

(TRAVAUX DE L'INSTITUT SÉROTHÉRAPIQUE DE L'ÉTAT DANOIS)

TOXINES ET ANTITOXINES

EXPÉRIENCES THÉRAPEUTIQUES AVEC LES
ANTIVENINS (CROTALUS ADAMANTEUS ET
ANCISTRODON PISCIVORUS)

PAR

HIDEYO NOGUCHI, M. D.

Dans le présent article, j'examinerai deux questions: la spécificité des venins de serpents, et la valeur thérapeutique des sérums anti-crotalus et anti-mocassin.

Depuis que Calmette, Phisalix et Bertrand, et Fraser découvrirent la formation de l'antivenin dans le corps d'un animal immunisé contre le venin de serpent, presque dix années se sont écoulées déjà et, pendant ce temps, beaucoup a été fait et trouvé quant aux propriétés et aux effets de l'antivenin. Calmette croyait d'abord que l'antivenin produit à l'aide du venin-cobra pouvait agir contre toutes sortes de venins de serpents, et même contre celui du scorpion. Cette conception unitaire de la nature des venins de serpents, partagée par quelques auteurs, disparaît à présent graduellement, surtout à cause des recherches ultérieures de Kanthack, C. J. Martin, Lamb, et de Flexner et Noguchi.

En travaillant avec les venins de serpents d'Australie, Martin ne put reconnaître aucune force protectrice notable de l'antivenin de Calmette contre ces venins, tandis que Kanthack et Lamb firent ressortir très distinctement les différences spé-

cifiques existant entre le venin de Cobra et le venin de Daboia. Déjà Flexner et Noguchi avaient démontré que ni les substances toxiques principales ni les effets destructifs in loco ne sont affectés par l'antivenin de Calmette. Cependant, le travail qui conduisit ces observateurs à conclure à la nature spécifique du venin de serpent fut effectué surtout à l'aide de l'antivenin de Calmette, circonstance qui fait désirer vivement des recherches de contrôle avec différents antivenins, afin d'en fixer la spécificité. La rareté de ces sortes d'observation dans l'étude du venin, semble bien indiquer la difficulté de l'immunisation vis-à-vis d'autres espèces de venin de serpents, toujours plus riches que le venin de cobra en ce qui concerne la teneur d'éléments localement destructifs.

Pour ce qui est des venins crotalus et watermoccasin, personne ne semble avoir été à même d'élever quelque peu considérablement l'immunisation, bien que Flexner et Noguchi aient obtenu des sérums anti-crotalus assez actifs, par l'emploi de venin modifié à l'aide de différentes substances chimiques.

Dans le but d'étudier la spécificité des venins de serpents, je me suis servi de trois différents antivenins: les sérums anti-crotalus, anti-moccasin, et anti-cobra. M. le prof. Calmette avait bien voulu nous communiquer le dernier antivenin; les deux autres avaient été préparés dans cet Institut, comme il a été dit dans le mémoire précédent.

L'effet de ces anti-venins fut étudié à la fois in vitro (pouvoir antihémolytique) et in vivo (pouvoir antitoxique).

Les mélanges de venin et d'antivenin en observation furent portés à 37° pendant 2 h. avant d'en faire le test hémolytique ou les expériences sur animaux. Le tableau suivant montre le résultat obtenu :

Tabl. I.

A. Toxicité.

	Protège contre		
	Venin crotalus	Venin water-moccassin	Venin cobra
Sérum anti-crotalus 2,5 c. c. . . .	12 d. m. m.	1 d. m. m.	0
Sérum anti-moccassin 2,5 c. c. . . .	3 —	5 —	0
Sérum anti-cobra 2,5 c. c.	0 —	1 —	5 d. m. m.

B. Action in vitro (Hémolyse).

	Protège contre				
	Venin crotalus	Venin moccassin	Venin cobra	Venin Daboia	Venin Trimeresurus
Sérum anti-crotalus 1 c. c. . . .	10 d. m. h.	1,33 d. m. h.	0,75 d. m. h.	1,2 d. m. h.	2,25 d. m. h.
Sérum anti-moccassin 1 c. c. . .	4 —	40 —	4 —	4 —	5 —
Sérum anti-cobra 1 c. c.	0	0	2	0	0,3 —

d. m. h. = dose minimale complètement hémolytique pour 8 c. c. d'émulsion de sang de chien de 5 %.

L'expérience ci-dessus montre l'action in vivo très spécifique de l'antivenin.

Ensuite, cinq venins différents furent examinés in vitro, à savoir les venins de cobra, de water-moccassin, de Daboia, de Trimeresurus Riukianus et de crotalus adamanteus. Le pouvoir antihémolytique des trois antivenins cités fut examiné vis-à-vis de chaque venin. Le sang (8 c. c. dans chaque tube) provenait d'un chien: 2,5 % de sang défibriné en solution salée de 0,9 %; le degré d'hémolyse fut mesuré colorimétriquement, après avoir laissé les mélanges pendant 2 h. à 37°, et ensuite 6 h. à la température de la chambre.

L'expérience précédente montre l'action à peu près spécifique des différents antivenins vis-à-vis des venins d'où ils sont dérivés.

Ces recherches sur différents antivenins in vivo et in vitro

semblent donc démontrer définitivement la nature spécifique des antivenins, d'où il suit que pour le traitement de l'intoxication avec les venins de serpents, il faudra administrer l'antivenin spécial à chaque cas.

En examinant trois différents échantillons de l'antivenin de Calmette, je trouvai que le premier et le second avaient un pouvoir antivenimeux très faible, tandis que la force antihémolytique était comparativement grande; le troisième présentait des qualités toutes contraires. Ainsi, 10 c. c. des deux premiers échantillons neutralisaient 10 d. m. m. de venin de Cobra, mais 0,6 c. c. pouvait neutraliser 50 d. m. h. De l'autre côté, 4 c. c. du troisième sérum neutralisaient 10 doses minim. mortelles, mais 1,0 c. c. pouvait seulement neutraliser 3 doses min. compl. hémolytiques. — Il n'y a pas de la relation constante entre les propriétés antivenimeuses et les propriétés antihémolytiques d'un antivenin; et la mensuration normale d'un antivenin doit être faite séparément pour chaque élément constituant.

Dans ce qui suit, je présenterai les *résultats thérapeutiques* obtenus avec le sérum anticrotalus et antimocasin¹.

On a examiné la valeur thérapeutique des antivenins en injectant intrapéritonéalement à une série de cobayes 2 d. m. m. du venin en question. Ensuite, on administra différentes quantités de l'antivenin correspondant, de même intrapéritonéalement, au bout de 1, 2, 3 et 4 h. après l'inoculation. Les animaux témoins meurent toujours entre 3 h. 1/2 et 4 h. 1/2 après l'empoisonnement.

Les Tableaux suivants indiquent les résultats de l'expérience.

¹ Pour les détails de préparation de ces deux antivenins, voir les protocoles du mémoire précédent.

Tabl. II.

Expériences thérapeutiques avec le sérum anticrotalus.

Venin crotalus non filtré. — Sérum anticrotalus (chèvre, filtré). —
Cobayes. — Injections intrapéritonéales.

Venin en gr	Poids de l'animal en gr.	Symptômes avant l'injection de l'antivenin.	Injection d'antivenin		Résultat	Symptômes après l'injection d'antivenin
			Temps	Dose		
0,001	280	Effet irritatif immédiat. 15—20 min.: tension abdominale toujours croissante. Ne peut marcher. L'animal crie, si on le touche légèrement. Poils ébouriffés. — 30-60 min.: Tens. abdom. très élevée. L'animal ne résiste pas au manie-ment; peut encore se tenir debout — 1 ¹ / ₂ —2 h.: symptô- mes cités en progrès. 3 h.: l'animal est couché, respiration laborieuse, tempé- rature sous - nor- male. Mort: 3 h. 48 m.			† 3 h. 48 m.	
	contrôle					
0,001	280	Symptômes comme dessus jusqu'à 2 h., collapsus lent. 4 h. 17 m.: tombe, col- lapsus rapide. Mort: 4 h. 34 m.			† 4 h. 34 m.	
	contrôle					
0,001	280	50 min.: tension ab- dom. très élevée. La paroi abdomi- nale décolorée par le sang extravasé. Peut se tenir de- bout mais ne peut courir.	1 h.	1 c. c.	§	15 m.: très malade; 30 m.: pas de chan- gement; pas de pro- grès. Du fluide hé- moséreux échappe du point de piqûre. 1 h.: à peu près même état. 2 h.: amélioration pro- gressive. 4 h.: peut courir; mais la ten- sion abdom. conti- nue au même degré. 7 h.: encore un peu malade. 12 h.: man- ge et court; l'écoule- ment local cesse et devient sec. 24 h.: presque pas de sympt., un peu de

Venin en gr.	Poids de l'animal en gr.	Symptômes avant l'injection de l'antivenin.	Injection d'antivenin		Résultat	Symptômes après l'injection d'antivenin
			Temps	Dose		
0,001	280	1 h. 10: tous les symptômes avancés à l'état grave, pres- que pas de pouvoir de se tenir debout; fonction cardiaque faible et très rapide.	2 h.	1 c. c.	† 6 h. 30 m. 4 h. 30 m. après l'injec- tion de l'an- tivenin.	tension abdominale (270 gr.). 2 jours: pas de symptôme (280 gr.). 3 j.: 280 gr.
0,001	290	1 h. 10 m. exacte- ment comme le cas précédent.	2 h.	2 c. c.	§	1 h. 30 m. État à peu près semblable, pas de progrès du tout. 2—3 h.: l'amé- lioration commence et continue. 18 h.: plus de symptômes généraux; tension abdom. très réduite (285 gr.). 2 j.: tout à fait rétabli (290 gr.). 3 j.: bien por- tant (290 gr.).
0,001	260	2 h. 50 m.: ne peut se mouvoir ni tour- ner le corps.	3 h.	1 c. c.	† 5 h. 5 m. 2 h. 5 m. après l'injec- tion de l'an- tivenin.	40 m.: État non changé. 80 m.: tom- be; hémorragie de la piqûre.
0,001	270	2 h. 50 m.: ne peut se mouvoir.	3 h.	4 c. c.	§	2—3 h.: Un peu d'amélioration. 5 h.: très malade, bien que l'amélioration progressive. 24 h.: Fluide hémoséreux de la piqûre; poils mouillés. Peau de l'abdomen noirâtre. Peut courir, mange (250 gr.). 2 j.: pas de symptôme général; l'état local s'amé- liore. 3 j.: tout à fait guéri (250 gr.). 4 j.: se porte bien (270 gr.).
0,001	270	3 h. 50 m.: ne peut se mouvoir. Très malade.	4 h.	4 c. c.	† 8 h. 45 m. 4 h. 45 m. après l'injec- tion de l'an- tivenin.	30 m.: sérieusement malade. 2—3 h.: presque même état. 4 h.: tombe. 4 h. 45 m.: mort.

Tabl. II (suite).

Venin en gr.	Poids de l'animal en gr.	Symptômes avant l'injection de l'antivenin	Injection d'antivenin		Résultat	Symptômes après l'injection d'antivenin
			Temps	Dose		
0,001	270	Très malade; crise; ne peut se mouvoir.	4 h.	8 c. c.	§	L'amélioration com- mence au bout de 8 h.; ensuite progrès rapide. Le lende- main matin, presque guéri. 3 jours: par- faitement bien. 4 j.: 270 gr. Pas de com- plication au bout d'un mois.

Tabl. III.

*Expériences thérapeutiques. — Venin du water-mocassin et sérum
antimocassin (chèvre). — Cobayes. Injections intrapéritonéales.*

Venin en gr.	Poids de l'animal en grammes	Symptômes avant l'injection de l'antivenin	Injection d'antivenin		Résultat	Symptômes après l'injection de l'antivenin
			Temps	Dose		
0,0024	420 témoin	Action irritative im- médiate. 15—20 m.: Tension abdominale augmentant tou- jours; les poils se dressent. 30—45 m.: un peu de dyspnée, ne peut courir. 1 h.: Dyspnée, faiblesse générale prononcée; résiste encore un peu, si on veut le manier. 2 h.: à peu près même état. 3 h.: ne peut se mouvoir; dyspnée très forte. 4 h.: Respiration sourde, très rapide; se couche sur le flanc. 4 h. 25 m.: la respiration cesse.			† 4 h. 40 m.	
0,0024	420 témoin	Tout à fait comme le précédent.			† 4 h. 35 m.	
0,0024	témoin 420	Sympt. semblables aux précédents. Mort par dyspnée et paralysie.			† 4 h. 20 m.	
0,0024	420 témoin	Sympt. idem, mais collapsus plus ra- pide			† 3 h. 50 m.	

Venin en gr.	Poids de l'animal en grammes	Symptômes avant l'injection de l'antivenin	Injection d'antivenin		Résultat	Symptômes après l'injection de l'antivenin
			Temps	Dose		
0,0024	420	Très faible immé- diatement avant l'injection; peut en- core se mouvoir len- tement; tension abd- ominale forte.	1 h.	1 c. c.	† 10 h.	Graduellement plus mal; tombe après 9 h. Symptôme prin- cipal: Dyspnée.
0,0024	420	Tension abd. forte; ne peut courir; se tient encore debout; dyspnée, parèse.	1 h.	2 c. c.	§	L'amélioration com- mence après 3—4 h.; progrès rapide après 10 h. Le lendemain matin, actif, mange et court très bien. Pas de perte de poids. Le poids s'ac- croît au bout de 5 j. Parfaitement bien 25 j. plus tard.
0,0024	420	Dyspnée forte, pa- rèse, ne peut courir.	2 h.	2 c. c.	† 3 h. 35 m.	Les symptômes gé- néraux avancèrent toujours sans amé- lioration ni trace d'empêchement. Mort, accompagnée des symptômes or- dinares.
0,0024	420	Etat comme le sujet précité.	2 h.	3 c. c.	† 6 h. 20 m.	Pas d'amélioration; l'état empirait gra- duellement, mort par paralysie de la respiration.
0,0024	420	A peu près idem.	2 h.	4 c. c.	§	Après 2 h., l'amé- lioration commen- ce; après 6 h., l'a- nimal peut courir. Le lendemain, pas de trace de maladie. Perte de poids ré- parée en 5 jours; le poids augmente dès le 9 ^e jour.
0,0024	420	Idem, seulement un peu plus de dyspnée.	2 h.	6 c. c.	§	Après 2 h., amélio- ration; beaucoup mieux au bout de 5 h. — 10 h.: peut courir. Le lende- main matin: se porte bien. Poids réparé en 4 j. — S'accroît depuis 7 jours.

Tabl. III (suite).

Venin en gr.	Poids de l'animal en grammes	Symptômes avant l'injection de l'antivenin	Injection d'antivenin		Résultat	Symptômes après l'injection de l'antivenin
			Temps	Dose		
0,0024	420	Dyspnée; l'animal est atone, ne peut courir, tension abdo- minale très élevée.	3 h.	4 c. c.	† 4 h. 10 m.	Pas d'amélioration. Les symptômes ne sont pas du tout entravés.
0,0024	420	Absolument com- me le cas précédent.	3 h.	8 c. c.	§	Amélioration comm. après 10 h. — pro- gresse vite; se porte bien au bout de 24 h. Perte de poids ré- parée après 2 j. Pas de complication en dedans d'un mois.
0,0024	420	Dyspnée très forte, tens. abdom. idem.; ne peut mouvoir le corps, très malade.	4 h.	10 c. c.	§	Très amélioré au bout de 10 h. Le lendemain matin pas de symptômes. Pas de perte de poids. — Pas de complica- tion en un mois.

Quant au venin-crotalus, des déterminations correspon-
dantes de la toxicité se trouvent dans le Tab. XII du mémoire
précédent. De l'antivenin utilisé, 1 c. c. neutralisait in vitro
environ 0,0025 gr. du venin, c.-à-d. deux fois et demie la
quantité employée.

Du sérum antimoccasin, 1 c. c. neutralisait l'effet d'environ
0,002 gr. de venin in vitro. Le résultat de ces deux Tableaux
se trouve schématiquement au Tab. IV.

Les résultats de ces expériences démontrent la grande
valeur thérapeutique de ces deux antivenins. Les animaux
furent sauvés même après que l'empoisonnement était si
avancé qu'ils ne pouvaient plus se tenir debout. Quant aux
animaux non traités, leur mort arrive généralement au bout
de 15-20 minutes après qu'ils tombent.

Dans les cas de guérison, l'amélioration est très rapide, et
les animaux se portent bien au bout de 24 h. Après quel-
ques jours, les pertes de poids sont réparées. Les animaux,
après avoir offert des symptômes aigus d'intoxication, sont
restés beaucoup de mois sans présenter de complications; ils
croissent rapidement.

Tabl. IV.

Expériences thérapeutiques (résumé).

Venin crotalus (2 d. m. m.) sérum anticrotalus.			Venin water-moccasin (2 d. m. m.) sérum antimoccasin.		
Temps	Dose	Résultat	Temps	Dose	Résultat
	0	† 3 h. 48 m.		0	† 4 h. 40 m.
	0	† 4 h. 34 m.		0	† 4 h. 35 m.
	0	† 4 h. 20 m.		0	† 4 h. 20 m.
	0	† 4 h. 50 m.		0	† 3 h. 50 m.
1 h.	1 c. c.	§	1 h.	1 c. c.	† 10 h.
				2 c. c.	§
2 h.	1 c. c.	† 6 h.	2 h.	2 c. c.	† 3 h. 35 m.
	2 c. c.	§		3 c. c.	† 6 h. 20 m.
3 h.	1 c. c.	† 5 h.		4 c. c.	§
	4 c. c.	§		6 c. c.	§
4 h.	4 c. c.	† 9 h.	3 h.	4 c. c.	† 4 h. 10 m.
	8 c. c.	§		8 c. c.	§
			4 h.	10 c. c.	§

† = mort.

§ = rétabli.

Calmette et Fraser on fait des expériences semblables avec le sérum anticobra. Ils pouvaient sauver les animaux d'expérience par l'inoculation d'une quantité suffisante d'antivenin donnée avant 1 h. 1/2 après l'injection d'une quantité de venin cobra suffisant pour tuer l'animal en dedans de 3—5 h., en cas de non traitement. Plus tard, après cette limite de temps, l'action curative de l'antivenin devient incertaine. Ils trouvèrent de même que plus tard on administre l'antivenin, plus grande devient la quantité d'antivenin nécessaire pour neutraliser la même quantité de venin. Ce fait que la quantité nécessaire d'antivenin s'accroît avec le temps écoulé depuis l'empoisonnement s'accorde avec les expériences de Dönitz sur la toxine-antitoxine diphtérique, comme aussi avec celles de Madsen sur la tétanolyse et son antitoxine.

Addenda.

Action antivenimeuse du sérum antidaboïa.

(Sérum et venin mélangés 2 h. à 37°). — Cobayes 200 gr.

Injection intrapéritonéale.

Toxicité.		Venin Daboïa.	
Venin Daboïa		0,0004 gr. (8 d. m. m.).	
(Dr. Lamb).		+ antivenin	
0,00015 gr.	† 6 h. 30 m.	1 c. c.	pas de symptôme
0,0001	† 6 h. 40 m.	0,5	—
0,0001	† 9 h. 30 m.	0,2	malade pendant 3 jours.
0,00007	† 7 h. 30 m.	× 2	— — 7 —
0,00005	† 9 h.	0,1 : 1	† 8—15 h.
0,000045	Perte de poids	: 2	presque pas de sympt.
0,00004	—	: 3	pas de symptôme.
0,00003	—		
0,00002	presque pas de sympt.		
0,00001	pas de sympt.		
		Venin Daboïa.	
		0,002 gr. (40 d. m. m.).	
		+ antivenin	
Venin de crotale.		0,5 c. c. : 1	† 7—12 h.
Toxicité.		: 2	† 20 h.
0,0006 gr.	† 7—15 h.	: 3	presque pas de sympt.
0,0005	† 17 h.		
0,00045	Perte de poids		
0,0004	—		
0,0003	—		
0,00025	—		
		Action du sérum antidaboïa sur le venin de crotale.	
		Sérum 1 c. c.	
		+ venin de crotale	
		0,0005 gr. (1 d. m. m.) un peu malade	
		0,001 (2 —) malade pendant 4 j.	
		0,0015 (3 —) — 5 -	
		0,002 (4 —) 40 h.	
		0,0025 (5 —) 9 h.	
		0,003 (6 —) 12 h.	
		0,004 (8 —) 12 h.	
		Ainsi 1 c. c. de sérum antidaboïa a neutralisé 0,0015 gr. (3 doses min. mort.) de venin de crotale.	

Résumé.

1) L'action des différents antivenins est à un haut degré, mais non strictement spécifique aux venins d'où ils dérivent. La spécificité a été démontrée in vivo (toxicité) et in vitro (hémolyse).

2) Les sérums anti-crotalus et anti-mocassin possèdent une haute valeur thérapeutique. Ils peuvent sauver la vie de l'animal au stade le plus critique de l'intoxication, et la guérison se fait très rapidement.

3) La mensuration de l'effet de l'antivenin doit être faite séparément pour les pouvoirs antivenimeux et hémolytiques parce que ces pouvoirs présentent des proportions très variables dans différentes préparations.

Je saisis l'occasion de remercier cordialement M. le Dr. Madsen pour les conseils et les encouragements qu'il n'a cessé de me donner pendant l'exécution de ce travail.
