2008).

Les venin de serpents sont des mélanges complexes de protéines (90-95) toxiques et non toxiques, parmi lesquelles les enzymes ayant plusieurs activités biologiques telles que les activités hémorragiques et myotoxiques(LarabaDjebari F.,1996). Le venin des *Viperidae* est particulièrement riche en enzymes (Laraba Djebari F.,1984). La toxicité du venin injecté provoque des altérations sur les animaux lors de l'immunisation. Pour rendre le venin moins toxique, Plusieurs méthodes ont été appliquées, dont l'irradiation gamma qui présente l'avantage d'atténuer la toxicité du venin tout en maintenant son immunogénicité(Hati R.N. *etal.*,1990).

La sérothérapie en tant que première méthode biologique de traitement spécifique des envenimations vipérines, reste actuellement plus que jamais utilisée dans le monde(Alouf .,1984).

L'objectif de cette étude, la fabrication des sérums antivenimeux .

Dans le premier chapitre, nous présentons le venin et leur composition.

Le deuxième chapitre est consacré à la présentation générale des zones d'étude et les descriptions des espèces venimeux (vipéridé).

Le dernier chapitre connaitre la méthode de fabrication des sérum antivenimeux.

Enfin, une conclusion générale.

CHAPITRE I

Chapitre I : Les venins

I.1. Généralités sur les venins

Le venin est une protéine bioactives de composition complexe; enzymes et toxines nombreuses et variées : quant à leurs structure chimique, poids moléculaire, immunogénicité, activité biologique (Stroble M., 2007).

Sécrétion glandulaire exocrine de type salivaire, injectée par un appareil spécialisé formé de 1 ou plusieurs «crochets» (fangs) de nombre, formes, positions, sophistication très variées selon les espèces (Stroble M., 2007).

Certains composés sont spécifiques à l'espèce de serpent, et d'autres composés sont communs à une ou plusieurs familles (Stroble M., 2007).

Les venins sont capables d'immobiliser ou tuer la proie (Stroble M., 2007).

I.2. Les venins des serpents

I.2.1. Définition des serpents

Un serpent est un reptile à corps cylindrique, très allongé, dépourvu de membre s'apparents, appartenant au groupe des ophidiens. Les serpents (ou ophidiens) ont de nombreuses vertèbres portant des côtes, des yeux protégés par une écaille transparente (sans paupière), une langue bifide et rétractile (Chafiq F. *et al.*, 2011).

Un serpent non venimeux est défini comme tout serpent dépourvu de crochets et de glandes à venin (Fekhaoui M. *et* Mataam A., 2011).

Un serpent venimeux est défini comme tout serpent qui a des crochets et des glandes à venin seuls attributs anatomiques qui les distinguent des serpents non venimeux (Fekhaoui M. *et* Mataam A., 2011).

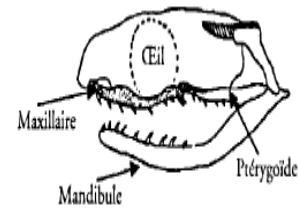
I.2.2. L'appareil venimeux des serpents

L'appareil venimeux est un dispositif complexe qui associe une glande spécialisée synthétisant une sécrétion toxique, le venin, et un dispositif vulnérant, le crochet venimeux, capable d'injecter le venin dans l'organisme de la proie ou de l'agresseur. Chez les serpents, cette fonction est particulièrement élaborée (Chippaux J. P., 2002).

Les serpents ont été divisés en quatre groupes selon leur dentition :

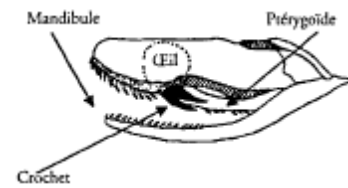
- **Aglyphes**

- Dents pleines ;
- Absence de glande venimeuse (Boas, Pythons et la majorité des couleuvres (Chippaux J. P., 2002).



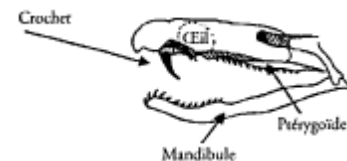
- **Opisthoglyphes**

- Crochets en arrière du maxillaire (au niveau de l'œil) et creusés d'un sillon médian ;
- Présence de glandes venimeuses (Le reste des couleuvres, venin hémotoxique) (Chippaux J. P., 2002).



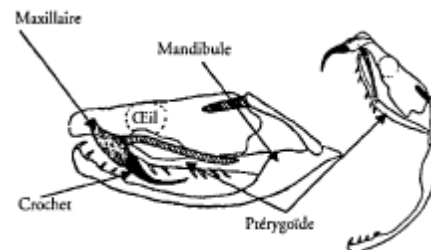
- **Protéroglyphes**

- Crochets en avant du maxillaire qui est fixe ;
- Présence de glandes venimeuses (Cobras et mambas, venin neurotoxique) (Chippaux J. P., 2002).



- **Solénoglyphes**

- Crochets en avant du maxillaire qui est mobile;
- Présence de glandes venimeuses (Vipères et crotales, venin hémotoxique et nécrosant) (Chippaux J. P., 2002).



I.2.3. Composition le venin de serpent

Le venin de serpent est un mélange complexe de protéines sécrétées par des glandes venimeuses qui dérivent de glandes salivaires labiales (Chippaux J. P., 1998). Cette protéines constituent de 90 à 95 du poids sec du venin et sont responsables de la quasi-totalité de ses effets biologique (Bon C., 1991; Chippaux J. P., 2002). Leur fonction première est de participer à l'immobilisation et/ou à la digestion de la proie (). Il faut toutefois remarquer que certains venins contiennent aussi des ions (Zn^{++} , Ca^{++} , Cu^{++} ou Co^{++}) en quantités parfois importantes (Friederich C. et Tu A. T., 1971), ainsi que des composés organiques doués d'activité biologique comme l'histone, la sérotonine et l'acétylcholine (Bieber A. L., 1979).

Le venin natif est séché sous vide ou lyophilisé et peut être conservé en ampoulescellée à basse température plusieurs dizaines d'années, quoique certaines activités enzymatiques semblent s'altérer avec le temps quel que soit le procédé de conservation (Chippaux J. P., 2002).

I.2.3.1. Composition chimique

On peut distinguer deux types de composants dans les venins de serpent, les enzymes et les toxines (Chippaux J. P., 1998), dont le rôle pharmacologique est mieux connu et qui, chez les elapidae et les Atractaspididae d'ailleurs, correspondent à l'essentiel de la toxicité des venins de serpent (Chippaux J. P., 2002).

I.2.3.1.1. Les Enzymes

Les enzymes sont des protéines dont le poids moléculaire est généralement élevé. Leurs propriétés catalytiques qui les distinguent des toxines ont deux conséquences majeures (Chippaux J. P., 2002).

D'une part, le produit de dégradation dont dépend le plus souvent la toxicité n'a, en principe, aucune propriété immunogène au niveau de l'organisme receveur. Il ne permet donc pas la synthèse d'anticorps spécifiques. D'autre part, les effets toxicologiques dépendent plus du temps au cours duquel s'effectue la réaction enzymatique que de la quantité initiale d'enzymes. En effet, celles-ci favorisent une transformation biologique sans être elles-mêmes modifiées, ce qui leur permet de participer à une nouvelle réaction tant qu'elles sont présentes dans l'organisme. Cette amplification est caractéristique de l'action enzymatique, dont les effets toxiques sont donc essentiellement chronodépendants (Chippaux J. P., 2002).

Les venins de serpents sont très riches en enzymes hydrolytiques (phospholipase A₂, phosphodiesterases, 5'-nucléotidases, ribonucléases, désoxyribonucléases hyaluronidases, endopeptidases, peptidase...), qui pourraient jouer un rôle important lors de la digestion des proies (Thomas R. G. et Pough F. H., 1979).

Il est aussi contenu des cholinestérases et des acétylcholinestérases (Iwanaga S. et Suzuki T., 1979); et des peptidases impliquées dans la coagulation du sang (Seegers W. H. et Ouyang. C., 1979); et libération de peptides biologiquement actifs qui possèdent des actions pharmacologiques très importantes (Rothschild A. M. et Rothschild Z., 1979).

➤ Phospholipases

La plupart des venins de serpent contiennent des phospholipases qui hydrolysent les phospholipides libres ou membranaires en acides gras et lysophospholipides (Chippaux J. P., 2002).

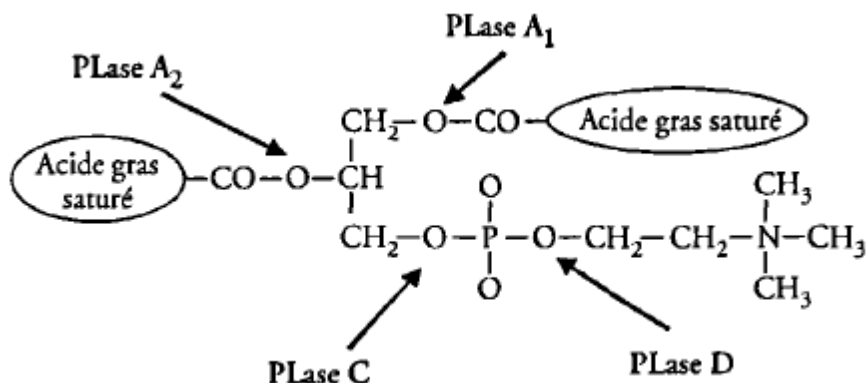


Figure 1 : Site d'action des phospholipases (Chippaux J. P., 2002)

Selon le site de l'hydrolyse, on distingue plusieurs types de phospholipases dans les venins de serpent (Chippaux J. P., 2002). Les phospholipases A₂ est une enzyme présente en quantité très importante dans les venins de vipères. Elle est activée par le calcium (Gasmi *et al.*, 1988; Chippaux J. P. *et al.*, 1999). Les lysophospholipides sont tensioactifs et responsables de destruction cellulaire, notamment d'une hémolyse (Chippaux J. P., 2002). Les phospholipases A₂ qui hydrolysent les glycérophospholipides et la lécithine des membranes cellulaires et sont ainsi responsables de la lyse des globules rouges, lyse que l'on ne retrouve que rarement dans les envenimations humaines (Menton. S. A., 1987). Le poids moléculaire du monomère de base est voisin de 8 kDa, mais une polymérisation de la molécule peut élever le poids moléculaire à 36 kDa (Chippaux J. P., 2002).

➤ Acétylcholinestérase

Les Elapidae possèdent une acétylcholinestérase capable d'hydrolyser l'acétylcholine, qui est le principal médiateur chimique de l'influx nerveux chez les vertébrés (Chippaux J. P., 2002).

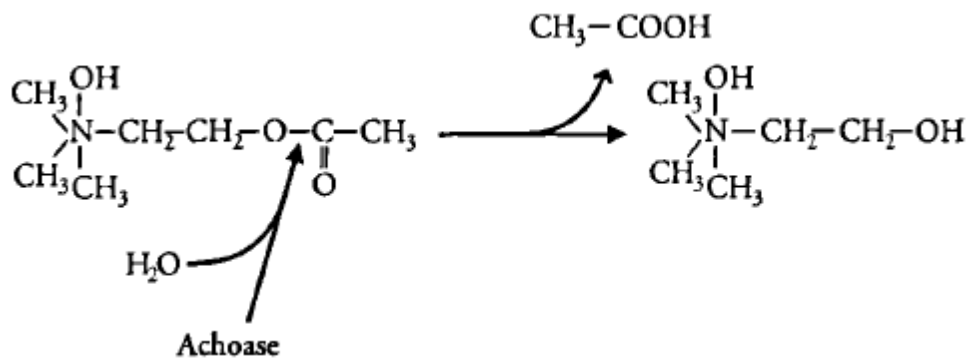


Figure 2 : Site d'action d'Acétylcholinestéras (Chippaux J. P., 2002)

Cette enzyme d'un poids moléculaire de 126 kDa est constituée de deux monomères de 63 kDa et comporte un pont disulfure ; elle est active en milieu basique à pH compris entre 8 et 8,5. Elle joue un rôle essentiel au niveau de la synapse en favorisant le passage de l'influx nerveux jusqu'à la membrane postsynaptique. Elle contribue à l'action neurotoxique complexe des venins d'Elapidae (Chippaux J. P., 2002).

➤ Phosphoestérases

De nombreux venins contiennent diverses phosphoestérases. Les endonucléases hydrolysent les acides nucléiques (ADN et ARN) au niveau des liaisons entre les paires de bases. Les exonucléases attaquent la base située à l'extrémité de la chaîne nucléique. Elles agissent à pH alcalin voisin de 9 ou 10 (Chippaux J. P., 2002).

Les phosphodiéstérases coupent la liaison séparant l'oxygène placé en position 3' du ribose ou du désoxyribose pour séparer ces derniers du phosphore. La 5'nucléotidase effectue une section similaire mais au niveau de la liaison 5' entre le ribose ou le désoxyribose et le phosphore (Chippaux J. P., 2002).

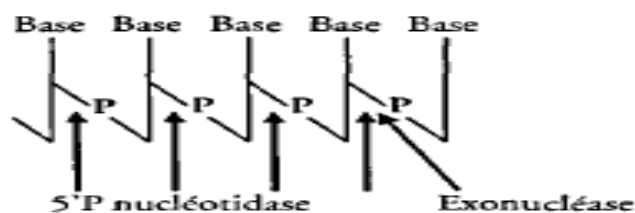


Figure 3: Site d'action de la phosphoestérase (Chippaux J. P., 2002)

Enfin, les phosphomonoestérases sont moins spécifiques et hydrolysent tous les mononucléotides, notamment ceux chargés du transport énergétique au niveau cellulaire (Chippaux J. P., 2002).

➤ L-amino-acide-oxydase

C'est une enzyme qui contient un groupement FAD responsable de la coloration jaune des venins, cette enzyme détache les groupements amines des acides aminés et les transformes en acides cétoniques (Audebert F. *et al.*, 1993).

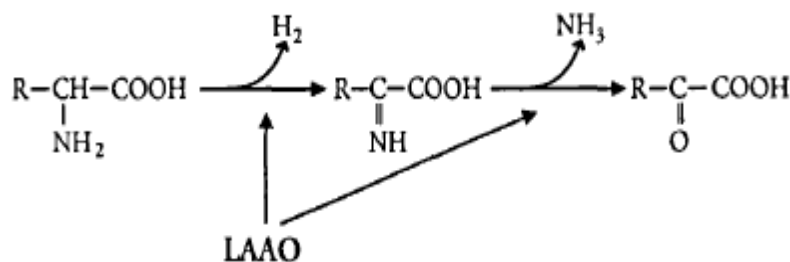


Figure 4 : Site d'action de la L-amino-acide-oxydase (Chippaux J. P., 2002)

Son poids moléculaire est compris entre 85 et 1 53 kDa. La traduction clinique et toxicologique est négligeable ; elle représente moins de 1 % de la toxicité totale du venin, ce qui s'explique par la faible concentration de cette enzyme. Le groupement prosthétique flavine-adénine-dinucléotide de cette enzyme donne sa couleur jaune au venin. (Chippaux J. P., 2002)

➤ Hyaluronidase

Cette enzyme est très fréquente dans la plupart des venins. Les hyaluronidases hydrolysent les mucopolysaccharides tels que l'acide hyaluronique des tissus conjonctifs (Laraba-Djebari F., 1996). Il est donc vraisemblable que cette enzyme favorise la diffusion du venin après son injection lors de la morsure (Chippaux J. P., 2002).

➤ Protéases

Il existe de nombreuses enzymes intervenant sur la structure des protéines. Les enzymes protéolytiques des venins contribuent à la production des nécroses et des hémorragies qui caractérisent certaines envenimations mortelles (Jin Y. *et al.*, 2001; Bortoleo R. K. *et al.*, 2002 ; Samel M. *et al.*, 2002). Elles interviennent aussi bien sur les destructions tissulaires observées au

cours des nécroses que lors de certains phénomènes pharmaco-toxiques comme les troubles de l'hémostase, comme nous le verrons plus loin. S'il est vrai que de nombreuses protéases ne sont pas spécifiques et interviennent sur un grand nombre de résidus différents, certaines de ces enzymes reconnaissent des sites moléculaires particuliers, ce qui en fait des outils particulièrement efficaces pour le diagnostic ou le traitement de certaines affections. (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Enzymes lytiques diverses**

On trouve également de l'amylase en faible quantité, des transaminases, des déshydrogénases dont l'activité pharmacologique et toxique est négligeable en pathologie humaine (Chippaux J. P., 2002).

1.2.3.1.2. Toxines

Les effets toxiques des venins de serpent sont le résultat de l'action conjuguée des toxines qui les composent (Selfanayagam. Z. E. et Gopalakrishnakone. P., 1999). Les toxines sont des protéines de poids moléculaire variable, mais généralement inférieur à 30 kDa, donc plus petites que les enzymes. Elles ont la propriété de se fixer sur un récepteur spécifique, le plus souvent membranaire. Le tropisme des toxines peut être neurologique, cardio-vasculaire, musculaire ou indifférencié selon la distribution anatomique des récepteurs reconnus. L'effet toxicologique est proportionnel au rapport entre la quantité de toxine introduite et celle du récepteur correspondant : il est considéré comme dose-dépendant. D'autres facteurs vont intervenir, notamment la vitesse de diffusion de la toxine, elle-même flottement dépendante de sa taille, et l'affinité de la toxine pour son récepteur (Chippaux J. P., 2002).

Il est à noter que la quantité et la spécificité du récepteur peuvent différer d'une espèce animale à l'autre et, par conséquent, que l'effet est variable selon le modèle expérimental. La résultante de ces facteurs conduit à ce que l'on peut appeler un « effet cible » qui établit, pour une toxine placée dans un modèle donné, une relation linéaire entre la quantité de toxine, le nombre de récepteurs disponibles et les effets pharmacologiques, dont la toxicité (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Neurotoxines postsynaptiques**

Les toxines curarisantes agissent sur la membrane postsynaptique et bloquent la transmission de l'influx nerveux en se fixant directement sur le récepteur de l'acétylcholine (Boulain J. C. et Ménez A., 1982 ; Chippaux J. P., 2002). Elles sont composées d'une seule chaîne polypeptidique de 60 à 74 acides aminés de poids moléculaire moyen d'environ 7 à 8 kDa, repliée en trois boucles dont la rigidité est assurée par des ponts disulfures (Chippaux J. P., 2002). Elles sont

caractéristiques des venins d'Elapidés et d'Hydrophidés. Les neurotoxines présynaptiques (neurotoxines) constituées d'une à cinq chaînes polypeptidiques dont l'une au moins est une phospholipase A2 (Boulain J. C. et Ménez A., 1982).

On en rencontre trois types : les neurotoxines-a courtes (groupe I : 60- 62 acides aminés, 4 ponts disulfures), les neurotoxines-a longues (groupe II : 66-74 acides aminés, 5 ponts disulfures) et les neurotoxines-K (66-70 acides aminés, 5 ponts disulfures) (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Cytotoxines**

Une cinquantaine de polypeptides composent ce groupe relativement homogène en raison de la grande homologie de structure. Les cytotoxines, encore appelées cardiotoxines, possèdent une structure et une taille similaires aux neurotoxines-a courtes (60-65 acides aminés, 4 ponts disulfures, même conformation en trois boucles). En revanche, il n'y a pas de réaction immunologique croisée avec les neurotoxines. Elles dépolarisent rapidement et de façon irréversible la membrane cellulaire, conduisant à sa lyse (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Neurotoxines présynaptiques**

Les toxines présynaptiques bloquantes, ou neurotoxines-P, sont composées d'une, deux ou quatre sous-unités, selon leur origine spécifique. Toutes ont en commun une fonction phospholipasique A2 indispensable à leur activité toxique. La sous unité élémentaire est constituée d'une chaîne polypeptidique de 120 acides aminés environ comportant 6 à 8 ponts disulfures et dont le poids moléculaire est compris entre 13 et 14 kDa (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Dendrotoxines**

Encore appelées toxines présynaptiques facilitatrices, les dendrotoxines ont été découvertes dans les venins de *Dendroaspis* (mamba, Elapidae africain). Ce sont des protéines de faible poids moléculaire (6 à 7 kDa) composées de 57 à 65 acides aminés et 3 ponts disulfures qui leur donnent une conformation pelotonnée. Ces toxines favorisent la libération d'acétylcholine en bloquant les canaux potassium voltage-dépendants (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Fasciculines**

Ces toxines ont également été isolées à partir du venin des *Dendroaspis*. Ce sont des polypeptides d'environ 7 kDa de poids moléculaire, possédant 60 ou 61 acides aminés et 4 ponts disulfures. Leur structure est très proche de celle des toxines-O C et des cytotoxines. Toutefois,

aucun des acides aminés constitutifs du site actif des neurotoxines curarisantes n'est retrouvé en même place sur les fasciculines. Il n'y a d'ailleurs pas de réaction immunologique croisée avec les anticorps dirigés contre les toxines-a. Les fasciculines sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et s'opposent à la régulation physiologique de la transmission de l'influx nerveux (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Myotoxines**

Les myotoxines sont des peptides de 42 à 45 acides aminés (poids moléculaire 5 kDa ,3 ponts disulfures) dépourvus d'activité enzymatique. Elles se fixent sur les canaux ioniques des cellules musculaires (Chippaux J. P., 2002); et provoquent leur nécrose musculaire locale et systémique, par action sur les canaux calciques (Strobl M., 2007). La myotoxine de *Philodryas* possède un poids moléculaire de 20 kDa et contient 182 acides aminés et 3 ponts disulfures (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Sarafotoxines**

Ce sont des peptides constitués d'une vingtaine d'acides aminés et 2 ponts disulfures dont le poids moléculaire est d'environ 2,5 kDa. Ce sont de puissants vasodilatateurs, structurellement et fonctionnellement très proches des endothélines, hormones vasoconstrictrices présentes dans les cellules endothéliales des mammifères. (Chippaux J. P., 2002).

➤ **Désintégrines**

Les désintégrines trouvées dans les venins de *Viperidae* sont des peptides de 5 à 15 kDa possédant 49 à 84 acides aminés et 4 à 7 ponts disulfures. Elles présentent une Conformation mono ou hétérodimérique et sont classées en trois groupes en fonction de leur taille. Ces toxines inhibent les intégrines, qui sont des protéines transmembranaires permettant le transfert des messages extracellulaires vers le cytoplasme (Chippaux J. P., 2002).

I.2.3.1.3. Autre composés

Il existe un autre groupe de protéines de venins de serpents numériquement et pharmacologiquement très important, qui interfèrent avec les processus de la coagulation du sang. Ce sont soit des enzymes protéolytiques très spécifiques qui agissent comme des activateurs de la coagulation, soit des inhibiteurs spécifiques des facteurs endogènes de la coagulation sanguine

(Chippaux J. P., 2002). On peut citer le facteur de stimulation de la croissance du nerf qui induit et accélère la différenciation des neurones sensoriels des ganglions sympathiques (Cohen S. et Levi-Montalcini R., 1956), la convulxine, glycoprotéine capable d'activer les plaquettes sanguines (Marlas P. *et al.*, 1983 ; Francischetti I. M. *et al.*, 1997), la bothrojaracine, inhibiteur spécifique et puissant de la thrombine (Zingali R. *et al.*, 1993).

I.3. Synthèse du venin

La fabrication du venin passe par une première phase de synthèse extrêmement rapide puis progressivement parvient à un stade de plateau qui semble correspondre à la saturation de la glande. Chaque cellule sécrétrice produit l'ensemble des constituants du venin. Toutefois, chacun d'eux est fabriqué à des moments différents du cycle sécrétoire. Le maximum de la synthèse du venin est atteint en une semaine environ, et le plateau en deux à trois semaines. Après une période de forte régénération des constituants du venin, la réabsorption d'eau permet de stabiliser la concentration protéique. Lorsque la lumière centrale de la glande, qui joue le rôle de réservoir, est remplie, la synthèse du venin s'arrête (Chippaux J. P., 2002).

I.4. La toxicité du venin

La toxicité d'un venin est la résultante de l'action pharmacologique de ses différents composants et de la réponse de l'organisme envenimé. Il s'agit d'un phénomène individuel complexe qui nécessite une approche particulière : conditions expérimentales parfaitement contrôlées, renouvellement des expériences, analyses mathématique et statistique des observations (Chippaux J. P., 2002).

I.4.1. Mesure de la toxicité

La toxicité des venins de serpent est évaluée par des expérimentations *in vivo* visant à déterminer la dose entraînant le décès de la moitié des animaux testés (DL50). L'animal le plus couramment utilisé est la souris blanche (Chippaux J. P., 2002), des rats ou des lapins (Doucet J., 1975). La voie d'administration du venin (ou de la toxine) est variable : sous-cutanée, intramusculaire, intrapéritonéale, intraveineuse, intracérébro-ventriculaire. Cependant, la voie intraveineuse donne les résultats les plus homogènes ; elle est généralement retenue dans les mesures standardisées (Doucet J., 1975 ; Chippaux J. P., 2002). Pour être reproductibles et comparables, les conditions opératoires sont codifiées de façon stricte. Les conditions environnementales ou expérimentales peuvent avoir un impact marqué sur les résultats (Chippaux J. P., 2002).

Le modèle généralement admis comme le plus représentatif de l'évolution des effets pharmacologiques est représenté par une courbe sigmoïde, symétrique et asymptotique pour les valeurs 0 (aucun effet, ou 0 % de létalité) et 1 (effet maximum, ou 100 % de létalité). Cette méthode est fondée sur la relation dose/effet qui est la plus fréquente et la plus commune (Chippaux J. P., 2002).

I.5. Fonction venimeuse

La fonction venimeuse est à l'origine de l'une des principales causes d'intérêt et de craintes à l'égard des serpents. Il s'agit d'abord d'un moyen d'immobiliser et de digérer les proies. Le premier objectif exige une paralysie ou une mort rapide de la proie, le second une destruction des tissus (Chippaux J. P., 2006).

Cela explique les principales propriétés biochimiques des venins.

Accessoirement, le venin peut servir à se défendre. Mais les serpents semblent adopter le plus souvent la célèbre formule selon laquelle la menace est plus forte que son exécution (Chippaux J. P., 2006).

Les serpents ne mordent que s'ils se sentent acculés et contraints de se défendre et, même dans ce cas, ils n'injectent pas toujours de venin (Chippaux J. P., 2006).

I.6. Variabilité des venins

La variabilité des venins est soupçonnée depuis l'antiquité sur des considérations cliniques et, plus tard, expérimentales. Elle a ensuite été largement confirmée par des techniques biochimiques puis immunologiques (Chippaux J. P. *et al.*, 1991). Les variations saisonnières, physiologiques (âge, sexe, nutrition), semblent s'effacer devant la variabilité génétique, c'est-à-dire propre à chaque individu. Elles portent à la fois sur la concentration des différentes fractions et sur leur structure biochimique (Nikin S. W. *et al.*, 1997). En revanche, il est reconnu qu'à l'échelle de l'évolution, les facteurs environnementaux et les opportunités alimentaires conditionnent la spécialisation des venins (Daltry J. C. *et al.*, 1996). Le mélange de substances au sein d'un même venin conduit à des actions pharmacologiques complexes. Elles peuvent être synergiques entre elles, antagonistes ou indifférentes (Chippaux J. P., 2006).

La grande variabilité biochimique et toxicocinétique rend compte de tableaux cliniques très différents selon les espèces, les pays, voire les circonstances (Chippaux J. P., 2006).

Les venins diffusent rapidement dans les tissus. L'affinité, très variable selon les toxines ou les organes, conduit à une élimination qui peut être lente, de quelques heures à plusieurs jours, voire d'une ou deux semaines. L'excrétion du venin est le plus souvent rénale (Chippaux J. P., 2006).

CHAPITRE II

Chapitre II : Les espèces venimeuses dans la région d'El Oued

II.1. Présentation Géographique de la région d'étude d'El Oued

II.1.2. Situation géographique d'El Oued

La wilaya d'El Oued est localisée dans la région du sud-est algérien sur superficie de 44586,80 Km² (Zaid N. *et al.*, 2009; O.N.S., 2008).

Elle est délimitée au nord- est par la wilaya de Tebessa, au nord par la wilaya de Khenchla, au nord-ouest par la wilaya de Biskra, à l'ouest par la wilaya de Djelfa, au sud-ouest par la wilaya de Ouargla et, enfin, à l'est par la république tunisienne (Zaid N. *et al.*, 2009; D.P.A.T., 2010).

La wilaya d'El Oued est issue du découpage administratif de 1984. Elle est composée rattachées à 12 daïra. Selon le recensement de 2007, la population est estimée à plus de 673934 habitants (Zaid N. *et al.*, 2009). La population de 652 210 habitants, dont les femmes 319 651, donnant ainsi une densité de 15hab/ km² (D. P. A. T., 2006).

Géographiquement, la Wilaya d'El-Oued est limitée par les cordonnée Suivantes :

X1= 05°30' et X2= 07° Est. (D. P. A. T., 2006)

Y1= 35°30' et Y2=37° Nord. (D. P. A. T., 2006)

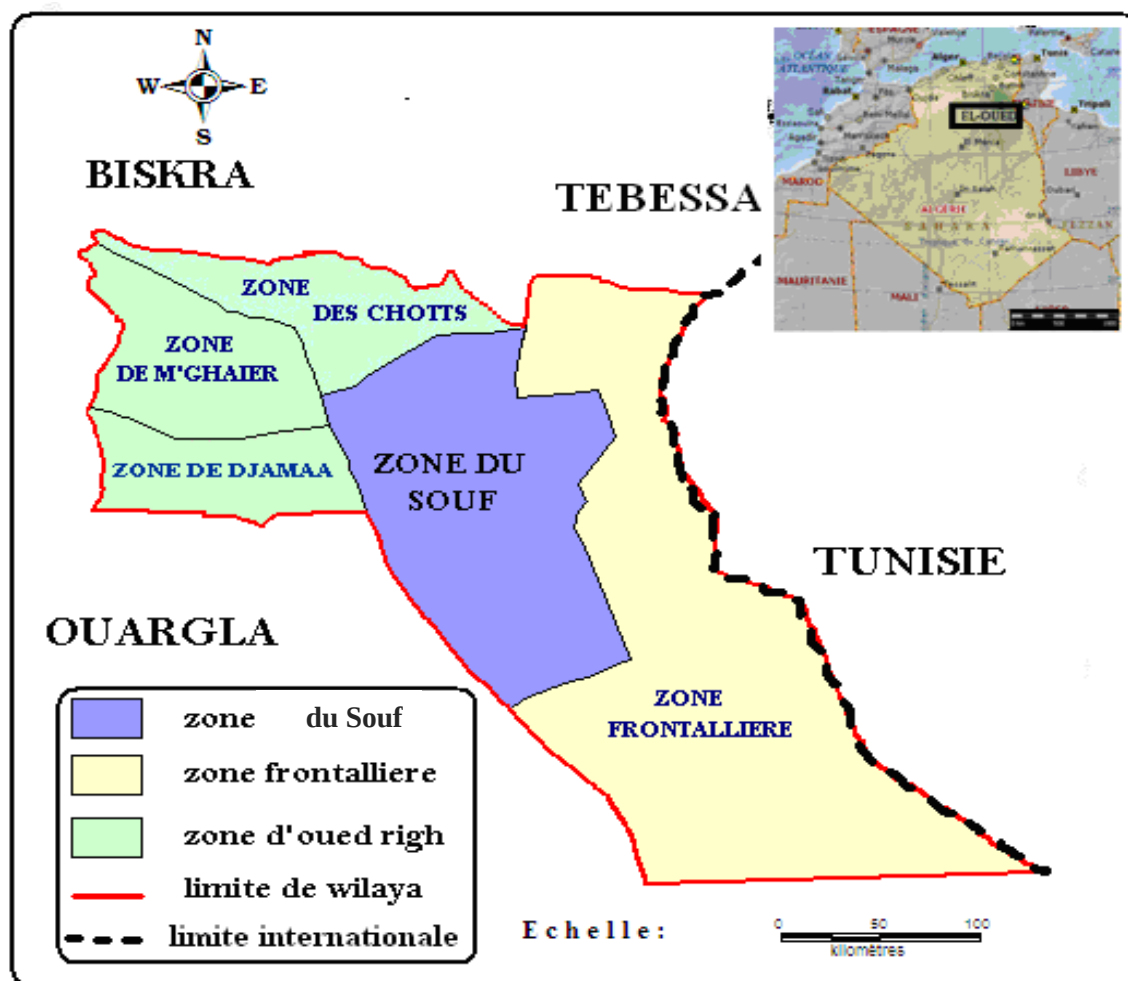


Figure 5 : La carte géographique de la wilaya d'El Oued (D. P. A. T., 2006)

II.1.2. Géomorphologie

La wilaya d'El Oued est caractérisée par deux ensembles géomorphologiques distincts : la région de Souf qui occupe la plus grande partie de la superficie globale de la wilaya, et la région de Oued Righ, située à l'ouest de la wilaya sur l'axe Biskra-Touggourt dont les daïras de Djamia'a et El Mghiar (Zaid N. *et al.*, 2009).

Selon le type de relief, la wilaya est scindée en trois régions :

II.1.2.1. La région de Souf

Occupant la zone est sud. L'ensemble de la région de souf est entièrement recouvert de sable. Cette formation géomorphologique est désignée par la dénomination d'erg qui représente une région sableuse (dunes de sable) recouvrant les $\frac{3}{4}$ de la superficie de souf et se trouvant sur une orientation suivant l'axe est-ouest à une altitude oscillant entre 80 et 120 mètres. Cette formation

géographique est plus connue sous l'appellation de grand erg oriental (D. P. A.T., 2010; Zaid N. *et al.*, 2009).

II.1.2.2. La région d'Oued Righ

Cette région est essentiellement représentée par un plateau rocheux qui est délimité par la route nationale 03 à l'ouest de la wilaya pour s'étendre jusqu'au sud (Zaid N. *et al.*, 2009; D. P. A. T., 2010).

Elle recouvre les daïras de Djamia'a et d'El M'ghir. Cette zone, constituée de vastes étendues de terres s'étendant jusqu'aux limites de la wilaya de Ouargla, est parsemée çà et là par quelques oueds (Zaid N. *et al.*, 2009).

II.1.2.3. La région des dépressions

Cette région porte la dénomination de zones de la chotte. Elle occupe le nord de la wilaya et s'étend en direction du sud avec des dépressions variant entre 10 et 40 mètres. Parmi les chotts les plus connus, le chott Melghigh et le chott Mérouane se trouvant à proximité de la route nationale 48 sur le territoire des communes d'El Hamraya et de Stile (Zaid N. *et al.*, 2009; D. P. A. T., 2010).

II.3.3. Le climat

La wilaya d'El Oued est parcourue par un climat de type saharien aride caractérisé par un hiver froid et un été chaud. Durant la saison estivale, la température moyenne peut atteindre des valeurs maximales avoisinant les 45°C, (maximum relevé dans la région de Souf), ainsi que des valeurs minimales durant la saison hivernale et dont le minimum, 1°C, a été relevé dans la région d'El M'ghir (Zaid N. *et al.*, 2009).

Les précipitations sous forme de pluies sont très rares. La pluviosité moyenne annuelle est estimée entre 80 et 100 mm, des quantités recueillies essentiellement durant la période s'étalant entre les mois d'octobre et de février (Zaid N. *et al.*, 2009).

Quant au facteur éolien, la région est connue par une intense activité des vents le long de toute l'année. De février à avril, ce sont les vents de direction nord et nord-ouest qui sont dominants ; alors que du mois d'août jusqu'à octobre, ce sont les vents vivifiants de direction est (Bahir) qui dominent (Zaid N. *et al.*, 2009). Durant la saison estivale, ce sont des vents chauds de direction sud (Chehili) qui prédominent (Zaid N. *et al.*, 2009; Mida A. F. *et* Beribeche A. H., 2009; Kenioua M., 2009).

II.2. Les espèces des serpents venimeuses dans la région d'El Oued

En absence d'étude dans cette zone de l'Algérie du Sud Est, nous prendrons en compte les espèces observées ou capturées lors de notre présente étude.

Tableau 1 : La classification des espèces venimeuses dans la région d'El Oued

Classe	Ordre	Famille	Espèces	Nom local
Reptilia	Squamata	Viperidae	<i>Cerastes cerastes</i>	Lafaa
			<i>Cerastes vipera</i>	Lafaa
			<i>Echis leucogaster</i>	Lafaa

Classe des reptiles

Ordre des Squamata

Famille des *Viperidae*

Cerastes cerastes



Figure 6 : *Cerastes cerastes* (Site web 3)

➤ **Synonymes**

Coluber cerastes (Linnaeus., 1758);

Cerastes cornutus (Linnaeus., 1758);

Vipera cerastes (Latrielle., 1802);

Cerastes aegyptiacus (Duméril., 1854);

Aspis cerastes (Mertens., 1944).

➤ **Nom usuel**

Anglia : Horned viper, greater cerastes viper;

Français : Vipère à corne;

Arabe : Lefaa, lefan bin kurun.

➤ **Description**

Vipère de taille moyenne (Le Berre M., 1989), longueur 50 à 60 cm et souvent un peu plus de 80 cm (Gruber U., 1992 ; Schliech H. H. *et al.*, 1996). Au corps trapu terminé par une courte et pointue. La tête est triangulaire, plus large que celle d'*Echis Crinatus*. Les écailles dorsales et céphaliques sont crénées. Les sous-orbitales, sourcilières et frontales sont sub-pyramidales. Très souvent, l'écaille supra-oculaire est en forme de corne, en arrière de chaque œil (Le Berre M., 1989). Mais il existe nombre de spécimens à yeux non cornés (Gruber U., 1992).

On compte: 28 à 35 écailles dorsales en travers du corps (Le Berre M., 1989), 26 à 37 rangées des écailles dorsales au milieu du corps (Gruber U., 1992 ; Schliech H. H. *et al.*, 1996). Écailles des flancs carénées en dents de scie. Dessus de la tête portant de nombreuses écailles carénées. 4 ou 5 rangées de plaques sous-oculaires entre le bord inférieur de l'œil et les plaques sus-labiales qui sont au nombre de 12 à 15 (Gruber U., 1992). 130 à 165 ventrale (Le Berre M., 1989); 130 à 172 ventrale (Schliech. *et al.*, 1996). 28 à 42 sous caudales doubles, une anale simple; 15 écailles, ou plus, entre les yeux (Le Berre M., 1989); 25 à 42 sous caudales (Schliech H. H. *et al.*, 1996).

LT max : 730 mm, (m = 500mm) (Le Berre M., 1989).

Formule caudale : 10/76 pour les mâles et 10/101 pour les femelles (Le Berre M., 1989).

La coloration foncière de la face supérieure est jaune sable pale, avec 30 à 36 taches ou bandes transversales plus sombres plus ou moins bien marquées, souvent confluentes (Le Berre M., 1989). Fond gris sable, rougeâtre ou brun. Dos portant une rangée de taches quadrangulaires, brun foncé ou gris brun, et transversales (Gruber U., 1992). Le dessous est blanc jaunâtre immaculé (Le Berre M., 1989). Flancs marqués de petites taches foncées, se trouvant entre les taches dorsales (Gruber U., 1992). L'extrémité de la queue est noirâtre (Le Berre M., 1989).

Espèce venimeuse, à dents solénoglyphes. Venin très actif, cytotoxique (Gruber U., 1992).

➤ **Ecologie**

La vipère à cornes fréquent des milieux très variés : hammada, daya, reg, éboulis rocheux, lits d'oueds, dunes (Le Berre M., 1989). Déserts de sable et de pierres, souvent à végétation buissonneuse et clairsemée au sol (Gruber U., 1992). Plutôt erratique en été et sédentaire hiver, elle s'abrite sous les pierres, ou dans des terriers de rongeurs. Elle est active toute l'année, mais plutôt le soir et la nuit ; dans les zones sableuses, elle passe la journée enfouie sous une mince couche de sable, yeux à l'extérieure. Elle se déplace par des mouvements lents de reptation latérale qui laissent dans le sable de traces scalariformes typiques (Le Berre M., 1989). Elle se déplace par des tortillements latéraux, laissant derrière elle une trace caractéristique dans le sable. Hibernation de plusieurs mois (Gruber U., 1992).

Elle chasse à l'affût ou à courre des petite vertébrés (lézards, oiseaux, gerboises, gerbilles, souris) ou des arthropodes (galéodes) (Le Berre M., 1989). Petits mammifères (souris), lézards et petits oiseaux (Gruber U., 1992). Elle tue ses proies grâce à un venin très actif (un moineau meurt en 27 à 90 secondes), très dangereux pour l'homme. Elle siffle fortement quand elle est dérangée (Le Berre M., 1989).

La saison de reproduction est située au printemps, moment où les mâles s'affrontent fréquemment. Les accouplements ont lieu de fin mai à fin juin, ils durent de 36 heures à 4 jours (Le Berre M., 1989). Accouplement en avril-mai (Gruber U., 1992), et en avril-juin (Schliech H. H. *et al.*, 1996). Les femelles, matures à 3-4 ans, ne s'accouplent qu'une à deux fois par an. Elles pondent, 45 à 60 jours après, 12 à 21 œufs. L'incubation dure 60 jours à 25°C (Le Berre M., 1989). Ponte de 10 à 16 œufs, en juillet-août, pouvant être collés en une masse (Gruber U., 1992); et de 10-20 œufs en juillet-août (Schliech H. H. *et al.*, 1996). Eclosion des petits au bout de 6 à 8 semaines (Gruber U., 1992 ; Schliech H. H. *et al.*, 1996). La vipère à corne vit plus de quatorze ans en captivité (Le Berre M., 1989).

Cerastes vipera



Figure 7: *Cerastes vipera* (Site web 17)

➤ **Synonymes**

Coluber vipera (Linnaeus., 1758) ;

Aspis vipera (Linnaeus., 1758);

Echidna atricauda (Duméril. Bibron., 1854);

Vipera avicennae (Stauch., 1869).

➤ **Nom usuels**

Anglais : Lesser cerastes viper;

Français : Vipère cerastes;

Arabe : Lefaa, Qerna (Haya qaraa).

➤ **Description**

Vipère de petite taille à tête petite (Le Berre M., 1989), Longueur 35 cm en moyenne (L. max 49 cm) (Gruber U., 1992; Schliech H. H. *et al.*, 1996). Tête large et aplatie, nettement distincte du corps. Absence d'appendices cornés sur les plaques sus-oculaires (Gruber 1992).

Les yeux sont placés sur le Sommet de la tête. La queue est très court, terminée par un ergot pointu de 2 à 3 mm (Le Berre M., 1989).

On compte : 23 à 27 rangs d'écailles à dorsales en travers (Gruber U., 1992; Le Berre M., 1989). Ecailles des flancs carénées en dents de scie. 3 ou 4 rangées de plaques sous-oculaires entre le bord inférieur de l'œil et les plaques sus-labiales, qui sont nombre de 10 à 12 (Gruber U., 1992). 102 à 122 (moins de 130) d'écailles ventrales (Le Berre M., 1989). 99-122 ventrales, 18 à 26 sous caudales (Schliech H. H. *et al.*, 1996); 16 à 26 sous-caudales, anale simple, 9 à 13 écailles entre les yeux (Le Berre M., 1989).

LT max : 490 mm, généralement moins de 400 mm) (Le Berre M., 1989).

Formule caudale 10/76 à 10/130 (Le Berre M., 1989).

La face supérieure est colorée en jaune sable ou rouge brique pâle avec 28 taches sombres alternées le long du corps et plus ou moins foncées (Le Berre M., 1989). Dos portant un dessin fait de taches indécises, brun-rouge, aussi grandes que taches des flancs (Gruber U., 1992). Plus rarement, on observe deux lignes divergentes sombres dans la région temporale. L'extrémité la queue est souvent noire. La face inférieure est blanc-jaunâtre (Le Berre M., 1989). Fond sable jaunâtre ou brun rougeâtre (Gruber U., 1992).

Espèce venimeuse, à dents solénoglyphes. Sécrète un venin actif, cytotoxique (Gruber U., 1992).

➤ **Ecologie**

Le *cerastes* se rencontre uniquement dans les zones sableuses (surtout les ergs) ou il s'enfouit totalement, à l'exception des yeux (Le Berre M., 1989). De préférence les déserts de sable, parfois à végétation clairsemée au sol. Se repose enfouie sous le sable ou dans des terriers de rougeurs (Gruber U., 1992). Il est plus agile que *cérastes* *cérastes* ont il a la même reptation "scalariforme" (Le Berre M., 1989).

Il chasse, à l'affut, des lézards et de petits rongeurs (Le Berre M., 1989; Gruber U., 1992), la nuit et pendant le crépuscule. Il garde sa proie en bouche jusqu'à ce que son venin, considéré comme mortel pour l'homme, ait fait son action (Le Berre M., 1989).

Le *cerastes* entre en diapause d'octobre à mars, généralement entre les racines d'un buisson (Le Berre M., 1989). Ovovivipare de 3 à 5 serpenteaux (Gruber U., 1992; Schliech. H. H. *et al.*, 1996); naissent dans une membrane translucide, d'où ils sortent bientôt (Gruber U., 1992). Les femelles pondent jusqu'à huit œufs brun jaunâtre, "comme des dattes", qui éclosent quelques heures après (Le Berre M., 1989).

Echis leucogaster



Figure 8 : *Echis leucogaster* (Site web 20)

➤ **Synonymes**

Pseudoboa carinata (Schneider., 1801);

Scithale Pyramidum (Geoffroy S.H., 1827);

Echis Chis carinata (Wagler 1830).

➤ **Noms usuels**

Anglais : Carpet viper, Saw-scaled viper;

Français : Vipère minute, Échidne carénée;

Arabe : Toufia, Rariba.

➤ **Description**

Vipère de taille moyenne, à queue courte. Son museau est très court et arrondi. Les écailles de la tête sont carénées : 9 à 13 supra-labiales, 11 à 20 écailles entre les yeux. On compte 25 à 37 rangs d'écailles dorsales transversales, 132 à 195 séries d'écailles ventrales, 23 à 48 sous-caudales sur un seul rang, anale entière (Le Berre M., 1989).

LC : 646 mm ; LQ : 184 mm (Le Berre M., 1989).

Formule caudale 10 /70 à 10/80 pour les mâles et 10/104 à 10/110 pour les femelles (Le Berre M., 1989).

La coloration de la face supérieure varie du brun sable pâle à l'orangé sombre avec, sur le cou et le corps, 36 à 40 barres transversales plus ou moins régulières, de couleur sombre ou pâle, plus ou moins marginées de noir qui s'estompent vers la queue. Le sommet de la tête est orange sombre avec des marques foncées (en forme de V, cruciforme, ou aristée) à pointe dirigée vers l'avant. Les supra-labiales sont blanc uniforme. La face inférieure est blanche, avec quelques taches noires aux angles des ventrales, et quelques taches peu nettes sur la ligne médiane. Sous la queue, les taches forment une ligne médiane longitudinale (Le Berre M., 1989).

➤ **Ecologie**

Cette espèce ovovivipare fréquente les zones steppiques à herbes sèches, les roches, les ruines. Elle est plutôt nocturne en été, ne quittant son refuge qu'au crépuscule. En hiver elle est active pendant la journée. Elle ondule sur place quand elle est excitée et peut présenter un mode de déplacement latéral comparable à celui de *cerastes cerastes*. Elle peut aussi grimper dans les buissons. Elle se nourrit surtout de petits mammifères (rongeurs) et aussi d'insectes. L'*Echis* a un comportement "agressif" et est doté d'un venin mortel à action lente : chez l'homme la mort ne survient parfois qu'au bout de cinq jours et morsure serait mortelle dans 90% des cas non soignés (Le Berre M., 1989).

CHAPITRE III

Chapitre III : Les sérums antivenimeux

III.1. Généralité

Les sérums antivenimeux sont obtenus par l'hyperimmunisation graduelle d'animaux (chevaux, chèvre, mouton) avec un ou plusieurs venins médicalement importants provenant d'un pays ou d'une région géographique spécifique (Gutierrez J. M. *et al.*, 1988). Si un seul venin est utilisé pour l'immunisation, le sérum antivenimeux est dit monovalent, lorsque plusieurs venins sont utilisés, il est dit polyvalent (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 1991).

Un sérum polyvalent dirigé contre toutes les espèces venimeuses présentes dans une région donnée est de ce fait beaucoup plus utile qu'une série de sérums monovalents (Christensen., 1979).

Des sérums polyvalents est important d'identifier les serpents présentant un risque pour l'homme dans cette région, et de préciser les réactions immunologiques croisées, notamment les protections croisées, entre ces différents venins (Bon C., 1991).

L'immunothérapie, naguère appelée sérothérapie, demeure l'unique thérapeutique spécifique de l'envenimation ophidienne. Ses indications sont précises et nous avons récemment rappelé son mode d'emploi en détail (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 1991).

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 (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000).

III.2. Fabrication des sérums antivenimeux et standardisation

Le premier problème, qui, paradoxalement, n'est apparu que vers 1970, tient à l'approvisionnement en venin. Quantité, qualité et identité du venin sont devenus un souci essentiel du producteur de S.A.V. La variabilité des venins de Serpents appartenant à une même espèce, en fonction de l'origine géographique notamment, a amené plusieurs propositions pour normaliser la qualité des venins utilisés (Boche J. *et al.*, 1981).

III.2.1. Immunisation de l'animal

C'est, en général, le cheval qui est utilisé comme animal d'immunisation. La quantité de sérum recueilli est la raison principale de ce choix. D'autres animaux ont été proposés (vache, chèvre, mouton notamment) soit lorsque l'élevage du cheval était difficile, soit pour fournir un S.A.V susceptible d'être administré à des personnes allergiques au sérum de cheval (Chippaux J. P. et Goyffon M., 1991).

L'immunisation de l'animal au moyen d'un venin non modifié permet d'obtenir des sérums plus efficaces car les venins désactivés sont généralement immunologiquement moins actifs. Cependant, certains venins très toxiques nécessitent la préparation d'un toxoïde obtenu par complexation du venin avec la formaline ou avec d'autres aldéhydes tels que le glutaraldéhyde. Il est également possible de détoxifier le venin par action de radiations ionisantes (Brygoo E. R., 1985). Le venin, détoxifié ou non, est ensuite associé à un adjuvant (adjuvant de Freund, bentonite, gel d'hydroxyde d'aluminium, alginate de sodium) (Dart R. C. *et al.*, 1997; Chippaux J. P., 2002); qui a pour effet d'une part de diminuer la toxicité du venin en limitant la diffusion de celui-ci à partir du point d'injection et d'autre part qui permet une stimulation intense du système immunitaire (Goyffon M. et Chippaux J. P., 1984). Le protocole d'immunisation dépend de la toxicité et de l'immunogénicité du venin, de l'espèce animale utilisée pour l'immunisation (Chippaux J. P., 2002); de la réponse de l'animal et de son état de santé. L'étape d'hyperimmunisation est très délicate à réaliser, car elle nécessite un ajustement permanent entre la quantité de venin injectée et le niveau d'anticorps produits par l'animal (10 à 50 injections durant une période de 15 mois peuvent être nécessaires pour obtenir une bonne immunisation de l'animal). Les animaux reçoivent en moyenne 2 à 3 injections de rappel par mois, à une semaine d'intervalle et leur sang est prélevé quelques jours après chaque injection (Sorkine M. et Bon C., 1995).

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 efficacité et une meilleure tolérance (Ismail M. *et al.*, 1998 ;Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000). Cellules sanguines et protéines non immunes sont éliminées respectivement par centrifugation, puis par précipitation au sulfate d'ammonium (Chippaux J. et P. Goyffon M., 2000). Les immunoglobulines sont traitées par protéolyse ménagée. L'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 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 (Chippaux J. P. *et al.*, 1997; Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000). Les sérums antivenimeux actuels sont généralement des F(ab')₂ (Ismail M. *et al.*, 1998).

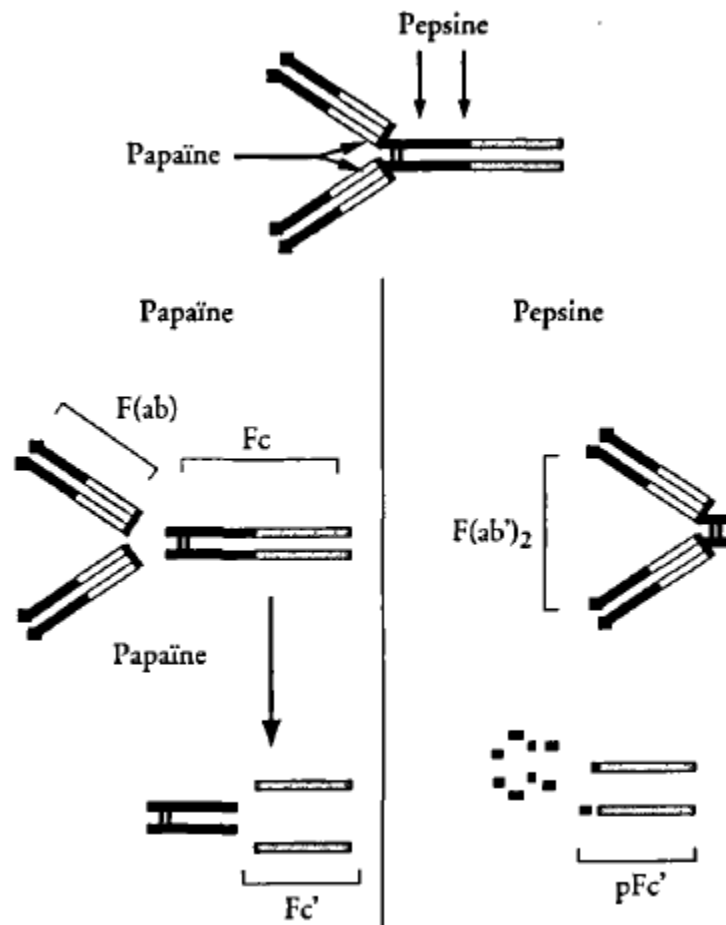


Figure 9 : Fractionnement des immunoglobulines thérapeutiques (Chippaux J. P., 2002)

La purification du sérum a pour objet d'augmenter l'efficacité du S.A.V et d'éliminer les substances susceptibles d'entraîner des effets indésirables. Le sérum est débarrassé des cellules par centrifugation. Les protéines dépourvues d'activité immunologique sont séparées des immunoglobulines. Le sulfate d'ammonium, encore très souvent utilisé, permet d'obtenir une précipitation des globulines, qui sont ensuite resolubilisées. La digestion enzymatique assure la séparation des fragments F(ab'), thermostables et porteurs de l'activité d'anticorps, de l'immunoglobuline native. En utilisant l'acide-caprylique (Dos S. *et al.*, 1989); parviennent à purifier des fragments F(ab'), avec un excellent rendement, par précipitation sélective de tous les

autres peptides. Sans augmenter notablement le titre protecteur du S.A.V, la digestion pepsique et la purification des fragments F(ab')₂, limitent la fréquence et la gravité des réactions secondaires (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 1991).

En pratique, le protocole de purification peut être ainsi schématisé :

- Digestion du plasma ou du sérum par la pepsine à pH acide;
- Précipitation par le sulfate d'ammonium à 15 ou 20%;
- Coagulation des Fc par la chaleur (F(ab')₂ thermostables) et décomplémentation (57-58°C);
- Refroidissement rapide à 40° C;
- Elimination des protéines dénaturées par centrifugation ou filtration;
- Précipitation sélective des immunoglobulines par le sulfate d'ammonium à 55% de saturation;
- Elimination du sulfate d'ammonium par dialyse;
- Elimination des lipides par adsorption sur hydroxyde d'aluminium. (Chippaux J. P. *et al.*, 1991a).

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 (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 1998).

III.3. 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 structural empêchant le fonctionnement normal de l'antigène natif. Si le changement structural affecte le site actif de l'antigène, l'activité de ce dernier sera modifiée (Boulain J. C. *et* Ménez A., 1982; Boulain J. C. *et al.*, 1985).

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 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 d son récepteur. Pour l'en arracher ; cette propriété a été démontrée à l'aide d'anticorps monoclonaux (Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000).

On sait maintenant que la plupart des substances toxiques diffusent préférentiellement dans les tissus profonds ou elles sont en concentration 2 à 3 fois plus importante que dans le sang (Tableau 2) (Ismail M. *et al.*, 1996). 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 (Chippaux J. P., 1992). 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. A ce phénomène pourrait s'ajouter une libération lente du venin à partir du siège de la morsure (Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000).

Tableau 2 : Comparaison entre IgG, F(ab')₂, F(ab) (Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000)

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

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. 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 (Ismail M. *et al.*, 1996). 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. Qui montre la redistribution du venin dans le sang au cours de l'immunothérapie (Audebert F., 1994).

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 (Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000).

III.4. 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 (Tableau 3). Ces réactions

sont en général bénignes, surtout les réactions d'hypersensibilité de type I, mais elles peuvent parfois avoir un caractère brutal (anaphylaxie) (Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000).

III.4.1. Effets précoces

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 antérieure. Dans le premier cas, on parlera de réaction anaphylactique, dans le second de réaction anaphylactoïde (David B., 1988). 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 R. N. et Theakston R. D., 1987). La fréquence de ces accidents est diversement appréciée. Certains sérums antivenimeux peu purifiés peuvent entraîner jusqu'à 30 % d'effets indésirables, voire davantage. Toutefois, le choc anaphylactique brutal, mettant en jeu le pronostic vital, semble rare, afortiori avec des fragments d'immunoglobulines purifiés. Outre la différence de nature des sérums antivenimeux commercialisés, les variations d'incidence et d'intensité des événements indésirables peuvent s'expliquer par la perception et l'interprétation des symptômes par le patient ou le praticien (Chippaux J. P., 2002).

III.4.2. Effets tardifs

Les réactions tardives sont plus mal connues que les précédentes. Les anticorps hétérologues du S.A.V 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^{ème} jour) donné parfois à cette réaction tardive encore connue sous le nom de (maladie sérique) ou (maladie des complexes immuns) (You B. *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 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 (Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000).

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 S.A.V (Chippaux J. P. et Goyffon M., 1991). 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 1 % (Chippaux J. P. *et al.*, 1997). On considère généralement que la valeur prédictive des tests cutanés ou conjonctivaux n'est pas satisfaisante. 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 (Malasit P. *et al.*, 1986).

Tableau 3 : Hypersensibilité (Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000)

	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

III.5. Choix du type d'anticorps

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 (Chippaux J. P. et Goyffon M., 2000).

La concentration maximale des IgG est atteinte en 6 heures dans les tissus superficiels et 30 heures pour les tissus profonds. 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 (Ismail M. *et al.*, 1996). La demi-vie des F(ab')₂ est d'environ 50 heures (Pépin C. S. *et al.*, 1996).

Le filtre glomérulaire rénal étant imperméable aux molécules de niasse molaire supérieure 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 (Smith T. W. *et al.*, 1979; Scherrmann J. M. *et* Pépin S., 1996); et ont un volume de distribution 5 fois supérieur au compartiment vasculaire. Par ailleurs, ils se situent au seuil de filtration rénale et sont éliminés par les urines (Scherrmann J. M., 1994; Rivière G., 1997).

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 (Tableau 2) (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000). Le fragment Fab est a priori le mieux toléré et son pouvoir neutralisant a été largement confirmé. (Choumet V. *et al.*, 1989; Carroll S. B. *et* Thalley B. S., 1992)

En revanche, son excellente diffusion dans les tissus profonds semble favoriser le maintien des complexes immuns B ce niveau, ce qui retarde leur élimination (Rivière G. *et al.*, 1997) 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 (Choumet V., 1989; Scherrmann J. M., 1994).

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 (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000).

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 (Chippaux J. P., 1998; Chippaux J. P., 1999).

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 (Thalley B. S. *et* Carroll S. B., 1990; Carroll S. B. *et al.*, 1992).

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 (Wilde H. *et al.*, 1996).

III.6. Standardisation

La standardisation des sérums antivenimeux comprend la vérification de leur pouvoir neutralisant, de leur spécificité et de la conservation de ces qualités au cours du temps. L'étude du pouvoir neutralisant *in vivo* mesure la diminution de l'activité biologique ou du pouvoir létal du venin injecté chez l'animal (lapins, rats ou souris) (O.M.S., 1981). Des mélanges venin/sérum en proportions variables sont préparés et administrés après incubation à 37°C aux animaux d'épreuve. Une concentration fixe de venin (en général 3 à 10 DL50) est incubée pendant 30 min en présence de concentrations variables de sérum antivenimeux. On détermine la quantité de sérum susceptible de neutraliser la quantité de venin injectée et la séroprotection est alors exprimée en dose efficace qui réduit de 50% la létalité du venin (DE50) (Nkinin S.W. *et al.*, 1997).

Afin de mimer les conditions réelles du traitement de l'envenimation par la sérothérapie, certains auteurs ont proposé d'injecter le venin par voie sous-cutanée puis après différents intervalles de temps, le sérum est injecté par voie intraveineuse (Gutierrez J. M *et al.*, 1985; Ownby. *et al.*, 1986). Cependant, lorsque l'on veut standardiser le pouvoir neutralisant d'un sérum antivenimeux, les expériences de préincubation sérum/venin sont le plus souvent utilisées, car dans ce cas, les résultats ne dépendent pas de la pharmacocinétique du venin et du sérum antivenimeux mais plutôt de la concentration et de la capacité neutralisante des anticorps présents dans le sérum (O.M.S., 1981).

Plusieurs méthodes *in vitro* sont recommandées pour déterminer le pouvoir neutralisant d'un sérum antivenimeux (O.M.S., 1981; Gutierrez J. M. *et al.*, 1990). La neutralisation du pouvoir hémolytique d'un venin, testée sur des érythrocytes humains, de mouton ou de lapin, semble corrélérer la neutralisation du pouvoir létal chez la souris (Gutierrez J. M. *et al.*, 1988; Al Abdulla I. H. *et al.*, 1991). La neutralisation de l'activité fibrinolytique est mesurée sur des plaques de fibrine (obtenues par coagulation d'un plasma frais). Il serait également nécessaire, dès lors que de nombreuses toxines de venin ont été purifiées et étudiées, de tester la capacité du sérum à neutraliser chaque toxine séparément. Ce type d'expériences a déjà été réalisé pour quelques neurotoxines, myotoxines ou toxines hémorragiques et devraient être développés dans l'avenir (Gutierrez J. M. *et al.*, 1985).

L'utilisation de méthodes ELISA peut être une alternative intéressante aux tests de neutralisation *in vivo*. Pour ce test, des plaques de microtitration sont revêtues avec les venins utilisés pour la préparation des sérums antivenimeux (Audebert F. *et al.*, 1993). Ces derniers sont incubés à des concentrations variables sur la plaque et la présence de complexes antigène-anticorps est révélée par un anticorps conjugué à une enzyme dirigé contre les immunoglobulines de l'espèce animale ayant été utilisée pour la préparation du sérum. L'intensité de la réaction colorée (densité optique) obtenue en présence du substrat de l'enzyme a été comparée aux DE50 mesurée chez la souris dans le cadre d'une étude réalisée (Reid H. A. *et* Theakston R. D. G., 1978). Une bonne corrélation a été obtenue. Cependant, il faut souligner qu'il existe une différence entre la révélation des complexes antigène-anticorps et la neutralisation de la toxicité du venin. En effet, certaines protéines peuvent être des antigènes puissants et ne pas être toxiques alors que certaines toxines peuvent être faiblement antigéniques, ce qui limite de ce fait l'interprétation des tests ELISA vis à vis du pouvoir réellement neutralisant du sérum antivenimeux. C'est pourquoi, ont suggéré d'utiliser pour le test ELISA non plus le venin total, mais la fraction toxique voire la toxine principale du venin, ce qui permet de quantifier les anticorps directement dirigés contre ces protéines. Dans ce cas, les auteurs ont obtenu une corrélation élevée entre la neutralisation du pouvoir létal et la densité optique mesurée par ELISA ($r=0,95$) alors qu'elle était plus faible lorsque le venin total était utilisé pour le test ELISA ($r=0,82$) (Rungswong J. *et* Ratanabanangkoon K., 1991).

III.7. Paraspécificité

La notion de paraspécificité rend compte de l'existence de protections croisées conférées par des sérums développés contre des venins de serpent de différentes espèces (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 1991).

III.8. Vérification du pouvoir neutralisant

Des épreuves d'immunodiffusion ainsi que des tests ELISA ont montré que des antigènes semblables peuvent être retrouvés dans les venins de diverses espèces de serpent. Il a été ainsi mis en évidence que le sérum antivenimeux dirigé contre le venin de *Notechis* réagit avec les venins de *Crotalus adamanteus*, de *Crotalus durissus terrificus*, d'*Agkistrodon piscivorus*, d'*Agkistrodon rhodostoma*, de *Bothrops asper* et de *Cerastes cerastes* (O.M.S., 1981). Cependant, l'existence de réactions croisées n'est pas forcément corrélée avec une protection croisée. En effet, la protection croisée s'observe plus fréquemment dans le cas d'espèces étroitement apparentées. Le sérum antivenimeux dirigé contre le venin de *Crotalus atrox* neutralise les venins de 5 serpents à sonnette mais est sans action sur le venin de *Crotalus durissus terrificus* car ce dernier est caractérisé par la présence d'une neurotoxine létale absente du venin de *C. atrox*. Une neutralisation croisée très

importante est observée dans le cas des venins des cobras d'Asie et d'Afrique, mais il est à noter que le venin de *Naja nigricollis* fait exception. Compte-tenu de ces observations, il est donc nécessaire de vérifier l'existence d'une paraspécificité pour chaque sérum antivenimeux produit (Goyffon M., 1985; Rojas G. *et al.*, 1990).

III.9. Conservation des sérums antivenimeux

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 + 40 °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 (Goyffon M., 1985 ; Rojas G. *et al.*, 1990). 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 (Goyffon M., 1985).

L'efficacité des Fab ovins ne semble pas altérée par un stockage à 50 °C pendant 60 jours et ne présente qu'une légère diminution après 30 jours passés à 70 °C. En revanche, l'agitation réduit significativement l'activité (Chippaux J. P., 2002).

III.10. 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) (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000).

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) (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000).

L'utilisation d'autres espèces que les équidés pour la fabrication des anticorps a été discutée (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000).

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) (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000).

La vaccination a été envisagée comme une solution de rechange l'immunothérapie. Les essais menés au Japon se sont révélés très décevants : la morbidité et la mortalité sont restées inchangées (Sawai Y., 1979; O.M.S., 1981) En fait, on ignore encore la rapidité de la réponse immune de l'homme d la pénétration des antigènes du venin lors de l'envenimation (Chippaux J. P. *et* Goyffon M., 2000).

Conclusion

Ce travail a été réalisé afin de mettre en évidence la composition de venin des serpents (*Cerastes cerastes*, *Cerastes vipera*, *Echis leucogaster*), ainsi que leur neutralisation par l'immunosérum (SAV). Ce venin est un mélange complexe contenant des enzymes ayant des activités coagulante, caséinolytique, estérasique, amidolytique et phospholipasique.

Des estimations chiffrent à environ cinq millions le nombre de cas d'envenimations par morsure de serpent dans le monde, entraînant de 30 000 à 140 000 décès. 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.

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.

Quelques règles à respecter lors d'une morsure :

Calmer le patient ; Repos total ; Pas d'incisions ni de suctions ; Surtout pas de garrot ; Enlever : montre, bracelet, bague,... (garrot potentiel) ; Pas de glace sur la morsure ; Pas de café ni d'alcool ; immobiliser le membre atteint ; Nettoyer et désinfecter l'endroit de la morsure (pas obligatoire si se n'est pas une morsure faite sur le terrain) ; Pas de permanganate de potassium ; Pas de mercurochrome ni de teinture d'iode ; Poser un bandage non serré en attendant les secours.

Résumé

Dans la nature, il existe différents poisons et parmi eux les venins. Ces substances chimiques toxiques sont d'origine végétale ou, plus souvent, animale. Par venin, l'on entend toutes substances permettant à un animal de se défendre ou d'attaquer. Dans ce dernier cas, le venin a deux vocations : tout d'abord immobiliser la proie en agissant sur les nerfs et les muscles et ensuite initier la digestion, raison pour la quelle on a identifié 26 enzymes dans les quatre grandes familles de serpents. Il faut cependant se garder de confondre vénéneux dont la chair est toxique avec venimeux qui possède des glandes à venins.

Dans le monde existe environ 2 700 espèces de serpent, dont 600 venimeuses et potentiellement dangereuses pour l'homme à des degrés divers. En fait, moins d'une cinquantaine posent un problème de santé publique par leur abondance, leur distribution ou leur comportement.

Le sérum antivenimeux, et en particulier les sérums polyvalents dirigés contre l'ensemble des serpents venimeux d'une région donnée, sont généralement préparés par hyper-immunisation de chevaux avec un mélange de venin.

Le cheval le plus souvent, il est constitué des anticorps d'un animal, fabriqués à la suite d'injections répétées de quantités croissantes de venin. Le sérum antivenimeux n'est donc efficace que contre les venins qui ont servi à le fabriquer.

Le sérum antivenimeux doit être administré par voie veineuse le plus rapidement possible après la morsure. Sa durée d'action est de plusieurs heures.

Mots-clés: sérum antivenimeux, venin, hyper-immunisation, serpent, morsure.

Références bibliographiques

- 1- **Al Abdulla I. H., Sidki A. et Landon J.** (1991). An indirect hemolytic assay for assessing antivenoms. *Toxicon*. Vol. (29)1043-1046.
- 2- **Alouf.** (1984). La sérothérapie : passé, présent et future. *Bulletin de l'IPA*. vol. (82) : 19-20. *In* Arouch L. et Issad Z., (2008).
- 3- **Arouch L., Issad Z.** (2008). Caractérisation immunologique d'antivenins et étude histopathologique de l'activité dermonécrotique du venin de Cérastes cérastes en présence d'une immunothérapie. Thèse licence : Biochimie. Alger : U.S.T.H.B. 36p.
- 4- **Audebert F., Sorkine M. et Bon C.** (1992). Envenoming by viper bites in France: clinical gradation and biological quantification by ELISA. *Toxicon*. Vol. (30) : 599-609.
- 5- **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.* vol. (17) : 236-240.
- 6- **Bellairs A.** (1971). Les reptiles : l'appareil venimeux et le venin. Ed. Masson, Paris. 590p. *In* Arouch L. Issad Z., (2008).
- 7- **Bieber A. L.** (1979). Metal and non protein constituents in snake venoms. *In* : Snake venoms (Lee, C. Y. ed.) 295-306p. *Handbook of experimental pharmacology*. vol. 52, Springer. Verlag, Berlin. 1130p. *In* Bon C. (1991).
- 8- **Boche J., Chippaux J. P. et Courtons B.** (1981). Contribution à l'étude de variation Biochimique de venin de serpents d'Afrique de l'ouest. *Bull. Soc. Path, exot.* Vol. 74(3) : 356. *In* Chippaux J. P. et Goyffon M. (1991).
- 9- **BON C.** (1991). Venins de serpents et sérums antivenimeux. *Bull. Soc. Herp. Fr.* vol. (57) : 2-3.
- 10- **Bortoleo R. K., Murackami T., Watnabe L., Soases A. M. et Arni R. K.** (2002). Purification, characterization and crystallisation of jararacussin-I, a fibrinogen-clotting enzyme isolated from the venom *Bothrops jararacussu*. *Toxicon*. vol. (40) : 1307-1312. *In* Arouch L. et Issad Z., (2008).

- 11- **Boulain J. C., Ménez A.** (1982). Neurotoxin-specific immunoglobulins accelerate dissociation of the neurotoxin-acetylcholine receptor complex. *Science*. vol. (217): 732-733.

- 12- **Boulain J. C., Fromageot P. et Ménez A.** (1985). Further evidence showing that neurotoxin-acetylcholine receptor dissociation is accelerated by monoclonal 04 neurotoxine-specific immunoglobulin. *Mol Immunol*. Vol. (22) : 6-553. *In* Chippaux J. P. et Goyffon M., (2000).

- 13- **Brygoo E. R.** (1985). La découverte de la sérothérapie antivenimeuse en 1884, Phisalix et Bertrand ou Calmette. *Bull. Soc. Anc. Elèves Inst. Past*.vol. (4) : 10-22.

- 14- **Carroll S. B., Thalley B. S., Theakston R. D. et Laing G.** (1992). Comparison of the purity and efficacy of affinity purified avian antivenoms with commercial equine crotalid antivenoms. Vol. (30) : 25-1017. *In* Chippaux J. P. et Goyffon M. (2000).

- 15- **Chafiq F., Rhalem N., Khattabi A. et Soilaymani-Bencheikh R.** (2011). Toxicologie Maroc. CABN. Bourgone Casablanca. vol. (9) : 1-3.

- 16- **Chippaux J. P.** (1992). Les morsures de serpents en Afrique intertropicale. *Cahiers Santé* 2, vol. 221-234.

- 17- **Chippaux J.P.** (1998). Snake-bites : appraisal of the global situation. *Bull. WHO*. Vol. (76) : 515-524.

- 18- **Chippaux J. P.** (2002). Venins de serpent et envenimations. Ed. IRD. Coll. Didactiques. Paris.288p.

- 19- **Chippaux J. P.** (2006). Les serpents d'Afrique occidentale et centrale. Ed. IRD. Coll. Faune et flore tropicales. Paris.311p.

- 20- **Chippaux J. P., Amadi-Eddine S. et Fagot P.** (1999). Diagnostic et surveillance des hémorragies due aux envenimations vipérines en savane africaine. Thérapeutique. Vol. 1971. *In* Arouch L. et Issad Z., (2008).

- 21- **Chippaux J. P., Goyffon M.** (1991). La sérothérapie antivenimeuse : ses applications, ses limites, son avenir. *Bull. Soc. Path. exot*. vol. (84) : 286-297. *In* Chippaux J. P.,(2006).

- 22- **Chippaux J. P., Goyffon M.** (1998). Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon*. Vol. (36) : 46-823. *In* Chippaux J. P. et Goyffon M. (2000).
- 23- **Chippaux J. P., Goyffon M.** (2000). Aspect actuels et futurs de l'immunothérapie antivenimeuse. *Bulletin de l'IRD*. vol. (82) : 19-20.
- 24- **Chippaux J. P., Lang J., Amaddi Eddine S., Fagot P., Rage V., Le Mener V. et Investigators V. A. O.** (1997). 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.* Vol. (92) : 657-662.
- 25- **Chippaux J. P., Williams V. et White J.** (1991). Snake venom variability : Methods of study, results and interpretation. *Toxicon*. vol. (29) : 1279-1303.
- 26- **Choumet V., Jiang M., Radvanyi F. Ownby C. et Bon C.** (1989). Neutralisation of lethal potency and inhibito of enzymatic activity of a phospholipas A₂ neurotoxine,

04

crotoxine, by non-precipitating antibodies (Fab). FEBS. Vol. (244) : 73-167. *In* Chippaux J. P. et Goyffon M. (2000).

27- **Christensen P. A.** (1968). The venom of Central and South African snakes *In* : Venomous Animals I, Bucherl W., Bukley E., Deulofeu V. ed. Acad. Press. Vol. 437-461. *In* Chippaux J. P. et Goyffon M. (1991).

28- **Cohen S., Levi-Montalcini R.** (1956). A nerve growth stimulating factor isolated from snake venom. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. (42) : 571-574.

29- **D.P.A.T. Annuaire statistique de la wilaya d'El' Oued.**, (2006). Ed. Minist Finan. Direct. Budget, Alger. 192p.

30- **D.P.A.T. Annuaire statistique de la wilaya d'El' Oued.**, (2010). Ed. Minist Finan. Direct. Budget, Alger. 122 p.

31- **Daltry J. C., Würster W. et Thorpe R. S.** (1996). Diet and snake venom evolution. Nature. vol. (379) : 533-536.

32- **Dart R. C., Seifert S. A., Carroll L., Clark R. F., Hall E., Boyer-Hassen L. V., Curry S. C., Kitchens C. S. Garcia R. A.** (1997). Affinity-purified, mixed monospecific crotalid antivenom ovine Fab for the treatment of crotalid venom poisoning. Ann Emerg Med. Vol. (30). 33-39.

33- **Dos-Santos M. C., D'Imperio-Lima M. R., Furtado G. C., Colletto G. M., Kipnis T. L. et Dias-Da-Silva W.** (1989). Purification of F(ab')₂ anti-snake venom by caprylic acid/ a fast method for obtaining IgG Fragments with high neutralization activity , purity and yield. Toxicon, vol. 27 (3) : 297-303. *In* Chippaux J. P. et Goyffon M. (1991).

34- **Doucet J.** (1975). Au sujet du traitement des morsures de serpent. Conc. méd. vol. (97) : 4395-4396.

35- **Ernest C. H., Zug R.** (1999). Snakes bites and venom (*Viperidae*). Ed. Harrison, New York. *In* Arouch L. et Issad Z., (2008).

36- **Fekhaoui M., Mataam A.** (2011). Toxicologie Maroc. CABN. Bourgone Casablanca. vol. (9) : 1-3.

37- **Francischetti I. M. B., Saliou B., Leduc M., Carlini C.R., Hatmi M., Randon J., Faili A. et Bon C.** (1997). Convulxin, a potent platelet-aggregating protein from *Crotalus durissus terrificus* venom, specifically binds to platelets. *Toxicon*. Vol. (35) : 1217-1228.

38- **Friedrich C., Tu A. T.** (1971). Rol of metals in sanake venoms for hem orrhagic esterase and proteolytic activites. *Biochem pharmacol*.vol.20: 1549. *In* Bon C. (1991).

04

- 39- **Gasmi A., Karoui H., El Afrit L. et El Ayeb M.** (1988). Identification des composé toxiques dans les venins de vipères *cérastes cérastes* et *vipera lebetina* : purification des phospholipases. Archs Inst. Pasteur Tunis. Vol. 65 (1-2) : 43-52. In Arouch L. et Issad Z., (2008).
- 40- **Goyffon M., Chippaux J. P.** (1984). Animaux venimeux exotiques et sérums antivenimeux en France. J. Toxicol. méd. Vol. (4). 123-129.
- 41- **Goyffon M. Données non publiées.** (1985). In Chippaux J. P. et Goyffon M. (2000).
- 42- **Gruber U.** (1992). Guide des serpents d'Europe, d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient. Ed. Delachaux et Niestlé. S. A, Paris. 248p.
- 43- **Gutierrez J. M., Gené J. A., Rojas G. et Cerdas L.** (1985). Neutralization of proteolytic and hemorrhagic activities of Costa Rican snake venoms by a polyvalent antivenom. Toxicon. vol. (23) : 887-893.
- 44- **Gutierrez J. M., Avila C., Rojas E. et Cerdas L.** (1988). An alternative in vitro method for testing the potency of the polyvalent antivenom produced in Costa Rica. Toxicon. Vol. (26) : 411-413.
- 45- **Gutierrez J. M., Rojas G., Lomonte B., Gené J. A., Chaves F., Alavarado J. et Rojas E.** (1990). Standardization of assays for testing the neutralizing ability of antivenoms. Toxicon. vol. (28) : 1127-1129.
- 46- **Hadjam A., Hassen Z.** (2008). Effet de la variation du débit de dose d'irradiation gamma sur l'activité myotoxiques du venin de *Cérastes cérastes*. Thèse licence : Biochimie. Alger : U.S.T.H.B. 29p.
- 47- **Hati R. N., Mondal M. et Hati A.k.** (1990). Active immunization of rabbit with gamma irradiated Russell's viper venom toxoid. Toxicon. vol. (28) : 895-902. In Arouch L. Issad Z., (2008).
- 48- **Ismail M., Aly M. H. M., Abd-Elsalam M. A. et Morad A. M.** (1996). A three compartment open pharmacokinetic model can explain variable toxicities of cobra venoms and their alpha toxins. Toxicon. Vol. (34) : 1011-1026.
- 49- **Ismail M., Abd-Elsalam M. A. et Al-Ahaidib M. S.** (1998). 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. (36) : 93-114.

50- **Iwanaga S., Suzyki T.** (1979). Enzymes in snake venoms. *In*: Snake venoms (lee, C. Y. ed.) 61-158. , Handbook of experimental pharmacology. vol. 52, Springer. Verlag, Berlin. 1130p. *In* Bon C. (1991).

09

- 51- **Jin Y., Lu Q. M., Li D. S. et Wang W. Y.** (2001). Purification and characterization of jerdofiprase, a serine protease from the venom of *Trimeresurus jerdonii* snake. *Toxicon*. vol. (39) : 1203-1210. *In* Arouch L. et Issad Z., (2008).
- 52- **Kohli H. S., Sakuja V.** (2003). Snake bites and renal failure. *Saudi J kidney Dis transplant*. vol. 14(2) : 165-176. *In* Hadjam A. Hassen Z., (2008).
- 53- **Laraba Djebbari F.** (1984). Contribution à l'étude structurale et biochimique de la PLA2 du venin de Cérastes céastes d'Afrique. Thèse du magistère. U.ST.H.B Alger. 72p. *In* Arouch L. et Issad Z., (2008).
- 54- **Laraba Djebbari F.** (1996). Etude de polypeptide pharmaco logiquement actifs isolés à partir de la vipère Cérastes céastes et d'*Androctonus australis hector* : purification, caractérisation biochimique et pharmacologique. Thèse de Doctorat. U.ST.H.B Alger. 182p. *In* Hadjam A. et Hassen Z., (2008)
- 55- **Le Berre M.** (1989). Faune du sahara1-poissons-amphibiens reptiles. Vol. 240. Ed. Raymond Chabaud-Lechevalier, Pris. 327P.
- 56- **Marlas G., Joseph D. et Huet C.** (1983). 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*. vol. (65) : 405-416.
- 57- **Mida A. F., Beribeche A. H.** (2009). Etude technico- économique de pivot artisanal dans la région d'oued souf. Thèse licence : hydroligue urbain . El' Oued : U.N.V El' Oued. 50p.
- 58- **Minton S. A., Russell F. E. et Saunders P. R.** (1987). in *Animal Toxins*, eds., Pergamon Press, Oxford. 211-222p.
- 59- **Nkinin S.W., Chippaux J. P., Piétin D., Doljanski Y., Trémeau O. et Ménez A.** (1997). L'origine génétique de la variabilité des venins: impact sur la préparation des sérums antivenimeux. *Bull. Soc. Path. Exot.* vol. (90) : 277-281.
- 60- **O. M. S.** (1981). Caractérisation des venins et standardisation des sérums antivenimeux: progrès réalisés. Ed. OMS Offset Publ, n°58, Genève. 49p.

61- **Ownby C., Colberg T. R. et Odell G. V.** (1986). In vivo ability of antivenom serum plus polyvalent (Crotalidae) antivenom to neutralize prairie rattlesnake (*Crotalus viridis viridis*) venom. *Toxicon*. Vol. (24) : 197-200. **O.N.S. Office Nationale statistiques.** (2008). In Mida A. F. et Beribeche A. H. (2009).

62- **Pépin-Covata S., Lutsch C., Grandgeorge M., Lang J. et Scherrmann J. M.** (1996). Immunoreactivity and pharmacokinetics of horse anti-Scorpion venom F(ab')₂

00

scorpion venom interaction. *Toxicol Appl pharmacol.* Vol. (141) : 7-272. *In* Chippaux J. P., Goyffon M. (2000).

63- **Pugh R. N. H., Theakston R. D. G.** (1987). Antivenom reactions and complement depletion in snakebite. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* Vol. (81) : 73-75.

64- **Reid H. A., Theakston R. D. G.** (1978). Proceedings of the 3rd Symposium on Animal, Plant and Microbial Toxins. Habermehl, G. et Mebs, D. THD Schreihe Wiss. Technik. 14-98.

65- **Rivière G., Choumet V., Audebert F., Sabouraud A., Debray M., Scherrmann J. M. et Bon C.** (1997). Effect of antivenom on venom pharmacokinetics in experimentally envenomed rabbits : toward an optimization of antivenom therapy. *J. Pharm. Exp. Ther.* Vol. (281) : 1-8.

66- **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.

67- **Rothschild A. M. Rothschild Z.** (1979). Liberation of pharmacologically active substances by snake venoms. *In* : Snake venoms (Lee, C. Y. ed.). 591-627. Handbook of experimental pharmacology. vol. 52, Springer. Verlag, Berlin. 1130p. *In* Bon C. (1991).

68- **Rungsiwongse, J., Ratanabanangkoon K.** (1991). Developemnt of an ELISA to assess the potency of horse therapeutic antivenom against Thai cobra. *J. Immunol. Methods.* Vol. (136) : 37-43.

69- **Samel M., Subbi J., Siigur J. et Siigur E.** (2002). Biochemical characterization of fibrinogenolytic serine proteinases from *Vipera lebetina* snake venom. *Toxicon.* vol. (40) : 51-45. *In* Arouch L. Issad Z., (2008).

70- **Sawai Y.** (1979). Vaccinatio against snake bite poisoning. *In* : Snake venoms (CY Lee). Berlin: Springer Verlag. Vol. 97-881. *In* Chippaux J. P., Goyffon M. (2000).

71- **Scherrmann J. M. (1994).** Antibody treatment of toxin poisoning: recent advances. *Clin toxicol.* Vol. (32) : 75-363. *In* Chippaux J. P., Goyffon M. (2000).

- 72- **Scherrmann J. M., Pépin S. (1996).** Biodynamics of antigen-antibody neutralization in vivo. In : Envenomings and their treatments. Bon C, Goyffon M, eds. Lyon: Fondation Marcel Mérieux. Vol. 15-109. In Chippaux J. P., Goyffon M. (2000).
- 73- **Schleich H. H., Kästle W. et Kabisch K. (1996).** Amphibians and Reptiles of North Africa. Ed. Koletz Scientific Books, Koenigstein. 630 p. 04
- 74- **Seegers W. H., Ougan G. C. (1979).** Snake venoms and blood coagulation. In : Snake venoms (Lee, C. Y. ed.). 684-749. Handbook of experimental pharmacology. vol. 52, Springer. Verlag, Berlin. 1130p. In Bon C. (1991).
- 75- **Selvanayagam, Z. E., Gopalakrishnakone P. (1999).** Test for detection of snake venoms, toxins and venom antibodies: review on recent trends (1987-1997). Toxicon. Vol. (37) : 565-586.
- 76- **Smith T. W., Liyod B. L., Spicer N., 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. Vol. (36) : 69-384. In Chippaux J. P., Goyffon M. (2000).
- 77- **Sorkine M., Bon C. (1995).** Envenimations par vipères françaises. In : Réanimation des intoxications aiguës (F. Baud), Masson, Paris. Vol. 244-250.
- 78- **Stroble M. (2007).** Envenimations par serpents d'Asie. Idonesia. IFMT-MS. Vol. 7-13.
- 79- **Thalley B. S., Carroll S. B. (1990).** Rattlesnake and scorpion antivenoms from the egg yolks of immunized hens. Bio/Technol . vol. (8) : 8-934. In Chippaux J. P. et Goyffon M. (2000).
- 80- **Thomas R. G., Pough F. H. (1979).** The effect of snake venom on digestion of prey. Toxicon. vol. (17) : 221-231. In Bon C. (1991).
- 81- **Wilde H., Thipkong P., Sitprija V. et Chaiyabutr N. (1996).** Heterologous antisera and antivenoms are essential biologicals : perspectives on a worldwide crisis. Ann Intern Med. Vol. (125) : 6-233. In Chippaux J. P. et Goyffon M. (2000).
- 82- **Zaid N., Tazairat K. et Farzouli M. (2009).** El' Oued patrimoine et civilization. Ed. CDSP, Alger. 93p.

83- **Zhang Y., Wisner A., Xiong Y. et Bon C.** (1995). A novel plasminogen activator from snake venom : purification, characterization and molecular cloning. J. Biol. Chem. vol. (270): 10246-10255.

84- **Zingali R., Jandrot-Perrus M., Guillin M. C. et Bon C.** (1993). Bothrojaracin, a new thrombin inhibitor isolated from Bothrops jararaca venom: characterization and mechanism of thrombin inhibition. Biochemistry. vol. (32) : 10794-10802.

❖ **Les Sites Internet :**

(Site web 1) : http://www.snakeplanet.webege.com/horned_desertviper.html.(17/04/2013) **(Site web 2)**

: <http://www.seanthomas.net/oldsite/skulls.html> . (17/04/2013)

(Site web 3) : <http://www.flickrriver.com/photos/tags/cerastescerastes/interesting>. (21/04/2013)

(Site web 4): <http://www.flickrriver.com/photos/tags/cerastes/interesting/>. (21/04/2013)

(Site web 5): <http://forum.dracomagazyn.pl/showthread.php> .(21/04/2013)

(Site web 6): <http://www.snakevipera-reptiles.com/pages/contact-et-news/> .(21/04/2013)

(Site web 7): <http://www.remedia.at/homeopathy/Cerastes-cerastes/a275.html> . (21/04/2013)

(Site web 8) : <http://www.flickr.com/photos/johnnym26/5582292452/> (21/04/2013)

(Site web 9) : <http://www.reptarium.cz/en/taxonomy/Cerastescerastes/photogallery/7> . (22/04/2013)

(Site web 10) : <http://www.saharavivant.com/Faune-de-Dakhla-Aoussard.html-vivant.com> .
(22/04/2013)

(Site web 11) : <http://www.sahara-vivant.com/Faune-de-Dakhla-Aoussard.htm> .
(01/05/2013)

(Site web 12) : <http://www.flickrriver.com/photos/divinorum2> . (01/05/2013)

(Site web13) : <http://www.flickrriver.com/photos//> . (01/05/2013)

(Site web 14) : http://www.flickr.com/photos/divinorum_/5002515712/. (01/05/2013)

(Site web 15) : <http://www.sareptiles.co.za/forum/viewtopic.php?f=4&t=27975> (01/05/2013)

(Site web 16) : <http://www.sareptiles.co.za/forum/viewtopic.php> (01/05/2013)

(Site web 17) : <http://sahara-vivant.org/Photo-Cerastes-vipera-3.html> (04/05/2013)

(Site web 18) : <http://skorpac.deviantart.com/art/Snake-bite-123808060>(04/05/2013)

(Site web 19): <http://www.focus.it/community/cs/forums/259/228886/ShowThread.aspx>.(04/05/2013)

(Site web 20) : <http://saharavivant.org/Photo-Echis-leucogaster-3.html>.(04/05/2013)

Annexes

Cérastes cérastes



(Site web 4)



(Site web 18)



(Site web 8)

Figure 10 : *Cerastescerastes (vipera cornue)* fréquent des milieux très variés (Hammada,



(Site web 7)



daya, reg, éboulis rocheux, lits d'oueds, dunesest)

(Site web 19)



(Site web 2)



Figure 11 : Les crochets des *cerastes cerastes* en avant du maxillaire mobile (Solénoglyphes)

(Site web 1)

(Site web 6)



(Site web 9)

Figure 12 : La nutrition de *cerastes cerastes*



(Site web 3)



(Site web 5)



(Site web 6)

Figure 13 : La reproduction de *cerastescerastes* (Ovipare)

Cerastes vipera



(Site web 10)



(Site web 17)



Figure 14 : L'habitat des *Cerastes vipera*, (Erg) (Site web 11)



(Site web 14)



(Site web 13)



(Site web 12)

Figure 15 :Les crochets des *Cerastes vipera* en avant du maxillaire mobile (Solénoglyphes)



Figure 16 : La nutrition de *cerastesvipera*
(Site web 15)





Figure 17 : La reproduction de *cérastes vipera* (Ovovivipare)(Site web 16)

Echis leucogaster



Figure 18: *Echis leucogaster* fréquente les zones steppiques(Site web 20)



Figure 19 : La nutrition d'*Echis leucogaster* (Site web 20).