

## **Scorpionisme et sérums antiscorpioniques**

par M. GOYFFON\*

### **Résumé**

Une étude du pouvoir protecteur de trois sérums antiscorpioniques vis-à-vis de trois venins de scorpions Buthidae montre l'existence d'un effet paraspécifique important, qui peut s'expliquer par la parenté antigénique des toxines entrant dans la composition de ces venins, et qui de plus offre un grand intérêt médical.

### **Summary**

A study of the protecting power of three scorpion antivenins against three Buthid scorpion venoms show an important paraspecific effect, which can be explained by a close related structure of the toxins of these venoms, and which besides presents a great medical interest.

### **Introduction**

Du fait de l'importance des migrations humaines à l'échelle de la planète, qu'elles soient touristiques, militaires ou liées à des contraintes économiques, du fait aussi de l'intérêt croissant porté à la vie animale, intérêt dont bénéficient les mal-aimés des animaux avec, entre autres conséquences, le développement d'élevages amateurs ou professionnels d'espèces venimeuses dangereuses, le scorpionisme ou pathologie de l'envenimation scorponique sort du domaine de la pathologie exotique. Les piqûres de scorpion peuvent être redoutables, surtout pour les enfants, et pourtant la fabrication en France de sérum antiscorpionique a cessé depuis plusieurs années. Placé devant une demande thérapeutique émanant de plusieurs organismes, j'ai été amené à comparer le pouvoir protecteur de divers sérums de fabrication étrangère. Les résultats des premières observations et les réflexions qu'ils suggèrent font l'objet du présent travail.

---

\* Adresse de l'auteur : L.E.R.A.I., Muséum national d'Histoire naturelle, et Division de Biologie Générale et Ecologie, C.R.S.S.A., 57 rue Cuvier, 75005 Paris.

## Matériel et méthodes

**Principes.** Le pouvoir protecteur et l'effet paraspécifique des sérums antiscorpioniques ont été évalués chez la souris par la détermination de la DE 50 (dose efficace 50%) c'est-à-dire du volume de sérum protégeant 50% de l'effectif d'une population vis-à-vis de quantités létales connues de trois venins de scorpions. Le principe de la méthode consiste à injecter à des lots de 8 souris un mélange de quantité croissante de sérum et d'une dose de venin équivalant à 3 DL 50. Dans un premier temps, il convient donc de déterminer la DL 50 du venin, c'est-à-dire la quantité de venin létale pour 50% de la population intoxiquée.

**Venins de scorpions.** Trois venins ont été utilisés, ceux de trois espèces dangereuses communes dans les pays de l'Afrique du Nord, *Androctonus australis* (L.), *Buthus occitanus* (Am.) et *Leiurus quinquestriatus* (H. et E.), toutes trois appartenant à la famille des Buthidés.

Les venins lyophilisés d'*A. australis* et de *L. quinquestriatus* ont été fournis par la société LATOXAN, 05150 Rosans. Le venin brut de *B. occitanus* a été fourni par l'Institut Pasteur de Tunis (directeur: Professeur CHADLI), et lyophilisé au laboratoire.

**Sérums antiscorpioniques.** Trois sérums antiscorpioniques ont été utilisés:

1. Le sérum antiscorpionique de l'Institut Refik Sayda Merkez Hifzissihha d'Ankara (Turquie). D'après la notice d'emploi, il s'agit d'un sérum équin non purifié préparé par injection de broyats de telsons de scorpions récoltés dans les régions de Turquie où vivent les espèces dangereuses. Rappelons que, selon VACHON (1966), on rencontre en Turquie une quinzaine d'espèces, dont deux sont redoutables, *Androctonus crassicauda* et *Leiurus quinquestriatus*. On n'y rencontre ni *A. australis*, ni *B. occitanus*, et leurs venins ne sont en conséquence pas utilisés pour la préparation du sérum antiscorpionique. Nous avons disposé de 10 ampoules de 2 ml (série n° 10913).

2. Le sérum antiscorpionique de l'Institut Pasteur de Tunis, sérum équin purifié préparé selon les conditions décrites par BOUSSARSAR (1979), avec les venins d'*A. australis* et *B. occitanus*. Nous avons 4 ampoules de 10 ml neutralisant au minimum, d'après la notice, 10 DL 50 de venin par ml de sérum (lot n° 28).

3. Le sérum antiscorpionique de l'Institut Pasteur d'Alger, sérum équin purifié préparé dans des conditions analogues au précédent, mais à partir du seul venin d'*A. australis*. D'après la notice d'accompagnement, ce sérum neutralise 25 DL 50 de venin par ml (KOUBI, in litt.). Nous avons disposé de six ampoules de 10 ml (lot n° 4369).

**Souris.** Souche IOPS (IFFA CREDO), souris femelles non consanguines, d'un poids moyen de 20 g.

**Matériel pour injections.** Seringues de 1 ml pour intradermo-réaction, aiguilles hypodermiques à biseau court de 30 mm de long, de 0,15 mm de diamètre intérieur (Société Aubry & Cie, 10-12 rue du Vieux-Colombier, 75006 Paris).

Papier semi-logarithmique pour détermination graphique de la DL 50 sur la droite de Henry.

**Calcul de la DL 50 des venins.** La DL 50 est déterminée selon la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1949), par l'injection à des lots de 8 souris de doses de venin croissant en progression arithmétique. Le venin est dissous dans du sérum physiologique, sous un volume constant de 0,5 ml par souris de 20 g, le volume injecté étant ajusté en fonction du poids de la souris au moment de l'injection (par exemple,

0,45 ml par souris de 18 g, ou 0,55 ml par souris de 22 g). Les solutions de venin sont injectées par voie intraveineuse caudale, et les souris sont alors mises en observation pendant 48 heures. Cinq lots de 8 souris au minimum sont utilisés pour établir une courbe à cinq points permettant le calcul de la DL 50 (fig. 1).

*Détermination du pouvoir protecteur du sérum antivenimeux chez la souris.* Le pouvoir neutralisant du sérum est calculé à partir des effets de l'injection d'un mélange d'une quantité fixe et supralétale de venins et de quantités croissantes de sérum. En règle, deux doses différentes de venin doivent être utilisées, car le pouvoir antigénique des divers composants toxiques du venin peut être inégal, et les moins toxiques ne pas être neutralisés (ou être moins bien neutralisés) par le sérum. On utilise généralement des doses correspondant à 3 DL 50 et 10 DL 50. Cependant, en raison des faibles quantités de sérum dont nous avons disposé, seul le pouvoir neutralisant à 3 DL 50 a été déterminé.

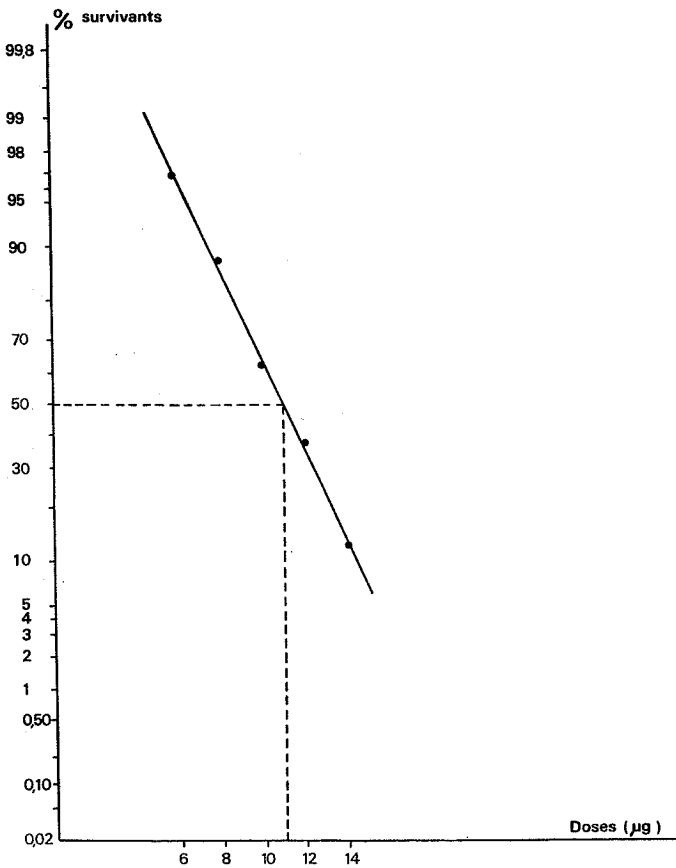


Figure 1. — Détermination de la DL 50 du venin d'*Androctonus australis*, selon la méthode de Litchfield et Wilcoxon (1949). La DL 50 est exprimée en µg, chez la souris de 20 g.

Une quantité de venin à 3 DL 50 est donc mélangée au volume choisi de sérum et injectée à des lots de 8 souris par voie intraveineuse caudale après 15 mn d'attente, sous un volume constant de 0,5 ml par souris de 20 g, et corrigé éventuellement en fonction du poids de la souris.

Par la méthode de LITCHFIELD & WILCOXON (1949), on détermine la DL 50, c'est-à-dire le volume de sérum qui permet d'obtenir 50% de survivants. Ce volume se montre capable de neutraliser 2 DE 50, puisqu'on détermine un point de DL 50. Dans le cas où 10 DL 50 de venin sont injectées, la DL 50 correspond au volume de sérum ayant neutralisé 9 DL 50 de venin. Comme dans le calcul de la DL 50 des venins, cinq lots de 8 souris sont utilisés pour établir une courbe à cinq points permettant le calcul de la DL 50.

Connaissant la quantité de venin injectée et le volume de sérum efficace, on peut exprimer le pouvoir neutralisant du sérum en mg/ml. La méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1949) permet de calculer un intervalle de confiance au seuil de probabilité choisi, en pratique au classique seuil 0,05.

Lorsque les quantités de sérum dont nous disposons étaient insuffisantes pour déterminer avec précision une DL 50, notamment dans l'étude du pouvoir protecteur paraspécifique, nous indiquons dans les résultats un «titre minimal protecteur» (TMP) qui correspond au volume minimum de sérum ayant assuré une survie à 100% des animaux dans notre expérience.

*Electrophorèse et dosage des protéines des sérums.* Les protéines totales des sérums antiscorpioniques ont été dosées par la méthode du biuret. L'existence d'une fraction albuminique a été recherchée par électrophorèse sur acétate de cellulose, et les proportions respectives de globulines et d'albumines ont été évaluées par densitométrie.

## Résultats

*Toxicité des venins.* Chez la souris de 20 g, les DL 50 des venins s'élèvent respectivement à :

- *L. quinquestriatus*: 0,48 mg/kg (0,39-0,58)
- *A. australis* (fig. 1): 0,55 mg/kg (0,46-0,65)
- *B. occitanus*: 0,90 mg/kg (0,80-1,05).

Entre parenthèses sont indiquées les limites de l'intervalle de confiance.

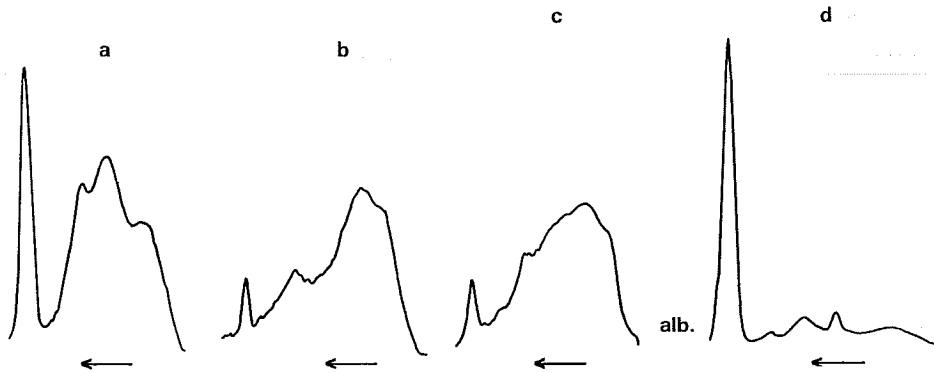
*Electrophorèse et dosage des protéines:*

*Sérum d'Ankara*: teneur en protéines: 83,5 mg/ml. Présence des fractions protéiques habituelles d'un sérum de mammifère, avec 20% d'albumine et 78% de globulines (fig. 2a).

*Sérum de Tunis*: teneur en protéines: 25 mg/ml. Présence d'une fraction globulinaire et d'une faible fraction albuminique résiduelle d'environ 7% (fig. 2b).

*Sérum d'Alger*: teneur en protéines: 34,5 mg/ml. Présence d'une fraction globulinaire majeure, et d'une fraction albuminique résiduelle représentant 6% de l'ensemble. L'aspect de l'électrophorégramme est identique au précédent (fig. 2c).

*Pouvoir protecteur des sérums.* Il est exprimé en mg de venin par ml de sérum. Entre parenthèses figurent les limites de l'intervalle de confiance. Lorsque celui-ci n'est pas indiqué, la valeur donnée correspond au TMP tel qu'il a été défini au paragraphe précédent.



**Figure 2.** — Densitogramme des électrophorèses sur acétate de cellulose des trois sérums antiscorpioniques utilisés. a, sérum d'Ankara; b, sérum de l'Institut Pasteur de Tunis; c, sérum de l'Institut Pasteur d'Alger; d, sérum humain témoin (alb. = albumine).

*Sérum d'Ankara*: 0,075 mg de venin de *L. quinquestriatus*. — 0,24 mg de venin d'*A. australis*. — 0,12 mg de venin de *B. occitanus*.

*Sérum de Tunis*: 0,15 mg de venin de *L. quinquestriatus*. — 0,08 (0,06-0,10) mg de venin d'*A. australis* (fig. 3a). — 0,11 (0,09-0,13) mg de venin de *B. occitanus* (fig. 3b).

*Sérum d'Alger*: 0,09 (0,07-0,11) mg de venin de *L. quinquestriatus* (fig. 3c). — 0,17 (0,14-0,19) mg de venin d'*A. australis* (fig. 3d). — 0,11 (0,09-0,13) mg de venin de *B. occitanus*.

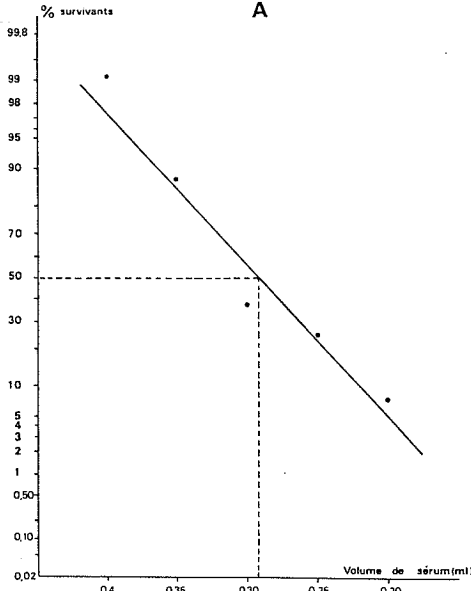
## Discussion

### Remarques sur la méthodologie

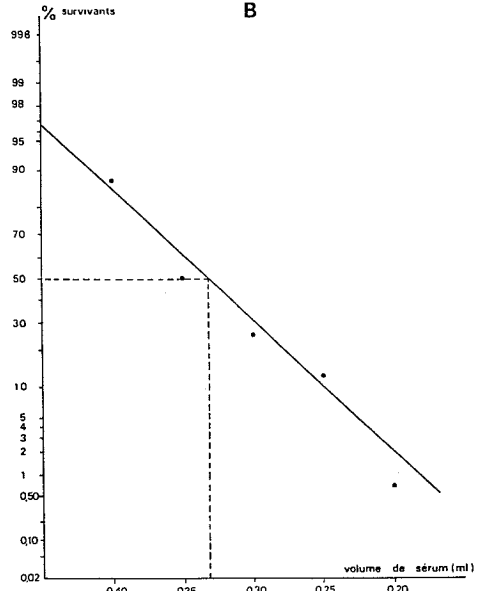
a. Les DL 50 des venins de *L. quinquestriatus* et d'*A. australis* sont sensiblement supérieures à celles qu'indiquent ZLOTKIN et coll. (1978), alors que la DL 50 du venin de *B. occitanus* est identique. Cela peut tenir à une différence dans la préparation du venin lyophilisé. Le venin de *B. occitanus* a été lyophilisé après une centrifugation qui a éliminé une fraction insoluble alors que les venins de *L. quinquestriatus* et *A. australis* n'ont pas subi cette centrifugation préalable à la lyophilisation, d'où une apparente diminution de toxicité. Même ainsi, ces deux venins restent nettement plus toxiques que celui de *B. occitanus*, ce que confirme la sévérité plus grande des envenimations humaines par *A. australis* ou *L. quinquestriatus*.

b. Le pouvoir protecteur des sérums a été calculé à partir de doses de venin équivalent à 3 DL 50. Les essais à 10 DL 50 n'ont généralement pas pu être réalisés en raison des faibles volumes de sérum dont nous disposions. Dans le cas des venins de Buthidés, cet inconvénient est *a priori* minime, du fait de la présence dans ces venins d'un groupe de neurotoxines homogènes dans leur structure et dans leurs effets, et de l'absence d'activités enzymatiques importantes. Un essai de détermination du pouvoir protecteur à partir d'une dose de venin d'*A. australis* équivalant à 10 DL 50 a montré

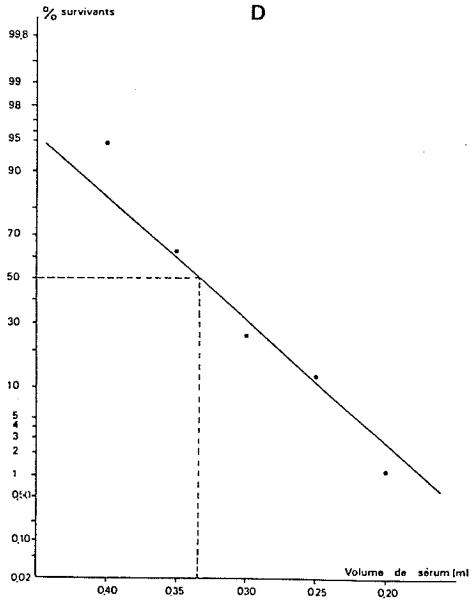
NEUTRALISATION du VENIN d'*Androctonus australis* (3DL50)  
SERUM ANTISCORPIONIQUE de l'INSTITUT PASTEUR de TUNIS



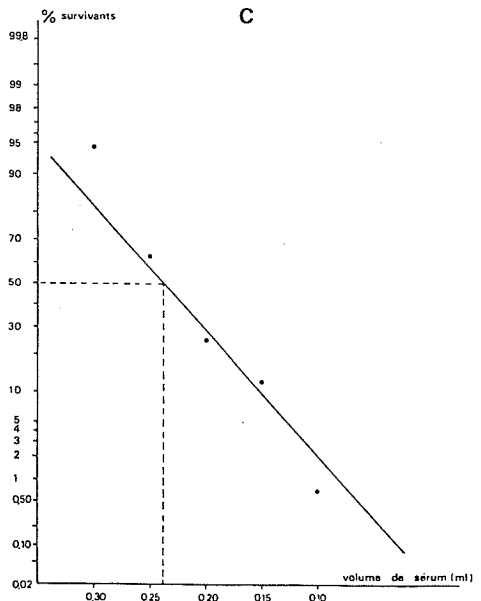
NEUTRALISATION du VENIN de *Buthus occitanus* (3DL50)  
SERUM ANTISCORPIONIQUE de l'INSTITUT PASTEUR de TUNIS



NEUTRALISATION du VENIN de *Buthus occitanus* (3DL50)  
SERUM ANTISCORPIONIQUE de l'INSTITUT PASTEUR d'ALGER



NEUTRALISATION du VENIN de *Leiurus quinquestriatus* (3DL50)  
SERUM ANTISCORPIONIQUE de l'INSTITUT PASTEUR d'ALGER



effectivement qu'il existe une excellente corrélation avec la titration à 3 DL 50.

c. Le titre minimal protecteur (TMP) telqu'il a été défini sous-estime le pouvoir protecteur déterminé par la DE 50, puisqu'un taux de survie à 100% est retenu pour son calcul

#### Comparaison des pouvoirs protecteurs

a. Vis-à-vis du venin de *L. quinquestriatus*: on remarquera le bon effet protecteur du sérum de Tunis, et le pouvoir protecteur spécifique relativement faible du sérum d'Ankara, ce qui peut s'expliquer si le sérum est préparé surtout avec du venin d'*Androctonus crassicauda*.

b. Vis-à-vis du venin d'*A. australis*: le sérum le plus efficace est celui d'Ankara, ce qui confirme les affirmations de WHITTEMORE et coll. (1961), puis de BALOZET (1971), selon lesquelles la protection offerte par ce sérum est meilleure que celle des sérums homologues. Il s'agit là d'un bon exemple de protection croisée efficace puisque, rappeelons-le, le venin d'*A. australis* n'est pas utilisé pour la fabrication de ce sérum.

c. Vis-à-vis du venin de *B. occitanus*: l'efficacité des trois sérums est comparable, mais seul l'Institut Pasteur de Tunis utilise ce venin pour la préparation du sérum antiscorpionique.

#### La protection paraspécifique

Elle existe pour les trois sérums:

— Vis-à-vis du venin de *L. quinquestriatus*, en ce qui concerne les sérums de Tunis et d'Alger. Elle est meilleure avec le sérum de Tunis préparé à partir du mélange de deux venins, *A. australis* et *B. occitanus*.

— Vis-à-vis du venin d'*A. australis*, en ce qui concerne le sérum d'Ankara, et dans ce cas, la protection paraspécifique est supérieure à la protection spécifique des sérums d'Alger et de Tunis. Ce sérum est préparé à partir d'un mélange de divers venins.

— Vis-à-vis du venin de *B. occitanus*, en ce qui concerne les sérums d'Ankara et d'Alger. Les protections spécifiques et paraspécifiques sont comparables.

Il semble donc bien que l'effet paraspécifique soit la règle et il est peut-être d'autant plus net que le sérum antiscorpionique est préparé à l'aide de plusieurs venins, comme les sérums d'Ankara et de Tunis. L'existence d'une paraspécificité des sérums antiscorpioniques avait déjà été signalée par WHITTEMORE et coll. (1961) qui ont montré l'existence de protections croisées entre venins et sérums de diverses espèces de scorpions africains et américains, et recommandé la fabrication de sérums polyvalents. Ultérieurement, JUNQUA et VACHON (1968) concluent dans une vaste revue que le problème de la spécificité ou de la paraspécificité des sérums antivenimeux n'est pas entièrement résolu et qu'il semble que certains venins (*Androctonus mauretanicus*, *A. crassicauda*) ne puissent être neutralisés que par les antisérums spécifiques.

**Figure 3.** — Détermination du pouvoir protecteur des sérums antiscorpioniques. a, sérum de l'Institut Pasteur de Tunis, vis-à-vis du venin d'*A. australis* (effet spécifique); b, sérum de l'Institut Pasteur de Tunis, vis-à-vis du venin de *B. occitanus* (effet spécifique); c, sérum de l'Institut Pasteur d'Alger, vis-à-vis du venin de *L. quinquestriatus* (effet paraspécifique); d, sérum de l'Institut Pasteur d'Alger, vis-à-vis du venin de *B. occitanus* (effet paraspécifique).

←

La démonstration de la parenté antigénique de divers venins de scorpions (GLENN & coll., 1962; POTTER & NORTLEY, 1962; KAPADIA & coll., 1964; IRUNBERRY & PILO-MORON, 1965; BOQUET & coll., 1972) vient à l'appui des observations de WHITTEMORE (1961). Plus récemment, DELORI & coll. (1981) ont proposé une classification immunologique des neurotoxines de scorpions nord-africains: ils identifient trois groupes antigéniques de toxines dont les antisérums ne peuvent neutraliser que les toxines du même groupe. On peut alors comprendre la diversité des effets paraspécifiques en fonction des venins utilisés pour la préparation des antisérums: ces effets varieront en fonction de la composition antigénique des diverses neurotoxines des venins retenus pour la préparation des antisérums. Des travaux ultérieurs montreront vraisemblablement que les neurotoxines des venins d'*A. crassicauda* et *A. mauritanicus* appartiennent en majorité à un type antigénique non ou peu représenté dans les autres venins de Buthidés.

En résumé, la paraspécificité d'un sérum antiscorpionique peut être admise de principe, au moins en ce qui concerne les venins des Buthidés, avec une certaine variabilité liée aux venins utilisés. Cette paraspécificité semble d'autant plus nette que le nombre de venins utilisés est lui-même plus grand. On remarquera enfin que le sérum d'Ankara, préparé à partir de broyats de telsons, possède une efficacité comparable à celle des deux autres sérums, préparés à partir de venin brut extrait électriquement.

### Conclusions

Les sérums antiscorpioniques présentent habituellement un pouvoir protecteur paraspécifique qui peut être important, et qui paraît plus important encore pour les sérums polyvalents.

L'efficacité d'un sérum antiscorpionique paraît dépendre plus de la variété des antigènes utilisés que de leur purification préalable. L'existence de cet effet paraspécifique permet d'envisager la fabrication systématique d'un sérum polyvalent, à partir du mélange de venins contenant les trois types antigéniques décrits par DELORI et coll. (1981). Dans une perspective plus lointaine, il serait plus intéressant encore d'étudier la possibilité d'une vaccination à partir d'une sélection de neurotoxines détoxifiées avec conservation du pouvoir antigénique selon des protocoles déjà décrits (ABBADI & IRUNBERRY, 1970; POSSANI & coll., 1981; DELORI & coll., 1981).

### Remerciements

Nous remercions vivement M. J. DETRAIT (Institut Pasteur, Paris) pour l'aide et les conseils qu'il nous a apportés dans la réalisation de ce travail.

### Références

- ABBADI, M. & IRUNBERRY, J., 1970. — Essai de détoxification du venin de scorpion *Androctonus australis*. — *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, **48** : 131-138.
- BALOZET, L., 1971. — Scorpionism in the Old World. In: W. BUCHERL & E.E. BUCKLEY, *Venomous animals and their venoms*, pp. 349-371. *Academic Press, London*.

- BOQUET, P., DUMAREY, C. & RONSSERAY, A.M., 1972. — Recherches immunologiques sur les toxines du venin de trois espèces de scorpions: *Androctonus australis hector*, *Buthus occitanus tunetanus* et *Leiurus quinquestriatus*. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **274** : 1874-1877.
- BOUSSARSAR, A., 1979. — Production de sérum antiscorpionique en Tunisie. Thèse Doct. méd. vétérinaire, *Sidi Thabet, Tunisie*, 79 p.
- DELORI, P., VAN RIETSCHOTEN, J. & ROCHAT, H., 1981. — Scorpion venoms and neurotoxins: an immunological study. — *Toxicon*, **19** : 393-407.
- GLENN, W.G., KEEGAN, H.L. & WHITTEMORE, F.W.Jr., 1962. — Intergeneric relationships among various scorpion venoms and antivenins. — *Science*, **135** : 434-435.
- IRUNBERRY, J. & PILO-MORON, E., 1965. — Etude antigénique de quelques venins de scorpions du bassin méditerranéen. — *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, **43** : 123-128.
- JUNQUA, C. & VACHON, M., 1968. — Les Arachnides venimeux et leurs venins. Etat actuel des recherches. — *Acad. Rey. Sci. Outre-Mer, Cl. Sci. nat.*, Bruxelles **17** : 1-136.
- KAPADIA, Z.S., MASTER, R.W.P. & SRINIVASA RAO, S., 1964. — Immunological studies in telson extracts of Indian and Egyptian scorpion venoms. — *Indian J. Exp. Biol.*, **2** : 75-77.
- LITCHFIELD, J.T.Jr & WILCOXON, F., 1949. — A simplified method of evaluating dose-effect experiment. — *J. Pharmacol. Ther.*, **96** : 99-113.
- POSSANI, L.D., FERNANDEZ de CASTRO, J. & JULIA, J.Z., 1982. — Detoxification with glutaraldehyde of purified scorpion (*Centruroides noxius* Hoffmann) venom. — *Toxicon*, **49** : 323-329.
- POTTER, J.M. & NORTHEY, W.T., 1962. — An immunological valuation of scorpion venoms. — *American J. Trop. Med. Hyg.*, **11** : 712-716.
- VACHON, M., 1966. — Liste des scorpions connus en Egypte, Arabie, Israël, Liban, Syrie, Jordanie, Turquie, Irak, Iran. — *Toxicon*, **4** : 209-218.
- WHITTEMORE, F.W., KEEGAN, H.L. & BOROWITZ, J.L., 1961. — Studies of scorpion antivenins. I. Paraspecificity. — *Bull. Org. Mond. Santé*, **25** : 185-188.
- ZLOTKIN, E., MIRANDA, F. & ROCHAT, M., 1978. — Venoms of Buthinae. C. Chemistry and pharmacology of Buthinae scorpion venoms. In: S. BETTINI, *Arthropod venoms*, pp. 317-369. *Springer Verlag, Berlin*.