

# La vipère du Gabon : envenimation par *Bitis Gabonica* : son venin et sérothérapie antiveneuse spécifique

Autor(en): **Grasset, E.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Acta Tropica**

Band (Jahr): **3 (1946)**

Heft 2

PDF erstellt am: **02.05.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-310008>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

(South African Institute for Medical Research, Johannesburg.)

## La vipère du Gabon.

*Envenimation par Bitis Gabonica.  
Son venin et sérothérapie antivenimeuse spécifique.*

Par E. GRASSET.  
Chef du Service de Sérothérapie.

(Reçu le 19 février 1946.)

Nous avons fait connaître, au cours de publications antérieures, les travaux effectués dans cet Institut sur le venin de la vipère du Gabon et avons exposé les raisons qui ont motivé la préparation d'un sérum antivenimeux spécifique contre le venin de ce puissant représentant équatorial des Vipéridés Africains (E. GRASSET et A. ZOUTENDYK 1936 ; 1938).

Dans la présente publication, nous grouperons les diverses informations et acquisitions scientifiques rassemblées au cours de ces huit dernières années, concernant ce redoutable vipéridé, en particulier celles relatives à l'envenimation par *Bitis Gabonica*, les diverses recherches effectuées sur son venin et les perfectionnements divers apportés dans la préparation du sérum antivenimeux polyvalent utilisé contre sa morsure.

*Habitat et caractère zoologique.* *Bitis Gabonica*, le plus volumineux représentant des Vipérides Africains, atteignant une taille jusqu'à près de 2 mètres — se rencontre dans une vaste zone de l'Afrique Equatoriale et Tropicale, comprise entre l'Afrique Occidentale Française, Libéria, la Côte d'Ivoire, Côte d'Or, Nigéria, Afrique Equatoriale Française, Congo Belge jusqu'au Damaraland au Sud, Uganda, Tanganyika, jusqu'au Mozambique et l'île de Zanzibar sur la Côte Est Africaine.

Pour l'étude zoologique détaillée de ce reptile, nous renvoyons aux informations fournies par CALMETTE (1907), PHYSALIX (1922), FITZSIMINS (1919), ANGEL (1932), PITMAN (1938) et la courte description contenue dans un de nos travaux antérieurs (GRASSET et ZOUTENDYK 1938) que nous avons empruntée du British Museum, " *Catalogue of Snakes* ", vol. III, p. 99.

La taille des spécimens adultes capturés varie de 0,9 mètre à 1,8 mètre, le corps, massif, atteint dans son diamètre maximum l'épaisseur du poignet à l'avant-bras d'un homme. Le poids des spécimens de grande taille de 1,5-1,7 mètres peut atteindre jusqu'à 6-7 kg., exceptionnellement 9 kg. (estomac vide). Pl. N° I.

La tête massive de forme triangulaire est couverte sur sa face dorsale de petites écailles. Entre les narines se trouvent une paire d'écailles plus ou moins développées triangulaires proéminentes qui se dressent en deux cornes nasales, écailleuses, dont les dimensions varient selon les spécimens.

*Coloration.* La face dorsale de la tête est de couleur jaune clair, avec une ligne médiane brunâtre plus ou moins foncée, parfois avec branchements latéraux et obliques en forme de flèche. Un double dessin en triangle brun foncé marron s'étend en s'élargissant de la base des yeux vers les faces latérales buccales. La face ventrale de la tête est uniformément jaunâtre. Le corps est orné sur sa face dorsale d'une série de dessins (au total 16 sur toute la longueur du corps et de la queue) de contours réguliers géométriques quadrangulaires jaunâtres reliés par des formations triangulaires, opposées par leur sommet, de couleur foncée, et bordées d'un liseret blanchâtre. Plus extérieurement, les faces latérales du corps du reptile présentent une succession de dessins brun foncé, en triangles opposés par le sommet, qui se succèdent régulièrement sur un fond jaunâtre et brunâtre.

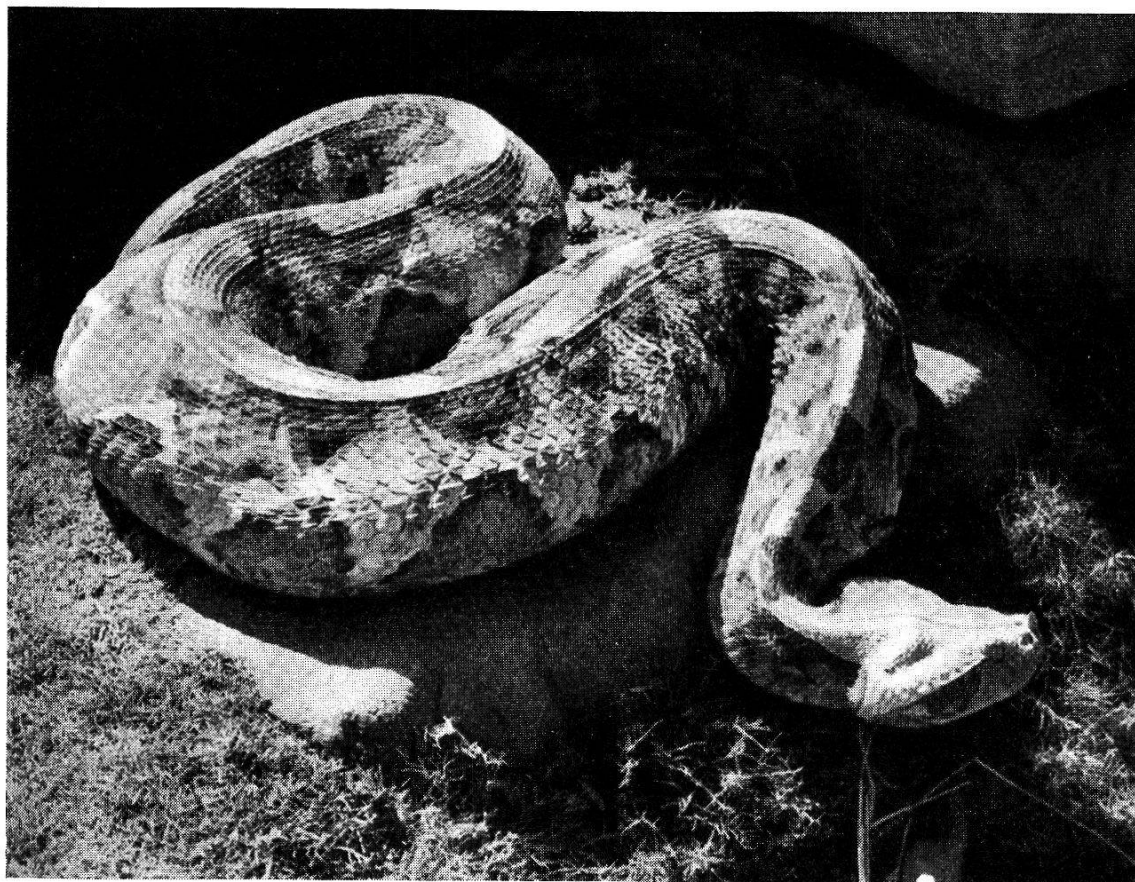
La face ventrale du corps est plus pâle, jaune sale, avec taches brun foncé ou noirâtre disposées latéralement sur chacune des larges écailles ventrales.

Nous n'avons pas observé de différences marquées entre les spécimens reçus des territoires de la Côte Est ou Centre Africain.

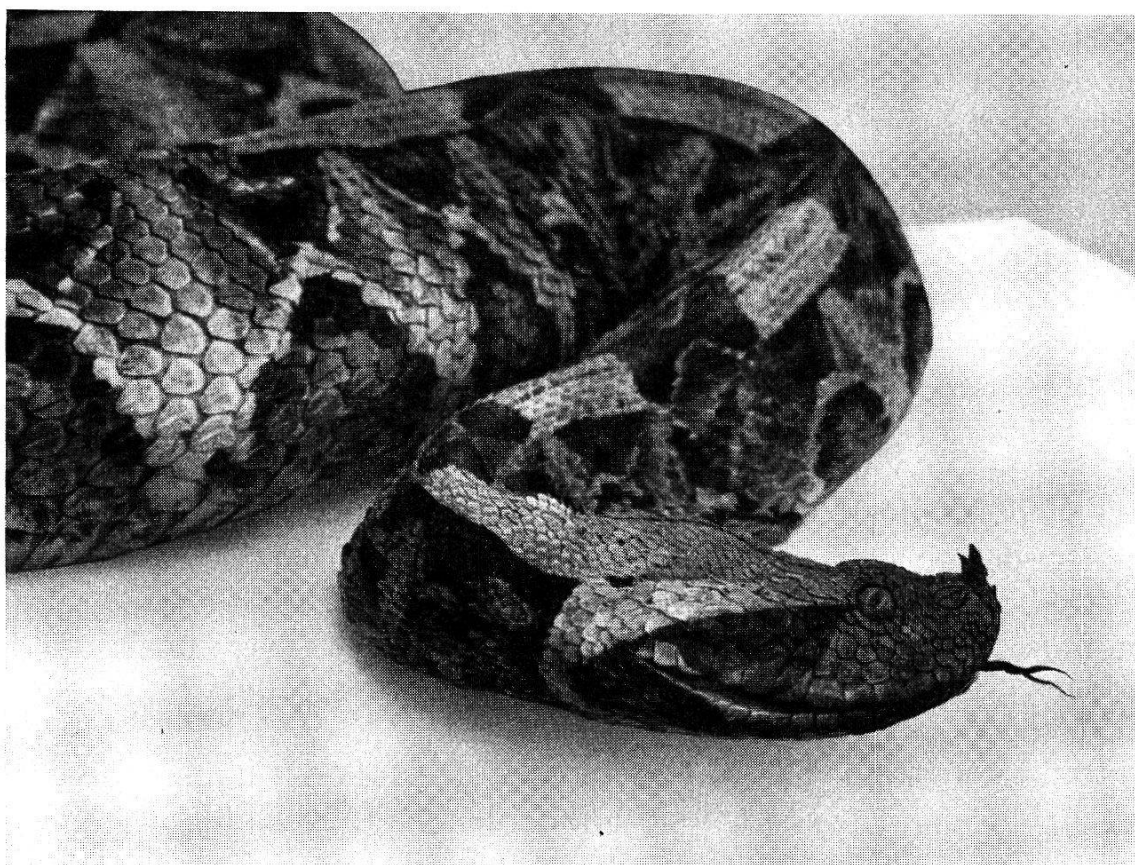
*Appareil venimeux.* Les glandes venimeuses sont bien développées, les crochets venimeux attachés aux maxillaires sont recourbés. Pour un spécimen d'un mètre de long, les crochets atteignent une longueur de 22 mm. et 3 mm. de diamètre. PITMAN (1938) référant à un grand spécimen capturé dans la forêt de Mabua en Uganda, d'une taille de 1,65 m. et pesant 9 kg., qui possédait des crochets de 4 cm. de long.

A l'état de repos, les crochets sont retractés dans une gaine ligamentisée contre le palais. Au moment de la morsure, ils sont projetés, la pointe en avant, par un jeu de muscles protracteurs qui font basculer les maxillaires et les crochets qu'ils supportent, qui pénètrent alors dans les tissus de la proie. Il y a en même temps abaissement de la mandibule. Dans un deuxième temps, il y a élévation de la mandibule coïncidant avec la retraction des crochets et pénétration du venin sous pression dans la plaie, expulsé des glandes par la contraction de la musculature.

Comme pour *Bitis Arietans*, *Bitis Gabonica* possède à l'arrière des crochets antérieurs, dits crochets de « remplacements ». Ces derniers viennent prendre les fonctions des crochets originaires



*Fig. 1.* Vipère du Gabon (*Bitis Gabonica*).



*Fig. 2.* Vipère du Gabon, montrant détails de la tête.

lorsque ces premiers sont arrachés lors de la morsure ou éliminés lors de manipulations au cours de la récolte du venin.

*Mœurs et informations circonstanciées ayant trait à l'envenimation par Bitis Gabonica.* La vipère du Gabon se rencontre généralement aux alentours de l'eau, nappes ou cours d'eau, aux abords et à l'intérieur des forêts tropicales (rainforests). D'après PITMAN (1938), on la rencontre fréquemment en Uganda dans les forêts de l'intérieur du Myanda et celles bordant les lacs Nyanza. Les informations suivantes sont extraites d'un rapport personnel qui nous a été aimablement communiqué par le Major F. E. H. BOSTOCK M. C., résident à Sumbaranga Tanganyika et qui a fourni le British Museum et cet Institut de plusieurs spécimens de *Bitis Gabonica*. Douze des spécimens de *Bitis Gabonica*, tués ou capturés par le Major F. E. H. BOSTOCK au cours de ces 15 dernières années, provenaient d'une zone située environ 9° 40' latitude Sud et 32° 20' longitude Est, altitude 1704 mètres, chute de pluie annuelle 112,5 cm., température maximum 35° C, minimum 10° C.

Le nom local indigène pour *Bitis Gabonica* est *Teeya* (également *Boma*), pour le distinguer de *Bitis Arietans* également présent dans ce territoire et appelé *Chipette*.

Tous les spécimens de *Bitis Gabonica* furent rencontrés pendant la journée aux abords de l'eau, dans une périphérie d'environ une centaine de mètres et près des abords des forêts. Taille 1 mètre à 1,40 m., couleur prédominante brunâtre ou rouge brunâtre. Lorsqu'ils sont inquiétés ou effrayés, leur présence est révélée par un bruit avertisseur semblable au son guttural émis par une personne qui se gargariserait sans eau. *Bitis Gabonica* est assez lent dans ses déplacements, il reste fréquemment enroulé sur lui-même, immobile à l'affût d'une proie attirée par l'eau, principalement rongeurs, oiseaux, petits singes ou batraciens qui passent à proximité et sur lesquels il se détend subitement et inflige sa morsure rapidement mortelle. Il se hasarde parfois près des habitations. C'est ainsi que le Major BOSTOCK a tué un spécimen de *Bitis Gabonica* près des huttes de ses Noirs, ou il avait mordu une poule qui se débattait par terre, tandis que la vipère paraissait attendre à son côté l'effet mortel de son poison pour commencer à l'absorber à son aise.

Le bétail est assez fréquemment mordu par *Bitis Gabonica*. La morsure paraît être due au fait que le bétail en paissant trouble le repos ou effraye le reptil au contact de ses sabots ou de son museau.

Dans son rapport, le Major BOSTOCK décrit l'effet d'une morsure de *Bitis Gabonica* sur un bœuf adulte de sa ferme. L'animal mordu fut trouvé environ 2 heures après la morsure de *B. Gabonica*, soit à 10 h. du matin, tandis qu'il paissait. La région de la morsure

près du jarret était le siège d'un œdème hémorragique, centre de deux perforations de la peau, largement écartées, caractéristique de la morsure d'un grand spécimen de *B. Gabonica*. A en juger des traces du bœuf sur le sol et de l'état piétiné de l'herbe tout autour de l'animal, ce dernier avait fait environ 10 m. depuis le lieu où il avait été mordu, en se débattant à terre et se relevant avant de succomber à l'action du venin. L'œdème était déjà généralisé à la plus grande partie du corps, et un écoulement de sang pouvait être observé de l'anús.

*Envenimation de l'homme.* Bien que *Bitis Gabonica* constitue dans certains territoires équatoriaux le serpent venimeux le plus commun (*Bitis Arietans* et *Bitis Nasicornis* étant également fréquemment rencontrés dans certaines zones), les morsures par ce vipéride ne sont relativement que peu fréquentes. Elles sont généralement observées chez les indigènes marchant dans les sentiers à découvert ou dans les forêts, en passant a proximité de *B. Gabonica* tapi à l'affût de proie de petite taille, perdrix, etc...

Selon l'opinion de PITMAN (1938), " The venom of *Bitis Gabonica* is of special interest, for where mankind is concerned, it is evidently particularly deadly... "

La morsure résulte rapidement en une tuméfaction hémorragique s'étendant de la zone d'inoculation et s'accompagne de symptômes d'intoxication générale en partie neurotoxique, qui aboutit fréquemment à la mort en l'absence de sérothérapie intraveineuse spécifique.

Les informations relatives à deux cas de morsure parmi le personnel européen d'Instituts chargés de la récolte de venin, témoignent de la gravité des lésions résultant de la morsure de *Bitis Gabonica* : les deux personnes mordues à un doigt par un seul crochet ont montré rapidement un œdème hémorragique très douloureux, partant du doigt et envahissant, malgré ligature et incisions locales, la main, puis s'irradiant de l'avant-bras vers l'aisselle. Malgré traitement chirurgical local et sérothérapique spécifique, la destruction brutale des tissus de la zone de morsure suivie de phénomènes de gangrène, nécessita l'amputation partielle ou totale du doigt mordu.

#### *Venin de Bitis Gabonica.*

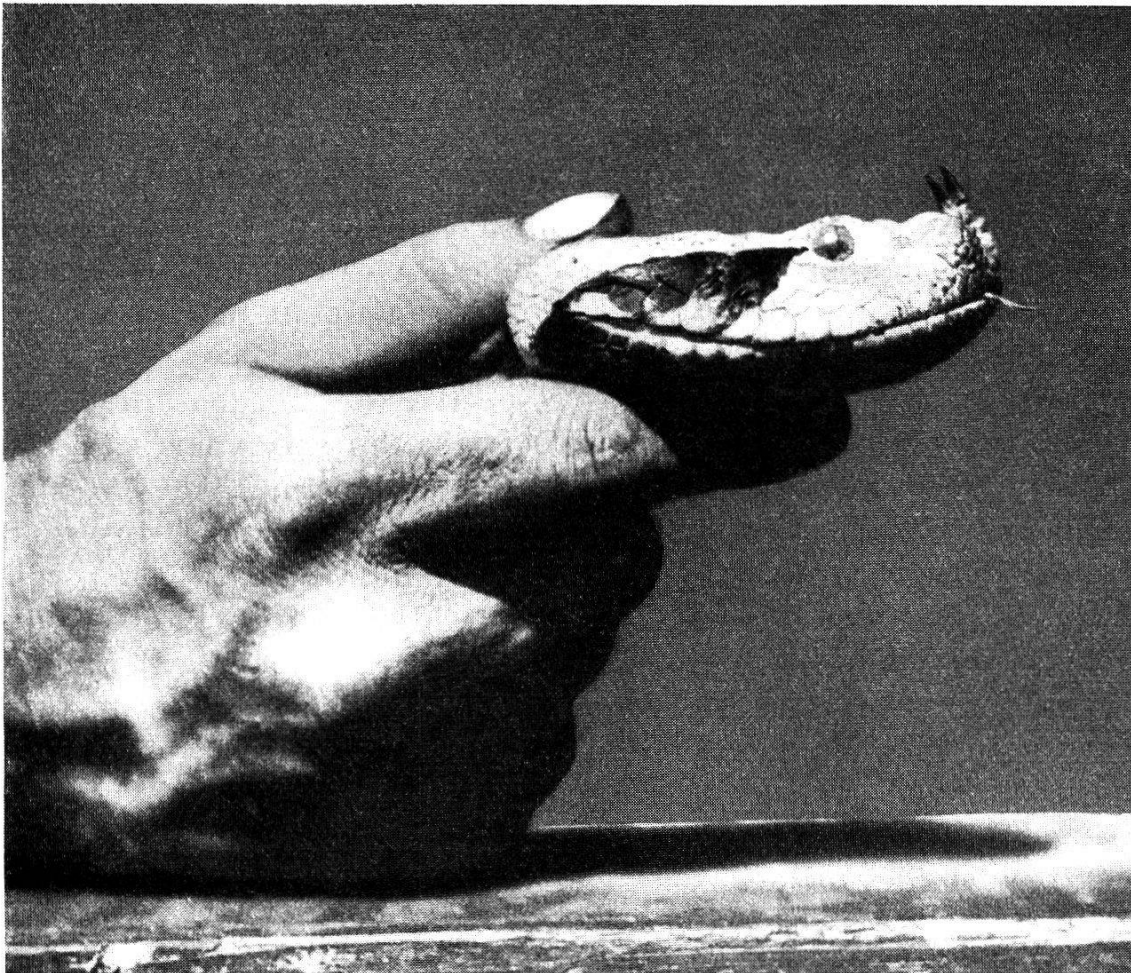
Un volume de 1-2 cc. de venin liquide est fréquemment récolté par manipulation des deux glandes de spécimens adultes vivants de *B. Gabonica*. Pour certains grands spécimens, la quantité de venin obtenue en une seule récolte est très considérable. Des observations du Dr CECCALDI, directeur de l'Institut Pasteur de Braz-

zaville, qui nous a fourni des envois répétés de ce venin, de même que de nos propres informations, il est possible d'obtenir des spécimens de 1,2 à 1,6 ml de 3 à 5 cc. de venin. Ces quantités représentent après dessiccation de 0,6 à 1 gramme de venin sec par spécimen. A titre d'exemple, il a été récolté par le Dr CECCALDI 2,97 gr. de venin sec de 3 grands spécimens de *Bitis Gabonica*, soit une moyenne de près de 1 gr. par spécimen.

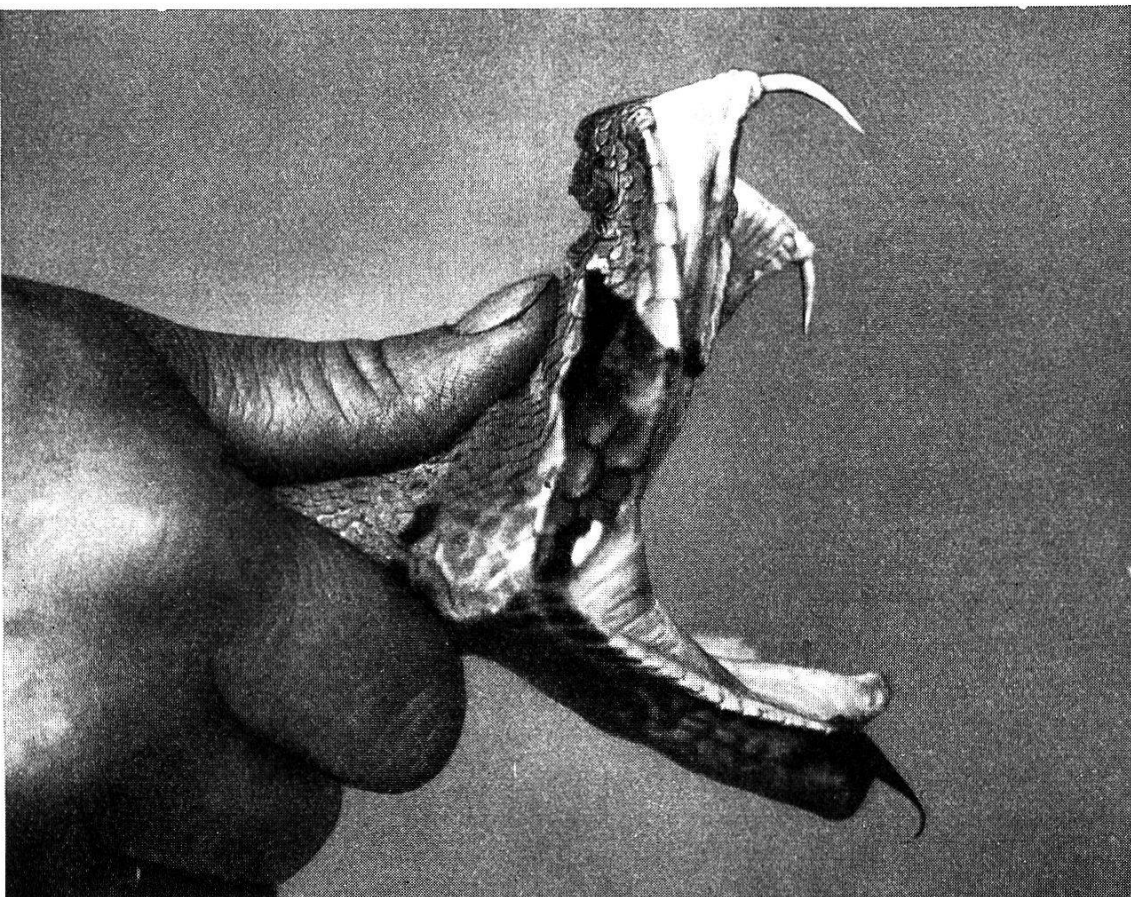
Les études exposées dans cette publication réfèrent à des recherches sur des spécimens de *B. Gabonica* de diverses origines, de l'Afrique Equatoriale Française (Institut Pasteur à Brazzaville), du Congo Belge (Institut de Médecine Tropicale Astride, Léopoldville) et du Mozambique. A l'état sec, le venin de *B. Gabonica* se présente sous forme de paillettes jaune citrin, brillantes, son contenu en protéines a été déterminé à 9,66 %.

*Toxicité.* Cette étude a été effectuée à partir de solutions fraîches de venin sec, dissoutes en eau physiologique. La toxicité de ces divers échantillons de venins a été étudiée et déterminée expérimentalement, respectivement pour la souris, le rat, le cobaye, lapin, pigeon, poule et mouton. Les symptômes d'envenimation produite par *B. Gabonica* rappellent ceux produits par *Bitis Arietans*, mais le caractère des lésions en diffère sensiblement. L'injection sous-cutanée ou intradermique de doses submortelles de *B. Gabonica* chez le cobaye ou le lapin, détermine dans l'heure suivante la formation d'un œdème hémorragique de la zone d'inoculation, se transformant en 24 heures en un escarre de caractère beaucoup plus sec que celle produite par le venin de *B. Arietans*. Ainsi l'injection intradermique de 0,1 et 1 mgr. de *B. Arietans* donne lieu à un œdème hémorragique local se transformant secondairement en une lésion nécrotique, humide, sanieuse d'où échappe un liquide sanguinolent. L'injection de mêmes doses de venin de *Bitis Gabonica*, donne lieu à une escarre hémorragique, se transformant après 24 heures en un placard nécrotique, puis en une croûte brun noirâtre endurée qui se cicatrise plus rapidement que la lésion humide produite par *Bitis Arietans*.

L'injection intraveineuse d'une dose de venin de *Bitis Gabonica* tuant le lapin en 2-4 heures après dyspnée croissante et mort précédée de mouvements incoordinés, résulte en un syndrome hémorragique généralisé. A l'ouverture de la cavité abdominale : hémorragies de l'épiploon et plusieurs cc. de sang libre dans la cavité péritonéale — hémorragies massives dans l'épaisseur de la paroi du petit intestin, infiltré par un œdème hémorragique gélatineux, de même que hémorragies multiples et étendues autour des gros vaisseaux abdominaux et renaux, hémorragies



*Fig. 3.* Vipère du Gabon, position à l'état de repos. Crochets venimeux retractés dans leur gaine, contre le palais.



*Fig. 4.* Vipère du Gabon, prête à mordre. Gueule ouverte, crochets projetés

rénales et sous-péricardiques. Poumons pâles avec quelques petits foyers hémorragiques. Foie, rate, estomac très congestionnés.

Le tableau suivant expose la toxicité du venin de *Bitis Gabonica* par voie sous-cutanée et voie intraveineuse pour les diverses espèces animales précitées. La toxicité est exprimée en dose minima mortelle — en mgr. de venin sec — suffisante pour tuer en un laps de temps de 4 à 18 heures.

Nous donnerons la toxicité respective de 2 échantillons de venin de *Bitis Gabonica* : N° I provenant des spécimens capturés dans le Mozambique, et N° II (10 gr.) des spécimens de l'Afrique Equatoriale Française (Institut Pasteur de Brazzaville). Ainsi qu'il résulte de la détermination de la dose minima mortelle par voie intraveineuse chez la souris, le lapin et le pigeon, l'échantillon de venins provenant de l'Afrique Equatoriale Française (territoire Ouest Africain) est considérablement plus toxique que celui provenant du Mozambique (territoire Est Africain). A titre comparatif, nous donnons également la toxicité respective pour les espèces animales, des venins de *Bitis Arietans* et de *Bitis Nasicornis* rencontrés dans les mêmes zones équatoriales françaises.

| Mode d'injection |              | <i>Bitis Gabonica</i> |                                          | <i>Bitis Arietans</i> | <i>Bitis Nasicornis</i> |
|------------------|--------------|-----------------------|------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|
|                  |              | N° I Mozambique       | N° II Congo Belge, Afrique Equat. Franç. |                       |                         |
| Souris           | intraveineux | 0,04 mgr.             | 0,026 mgr.                               | 0,02 mgr.             | 0,04 mgr.               |
|                  | sous-cutané  | 0,4 mgr.              |                                          | 0,15 mgr.             |                         |
| Rat              | sous-cutané  | 3 mgr.                |                                          | 1,5 mgr.              |                         |
| Cobaye           | sous-cutané  | 75 mgr.               |                                          | 50 mgr.               |                         |
| Lapin            | intraveineux | 3,2 mgr.              | 1,8 mgr.                                 | 1 mgr.                | 1 mgr.                  |
| Pigeon           | intraveineux | 0,075 mgr.            | 0,07 mgr.                                | 0,75 mgr.             | 0,06 mgr.               |
|                  | sous-cutané  | 2,5 mgr.              |                                          | 2 mgr.                |                         |
| Poule            | intraveineux | 0,6 mgr.              |                                          | 1,5 mgr.              |                         |
|                  | sous-cutané  |                       |                                          | 8 mgr.                |                         |
| Mouton           | sous-cutané  | 8 mgr.                |                                          | 50 mgr.               |                         |

Par injection sous-cutanée, la toxicité du venin *Bitis Gabonica* apparaît sensiblement inférieure à celle de *Bitis Arietans*. Cette différence n'est cependant pas aussi accentuée quand les venins sont injectés par voie intraveineuse ; pour les oiseaux, pigeons et poules, par cette dernière voie, le venin de *B. Gabonica* est même beaucoup plus toxique que celui de *B. Arietans*.

Les expériences suivantes indiquent que l'activité particulière du venin de *Bitis Gabonica*, injecté dans la circulation sanguine, paraît devoir être attribuée à des propriétés coagulantes qui s'exercent tant envers le sang humain normal que celui d'individus hémophyliques.

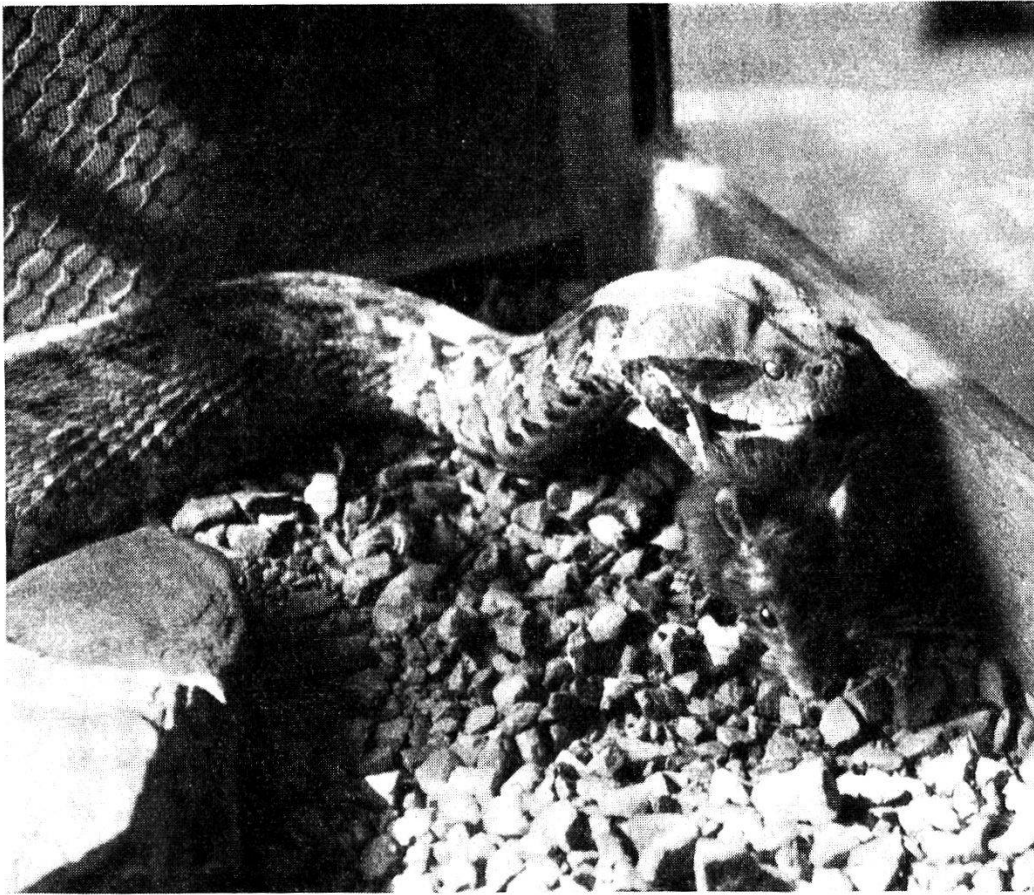
Ainsi que nous l'avons montré dans un travail antérieur pour un sang d'hémophylique, dont le temps de coagulation était de 25 minutes à 22° C., l'addition de venin de *Bitis Gabonica* N° I (Mozambique), dans une proportion de 1/10 000, raccourcit ce temps de coagulation à 5-6 minutes. Avec le venin de *Bitis Arietans* additionné dans une concentration semblable, ce même sang resta non coagulé après 60 minutes de contact. Pour le sang d'un autre hémophylique, coagulant à 24° C. en 32 minutes, l'addition de 1/10.000 de venin de *Bitis Gabonica* raccourcit le temps de coagulation à 11 minutes. Comme dans le premier cas, aucune coagulation ne fut observée après une heure de contact avec la même concentration de venin de *Bitis Arietans*. Une action retardatrice semblable du venin de *Bitis Arietans* sur les sangs d'hémophyliques fut également observée par B. BARNET et MAC FARLANE (1934).

Dans le cas de sang humain normal, coagulant en 5 minutes, l'addition de 1/5.000 de venin de *B. Gabonica* raccourcit le temps de coagulation à 3 minutes, tandis qu'avec la même concentration de venin *B. Arietans* aucune coagulation ne fut observée après une heure de contact.

Des expériences similaires faites ultérieurement avec l'échantillon de venin de *B. Gabonica* N° II, provenant de l'Afrique Equatoriale Française, sur un sang d'individu hémophylique montrèrent un pouvoir coagulant sensiblement inférieur à celui du spécimen précédent. La teneur limite de ce venin ayant une action coagulante évidente sur ce sang et qui réduisait le temps de coagulation de 20 minutes à 8 minutes, ne dépassait guère le millième.

#### *Etudes immunologiques sur le venin de Bitis Gabonica.*

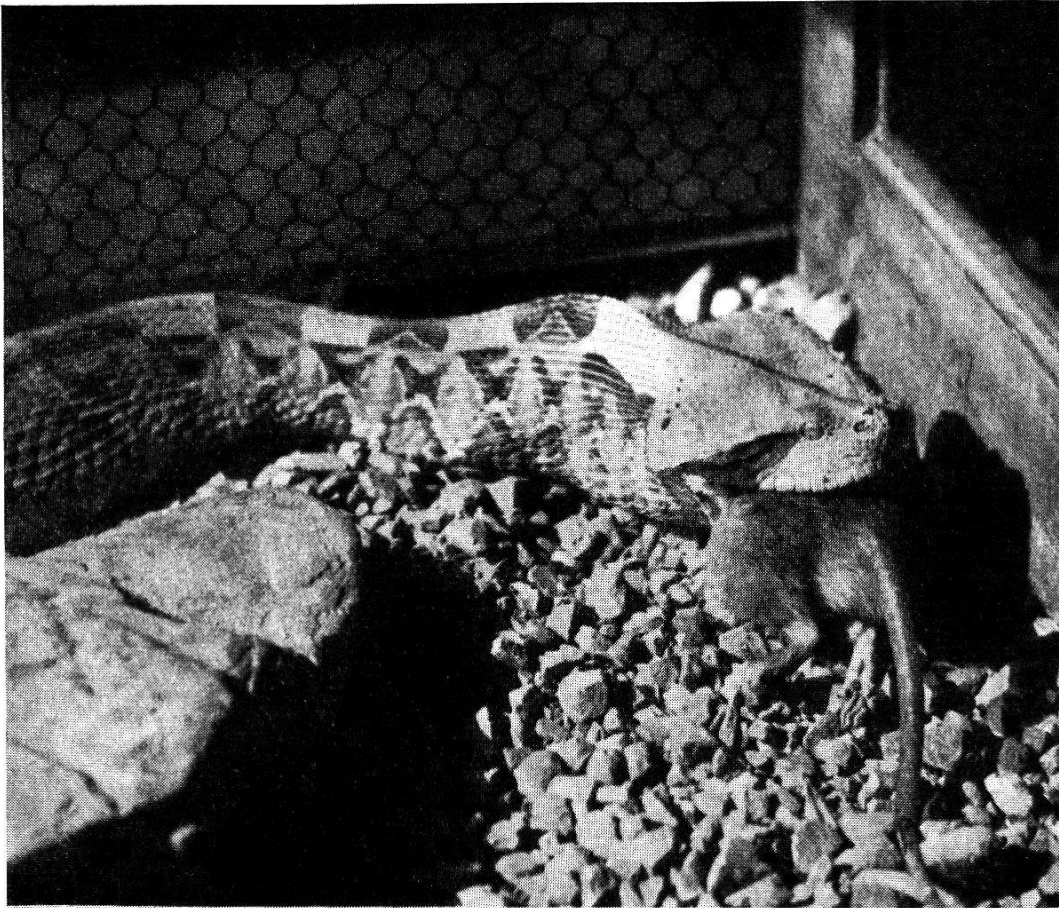
Des essais de neutralisation du venin de *Bitis Gabonica* par divers sérums antivenimeux, respectivement le Sérum Anti*Bitis Arietans Naja Flava* préparé dans cet Institut, le sérum AO de l'Institut Pasteur contre les venins des serpents de l'Afrique Equatoriale et Occidentale, ainsi que le sérum AN de ce même Institut contre les serpents de l'Afrique du Nord, ne montrèrent aucune protection appréciable contre le venin de *Bitis Gabonica*. Il en fut de même pour les sérums préparés contre les vipères de l'Europe ER de l'Institut Pasteur et de celui produit par l'Institut Sérothérapique tchéco-slovaque à Prague.



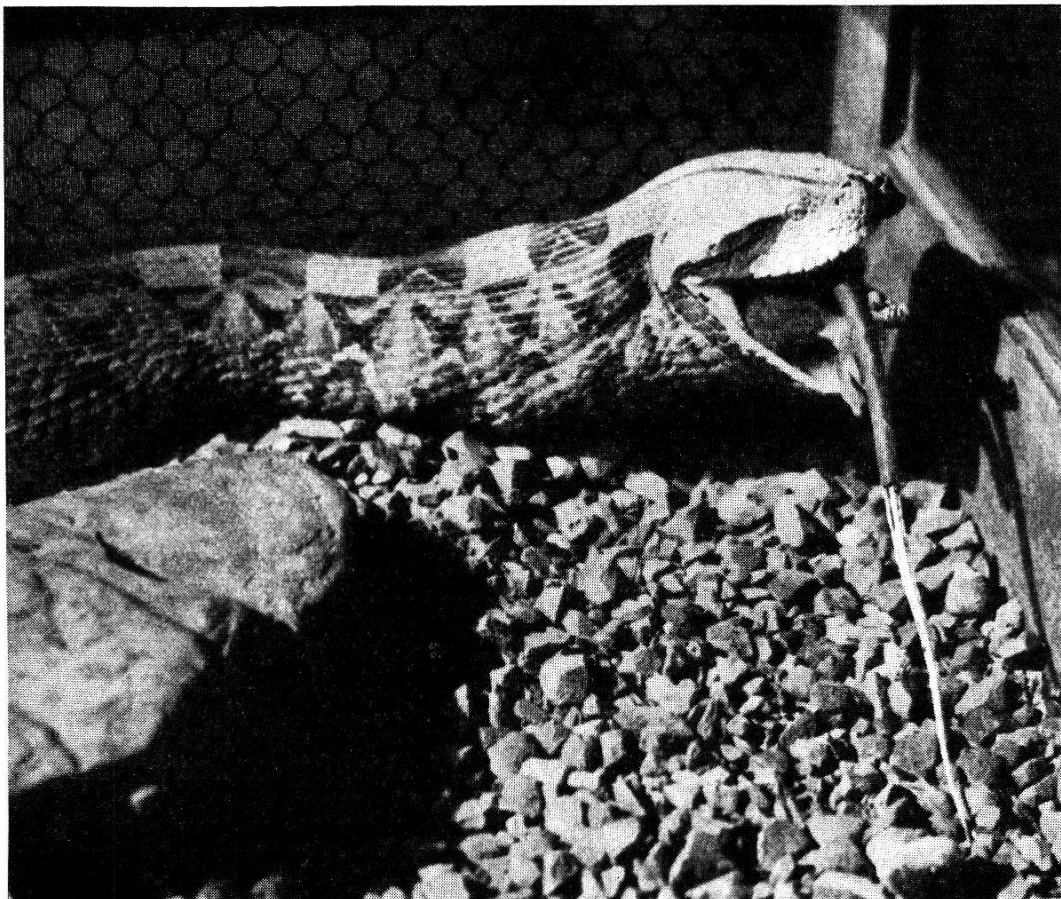
*Fig. 5.* Vipère du Gabon, attaquant un rat. Crochets venimeux visibles, mi-degaines.



*Fig. 6.* Vipère du Gabon. Après morsure, la vipère relâche sa proie et attend l'action mortelle de son venin pour l'absorber à son aise.



*Fig. 7.* Vipère du Gabon. La vipère procède à l'absorption de sa proie.



*Fig. 8.* Vipère du Gabon. La fin du repas.

En présence de ces faits, il fut donc jugé essentiel d'incorporer le venin de *Bitis Gabonica* dans la préparation du Sérum Anti-venimeux destiné à l'Afrique Equatoriale et Territoires Tropicaux correspondant à la distribution géographique de ce vipéridé.

*Détoxication du venin de Bitis Gabonica et immunisation active au moyen de son anavenin.*

Utilisant la technique que nous avons décrite pour la transformation du venin de *Bitis Arietans* et d'autres venins de vipéridés en anavenins (GRASSET et ZOUTENDYK 1932), consistant à soumettre des solutions de 1 % de venin de *Bitis Gabonica* en eau physiologique à l'action combinée de 0,75 % de formol à 37° C., nous avons obtenu en 6 semaines un produit atoxique et possédant de hautes propriétés antigéniques. Cette période de détoxication peut être sensiblement réduite à 4 semaines en dissolvant le venin sec dans du bouillon MARTIN — avant traitement par le formol. Cinq cm<sup>3</sup> d'Ana*Bitis Gabonica* ainsi obtenus — correspondant à 50 mgr. ou 12 doses minima mortelles de venin original — peuvent être injectés par voie veineuse à des lapins sans produire des symptômes d'intoxication. L'immunisation active des lapins au moyen de 3 doses d'Ana*Bitis Gabonica*, soit 30, 50 et 70 mgr. par voie sous-cutanée, à une semaine d'intervalle, permet à ces animaux de résister consécutivement à l'injection d'épreuve intraveineuse de 10 à 15 mgr. de venin de *B. Gabonica*, soit 3-5 doses minima mortelles de ce venin pour les lapins neufs.

Par ailleurs, ces lapins ainsi vaccinés par l'anavenin de *Bitis Gabonica* se sont montrés également protégés contre le venin de *B. Arietans* injecté par voie veineuse à la dose de 10 mgr. représentant 10 doses mortelles pour les lapins contrôlés.

Par contre, pratiquement aucune immunité croisée envers le venin *B. Gabonica* ne fut observée chez les lapins vaccinés avec 3 doses semblables d'anavenin de *Bitis Arietans*, dont la protection spécifique contre ce dernier venin atteignait pourtant 8-10 mgr., soit 8-10 doses mortelles.

*Préparation d'un sérum antivenimeux thérapeutique contre le venin de Bitis Gabonica.*

L'évidence de ces faits et leur portée pratique du point de vue sérothérapie antivenimeuse nous incita à entreprendre la préparation d'un sérum spécifique contre le venin de *Bitis Gabonica*. Avec les quantités limitées de venin de ce reptile, dont nous disposions

alors, nous avons procédé à l'immunisation monovalente d'un cheval à l'aide de l'anavenin formolé, dérivé de ce dernier. Un cheval fut soumis à l'injection hebdomadaire de 7 doses croissantes de 100 à 600 milligrammes d'*AnaBitis Gabonica*. Malgré l'immunisation partielle reçue par cet animal, son sérum montra néanmoins un titre de neutralisation déjà très appréciable : 3 cc. de son sérum neutralisant in vitro 7,5 mgr. de venin de *B. Gabonica* et 5 mgr. de venin de *B. Arietans*.

Sur les indications de cet essai préliminaire, nous avons entrepris d'obtenir des quantités suffisantes de venin de *B. Gabonica* pour l'incorporer d'une façon systématique parmi les venins utilisés dans la préparation du sérum polyvalent pour l'Afrique Equatoriale.

Avec la coopération de l'Institut Pasteur de Brazzaville, l'Institut de Médecine Tropicale « Astride » à Léopoldville, des quantités importantes de venin de *B. Gabonica* purent être obtenues, soit au total 205 grammes de venin, au cours des années 1938-45.

En addition des anavenins de *Bitis Arietans* et de *Naja Flava*, 12 chevaux reçurent une immunisation polyvalente contenant également six doses d'*AnaBitis Gabonica*, correspondant à 100 mgr., 200 mgr., 400 mgr., 600 mgr., 800 mgr. et 1400 mgr. de ce venin. Ces anavenins furent ajoutés, soit de tapioca, soit de 1 % d'alun, et les injections hebdomadaires furent réparties à 2-3 jours afin d'augmenter la stimulation antigénique. Les réimmunisations comprenaient 4 injections hebdomadaires de 400 à 1600 mgr. des trois anavenins respectifs.

Le titre neutralisant des saignées de ces chevaux en fin d'immunisation et réimmunisation fut de 12-16 mgr. de venin de *Bitis Gabonica* par 3 cc. de sérum ; 12-16 mgr. de *Bitis Arietans* et de 0,9 à 1,4 mgr. de venin de *Naja Flava*.

#### *Concentration et purification du sérum antivenimeux contre le venin de Bitis Gabonica.*

Ainsi que nous l'avons indiqué dans des publications antérieures, les divers anticorps venimeux — anticobras et antivipères — contenus dans le sérum antivenimeux polyvalent *Bitis Arietans*, *Naja Flava* ou *Sepedon Hemachaetes*, peuvent être concentrés de 3-4 fois au moyen du procédé de précipitation fractionnée (GRASSET, 1932).

Des résultats également satisfaisants furent obtenus pour la concentration du sérum polyvalent Anti*Bitis Gabonica*, *Bitis Arietans*, *Naja Flava*. La méthode ainsi appliquée jusqu'en 1944 à la préparation du sérum antivenimeux concentré pour l'Afrique

Equatoriale permet d'obtenir un sérum de titre neutralisant au cc. de 12 à 14 mgr. de venin *Bitis Gabonica* ; 12-16 mgr. de venin *Bitis Arietans* et 1 mgr. de venin de *Naja Flava*.

Au cours de ce procédé de concentration, la majeure partie des protéines sériques inactives et responsables pour la production des réactions sériques — telles que la fibrinoglobuline, l'euglobuline et la séro-albumine — étaient éliminées. Cependant la persistance de petites quantités de ces protéines sériques, de pair avec la pseudo-globuline concentrée — sous une forme biologique peu modifiée — résultait encore en une incidence de réactions sériques encore très appréciable chez les sujets traités, bien qu'inférieure à celle observée avec le sérum non purifié.

Chez les personnes déjà sensibilisées aux protéines sériques par des injections antérieures de sérums thérapeutiques divers, ces réactions sériques sont susceptibles de revêtir des formes particulièrement sévères, voire même de choc à moins qu'elles ne soient soumises préliminairement à une série de petites doses croissantes et désensibilisantes de sérum, selon la méthode de BES-REDKA.

Or, si telle procédure est applicable dans des conditions hospitalières, elles ne peuvent être mises en pratique lors du traitement d'urgence de morsure de serpents dans la « brousse », le plus souvent en l'absence d'aide médicale. Les conditions psychologiques dans lesquelles ce traitement est appliqué, l'état inquiétant du malade et la nécessité d'appliquer rapidement le traitement sérothérapique constituent autant de facteurs qui ne se prêtent guère à l'application de telles précautions, pourtant essentielles dans les cas de personnes sensibilisées au sérum.

Pour ces diverses raisons, l'application éventuelle du procédé de purification des antitoxines par digestion diastasique, introduite par I. PARFENTJEV (1936), résultant en une dénaturation (despéciation) des protéines sériques, nous parut devoir comporter des avantages tout particuliers dans la sérothérapie antivenimeuse. Selon les expériences de PARFENTJEV, puis de POPE (1939), sur la purification des antitoxines bactériennes, ces protéines sont dénaturées à tel point pendant la purification, qu'elles perdent leur spécificité biologique originelle. Elles ne sont plus qu'exceptionnellement susceptibles de sensibiliser l'organisme animal d'espèces différentes à l'injection ultérieure du même sérum, sous la forme originelle ou purifiée, ou de déclencher un choc anaphylactique chez un animal sensibilisé par une injection antérieure de sérum purifié ou non.

C'est pour ces motifs que lorsque le procédé de purification par

digestion diastasique, d'après le procédé de POPE, fut appliqué dans cet Institut à la concentration des antitoxines microbiennes, nous avons entrepris des recherches dans le but de l'appliquer aux sérums antivenimeux.

Ces essais entrepris avec notre collaborateur, le Dr P. CHRISTENSEN, nous ont montré que par digestion sélectionnaire, par le procédé POPE, il était possible, comme pour les antitoxines bactériennes, de ne conserver que les globulines sériques actives, c'est-à-dire les pseudoglobulines auxquelles sont liés les anticorps venimeux-anticobra et vipères. Nous avons ainsi obtenu des sérums antivenimeux hautement purifiés et concentrés. Les divers anticorps vipéridés et cobras y sont représentés sous une concentration de 4 à 7 fois supérieure par rapport à celle des sérums antivenimeux originaux (GRASSET et CHRISTENSEN, 1946).

Nous avons ainsi été à même de préparer un sérum polyvalent concentré neutralisant au cc. chez le lapin 22 mgr. de venin de *B. Gabonica*, 22 mgr. de *B. Arietans* et 2 mgr. de venin de *Naja Flava*. Malgré son haut pouvoir neutralisant, ce produit purifié d'apparence cristalline ne contient qu'un pourcentage relativement peu élevé en protéines sériques, de 11 à 12 %, rarement 16 % pour les sérums de haut index de concentration.

Des expériences effectuées avec des mélanges de venin et sérums antivenimeux ainsi purifiés et injectés, soit aussitôt après addition des deux constituants, soit après une heure de contact, ont montré que ces sérums purifiés n'ont pas perdu de leur avidité originelle. — Ce dernier point est particulièrement important en ce qui concerne la sérothérapie antivenimeuse. A l'action toxique rapide des venins sur l'organisme, il est, en effet, essentiel d'opposer un sérum antivenimeux non seulement de haut pouvoir neutralisant, mais également capable de fixer et de neutraliser rapidement *in vivo* les principes toxiques divers des venins, neurotoxines, hémorragines, coagulines, envahissant les tissus à partir de la zone de morsure, par voie lymphatique sanguine, nerveuse et par continuité directe.

Du point de vue sérothérapique, ce sérum est à même de répondre aux conditions thérapeutiques exigées par les quantités exceptionnellement élevées de venin injectées lors de la morsure de *Bitis Gabonica*.

Si l'on estime à 1 cc. le volume moyen de venin injecté par un spécimen de taille moyenne de *B. Gabonica* (soit la moitié de la quantité totale de venin extraite par manipulation des 2 glandes) représentant 200 mgr. de venin sec, il suffira théoriquement d'une ampoule de 10 cc. de sérum concentré neutralisant 20 mgr. de ce

venin au cc. pour neutraliser cette quantité de venin, sans tenir compte de la quantité de venin tolérée et non mortelle pour l'organisme en l'absence de traitement sérothérapique. Pour un spécimen de grande taille, 20-30 cc. de sérum, soit 2-3 ampoules, seront à même de neutraliser la quantité maxima de venin susceptible d'être injecté par *Bitis Gabonica*.

En outre, en pratique, comme il est de règle pour le traitement sérothérapique de toute intoxication venimeuse, la quantité de sérum antivenimeux à injecter sera proportionnelle au temps écoulé entre la morsure et l'administration du sérum.

### Conclusions.

La présente publication comprend un ensemble d'observations et de résultats de recherches immunologiques et sérologiques concernant :

- 1<sup>o</sup> La Vipère du Gabon (*Bitis Gabonica*) et l'envenimation par ce vipéridé Equatorial Africain ;
- 2<sup>o</sup> Les propriétés biologiques, toxiques et antigéniques du venin de *B. Gabonica* ;
- 3<sup>o</sup> La détoxication de ce venin, sa transformation en anavenin et les propriétés immunisantes de ce dérivé antigénique-atoxique ;
- 4<sup>o</sup> La préparation d'un sérum antivenimeux spécifique contre le venin de *Bitis Gabonica* ; son incorporation dans le sérum antivenimeux polyvalent pour l'Afrique Equatoriale et la purification de ce sérum par digestion diastasique, résultant en un sérum antivenimeux thérapeutique de haut pouvoir neutralisant envers le venin de *Bitis Gabonica*.

---

Nous désirons rendre ici un hommage posthume à Mr. G. PEERS, feu curateur du « Capetown Snake Park », pour sa précieuse coopération et pour la prise de certaines des photographies contenues dans cette publication.

Nos remerciements personnels au Dr CECCALDI, Directeur de l'Institut Pasteur de Brazzaville (Afrique Equatoriale Française), au Dr NEUJEAN, Directeur de l'Institut de Médecine Tropicale « Astride », Léopoldville (Congo Belge), pour leur intérêt personnel dans l'organisation de la récolte de venins dans leur Institut respectif, de même qu'au Major E. E. H. BOSTOCK, Simbaranga (Tanganyika), pour ses rapports et autre documentation relatifs à *Bitis Gabonica*, référées dans cette publication.

### Summary.

The present publication embodies a collection of observations regarding Gaboon Viper (*Bitis Gabonica*), of investigations carried out on its venom, and the preparation of a specific antivenene. *Bitis gabonica*, the largest of African Viperines, is found in a wide equatorial zone from the Eastern to the Western African Coasts. Size of adult specimen varies from 0.9 to 1.8 meter, weight from 7 to 9 kg. Venomous glands well developed, fangs 2 to 3 cm. length. Often found in the vicinity of water and in the tropical rain forests. Feeds on small preys, rodents, birds, monkeys. Cattle not unfrequently bitten during grazing. Its bite particularly deadly for man. It is followed rapidly by hemorrhagic oedema spreading from sight of inoculation with symptoms of systemic intoxication resulting frequently in death. The amount of venom collected by manipulation from both glands reaches frequently over 2-3 c.c. Experimentally the intra-venous injection of 2 mgr. of venom kills rabbits in 2-4 hours, after progressive dyspnoea and in-coordinated movements. Intoxication is characterized by a generalised hemorrhagic syndroma and congestion of viscera. 0.07 mgr. kills pigeons and 0.04 mgr. mice, by intra-venous route. Attempts of neutralizing *B. Gabonica* venom by *Bitis Arietans* serum and others proved all unsuccessful, and warranted the preparation of a specific antivenene. Immunization of horses was carried out by means of atoxic derivative or "anavenom" obtained by treating 1% sol. of *B. Gabonica* venom by 0.75% formol during 6 weeks at 38° C. The serum of horses injected with increasing doses from 100 to 1600 mgr. of this anavenom possesses high neutralizing properties against the latter venom. The natural serum is concentrated and refined by means of the enzyme digestive process. The resulting refined antivenene possesses a neutralizing power from 4 to 6 times higher as compared to the original serum. 1 c.c. of the concentrated serum is sufficient to neutralize 20 to 22 mgr. of *B. Gabonica* venom. Moreover the proteins of the antivenene so prepared have lost their original biological specificity to such an extent that they are but exceptionally capable of sensitizing animals of other species, to the latter injection of horse serum either in a refined or natural form. This tends therefore to a large extent to minimise in practice the risks of serum reactions and shock in antivenene therapy, as realized in the cases of enzyme purified bacterial antitoxins.

### Zusammenfassung.

Die vorliegende Publikation umfaßt eine Reihe von Beobachtungen über die Gabunviper (*Bitis gabonica*) sowie die Untersuchungen über ihr Gift und die Herstellung eines spezifischen Schlangengift-Immunserums.

*Bitis gabonica*, die größte unter den afrikanischen Viperiden, kommt in einer breiten Zone zwischen West- und Ostküste von Afrika vor. Sie wird meistens in der Nähe von Wasser und im tropischen Regenwald angetroffen. Das ausgewachsene Tier mißt 0,9—1,8 m und wiegt 7—9 kg. Es besitzt gut ausgebildete Giftdrüsen. Die Giftzähne sind 2—3 cm lang. Als Nahrung dienen kleine Beutetiere: Vögel, Nagetiere, Affen. Gelegentlich werden Rinder beim Weiden gebissen. Ausgesprochen lebensgefährlich ist der Biß für den Menschen. Es entsteht innert kurzer Zeit ein haemorrhagisches Oedem, welches sich von der Bißstelle ausbreitet, begleitet von Symptomen fortschreitender Intoxikation, die häufig den Tod zur Folge hat. Die Giftmenge, die aus den beiden Drüsen gewonnen werden kann, beträgt 2—3 ccm und mehr. Bei Kaninchen verursachen 2 mg, intravenös verabfolgt, zunehmende Atemnot und unkoordinierte Bewegungen und wirken innert 2—4 Std. tödlich. Die Intoxikation ist charakterisiert durch allgemeine Haemorrhagien und Kongestion der Eingeweide. Auf eine Taube wirken 0,07 mg, intravenös, tödlich, auf eine Maus 0,04 mg.

Versuche, das Gift von *Bitis gabonica* durch Serum von *Bitis arietans* und andere Sera zu neutralisieren, schlugen fehl, so daß die Herstellung eines spezifischen Antitoxins angestrebt werden mußte. Es wurden Pferde immunisiert mit einem atoxischen Derivat oder «Anatoxin», welches durch die Behandlung von 1% Lösung von *B.-gabonica*-Gift mit 0,75% Formol während 6 Wochen bei 38° C gewonnen wurde. Das Serum von Pferden, welche Injektionen dieses Anatoxins in steigenden Dosen von 100—1600 mg erhalten haben, besitzt stark neutralisierende Eigenschaften gegenüber dem Gift. Das natürliche Serum wird konzentriert und gereinigt durch enzymatische Verdauung. Das auf diese Weise gewonnene Antitoxin besitzt ein 4—6mal höheres Neutralisationsvermögen als das ursprüngliche Serum. 1 ccm davon genügt für die Neutralisation von 20—22 mg *B.-gabonica*-Gift. Außerdem haben die Proteine dieses Antitoxins ihre ursprüngliche biologische Spezifität soweit verloren, daß bei Tieren anderer Gattungen nur ausnahmsweise eine Ueberempfindlichkeit auf die Injektion des Pferdeserums in natürlicher oder präparierter Form vorhanden ist. Dadurch wird die Gefahr von Serumreaktionen und Schockwirkungen in der Therapie durch Antitoxin, welches mittels enzy-

matischer Verdauung gereinigt worden ist, auf ein Minimum reduziert.

### *Bibliographie.*

- Angel, M. F.*, « Les serpents de l'Afrique occidentale Française ». — Bull. du Comité d'Etudes hist. et scient. de l'Afrique Occidentale Française, 1932, t. XV, p. 815.
- Barnett, B.*, et *Mac Farlane, R. G.*, « On the relative potency of certain snake venoms to coagulate haemophylic blood ». — Proc. Zool. Soc. London, publ. N° 4, 1934.
- British Museum*, « Catalogue of Snakes », London.
- Calmette, A.*, « Les venins, les animaux venimeux et la Sérothérapie antivenimeuse ». — Paris, Masson & Cie 1907, p. 78.
- Fitzsimons, F. W.*, « The snakes of South Africa, their venom and the treatment of snake bite ». — Cape Town, T. Maskew Miller, 1919, p. 218.
- Grasset, E.*, « Concentration of polyvalent African antivenom serum ». — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 1932, vol. 26, p. 267.
- « Anavenoms and their use in the preparation of antivenomous sera ». — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 1945, XXXVIII (6) 463.
- Grasset, E.*, et *A. Zoutendyk*, « Méthode rapide de préparation de sérums antivenimeux polyvalents, antivipérides et Cobras, au moyen des anavenins formoles ». — Compt. rend. Soc. de Biol. 1932, t. CXI, p. 432.
- Grasset, E.*, *Zoutendyk* and *Schaafsma*, « Studies on the toxic and antigenic properties of Southern African snake venoms with special reference to the polyvalency of South African antivenene ». — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. XXVIII (6) 601, 1935.
- Grasset, E.*, and *Zoutendyk*, « Studies on the Gaboon Viper (*Bitis Gabonica*) and the preparation of a specific therapeutical antivenene ». — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 1938, XXXI (4), 445.
- Grasset, E.*, and *Christensen* (in the press), « Enzyme-Purification of polyvalent antivenene against South and Equatorial African Colubrine and viperine venoms. — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 1946.
- Parfentjev, I.*, 1936, U.S. patents 2,065,196, 2,123,198.
- Pitman, Charles R. S.*, « A guide to the snakes of Uganda ». — Published by the Uganda Society-Kampala, Uganda 1938.
- Pope, C. G.*, « The action of proteolytic enzymes on the antitoxins and proteins of immune sera (1). True digestion of the proteins ». — Brit. J. Exp. Path. XX, 132 (II).
- « Heat denaturation after partial enzyme action ». — Ibid. 201.