



HAL
open science

Les sérums anti-ophidiens : de la production industrielle à la pénurie actuelle

Jennifer Etchevers

► **To cite this version:**

Jennifer Etchevers. Les sérums anti-ophidiens : de la production industrielle à la pénurie actuelle. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01615893

HAL Id: dumas-01615893

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01615893>

Submitted on 12 Oct 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux
U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2017

N°87

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ÉTAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par **Jennifer ETCHEVERS**

Née le 7 avril 1990 à BAYONNE

Le 22/09/2017 à BORDEAUX

**Les sérums anti-ophidiens : de la production
industrielle à la pénurie actuelle**

Directeur de thèse

Monsieur Loïc RIVIERE

Jury

| | | |
|--------------------------|-----------------------|-----------|
| Madame Katia BONIFACE | Maître de Conférences | Président |
| Madame Magali LABADIE | Docteur en Médecine | Juge |
| Monsieur Loïc RIVIERE | Maître de Conférences | Juge |
| Monsieur Bertrand CARITE | Docteur en Pharmacie | Juge |

REMERCIEMENTS

A mon directeur de thèse,

Monsieur Loïc RIVIERE, pour m'avoir fait l'honneur de diriger ma thèse, pour vos conseils, et pour le temps que vous m'avez accordé. Recevez mes sincères remerciements.

A mon jury,

Madame Katia BONIFACE, pour avoir accepté de présider mon jury de thèse et m'avoir fait l'honneur de juger mon travail.

Monsieur Bertrand CARITE, pour sa présence au sein de mon jury et m'avoir fait le plaisir d'évaluer mon travail.

Dr Magali LABADIE, pour son excellent enseignement lors de mon stage hospitalier au centre-Antipoison de Bordeaux, et pour me faire l'honneur de juger mon travail.

A ma famille,

Pour votre soutien sans faille pendant ces longues années d'étude.

Merci à mes parents pour leur patience et pour avoir toujours cru en moi. Merci de m'avoir permis d'étudier dans les meilleures conditions et ceux malgré tous mes déménagements. Les mots ne seront jamais suffisants pour vous exprimer toute ma reconnaissance. Cette réussite universitaire et professionnelle est aussi la vôtre.

A mes amies, Inés, Marie, Sophie et Laure,

Pour votre amitié, vos encouragements et votre présence peu importe la distance.

A ma binôme de TP, ma binôme de SEP, et tous mes amis pharmaciens,

Pour tous ces moments inoubliables passés et à venir. Ces années d'études et de stages n'auraient pas été les mêmes sans vous.

Aux membres des bureaux de l'ACEPB 2012, 2013 et du BEPIB 2013/2014,

Pour ces trois années associatives mémorables passées à vos côtés, à Bordeaux et à travers la France.

A mes collègues et amis de chez Sanofi Pasteur,

Je n'aurais pas pu espérer un meilleur début de carrière à vos côtés. Merci de m'avoir motivée dans ces derniers moments difficiles. L'aventure continue à Lyon.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|-----------|
| REMERCIEMENTS | 1 |
| TABLE DES MATIERES | 2 |
| TABLE DES FIGURES | 5 |
| TABLE DES ANNEXES | 6 |
| LISTE DES ABREVIATIONS | 7 |
| INTRODUCTION | 8 |
| PREMIERE PARTIE : LES ENVENIMATIONS OPHIDIENNES ET LA SERTHERAPIE ANTIVENIMEUSE | 10 |
| 1. La distribution géographique des serpents venimeux | 11 |
| 2. Les caractéristiques des venins de serpents | 14 |
| 2.1. La fonction venimeuse | 14 |
| 2.2. La composition des venins | 14 |
| 2.2.1. Les toxines | 15 |
| 2.2.2. Les enzymes | 17 |
| 2.2.3. Les autres composants | 18 |
| 2.3. La variabilité des venins | 19 |
| 2.3.1. Les variations spécifiques | 20 |
| 2.3.2. Les variations ontogéniques et environnementales | 20 |
| 2.4. Les modes d'actions des venins | 20 |
| 2.4.1. Les phénomènes de synergie et de potentialisation | 21 |
| 2.4.2. La toxicocinétique des venins | 21 |
| 2.5. La symptomatologie des envenimations | 22 |
| 2.5.1. Le syndrome cobraïque | 22 |
| 2.5.2. Le syndrome vipérin | 23 |
| 2.5.3. L'atteinte des autres fonctions | 25 |
| 3. L'évolution et les mécanismes de la sérothérapie antivenimeuse | 25 |
| 3.1. L'évolution de la sérothérapie antivenimeuse | 25 |
| 3.1.1. Les découvertes scientifiques majeures | 26 |
| 3.1.1.1. L'interaction antigène-anticorps | 26 |
| 3.1.1.2. L'intérêt des adjuvants | 26 |
| 3.1.1.3. La spécificité des sérums antivenimeux | 26 |
| 3.1.2. Les nouvelles générations de sérums antivenimeux | 27 |
| 3.2. Les mécanismes de la sérothérapie antivenimeuse | 27 |
| 3.2.1. La structure des antigènes | 27 |
| 3.2.2. La structure des anticorps | 28 |
| 3.2.3. L'hyper-immunisation de l'animal | 29 |
| 3.2.4. L'immunisation artificielle passive du patient | 29 |
| DEUXIEME PARTIE : LA PRODUCTION INDUSTRIELLE DE SERUMS ANTI- OPHIDIENS | 31 |
| 1. La préparation des venins de serpents | 32 |
| 1.1. La sélection des serpents venimeux | 33 |
| 1.1.1. Le choix d'un sérum monospécifique ou polyspécifique | 33 |
| 1.1.2. La sélection des espèces venimeuses par pays ou région | 33 |
| 1.1.3. La sélection des serpents pour chaque espèce venimeuse | 34 |
| 1.2. Prélèvement, traitement et stockage des venins | 34 |
| 1.2.1. L'élevage de serpents | 34 |
| 1.2.2. Le prélèvement du venin | 35 |
| 1.2.3. Le traitement et le stockage du venin | 36 |
| 1.3. Le contrôle qualité du venin | 36 |
| 2. L'hyper-immunisation des animaux | 37 |
| 2.1. La préparation de la solution de venin | 37 |
| 2.2. L'emploi d'un adjuvant | 38 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 2.3. | La sélection des animaux | 39 |
| 2.4. | Le protocole d'immunisation | 40 |
| 2.4.1. | Le volume de la préparation antigènes-adjuvant..... | 40 |
| 2.4.2. | La voie d'injection | 41 |
| 2.4.3. | Les sites d'injection..... | 41 |
| 2.4.4. | Les injections de rappel..... | 42 |
| 2.4.5. | La surveillance des animaux et le dossier d'immunisation | 42 |
| 3. | Recueil, pool et contrôle du plasma | 43 |
| 3.1. | La saignée | 43 |
| 3.2. | Le pool du plasma..... | 45 |
| 3.3. | Le contrôle du pool de plasma..... | 45 |
| 4. | La purification de la substance active | 46 |
| 4.1. | La purification des IgG entières | 47 |
| 4.1.1. | La méthode de précipitation par le sulfate d'ammonium ou de sodium..... | 47 |
| 4.1.2. | La méthode de précipitation par l'acide caprylique..... | 49 |
| 4.2. | La purification des fragments d'IgG F(ab') ₂ | 51 |
| 4.3. | La purification des fragments d'IgG Fab | 54 |
| 4.4. | Les procédés de purification additionnels..... | 56 |
| 4.4.1. | La chromatographie échangeuse d'ions..... | 56 |
| 4.4.2. | La chromatographie d'affinité | 57 |
| 5. | La formulation..... | 58 |
| 5.1. | L'ajout des excipients..... | 58 |
| 5.1.1. | Les solutions tampons..... | 58 |
| 5.1.2. | Les isotonisants..... | 58 |
| 5.1.3. | Les conservateurs | 59 |
| 5.1.4. | Les stabilisants | 59 |
| 5.2. | L'ajustement du pH | 59 |
| 5.3. | La filtration stérilisante | 60 |
| 6. | La réduction du risque de contamination virale..... | 60 |
| 6.1. | La minimisation de la charge virale initiale du plasma..... | 61 |
| 6.2. | La contribution du procédé | 61 |
| 6.3. | La pasteurisation..... | 61 |
| 7. | La répartition et le conditionnement | 61 |
| 7.1. | La répartition | 62 |
| 7.2. | La lyophilisation | 64 |
| 7.3. | Le conditionnement..... | 64 |
| 8. | Le contrôle qualité..... | 66 |
| 8.1. | L'inspection visuelle | 67 |
| 8.2. | L'étanchéité..... | 67 |
| 8.3. | La solubilité | 67 |
| 8.4. | Le volume extractible | 67 |
| 8.5. | L'humidité résiduelle | 68 |
| 8.6. | La mesure du pH | 68 |
| 8.7. | La mesure de l'osmolalité | 68 |
| 8.8. | Le test de stérilité | 68 |
| 8.9. | Le test des pyrogènes..... | 69 |
| 8.10. | La concentration en protéine | 69 |
| 8.11. | Le pouvoir neutralisant..... | 69 |
| 8.12. | L'identification des IgG..... | 69 |
| 8.13. | La pureté..... | 70 |
| 8.14. | La distribution de la taille moléculaire | 70 |
| 8.15. | La concentration en excipients | 70 |
| 8.16. | La concentration en agents chimiques | 70 |
| TROISIEME PARTIE : LA CRISE GLOBALE DE LA SEROTHERAPIE ANTI-OPHIDIENNE..... | | 71 |
| 1. | Les circonstances et l'incidence des envenimations..... | 72 |
| 1.1. | Les circonstances des morsures | 72 |
| 1.1.1. | Les travaux agricoles..... | 72 |

| | |
|---|------------|
| 1.1.2. Le tourisme et les loisirs | 73 |
| 1.1.3. La manipulation volontaire de serpents | 73 |
| 1.2. L'incidence des envenimations ophidiennes..... | 73 |
| 2. L'état des lieux du marché mondial..... | 75 |
| 3. Les causes de la pénurie des sérums anti-ophidiens | 77 |
| 3.1. Un besoin réel mal évalué | 77 |
| 3.2. Un déficit d'accessibilité | 78 |
| 3.2.1. Un nombre insuffisant d'établissements de soin | 78 |
| 3.2.2. Un maintien de la chaîne du froid difficile | 79 |
| 3.2.3. Un échec d'approvisionnement | 79 |
| 3.3. Un personnel médical peu ou non formé | 79 |
| 3.4. Le coût des SAV | 80 |
| 4. Les conséquences de la pénurie | 81 |
| 4.1. Une mortalité encore importante..... | 81 |
| 4.2. Un retour à la médecine traditionnelle | 82 |
| 4.3. L'apparition de produits inefficaces ou falsifiés..... | 83 |
| 4.3.1. L'apparition de produits inefficaces | 83 |
| 4.3.2. L'apparition de produits falsifiés | 83 |
| 5. L'action de l'OMS | 84 |
| 5.1. La rédaction de directives sur la production, le contrôle et la régulation des sérums antivenimeux | 84 |
| 5.2. Le renforcement de la capacité de production de sérums anti-ophidiens sûrs et efficaces | 84 |
| 5.3. La mise en place d'une coopération internationale..... | 85 |
| 5.4. Le développement d'un programme de préqualification des sérums anti-ophidiens | 85 |
| 5.5. L'amélioration de la gestion clinique des envenimations | 86 |
| 5.6. L'amélioration de la distribution des sérums anti-ophidiens | 86 |
| 5.7. L'élaboration d'une stratégie financièrement viable..... | 87 |
| CONCLUSION..... | 88 |
| BIBLIOGRAPHIE | 89 |
| ANNEXES..... | 98 |
| SERMENT DE GALIEN | 124 |
| TITRE ET RÉSUMÉ EN ANGLAIS | 125 |

TABLE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Présence des serpents venimeux dans le monde | 11 |
| Figure 2 : Photo d'un serpent appartenant à l'espèce <i>Vipera aspis</i> | 13 |
| Figure 3 : Patient souffrant d'un syndrome cobraïque | 23 |
| Figure 4 : Patient souffrant d'un syndrome vipérin | 24 |
| Figure 5 : Schéma simplifié d'un anticorps | 28 |
| Figure 6 : Prélèvement de venins de serpents par pression manuelle | 36 |
| Figure 7 : Zones d'immunisation recommandées pour les chevaux..... | 41 |
| Figure 8 : Récolte du plasma d'un cheval par plasmaphérèse | 44 |
| Figure 9 : Poche de plasma d'un cheval récoltée par plasmaphérèse | 45 |
| Figure 10 : Structure des immunoglobulines et des fragments générés par la digestion enzymatique | 46 |
| Figure 11 : Procédé de purification d'IgG entière par précipitation au sulfate d'ammonium | 48 |
| Figure 12 : Procédé de purification d'IgG entière par précipitation des protéines non IgG par l'acide caprylique | 50 |
| Figure 13 : Procédé de purification de fragments d'IgG F(ab') ₂ | 53 |
| Figure 14 : Procédé de purification de fragments d'IgG Fab | 55 |
| Figure 15 : Remplisseuse unitaire d'ampoules | 63 |
| Figure 16 : Système de bouchage des flacons..... | 63 |
| Figure 17 : Lyophilisat d'un sérum anti-vipérin accompagné d'une ampoule d'EPPI | 65 |
| Figure 18 : Flacon contenant le sérum anti-vipérin VIPERFAV® sous forme liquide | 65 |
| Figure 19 : Ampoule du sérum anti-ophidien FAV-AFRIQUE® | 65 |
| Figure 20 : Estimation annuelle des envenimations ophidienne par région..... | 74 |
| Figure 21 : Incidence des envenimations ophidienne par région du monde en 2007 | 74 |
| Figure 22 : Pays où étaient situés les fabricants de sérums anti-ophidiens en 2010 | 76 |
| Figure 23 : Estimation annuelle du nombre de décès dû à une envenimation ophidienne par région du monde | 81 |

TABLE DES ANNEXES

| | |
|---|-----|
| Annexe 1 : Arbre phylogénétique de différenciation des familles de serpents en fonction du temps..... | 98 |
| Annexe 2 : Distribution mondiale des espèces de serpents venimeux dangereuses pour l'homme | 99 |
| Annexe 3 : Virus potentiellement contaminants identifiés chez les chevaux | 122 |
| Annexe 4 : Virus potentiellement contaminants identifiés chez les moutons et les chèvres | 123 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|-------------|-----------------------------------|
| SAV | Sérothérapie antivenimeuse |
| SAO | Sérum anti-ophidien |
| OMS | Organisation Mondiale de la Santé |
| Fc | Fragment cristallisable |
| Fab | Fragment antigen binding |
| IgG | Immunoglobuline G |
| ACF | Adjuvant complet de Freud |
| PBS | Phosphate-buffered saline |
| EPPI | Eau pour préparation injectable |
| ED50 | Dose efficace médiane |
| BSA | Banque des sérums antivenimeux |

INTRODUCTION

Le sérum, « petit lait » en grec, correspond à la portion liquide du sang restant après l'élimination des éléments cellulaires, du fibrinogène et des facteurs de coagulation. Les sérums antivenimeux sont des sérums hétérologues, c'est à dire préparés à partir du sérum d'animaux préalablement hyper-immunisés contre le ou les venin(s) pertinent(s). Lorsqu'il est injecté à un patient envenimé, le sérum antivenimeux neutralise le ou les venins utilisé(s) pour sa production. On parle alors de sérothérapie antivenimeuse (SAV). [1]

L'observation d'une protection naturelle contre un toxique remonte à l'Antiquité. Selon la légende, le roi grec Mithridate VI, au 2ème siècle avant notre ère, se serait protégé contre le risque d'empoisonnement en absorbant régulièrement des quantités de poisons inférieures au seuil toxique. La première expérience d'immunisation contre un venin est réalisée par Sewall en 1887 dans le Michigan. Celui-ci immunise un pigeon contre le venin de *Sistrurus catenatus*, un crotale pygmée nord-américain, par inoculations répétées de venin glycérimé. Malgré un protocole expérimental vague et non standardisé, le pigeon immunisé résiste à six doses létales de venin. Un an plus tard, Emile Roux et Alesandre Yersin démontrent que le sang d'un animal immunisé contre la toxine diphtérique peut protéger de la diphtérie un animal non immunisé. À Berlin en 1890, Emil Von Behring et Shibasaburo Kitasato confirment cliniquement le transfert passif de l'immunité contre la diphtérie et le tétanos, et suggèrent l'utilisation de sérums d'animaux immunisés pour traiter les maladies. [2, 3, 4]

Suivant cette même logique, Auguste Chauveau, propose d'appliquer aux venins les procédés d'atténuation utilisés pour les sécrétions microbiennes. Sous son influence, Césaire Phisalix et Gabriel Bertrand démontrent l'activité antitoxique du sang d'animaux immunisés avec un venin, détoxifié par la chaleur, de la vipère européenne *Vipera aspis*. En parallèle, Albert Calmette, disciple de Louis Pasteur, étudie différents protocoles d'immunisation à partir d'un venin de cobra vietnamien et constate également l'activité thérapeutique du sérum des animaux immunisés. Phisalix, Bertrand et Calmette présentent d'ailleurs indépendamment leurs travaux lors de la même réunion de la Société de Biologie à Paris le 10 février 1894. Immédiatement après sa découverte, Calmette participe activement à prouver l'efficacité de son traitement et devient le véritable promoteur de la SAV. Il est le

premier à développer un sérum antivenimeux à usage médical, dérivé des chevaux, contre les morsures de cobras asiatiques qu'il expédie en Inde en 1896. [5, 6, 7]

La découverte de la SAV, et tout spécialement la sérothérapie anti-ophidienne a un retentissement considérable dans le monde. De nombreux scientifiques ont ensuite commencé à développer des sérums antivenimeux dans leurs propres pays en utilisant les protocoles de Calmette. [4]

Sur les 3400 espèces de serpents décrites à ce jour, seul 600 sont reconnues comme venimeuses [8]. Pourtant, on estime qu'il surviendrait chaque année entre 1,2 et 5,5 millions de morsures de serpents dans le monde, dont 421000 à 1 841000 envenimations [9]. En effet, on distingue la morsure sèche, sans injection de venin, de l'envenimation, qui correspond à l'inoculation de venin et à la réaction de l'organisme qui en découle [10]. Suite à ces envenimations, on évalue qu'entre 20000 et 94000 personnes meurent annuellement sur la planète, la plupart en Asie et en Afrique [9]. Les serpents sont donc, loin devant les araignées et les scorpions, les animaux venimeux les plus dangereux pour l'homme. Ceci explique que l'essentiel de la production de sérums antivenimeux, seul traitement curatif efficace des envenimations, soit consacré aux anti-ophidiens. [11]

Dans cette thèse, seront présentées dans un premier temps des généralités sur les envenimations ophidiennes et sur la SAV. Afin d'améliorer la compréhension du sujet, différents axes tels que la distribution géographique des serpents venimeux, les caractéristiques des venins de serpents, la symptomatologie des envenimations, l'évolution et les mécanismes de la SAV seront développés.

La deuxième partie détaillera l'ensemble des étapes de production industrielle des sérums anti-ophidiens (SAO), de la préparation des venins de serpents au contrôle qualité du produit fini, en passant par l'hyper-immunisation des animaux, le recueil du plasma, la formulation, et la réduction du risque de contamination virale.

Pour finir, la dernière partie sera consacrée à la crise globale de la sérothérapie anti-ophidienne, véritable problème de santé publique dans les pays en développement. Les circonstances et l'incidence des envenimations ophidiennes seront tout d'abord exposées puis, un état des lieux du marché mondial des SAO sera établi. Par la suite, la complexité des causes de la crise et ses conséquences dramatiques seront décrites. Enfin, un focus sera dédié à la stratégie adoptée par l'organisation mondiale de la santé (OMS) pour mettre un terme à cette urgence mondiale.

PREMIERE PARTIE :

LES ENVENIMATIONS OPHIDIENNES ET LA SEROTHERAPIE ANTIVENIMEUSE

Les serpents se seraient séparés des lézards au Crétacé entre 150 et 120 millions d'années en formant l'ordre des ophidiens. L'ensemble des espèces venimeuses appartiennent aux familles des Viperidae, Elapidae et Colubridae [9, 12]. Les grandes familles de serpents sont citées en annexe 1 [12].

A l'exception de quelques pays exempts d'espèces venimeuses, les envenimations ophidiennes sont redoutées dans le monde entier et sont une menace pour la santé publique. Les venins de serpents ont fait, par ailleurs, l'objet d'analyses biochimiques et toxicocinétiques rigoureuses qui ont permis d'expliquer la diversité des symptômes observés après une envenimation. Pour les envenimations les plus graves, la neutralisation des composants toxiques du venin par SAV est la méthode la plus efficace. [7, 12]

1. La distribution géographique des serpents venimeux

A l'instar des zones colorées en rouge de la figure 1 ci-dessous, les serpents venimeux sont largement répandus dans le monde. Fousseur, arboricole, terrestre ou aquatique, ils s'adaptent à toute sorte de climats. [8, 13]

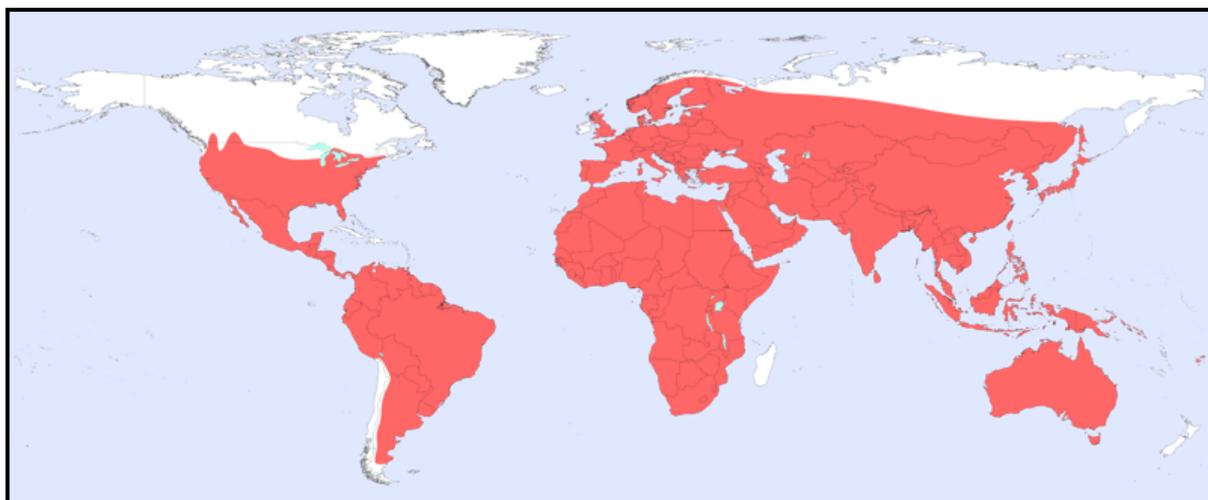


Figure 1 : Présence des serpents venimeux dans le monde [8]

Les serpents venimeux sont généralement absents des zones géographiques aux climats extrêmement froids, à l'exception d'une vipère très robuste vivant en Sibérie et au niveau du cercle polaire arctique. En Amérique, aucun spécimen venimeux n'est connu au nord de la frontière sud du Canada. Ces reptiles sont également

absents des îles Polynésiennes, de Madagascar, de la Nouvelle-Zélande, des Açores, des Canaries, des îles du Cap-Vert, des Antilles (à l'exception de la Martinique, Sainte-Lucie, Tobago et Trinidad), d'Haïti, de Cuba, de la Jamaïque, de Porto Rico, d'Irlande, d'Islande, des Orcades et des Shetlands. [8]

En revanche, les serpents venimeux sont présents dans toutes les autres régions du globe et sont particulièrement abondants en Afrique, en Asie, en Australie et dans la plupart des pays d'Amérique du Sud [13].

Sur les 600 espèces venimeuses recensées, plus de 200 sont considérées comme dangereuses sur le plan médical par l'OMS. L'organisation a classé ces espèces en deux catégories sur la base de la littérature herpétologique et clinique :

- La première catégorie comprend les espèces de serpents venimeux :

- communes ou répandues,
- causant de nombreuses morsures avec des niveaux élevés d'invalidité, de morbidité ou de mortalité.

- La deuxième catégorie contient des espèces de serpents venimeux :

- capables de provoquer une invalidité ou la mort de la victime,
- pour lesquelles les données épidémiologiques ou cliniques sont insuffisantes,
- et/ou sont moins souvent en cause en raison de leurs cycles d'activités, leurs comportements, leurs préférences pour des habitats dans des zones éloignées des populations humaines. [8]

Les serpents entrant dans une de ces deux catégories sont listés en annexe 2 par pays, territoire ou région du monde. Ceux-ci sont classés dans l'ordre alphabétique par famille, genre et espèce. Le risque relatif de morsure par un de ces serpents peut varier d'un pays à l'autre. C'est pourquoi, des espèces inscrites dans la première catégorie dans un pays, sont répertoriées dans la deuxième catégorie d'un autre pays. [1]

En France métropolitaine, on retrouve *Vipera aspis*, présentée en figure 2, dans la première catégorie, *Vipera berus* et *Vipera ursinii* dans la deuxième catégorie. [1]



Figure 2 : Photo d'un serpent appartenant à l'espèce *Vipera aspis* [14]

Vipera aspis vit au Sud de la Loire et mesure entre 50 et 70 cm de long. Cette vipère diurne a un corps épais, une tête large et triangulaire, des yeux à pupille verticale et un museau retroussé. Les écailles du corps montrent une arête longitudinale médiane, avec des marques dorsales en bandes transversales foncées. Parmi les sous-espèces de vipère aspic, *Vipera aspis zinnikeri* a un venin neurotoxique. D'un naturel méfiant et peu agressif, *Vipera aspis* n'attaque généralement que pour chasser, préférant fuir si elle se sent menacée. Elle affectionne les terrains ensoleillés buissonneux ou pierreux, mais reste à l'ombre aux heures les plus chaudes. Quand elle ouvre la gueule pour mordre une proie, ses crochets rabattus contre le palais et reliés aux glandes à venin se redressent. [15, 16]

L'OMS a créé une base de données consultable en ligne pour donner aux utilisateurs la possibilité d'identifier facilement les serpents venimeux les plus dangereux par pays, territoire ou région, et trouver des informations sur les SAO à utiliser en cas d'envenimation. [17]

2. Les caractéristiques des venins de serpents

La présence d'une fonction venimeuse particulièrement élaborée est un caractère dérivé partagé par les serpents les plus évolués. Le venin correspond, chez les serpents, à l'innovation évolutive qui a permis la transition entre un moyen mécanique, la constriction, et un moyen chimique de maîtriser et digérer leurs proies parfois bien plus grandes qu'eux. A ce titre, le venin de serpents est constitué d'un mélange très variable de composants principalement protéiques aux modes d'actions multiples. [2, 18]

2.1. La fonction venimeuse

L'appareil venimeux est un dispositif complexe qui associe un dispositif vulnérant, le crochet, et une glande exocrine spécialisée synthétisant le venin. Le crochet est doté de canalicules ou de rainures en relation anatomique directe avec la glande à venin. Ce dispositif sert à injecter, sous pression, le venin dans l'organisme de la proie ou de l'agresseur, après rupture de la barrière cutanéomuqueuse. [7, 18]

Le venin proviendrait d'une spécialisation des sécrétions digestives assurant à l'origine la digestion des tissus. Par la suite, le venin aurait développé la capacité de tuer et d'immobiliser la proie, à l'aide de toxines spécialisées, pour faciliter la contention et la déglutition rendues difficiles par l'absence de membre. [7]

L'inoculation du venin est un acte volontaire du serpent. Son objectif semble bien être l'immobilisation de la victime qu'il s'agisse d'une proie à capturer puis à consommer, ou d'un prédateur à neutraliser le temps de fuir. On peut toutefois penser que le rôle dissuasif du venin dans la défense du serpent est accessoire, même si c'est celui qui concerne le plus l'homme. [7, 18]

2.2. La composition des venins

Les venins sont constitués d'un cocktail complexe de molécules biologiques, dont les toxines qui donnent l'essentiel de sa toxicité au venin de serpent. Outre les toxines,

les venins renferment de nombreuses enzymes et des composants non toxiques dont le rôle exact reste hypothétique.

2.2.1. Les toxines

Les toxines sont des protéines de faible masse moléculaire qui ont la propriété de se fixer sur un récepteur spécifique, le plus souvent membranaire. Leur effet pharmacologique est dose-dépendant, c'est à dire proportionnel au rapport entre la quantité de toxine introduite et la quantité de récepteurs correspondant présents dans l'organisme de la victime. [1, 19]

D'autres facteurs comme la vitesse de diffusion de la toxine, elle-même fortement dépendante de sa taille, et l'affinité de la toxine pour son récepteur vont jouer un rôle dans la rapidité d'apparition des symptômes et sur l'efficacité du traitement. Les toxines sont caractéristiques des venins d'Elapidae. [1, 19]

Le tropisme des toxines peut être neurologique, cardio-vasculaire, musculaire ou indifférencié selon la distribution anatomique des récepteurs reconnus [1, 19].

Les toxines sont classées en huit familles principales en fonction de leur structure et/ou de leur mode d'action :

- Les neurotoxines postsynaptiques :

Les neurotoxines postsynaptiques se fixent sur des récepteurs cellulaires localisés sur la membrane postsynaptique de la jonction neuromusculaire. Elles sont composées :

- Des toxines curarisantes qui agissent sur la membrane postsynaptique et bloquent la transmission de l'influx nerveux au niveau des muscles, en se fixant directement sur le récepteur de l'acétylcholine. On en rencontre 3 types : les neurotoxines- α courtes, les neurotoxines- α longues et les neurotoxines- κ .
- Des toxines muscariniques qui présentent une structure voisine de celle des neurotoxines curarisantes. Leur nom provient de leur forte affinité pour cette partie du récepteur cholinergique.

- Des toxines « inclassables » qui ont surtout été isolées de venins de Viperidae.

- Les cytotoxines. Une cinquantaine de polypeptides composent ce groupe en raison de leur grande homologie de structure. Les cytotoxines, encore appelées cardio-toxines, dépolarisent rapidement et de façon irréversible la membrane cellulaire, conduisant à sa lyse.

- Les neurotoxines présynaptiques. Les neurotoxines pré-synaptiques ou neurotoxines- β , agissent en amont de la synapse, en modifiant la libération des neuromédiateurs par blocage ou libération massive. Les toxines présynaptiques ont en commun une fonction phospholipasique A_2 indispensable à leur activité toxique. Les neurotoxines- β sont classées en trois groupes : les neurotoxines- β monocaténares, la β -bungarotoxine et les autres neurotoxines- β .

- Les dendrotoxines. Les dendrotoxines, encore appelées toxines présynaptiques facilitatrices, favorisent la libération d'acétylcholine en bloquant les canaux potassium voltage-dépendants.

- Les fasciculines. Les fasciculines sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, et s'opposent à la régulation physiologique de la transmission de l'influx nerveux.

- Les myotoxines. Les myotoxines se fixent sur les canaux ioniques des cellules musculaires et provoquent leur nécrose.

- Les sarafotoxines. Les sarafotoxines sont de puissants vasodilatateurs, structurellement et fonctionnellement très proches des endothélines, hormones vasoconstrictrices présentes dans les cellules endothéliales des mammifères.

- Les désintégrines. Les désintégrines ont pour action d'inhiber les intégrines. Les intégrines sont des protéines transmembranaires qui transfèrent les messages extracellulaires vers le cytoplasme. [7, 20]

2.2.2. Les enzymes

Les enzymes sont des protéines pourvues de propriétés catalytiques et de masse moléculaire plus élevée que les toxines. Les effets pharmacologiques des enzymes sont essentiellement chrono-dépendants, puisqu'ils dépendent plus de la durée du cycle de la réaction enzymatique que de la quantité initiale d'enzymes. L'action enzymatique est caractérisée par une accélération d'un métabolisme particulier. Les venins de Viperidae et de Crotalidae sont, par exemple, particulièrement riches en enzymes. [18, 19, 20]

Les enzymes des venins de serpents possèdent des spécificités variables et sont classées en fonction de leur mode d'action :

- Les phospholipases. La plupart des venins de serpent contiennent des phospholipases. Ces enzymes hydrolysent les phospholipides libres ou membranaires en acides gras et lysophospholipides. Les lysophospholipides sont des tensioactifs responsables de destruction cellulaire. Selon le site de l'hydrolyse, on distingue plusieurs types de phospholipases. Dans les venins de serpent, les phospholipases A_2 sont très largement majoritaires. Ces phospholipases interviennent sur divers systèmes physiologiques en fonction du type de phospholipides hydrolysés, ce qui entraîne des actions variées. Certaines phospholipases A_2 ont pour cible la membrane des hématies conduisant ainsi à une hémolyse. D'autres altèrent les fibres musculaires striées, provoquant après myolyse, une libération de la myoglobine.

- Les acétylcholinestérases. Les acétylcholinestérases sont actives en milieu basique et jouent un rôle essentiel au niveau des synapses en favorisant le passage de l'influx nerveux jusqu'à la membrane postsynaptique.

- Les phosphoestérases. De nombreux venins contiennent des phosphoestérases. Les endonucléases et les exonucléases hydrolysent les acides nucléiques, tandis que les phosphodiesterases s'attaquent à la liaison entre le ribose ou le désoxyribose et le phosphore. Enfin, les phosphomonoestérases sont moins spécifiques et hydrolysent tous les mononucléotides, notamment ceux chargés du transport énergétique au niveau cellulaire.

- Les L-amino-acide-oxydases. Après désamination et oxydation, les L-amino-acide-oxydases transforment les acides aminés en acide α -cétonique. En raison de leur faible concentration dans les venins, leur effet toxique est négligeable. Le groupement prosthétique flavine-adénine-dinucléotide de ces enzymes donne sa couleur jaune au venin.

- Les Hyaluronidases. Les Hyaluronidases sont très fréquentes dans la plupart des venins. Ces enzymes hydrolysent l'acide hyaluronique ou le sulfate de chondroïtine, qui sont des mucopolysaccharides responsables de la cohésion du tissu conjonctif. Les hyaluronidases favorisent par conséquent la diffusion du venin dans les tissus de la victime après son injection.

- Les protéases. Les protéases agissent sur la structure des protéines. Elles interviennent aussi bien sur les destructions tissulaires observées au cours des nécroses locales, que lors de phénomènes comme les troubles de l'hémostase. On classe les protéases agissant sur la coagulation sanguine en deux groupes structuraux :

- les sérine-protéases, qui agissent en stimulant la formation de caillots, le plus souvent des micro-caillots.
- les métalloprotéases, qui s'attaquent plus spécialement à l'endothélium des capillaires d'où le nom d'hémorragine donné à quelques-unes d'entre elles.

La conjugaison de ces deux actions est à l'origine d'hémorragies externes ou internes redoutables.

- Les enzymes lytiques. On trouve également dans les venins de serpent de l'amylase en faible quantité, des transaminases et des déshydrogénases, dont les effets toxiques sont négligeables en pathologie humaine. [7, 20, 21]

2.2.3. Les autres composants

Des substances sans effet toxique connu ont été identifiées dans les venins de serpents :

- Les amines simples ou polyaminiques. Tous les venins contiennent des amines biogènes (adrénaline et noradrénaline, dopamine, histamine, sérotonine...) qui

possèdent des effets physiologiques connus de longue date, dont le rôle dans la toxicité des venins n'est pas encore établi.

- Les facteurs de croissance des nerfs. Le facteur de croissance des nerfs est présent essentiellement dans le venin des Elapidae. Le facteur de croissance des nerfs favorise la différenciation des neurones sensoriels des ganglions sympathiques. Celui-ci est dépourvu d'activité enzymatique et sa toxicité est nulle.

- Les protéines actives sur les thrombocytes. De nombreuses molécules de masse moléculaire et de structure très variables interviennent sur les plaquettes sanguines ou thrombocytes. Elles masquent les sites effecteurs de la membrane cytoplasmique ou stimulent la dégranulation du thrombocyte.

- Les inhibiteurs et activateurs enzymatiques. Plusieurs molécules présentent une activité spécifique sur certaines enzymes naturelles des vertébrés. Ces protéines sont généralement dépourvues d'effets toxiques et cliniques.

- Les facteurs du venin de cobra. Les venins de cobra contiennent un facteur de croissance des tissus nerveux, le NGF (*nerve growth factor*), et un CVF (*cobra venom factor*) qui active le complément impliqué dans l'immunité antibactérienne.

- Les dendropeptides. Les dendropeptides, par leurs structures et leurs propriétés, font parties de la famille des facteurs cardiaques natriurétiques. Ces peptides jouent un rôle hormonal dans l'excrétion rénale et la régulation de la pression artérielle. [7, 20]

2.3. La variabilité des venins

La variabilité de composition des venins, largement étudiée par *Chippaux et al.* en 1991, a été depuis confirmée par des techniques biochimiques et immunologiques. La variabilité des venins porte à la fois sur la structure biochimique des composants du venin et sur leur concentration. [22, 23]

Les variations de composition des venins sont considérées à deux principaux niveaux.

2.3.1. Les variations spécifiques

Les variations spécifiques sont les variations des venins présentes entre familles, genres, espèces et sous-espèces de serpents. Les variations entre les venins des différentes familles d'ophidiens sont les plus importantes. Les venins des Elapidae sont, entre autres, concentrés en toxines alors que ceux des Viperidae sont riches en enzymes agissant sur la coagulation. [7, 22]

2.3.2. Les variations ontogéniques et environnementales

Les variations ontogéniques et environnementales des venins sont dues, au sein d'une même espèce, au régime alimentaire, à l'habitat, à l'âge ou encore au sexe des serpents. [7, 22]

A l'intérieur d'une même espèce, voire au sein d'une fratrie, on retrouve des variations importantes du venin dont l'origine génétique est démontrée. Les venins des femelles de *Crotalus adamanteus* et de *Calloselasma rhodostoma* possèdent par exemple un composant basique absent chez les mâles. De même, des variations de toxicité entre le venin synthétisé à la naissance et celui synthétisé à l'âge adulte ont été décrites chez un même spécimen de *Crotalus atrox*. [7, 22]

L'environnement et le régime alimentaire influencent significativement la composition du venin. En effet, il a été montré que la variabilité des venins de populations distinctes de *Calloselasma rhodostoma* était fortement corrélée au régime alimentaire des populations étudiées. [7, 22]

2.4. Les modes d'actions des venins

La toxicité du venin est accentuée lorsque ses composants agissent ensemble durant les phénomènes de synergie et de potentialisation. Une meilleure connaissance de ces mécanismes, et l'étude toxicocinétique des venins permettent aujourd'hui de comprendre et d'anticiper les nombreux symptômes pouvant apparaître après une envenimation.

2.4.1. Les phénomènes de synergie et de potentialisation

Certains venins contiennent des molécules qui ont la particularité d'additionner leurs effets. Ce phénomène de synergie aggrave le tableau clinique en cumulant les effets toxiques. [11, 18]

De plus, l'association d'actions de divers composants du venin amplifie les effets de l'un ou plusieurs d'entre eux, c'est le phénomène de potentialisation. Ainsi, les venins de Viperidae contiennent des protéines aux activités en apparence antagonistes mais qui sont, en réalité, complémentaires. Des protéases à l'activité dite pro coagulante sur les protéines de la coagulation de la proie, peuvent notamment cohabiter dans le venin avec un activateur de plasminogène. Celui-ci est alors transformé, par les protéases, en plasmine qui lyse les caillots en formation. L'objectif de cette potentialisation est la consommation rapide de l'ensemble des protéines intervenant dans la coagulation, rendant le sang de la victime incoagulable avec un risque d'hémorragies spontanées élevé. De cette façon, les Viperidae immobilisent leurs proies par paralysie ou collapsus vasculaire et par choc hémorragique. [11, 18]

2.4.2. La toxicocinétique des venins

Après inoculation du venin, les composants de faible masse moléculaire, tels que les toxines des venins d'Elapidae, sont rapidement absorbés dans la circulation sanguine. Ces composants sont ensuite distribués en quelques heures, vraisemblablement par voie lymphatique, aux espaces extravasculaires où se trouvent leurs cibles d'action. [1, 11, 19, 24]

La situation est différente pour les constituants de masse moléculaire plus élevée, comme les enzymes des venins de Viperidae et de Crotalidae. En effet, la plupart de ces molécules agissant au niveau vasculaire, plusieurs jours leur sont nécessaires pour rejoindre les espaces extravasculaires. [1, 11, 19, 24]

L'apparition plus ou moins rapide des signes cliniques après une morsure est en partie fonction des vitesses d'absorption et de distribution des composants toxiques des venins. [1, 11, 19, 24]

L'élimination du venin s'effectue en quelques jours, essentiellement par voie rénale. Toutefois, lors de certaines envenimations, une fraction variable du venin pourrait se fixer sur les cellules autour de la morsure ou continuer de circuler dans le système lymphatique. Cette hypothèse conduirait à une libération progressive et une recirculation du venin dans l'organisme, qui expliquerait les rechutes cliniques fréquentes observées jusqu'à 10 jours après la morsure. [1, 11, 19, 24]

2.5. La symptomatologie des envenimations

On sépare artificiellement la symptomatologie des envenimations ophidiennes en trois grands axes cliniques.

2.5.1. Le syndrome cobraïque

Le syndrome cobraïque évoque principalement une envenimation par un Elapidae. Le venin d'Elapidae étant riche en toxines, l'envenimation cobraïque est dite dose-dépendante. L'inoculation du venin est le plus souvent indolore et l'œdème reste localisé. [11, 19]

Les premiers signes sont l'apparition rapide d'une paralysie flasque qui débute par les muscles de la face avec un ptosis, un effacement des rides du visage, une dysphonie et une dysphagie. Cette paralysie s'étend aux muscles des membres, comme présentée sur la photo en figure 3, de l'abdomen, et enfin du thorax. La mort survient en deux à dix heures par paralysie respiratoire lorsque le diaphragme est atteint. Le malade reste conscient tout au long du développement de la paralysie. [11, 19]



Figure 3 : Patient souffrant d'un syndrome cobraïque [25]

Les autres signes, beaucoup moins spécifiques, associés à l'envenimation cobraïque sont l'angoisse, la sensation de soif, les nausées, l'hypotension ou encore les troubles de la conscience. [11, 19]

2.5.2. Le syndrome vipérin

Le syndrome vipérin traduit une envenimation par un Viperidae ou un Crotalidae dont les venins sont riches en enzymes. On parle donc d'une envenimation chrono-dépendante où les effets majeurs du venin vont s'aggraver peu à peu et atteindre leur maximum au bout d'un, voire plusieurs jours. [11, 19, 26]

L'évolution du syndrome vipérin est plus complexe car il associe une réaction locale marquée et un syndrome hémorragique.

L'inoculation du venin provoque une douleur intense, irradiant le plus souvent vers la racine du membre. Un œdème extensif se développe dans les minutes qui suivent la morsure. Cet œdème persiste de quelques semaines à plusieurs mois dans certains cas. [11, 19, 26]

Annoncée dès les premières heures par un hématome qui encercle la trace des crochets, puis par une tache noire ou cyanique, une nécrose humide et suintante s'étend rapidement en surface et parfois en profondeur. Parallèlement, les agents saprophytes de la cavité buccale du serpent inoculés dans les tissus lors de la

morsure, sont sources de surinfections bactériennes qui peuvent évoluer vers une gangrène gazeuse, justifiant parfois une amputation du membre. [11, 19, 26]

L'œdème s'accompagne fréquemment d'un syndrome hémorragique avec l'apparition d'hémorragies sous-cutanées et d'hématomes comme le montre la photo en figure 4. Ces troubles sont marqués par une hypofibrinogénémie qui dure huit à dix jours. Des hémorragies de tous types conduisent parfois au décès dans un tableau de choc hypovolémique ou d'hémorragie cérébro-méningée. [11, 19, 26]



Figure 4 : Patient souffrant d'un syndrome vipérin [27]

L'ischémie rénale, liée à l'état de choc ou au syndrome hémorragique, peut être à l'origine d'une nécrose tubulaire ou corticale, provoquant des lésions rénales secondaires dans les semaines qui suivent la morsure [11, 19, 26].

En France, les envenimations par *Vipera aspis*, *Vipera berus* et *Vipera ursinii* provoquent un syndrome inflammatoire important, des troubles généraux divers comme des malaises, des troubles digestifs, de l'hypotension ainsi que des troubles hématologiques tels qu'une thrombopénie, une hyperleucocytose, une chute du taux de prothrombine ou de la fibrine. Néanmoins, des complications sévères mettant en jeu le pronostic vital peuvent survenir, particulièrement chez les patients fragiles que sont les enfants, les femmes enceintes et les sujets présentant des antécédents cardio-vasculaires. [11, 19, 26]

2.5.3. L'atteinte des autres fonctions

D'autres atteintes plus ou moins spécifiques sont possibles :

- Une atteinte cardiovasculaire. Cette atteinte moins spécifique constitue toute la gravité immédiate d'une envenimation.
- Une atteinte oculaire. Les cobras cracheurs sont capables de projeter leur venin jusqu'à 3 mètres en visant les yeux de leur proie.
- Une atteinte musculaire. L'apparition d'une rhabdomyolyse est caractéristique des Elapidae marins que l'on rencontre du Golfe Persique et le nord de l'Océan Indien jusqu'au Japon.
- Une atteinte digestive déclenchant diarrhée et vomissements non spécifiques.
- Une atteinte respiratoire avec des œdèmes glottiques ou pulmonaires et des dyspnées asthmatiformes.
- Une atteinte générale souvent causée par une hyperleucocytose accompagnée d'une éosinophilie, et parfois d'une adéno-splénomégalie. [26, 28]

3. L'évolution et les mécanismes de la sérothérapie antivenimeuse

Depuis le premier succès de la SAV il y a plus d'un siècle, de nombreuses avancées ont été faites. Ces nouvelles connaissances ont permis de comprendre précisément les mécanismes immunitaires entrant en jeu dans la SAV. [2, 4]

3.1. L'évolution de la sérothérapie antivenimeuse

L'efficacité des premiers SAO, quoique significative, nécessitait des doses relativement importantes, ce qui était à la fois coûteux en produit et dangereux pour l'homme à cause des risques d'intolérance aux protéines d'animaux. Les découvertes scientifiques successives ont conduit à la production de nouvelles générations de SAO dotés d'une tolérance et d'une efficacité accrues. [2, 4]

3.1.1. Les découvertes scientifiques majeures

Trois principales découvertes scientifiques ont eu un impact sur la production des SAO au 20^{ème} siècle.

3.1.1.1. L'interaction antigène-anticorps

Ehrlich, en 1897, introduit le terme générique d'anticorps et développe une théorie sur la réponse immunitaire centrée sur l'interaction entre les antigènes et les anticorps. Par la suite, les anticorps seront identifiés comme étant les molécules actives responsables de l'action thérapeutique des sérums antivenimeux. Des techniques de détection et de dosages voient rapidement le jour dans tous les laboratoires de sérothérapie. [29, 30]

Il fallut attendre 1958 pour que Porter élucide la structure des anticorps, ce qui lui valut le prix Nobel de médecine en 1972 [4].

3.1.1.2. L'intérêt des adjuvants

L'intérêt des adjuvants dans les protocoles d'immunisation des animaux est mis en évidence par Ramon en 1926. Celui-ci démontre que l'addition d'un adjuvant au mélange de toxine atténuée provoque une réaction inflammatoire locale qui favorise la réponse immunitaire de l'animal, et un taux d'anticorps plus élevé dans son sérum. Aujourd'hui encore, les techniques d'immunisation emploient des adjuvants de nature variée dont le fonctionnement commence seulement à être compris. [11]

3.1.1.3. La spécificité des sérums antivenimeux

Calmette crut longtemps, à tort, que son sérum anticobraïque avait un pouvoir curatif universel vis-à-vis de toutes les envenimations ophidiennes. Dès la fin du 19^{ème} siècle, il apparut que les venins des serpents brésiliens et australiens notamment, n'étaient pas neutralisés par le sérum de Calmette. Cette inefficacité fût expliquée et démontrée par la variabilité de la composition des venins abordée plus haut.

La principale contrainte qui découle de cette spécificité est la nécessité de multiplier les SAO en fonction des espèces. [10, 22, 23]

3.1.2. Les nouvelles générations de sérums antivenimeux

La première grande amélioration des sérums antivenimeux est mise au point par Felton en 1932. Elle consiste à séparer l'albumine sérique qui n'intervient pas dans le pouvoir curatif des SAO, mais qui peut au contraire déclencher de sérieuses intolérances allant jusqu'au choc anaphylactique. La préparation obtenue est à la fois plus concentrée en anticorps et bien mieux tolérée. [11, 24]

Le deuxième progrès d'importance est le développement, par Pope en 1936, des méthodes de clivage des anticorps par la pepsine puis la papaine [29]. Ce procédé révolutionnaire entraîne l'obtention des fragments d'anticorps relativement plus actifs et surtout mieux tolérés. [2, 11, 29]

A partir des années 70, de nouvelles techniques de purification plus poussées, à laquelle s'ajoute des procédures de stérilisation microbiologique rigoureuses, renforcent considérablement la sécurité d'emploi des SAO [4].

3.2. Les mécanismes de la sérothérapie antivenimeuse

La production des SAO et la SAV sont basées sur l'association antigène-anticorps, et font intervenir respectivement l'hyper-immunisation de l'animal donneur et l'immunisation artificielle passive du patient.

3.2.1. La structure des antigènes

Sur le plan structural, les antigènes sont constitués d'un ensemble de motifs moléculaires de dimensions limitées, distincts les uns des autres, parfois identiques ou en partie similaires. Ces motifs, appelées épitopes, sont spécifiques à chaque antigène et sont directement impliqués dans les liaisons aux cellules de l'immunité. [31, 32, 33]

Les toxines et les enzymes sont les constituants protéiques toxiques en quantités les plus importantes dans le venin de serpent. Or, les produits de dégradation des enzymes, dont résulte la toxicité, sont en général dépourvus de propriété immunogène, c'est-à-dire dans l'incapacité d'induire une réaction immunitaire

spécifique. C'est pourquoi les toxines sont considérées comme les principaux antigènes du venin de serpent. [31]

3.2.2. La structure des anticorps

Les anticorps sont les glycoprotéines multimériques circulant dans le milieu intérieur et capables de se lier à leur antigène spécifique. Les anticorps sont composés de quatre chaînes polypeptidiques, deux chaînes lourdes et deux chaînes légères identiques, représentées sur la figure 3. Les chaînes lourdes sont reliées entre elles et aux chaînes légères par des ponts disulfures. Chaque chaîne possède une région constante, une région variable et une région hypervariable. Les régions hypervariables ou paratopes, constituent deux sites de liaison à l'épitote d'un antigène et sont responsables de la spécificité de l'anticorps à l'antigène. [33, 34]

En outre, chaque anticorps est constitué de deux parties appelées fragment cristallisable (Fc) et fragment antigen binding (Fab). Le fragment Fc comprend le site de liaison des cellules phagocytaires. [33, 34]

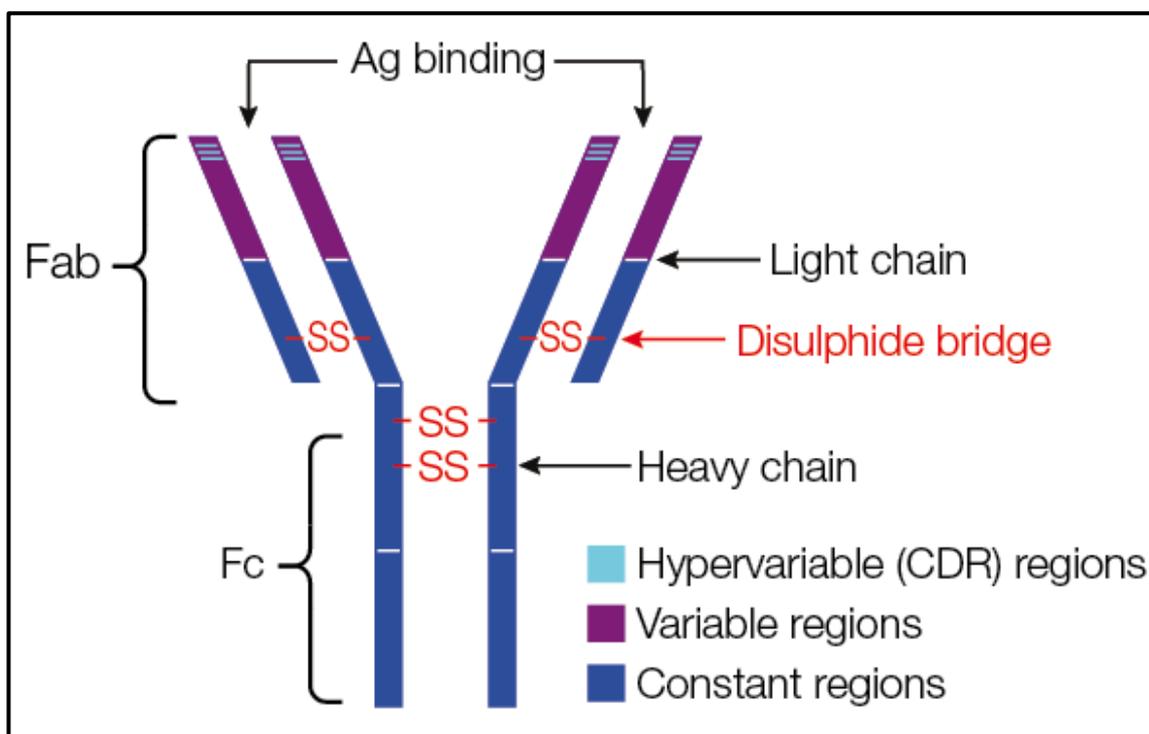


Figure 5 : Schéma simplifié d'un anticorps [35]

3.2.3. L'hyper-immunisation de l'animal

L'hyper-immunisation de l'animal est le procédé par lequel des doses croissantes de venin(s) sélectionné(s) sont injectés à l'animal, après une possible atténuation, afin de provoquer chez lui une réaction immunitaire spécifique contre ce ou ces venin(s). L'hyper-immunisation est une étape cruciale qui entraîne l'obtention d'un titre élevé en anticorps dans le sang de l'animal pour la production d'un SAO. [1]

Par ailleurs, une toxine pouvant être multiépitopique ou un venin pouvant contenir de nombreuses familles de toxines, celles-ci induisent la sécrétion d'anticorps différents. Pour cette raison, la réponse immunitaire suivant l'inoculation de venin sera qualifiée de polyclonale. Il en découle que les anticorps présents dans un SAO seront variés, hétérogènes et tous spécifiques d'un épitope d'une toxine donnée. [34]

3.2.4. L'immunisation artificielle passive du patient

L'immunité humorale peut être transférée passivement d'un animal immunisé contre une toxine donnée, à un homme non immunisé par injection de SAO, contenant les anticorps spécifiques contre cette toxine. Les anticorps responsables de la neutralisation de cette toxine sont les immunoglobulines G (IgG), qui sont majoritaires dans le sang et les liquides extracellulaires. Les IgG sont des glycoprotéines, de masse moléculaire d'environ 150 000 daltons, douées d'une fonction d'anticorps. Ce sont donc principalement ces molécules que l'on va chercher à extraire et isoler du sérum des animaux immunisés. [34, 36]

Après purification, les IgG sont injectées aux patients envenimés pour les immuniser contre les toxines impliquées. Les IgG jouent des rôles multiples dans l'élimination des toxines du venin. Les IgG se lient tout d'abord aux toxines circulantes par leur paratope pour les neutraliser, donnant des complexes immun toxines-IgG. Les IgG, par leur fragment Fc peuvent aussi recruter le complément, ou activer des cellules de l'immunité telles que des phagocytes ou des granulocytes. La liaison du fragment Fc au récepteur d'un phagocyte facilite l'internalisation et la destruction des toxines via le phénomène d'opsonisation. De même, la liaison des fragments Fc des IgG aux granulocytes favorise leur dégranulation, et déclenche des réponses

antimicrobiennes puissantes comprenant l'élimination des complexes immuns. [34, 37, 38]

L'immunité apportée par la sérothérapie est une immunité artificielle et passive. C'est pourquoi, contrairement à la vaccination, la SAV a une action immédiate mais courte, qui ne protégera pas le patient lors d'une prochaine envenimation. [38]

DEUXIEME PARTIE :

**LA PRODUCTION INDUSTRIELLE
DE SERUMS ANTI-OPHIDIENS**

Historiquement, les pionniers de la SAV utilisaient le sérum séparé du sang, par décantation ou centrifugation, des animaux immunisés pour la préparation des SAO. De nos jours, le plasma est utilisé presque exclusivement à la place du sérum car la réinjection des érythrocytes permet de réduire l'anémie et l'hypovolémie chez l'animal donneur, et donc d'augmenter la fréquence des saignements [10, 39]. Par conséquent, le terme de SAO est de plus en plus remplacé par celui d'anti-ophidien pour marquer l'évolution de leur préparation. De même, la SAV tend à changer de dénomination pour prendre celle d'immunothérapie passive ou immunothérapie antivenimeuse. [3]

Avant de procéder à l'hyper-immunisation des animaux, les venins de serpents sélectionnés sont prélevés sur les reptiles, puis préparés pour former une solution d'antigènes. Lorsque le titre en IgG souhaité est atteint, le plasma des animaux est recueilli, poolé et contrôlé. Bien que le plasma d'un animal hyper-immunisé contienne les IgG dirigées contre les venins visés, celui-ci comprend également d'autres protéines que l'on ne souhaite pas retrouver dans le traitement administré au patient. L'introduction d'étapes de fractionnement et de purification des IgG dans la production des SAO, a permis d'améliorer la tolérance de ces traitements. En complément de la purification, les solutions d'IgG sont formulées, distribuées dans leurs récipients finaux, conditionnés et enfin contrôlés. [10, 39]

La production de SAO doit respecter les principes qualité essentiels de façon à obtenir des produits de qualité, de sécurité et d'efficacité constantes.

Toutes les opérations doivent être effectuées par du personnel qualifié, dans des locaux et avec du matériel approprié. Le contrôle des risques microbiologiques et l'existence d'un système de documentation qui assure la traçabilité de toutes les étapes de la production, sont particulièrement importants. [1]

1. La préparation des venins de serpents

Les préparations de venins sont utilisées pour l'hyper-immunisation des animaux dont les SAO seront issus. La sélection des serpents, le prélèvement, le traitement, le stockage et le contrôle qualité de ces venins sont essentiels pour la production de SAO répondant aux exigences de qualité et d'efficacité.

1.1. La sélection des serpents venimeux

La sélection des espèces venimeuses par pays ou région, puis des serpents pour chaque espèce, est un facteur déterminant pour mesurer le risque qu'ils représentent mais surtout pour fabriquer des SAO appropriés.

Toutefois, avant d'entreprendre la sélection des spécimens, le choix de produire un sérum monospécifique ou polyspécifique doit être fait.

1.1.1. Le choix d'un sérum monospécifique ou polyspécifique

Les SAO monospécifiques sont préparés à l'aide du venin d'une seule espèce de serpent venimeux. Le choix de la fabrication d'un SAO monospécifique est basé sur la possibilité d'identifier avec certitude le serpent coupable de l'envenimation. Cette identification est réalisée par un test fiable et rapide, et/ou par la présence de symptômes cliniques et/ou biologiques distinctif chez le patient. [40, 41]

Lorsque la reconnaissance de l'espèce de serpent responsable n'est pas sûre, il est fortement recommandé de produire un SAO polyspécifique efficace contre les venins de plusieurs espèces de serpents présents dans la zone géographique. Un tel sérum est préparé soit en mélangeant des SAO monospécifiques, soit en hyper-immunisant des animaux avec un pool de venins de diverses espèces de serpents. [40, 41, 42]

La décision de préparer des SAO mono ou polyspécifiques dépend ainsi des caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la région où ils seront utilisés. [43]

1.1.2. La sélection des espèces venimeuses par pays ou région

Les pools de venins utilisés pour la production de SAO doivent être spécifiques pour chaque pays ou région où le sérum sera administré [22].

La sélection d'une espèce de serpent en tant que candidate pour la production de SAO est basée sur divers critères, dont les deux principaux sont sa répartition géographique, et sa responsabilité dans les envenimations de sa région.

L'identification zoologique précise des serpents venimeux dans chaque pays ou région est donc un élément crucial pour la fabrication de SAO efficaces. [43]

La liste des espèces de serpents dangereux par pays, territoire ou région du monde, établie par l'OMS et présentée en annexe 2, a également pour but d'orienter les producteurs de SAO dans leur choix [1].

1.1.3. La sélection des serpents pour chaque espèce venimeuse

En raison des variations ontogéniques et environnementales des venins de serpents au sein d'une même espèce, il est impératif que le pool de venins destiné à la fabrication de SAO mono ou polyspécifique soit représentatif de l'espèce. Pour cela, le pool doit être obtenu à partir d'un nombre relativement important de spécimens, généralement entre 20 et 50 serpents d'âge et de sexe différents, prélevés dans diverses régions au sein de l'aire de répartition de l'espèce. [22]

De ce fait, la connaissance des variations ontogéniques et environnementales des venins de serpents d'une même espèce est nécessaire pour la sélection des localités spécifiques où les spécimens doivent être recueillis [44].

1.2. Prélèvement, traitement et stockage des venins

La préparation de venins de serpents destinée à l'hyper-immunisation des animaux est une tâche délicate qui implique l'entretien des spécimens en captivité, l'élaboration de protocoles efficaces pour le prélèvement et le traitement et le stockage du venin [23].

1.2.1. L'élevage de serpents

On dénombre dans le monde 34 établissements qui élèvent des serpents venimeux et prélèvent leur venin. Sur ces 34 élevages, localisés dans 21 pays différents, 19 sont privés et 15 sont détenus par le gouvernement. Ces établissements possèdent entre 50 et 1500 serpents sauvages ou nés en captivité. La majorité de ceux-ci élève

seulement des espèces locales mais quelques-uns détiennent aussi des espèces exotiques [45]. Le laboratoire français Latoxan élève notamment plus de 150 espèces de serpents, et fournit des quantités de venins, variant entre 10mg et 10g, à de nombreux centres de recherche et industries pharmaceutiques internationales [46].

L'élevage et la manipulation de serpents doivent répondre aux normes vétérinaires du pays concerné. De plus, le recueil de venins pour la production de SAO nécessite le respect de l'éthique animal et des exigences de qualité, d'hygiène et de sécurité inhérent à leur utilisation. Une formation adéquate est absolument nécessaire pour le personnel de ces établissements. [1]

1.2.2. Le prélèvement du venin

Selon les espèces, l'intervalle entre les prélèvements de venin varie de toutes les 2 semaines à tous les 3 mois, sauf pour les spécimens en quarantaine ou en cours de traitement. [1]

Le venin est obtenu par pression manuelle de la tête du serpent tel que présenté sur la photo en figure 6 ou, plus rarement, par une brève stimulation électrique des glandes à venin combinée à une anesthésie du serpent. Le matériel utilisé doit être approprié pour provoquer le moins de stress possible à l'animal, tout en assurant la sécurité de l'opérateur. [7]

Dans certaines régions du monde, il est courant que des éleveurs partent chasser des serpents sauvages dans la nature pour recueillir leur venin, et les libèrent immédiatement après la collecte. [1]



Figure 6 : Prélèvement de venins de serpents par pression manuelle [47]

1.2.3. Le traitement et le stockage du venin

Le venin de serpent contenant des protéases, celui-ci doit être congelé le plus tôt possible après la collecte. Une centrifugation du venin fraîchement prélevé est tout de même recommandée avant congélation afin d'éliminer les débris cellulaires. [23]

Lors de la préparation des pools de venins, ceux-ci sont décongelés, homogénéisés et desséchés sous vide ou lyophilisés, afin de pouvoir être conservés à basse température pendant des dizaines d'années. Si ces étapes ne sont pas réalisées correctement, les protéines du venin sont rapidement dégradées ou dénaturées. [23, 48]

Le stockage des venins desséchés ou lyophilisés durant de longues périodes entraîne un risque d'hydratation, avec une altération significative de la qualité du venin [23].

1.3. Le contrôle qualité du venin

Pour chaque lot de venin, il est de la responsabilité du fournisseur de mettre à disposition du producteur de SAO, et de toute autorité si nécessaire, un certificat indiquant les informations clés de traçabilité du lot [1].

En plus du certificat, le fournisseur de venin peut effectuer des tests biochimiques et pharmacologiques supplémentaires sur chaque lot, pour détecter la dégradation des protéines par l'apparition de nouveaux composants. Ces analyses peuvent être réalisées en parallèle de tests toxicologiques et fonctionnels tels que la détermination de la dose létale médiane ou la quantification des activités enzymatiques.

Si le fournisseur de venin n'est pas en mesure d'effectuer ces analyses, celles-ci peuvent être sous-traitées ou, en fonction de l'accord, être opérées par le fabricant lui-même. [23]

2. L'hyper-immunisation des animaux

La préparation de la solution de venin servant à l'hyper-immunisation des animaux et son association à un adjuvant sont des étapes décisives dans la fabrication des SAO. De même, la sélection des animaux donneurs et le protocole d'hyper-immunisation doivent être réalisés avec soin.

2.1. La préparation de la solution de venin

La qualité de la solution de venin de serpent utilisée pour l'hyper-immunisation des animaux, c'est à dire la solution d'antigènes, revêt une importance capitale. En effet, pour ne pas nuire au bien-être et à la santé de l'animal, celle-ci doit être ajustée à pH physiologique et exempt de tout micro-organismes et pyrogènes. Cette solution doit être préparée de façon à minimiser la dénaturation des protéines du venin, afin de déclencher une réponse immunitaire acceptable chez l'animal. [1, 48, 49, 50]

La préparation d'antigènes est obtenue par dissolution du ou des venin(s) lyophilisé(s) dans de l'eau physiologique ou dans une solution saline tamponnée au phosphate, avant d'être centrifugée pour élimination des impuretés. La préparation est ensuite stérilisée par filtration à travers une membrane 0,22 µm, aliquotée et stockée entre -15 et -20 ° C dans des flacons stériles identifiés. Pour minimiser l'infection au niveau des sites d'injection, il est nécessaire que toutes ces manipulations soient réalisées dans des conditions aseptiques. [48, 49, 50]

Certains venins de serpent, à l'instar des venins d'Elapidae, sont mal tolérés par les animaux lorsqu'ils sont injectés bruts. Par conséquent, divers moyens chimiques ou physiques ont été étudiés pour réduire la toxicité du venin. Parmi eux on trouve le traitement par des aldéhydes, de l'hypochlorite de sodium, la chaleur, ou encore les rayonnements gamma ou ultraviolet. Cependant, dans la plupart des cas, ces traitements détruisent les sites toxiques et les sites antigéniques des toxines, empêchant leur neutralisation par les anticorps. Il est préférable, si possible, de remplacer la détoxification par l'injection de petites doses de venin émulsifiées dans un adjuvant. [2, 49, 51, 52, 53]

2.2. L'emploi d'un adjuvant

Le choix de l'adjuvant est fonction de son efficacité, de ses effets secondaires, de sa facilité de préparation et de son coût. Les adjuvants les plus couramment utilisés sont l'adjuvant complet de Freund (ACF), l'adjuvant incomplet de Freund, la bentonite, le Quil-A[®], le système Ribit[®], le TiterMax[®] et les sels d'aluminium. [2, 54, 55]

L'emploi d'un adjuvant est nécessaire avec les venins peu immunogènes ou les venins rares, disponibles en faible quantité. Les adjuvants stimulent la réponse immunitaire en amplifiant et en prolongeant la production d'anticorps. Pour cela, les adjuvants ont plusieurs modes d'actions. Ils forment parfois au niveau du site de l'injection un dépôt d'immunogène, qui, libéré lentement, a pour effet d'entretenir la stimulation du système immunitaire. Le deuxième rôle des adjuvants est d'acheminer les antigènes à la rate ou aux ganglions lymphatiques où se produisent une grande partie de la réponse immunitaire. Enfin, les adjuvants contribuent à l'activation directe ou indirecte de divers types de cellules de l'immunité comme les macrophages ou les lymphocytes. [55, 56]

Généralement, la solution de venin est émulsifiée avec un volume égal d'adjuvant. De plus, la dispersion de l'émulsion dans du Tween 80 a pour effet de faciliter l'injection en réduisant la viscosité de la préparation. Cette étape est très importante puisqu'une émulsification incomplète est l'une des principales causes d'échec de l'immunisation. [50, 55, 56]

La plupart des effets secondaires indésirables, de gravité et de durée variable, chez les animaux lors de l'immunisation sont causés par les adjuvants. L'ACF, qui contient de l'huile minérale, un émulsifiant, et la mycobactérie *Mycobacterium tuberculosis* inactivé par la chaleur, est un des adjuvants les plus puissants connus. Toutefois, les chevaux sont très sensibles à l'ACF, car cet adjuvant tend à causer la formation d'abcès, de fistules ou de granulomes, résultant en une grande plaie infectée lorsque ceux-ci se rompent. Pour cette raison, des producteurs préfèrent utiliser d'autres adjuvants. [1, 52, 55]

2.3. La sélection des animaux

Le cheval est l'animal de choix pour la production commerciale de SAO en raison du grand volume de sang disponible, et de son éloignement phylogénétique avec le serpent. Les chevaux ont aussi une longue durée de vie, ils sont dociles et les prélèvements sanguins peuvent être effectués au niveau de la veine jugulaire. En outre, les SAO fabriqués à partir de sérum de cheval ont prouvé, au fil du temps, avoir un profil d'innocuité et d'efficacité satisfaisant. Cependant, les chevaux ont le désavantage d'être particulièrement intolérants aux adjuvants à base d'huile tels que l'ACF. A cela s'ajoute la sensibilité de nombreuses personnes aux protéines de cheval, qui conduit souvent à des patients présentant des effets indésirables sévères. [2, 56, 57]

Bien que le cheval soit l'animal donneur prédominant, le mouton lui est de plus en plus fréquemment préféré. Contrairement aux chevaux, les moutons tolèrent mieux les adjuvants à base d'huile, et leurs immunoglobulines peuvent être utilisées chez les patients hypersensibles aux protéines équine. Les moutons sont en outre plus facile à élever et ont un coût d'entretien plus faible que les chevaux. Néanmoins, l'inquiétude croissante à propos des maladies à prion freine le remplacement total du cheval par le mouton pour la production commerciale de SAO. [51, 57, 58]

Les animaux hyper-immunisés pour la fabrication de SAO doivent être en parfaite condition physique. C'est pourquoi, avant toute introduction dans un programme de production l'animal, identifié par puce ou marquage, est soumis à une quarantaine de 6 à 12 semaines selon les pays. Pendant cette période, l'animal suit un programme

approprié de surveillance sanitaire, de vaccination, de nutrition et de dépistage. [43, 59]

Les annexes 3 et 4 donnent des exemples de virus à dépister chez les animaux donneurs. Ces virus peuvent être présents dans le sang de l'animal donneur, à un ou plusieurs stades de leur cycle, et/ou sont pathogènes pour l'homme. Le type de virus recherché et la fréquence des tests, avant et après hyper-immunisation, dépendent notamment de l'épidémiologie des maladies infectieuses dans la région, et de l'efficacité du système qui protège les animaux donneurs d'un contact avec les animaux sauvages. [1, 57]

Si l'animal est en bonne santé selon le contrôle vétérinaire, le programme d'hyper-immunisation peut débuter [43, 59].

2.4. Le protocole d'immunisation

Le protocole d'hyper-immunisation soulève des points importants tels que le volume de la solution antigènes-adjuvant à injecter, la voie d'administration, le nombre de sites d'injection et les injections de rappel. Par ailleurs, la surveillance des animaux et la tenue d'un dossier d'immunisation individuel sont indispensables durant toute la durée du programme.

2.4.1. Le volume de la préparation antigènes-adjuvant

Le volume de la préparation antigènes-adjuvant optimal à injecter à l'animal est le plus souvent obtenu par essais et erreurs pour atteindre le titre en IgG cible. Dix à cinquante injections sur une période de 3 à 15 mois peuvent être nécessaires pour obtenir une hyper-immunisation. Ce volume varie beaucoup selon l'espèce de l'animal à immuniser, l'adjuvant employé et l'immunogénicité de la solution de venins. [2, 49]

La stérilité de la préparation antigènes-adjuvant revêt une grande importance, non seulement pour la réussite de l'hyper-immunisation, mais surtout pour la réduction de la contrainte subie par l'animal donneur [56].

2.4.2. La voie d'injection

La voie d'injection peut être sous-cutanée, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intraveineuse. Celle-ci doit être choisie de façon à provoquer le moins de détresse possible chez l'animal.

Les solutions d'antigènes associées à un adjuvant à base d'huile ou de gel visqueux, doivent être injectés par voie sous-cutanée pour éviter les embolies pulmonaires ou la formation d'abcès stériles. [1, 52, 60]

2.4.3. Les sites d'injection

Les sites d'injection proches des principaux ganglions lymphatiques, de préférence au niveau du cou et du dos de l'animal comme schématisé en figure 7, favorisent la réponse immunitaire [1, 54].

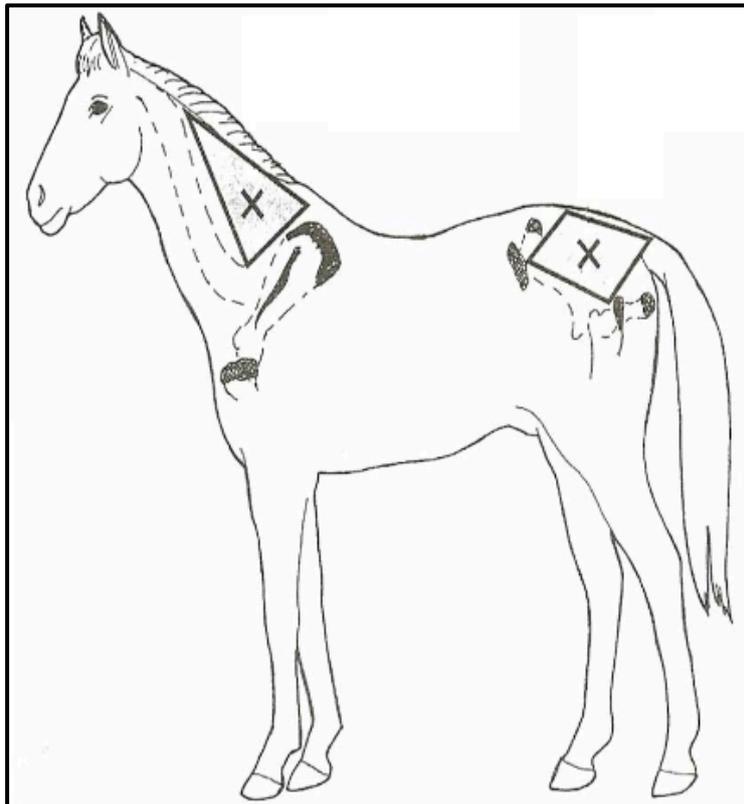


Figure 7 : Zones d'immunisation recommandées pour les chevaux [1]

Le protocole d'hyper-immunisation multi-sites à faible volume exige l'injection de 50 à 200 μ l de préparation antigènes-adjuvant sur de nombreux sites, couvrant une large zone anatomique du cou et du dos de l'animal. Les sites multiples d'injection évitent

la formation d'un tissu cicatriciel trop important sur une seule zone, et favorisent la réponse immunitaire en augmentant la migration d'un plus grand nombre de cellules de l'immunité. [48, 50, 55, 60]

Par ailleurs, *Pratanaphon et al.* ont montré que le protocole d'hyper-immunisation multi-sites à faible volume permet d'éviter les réactions locales indésirables graves provoquées par l'ACF [50].

2.4.4. Les injections de rappel

Le protocole de rappel peut avoir un effet significatif sur le résultat de l'hyper-immunisation. Les injections de rappel ont pour objectif de stimuler les cellules mémoires des animaux. De manière générale, moins de deux injections de rappel espacées d'environ un mois sont nécessaires pour obtenir un titre en IgG suffisant. La date des injections de rappel est déterminée par l'évolution du titre en IgG. En effet, des rappels prématurés ou trop fréquents provoquent plutôt une immunosuppression et font subir une contrainte inutile à l'animal. [50, 56]

Une simple injection sous-cutanée d'une solution d'antigènes faiblement concentrée suffit le plus souvent à réveiller les cellules mémoires de l'animal. L'ajout d'un adjuvant à la solution est rarement utile pour atteindre le titre en IgG souhaité. De plus, leur emploi est responsable d'effets secondaires plus importants que lors de la première immunisation. [50, 56]

2.4.5. La surveillance des animaux et le dossier d'immunisation

L'hyper-immunisation peut provoquer des réactions inflammatoires chroniques chez les animaux. De ce fait, leur état de santé, leur activité, leur consommation d'eau et de nourriture, doivent être surveillés quotidiennement. [52, 55, 56]

La tenue d'un dossier est obligatoire pour chaque animal impliqué dans un programme d'hyper-immunisation pour la production de SAO. Ce dossier doit indiquer notamment, la composition de l'agent d'immunisation, la voie d'administration, le ou les sites d'administration, le volume et la date des injections, le

poids, l'état de santé et le titre sanguin en anticorps antivenimeux de l'animal tout au long de la procédure d'hyper-immunisation. [42]

3. Recueil, pool et contrôle du plasma

Lorsque les animaux hyper-immunisés ont développé un titre d'anticorps antivenimeux correspondant aux spécifications du producteur, ceux-ci peuvent être saignés. Les plasmas séparés du sang sont ensuite poolés et contrôlés.

3.1. La saignée

Les chevaux et les moutons sont saignés au niveau de la veine jugulaire externe. Avant de procéder à cette opération, la bonne santé des animaux doit être déclarée par un vétérinaire ou une personne qualifiée. [56]

Afin de minimiser la potentielle charge bactérienne et virale du plasma, le saignement doit être réalisé avec du matériel stérile adapté et dans des locaux dédiés soigneusement nettoyés avant et après chaque session [1].

Le plasma peut être obtenu soit par aphérèse manuelle soit par plasmaphérèse :

- L'aphérèse manuelle est une technique exigeant la collecte du sang total. Le volume de sang à prélever dépend de l'espèce et de la taille de l'animal donneur, soit entre 3 et 6L pour un cheval, et environ 0,5L pour un mouton. Idéalement, le sang est recueilli stérilement dans des poches plastiques à usage unique, ou des bouteilles en verre contenant un anticoagulant afin d'éviter la formation de caillots. La durée d'une saignée est généralement comprise entre 30 et 45 minutes selon le volume total de sang à recueillir. Les sacs ou les bouteilles de sang sont placés dans une chambre réfrigérée à 5°C +/- 3°C pour la procédure de sédimentation. Les érythrocytes séparés du plasma sont retournés à l'animal donneur, après remise en suspension dans une solution saline stérile à 32-37°C, et au maximum 24h après le prélèvement. [1]

- La plasmaphérèse est une méthode de collecte automatique du plasma donnant des rendements plus élevés que l'aphérèse manuelle et un plasma moins contaminé par les cellules sanguines. Lors de cette procédure, le sang est prélevé sur l'animal, mélangé à un anticoagulant stérile, et passé à travers un séparateur de cellules automatisé. Le plasma est récupéré stérilement dans une poche plastique à usage unique tandis que les érythrocytes sont réinjectés à l'animal. Cette technique fonctionne par cycle avec un cycle de collecte/séparation du plasma, et un cycle de retour des érythrocytes. Le nombre de cycle pour chaque animal donneur dépend du volume total de plasma à recueillir. Par exemple pour les chevaux, tel que présenté en figure 8, le volume moyen de plasma obtenu est d'environ 6 litres par session. Le nombre de cycles varie de 10 à 20 selon l'hématocrite des chevaux et le processus dure entre 1 et 4 heures. [1]



Figure 8 : Récolte du plasma d'un cheval par plasmaphérèse [54]

Durant le prélèvement, un environnement calme et adapté permet de réduire le stress chez l'animal. En outre, les animaux doivent être gardés sous observation pendant au moins 1 heure après le saignement, afin de détecter toute altération physique. La formation et l'expertise du personnel en charge d'exécuter la saignée et la surveillance des animaux revêt une importance significative. [56]



Figure 9 : Poche de plasma d'un cheval récoltée par plasmaphérèse [54]

Les poches, comme exposé sur la photo en figure 9, ou les flacons de plasma correctement identifiés doivent être stockés de manière à maintenir la stérilité du produit, à $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, et dans le noir jusqu'à l'étape suivante [42, 49].

3.2. Le pool du plasma

Après saignée de l'ensemble des chevaux du programme, les plasmas peuvent être poolés dans des containers stériles clairement identifiés. En vue de prévenir toute contamination bactérienne, cette opération est effectuée dans une zone à environnement contrôlée. A cette étape, des conservateurs comme le phénol ou le crésol peuvent être ajoutés au mélange. Ces conservateurs sont préalablement dilués avec de l'eau ou de la solution saline pour éviter la dénaturation des protéines contenues dans le plasma. [1, 57]

Le pool de plasma peut être stocké à $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ou congelé à -20°C si aucun conservateur n'a été ajouté [1, 57].

3.3. Le contrôle du pool de plasma

Avant la poursuite du procédé, le pool de plasma est soumis à des contrôles tels que la vérification de l'absence de précipités macroscopiques et de virus, le dosage de la

charge bactérienne et de l'activité neutralisante. Si le résultat de l'un de ces contrôles ne correspond pas à la spécification établie par le producteur, la qualité et l'efficacité du futur SAO ne sont pas garanties et le pool de plasma est détruit. Des contrôles supplémentaires peuvent inclure, le cas échéant, une recherche des pyrogènes et la teneur totale en protéines. [43, 57]

4. La purification de la substance active

Afin d'éviter tout risque de contamination, il est recommandé que le plasma hyperimmun individuel ou poolé soit purifié le plus tôt possible.

La première étape de purification est l'élimination des éléments cellulaires par centrifugation du plasma. Par la suite, différentes méthodes de purification ont été mises au point pour obtenir l'une des substances actives suivantes :

- des IgG entières après purification pour élimination des protéines sériques non-IgG comme l'albumine,
- des fragments $F(ab')_2$ de masse molaire d'environ 100 000 Da après digestion des IgG par la pepsine,
- des fragments Fab de masse molaire de l'ordre de 50 000 Da après digestion des IgG par la papaïne. [2, 11]

Ces trois substances actives sont présentées en figure 10 ci-dessous.

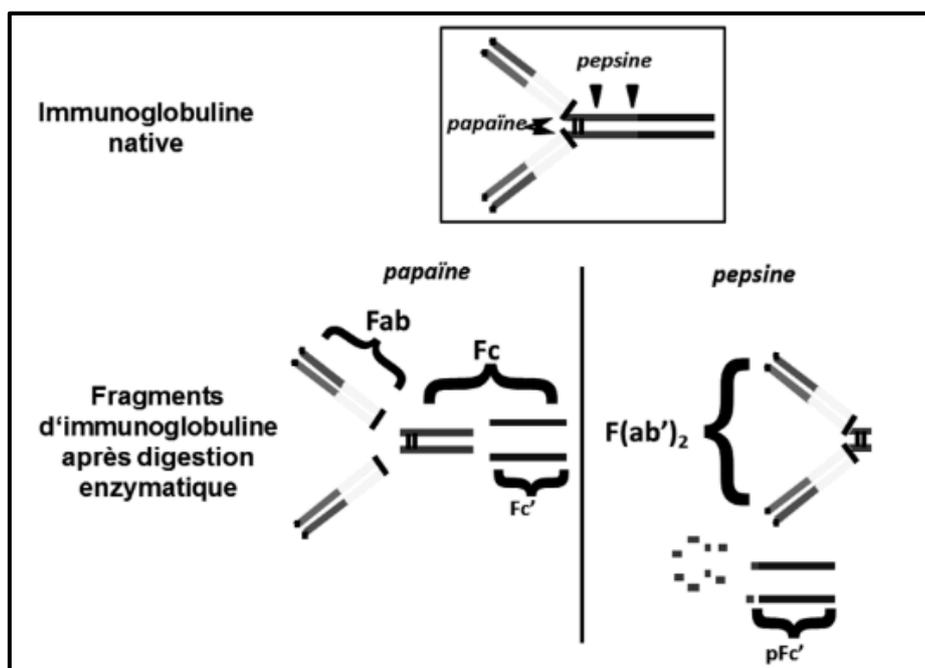


Figure 10 : Structure des immunoglobulines et des fragments générés par la digestion enzymatique [24]

La purification d'IgG ou de leurs fragments d'IgG repose sur le fractionnement du plasma hyperimmun, c'est à dire sur une succession de processus de précipitation, de filtration, de centrifugation et/ou de digestion des IgG [24, 39].

Entre 1975 et 1995, les méthodes de fractionnement traditionnelles ont été complétées par de nouvelles techniques plus poussées de purification. Ces techniques renforcèrent considérablement la pureté et la tolérance des SAO grâce à l'élimination des composés indésirables. [24, 39]

4.1. La purification des IgG entières

L'utilisation d'IgG entières pour la fabrication de SAO présente des inconvénients majeurs. En effet, la quantité de sérums anti-ophidiens à injecter est élevée, et le fragment Fc des IgG provoque des effets indésirables importants en réagissant avec le complément [2]. Pourtant, quelques fabricants produisent encore des SAO constitués d'IgG purifiées. Cette purification peut être réalisée, soit par précipitation des IgG par le sulfate d'ammonium, soit par précipitation des protéines non-IgG par l'acide caprylique [59]. Un combiné des deux méthodes peut être envisagé [61].

4.1.1. La méthode de précipitation par le sulfate d'ammonium ou de sodium

En présence de 30 à 50 % de sulfate d'ammonium ou de sodium, la force ionique du plasma hyperimmun augmente, entraînant la précipitation des IgG. Le culot d'IgG ainsi obtenu est alors repris et dialysé avec une solution appelée PBS pour phosphate-buffered saline. Le surnageant est précipité une nouvelle fois avec une concentration différente en sulfate d'ammonium, afin de précipiter les IgG résiduelles. Le culot, après dialyse, est mélangé au premier tandis que le surnageant composé des protéines non-IgG est éliminé [39, 61, 62]. Un exemple de procédé de précipitation d'IgG par le sulfate d'ammonium est présenté en figure 11 ci-après [63].

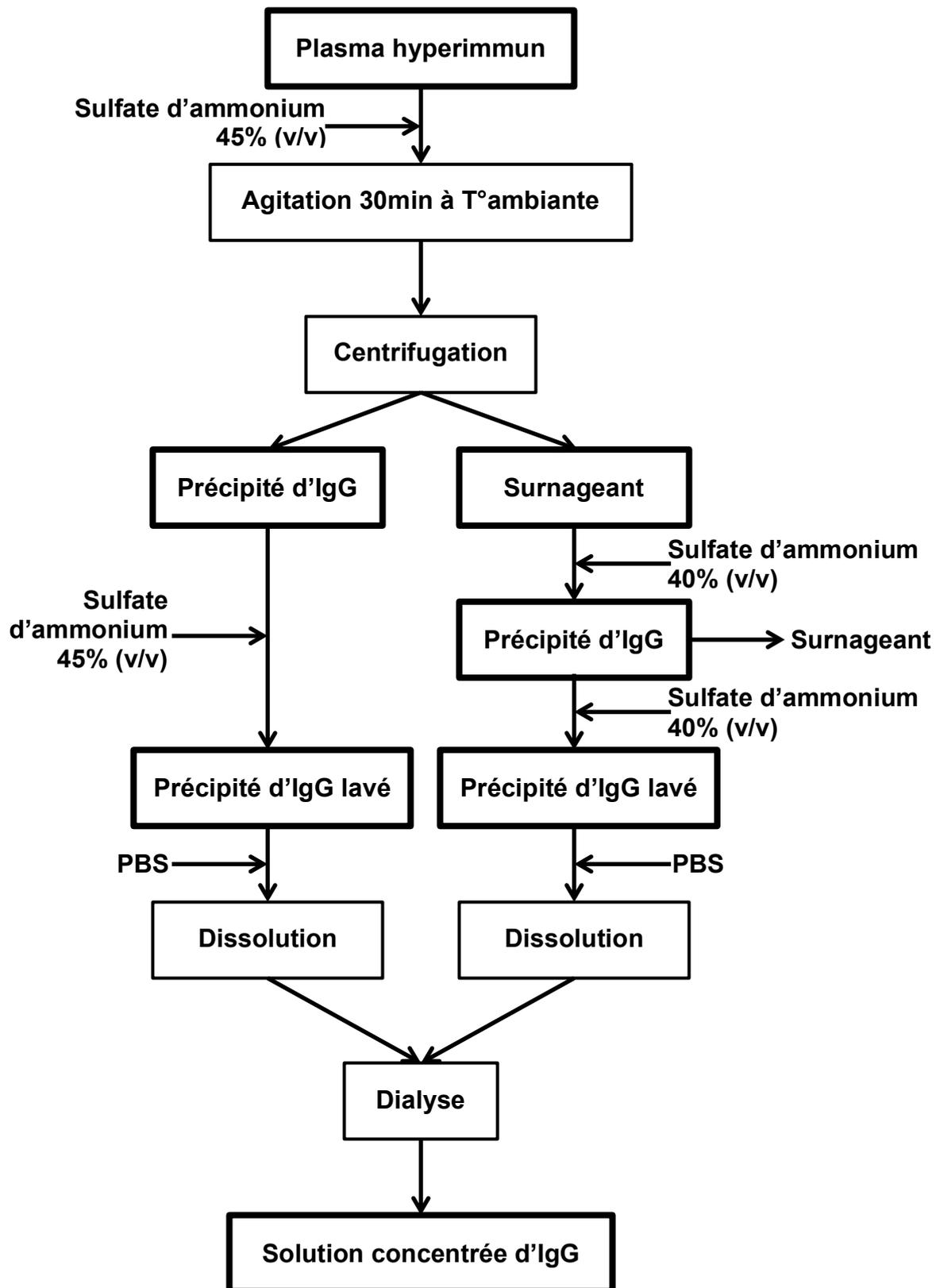


Figure 11 : Procédé de purification d'IgG entière par précipitation au sulfate d'ammonium [production personnelle]

Dans le passé, de nombreux laboratoires utilisaient ce protocole qui conduisait à la récupération de 40 à 50% d'IgG et à la formation d'agrégats protéique. Néanmoins, la présence en quantité importante de protéines non-IgG, tels que l'albumine, dans le produit final entraîne une incidence élevée de réactions indésirables précoces. [62, 64]

4.1.2. La méthode de précipitation par l'acide caprylique

L'acide caprylique est un acide gras insaturé retrouvé dans les huiles végétales et les graisses animales, ou obtenus par synthèse chimique. Plusieurs procédés utilisant la précipitation de protéines non-IgG en présence d'acide caprylique ont été développés pour purifier les IgG du plasma hyperimmun. [65, 66]

La figure 12 illustre un procédé particulier dans lequel le pH du plasma hyperimmun est ajusté à 5,5 avec de l'acide acétique, puis de l'acide caprylique est ajouté lentement, sous agitation constante, pour atteindre une concentration de 5% (v/v). Le mélange est agité à 22-25°C durant 1h minimum. Dès la fin de l'agitation, les protéines non-IgG précipitées sont éliminées par filtration ou centrifugation. Le filtrat ou le surnageant contenant les IgG est ensuite soumis à une filtration tangentielle, pour éliminer l'acide caprylique résiduel et les protéines de faible masse moléculaire. Des variantes de cette procédure, au niveau du pH, de la température ou de la concentration en acide caprylique ont été mises au point par des fabricants. [1, 59, 61]

Le fractionnement de l'acide caprylique permet la production de SAO de pureté relativement élevée, et un rendement pouvant atteindre jusqu'à 60-75% de l'activité du plasma hyperimmun de départ [62, 67].

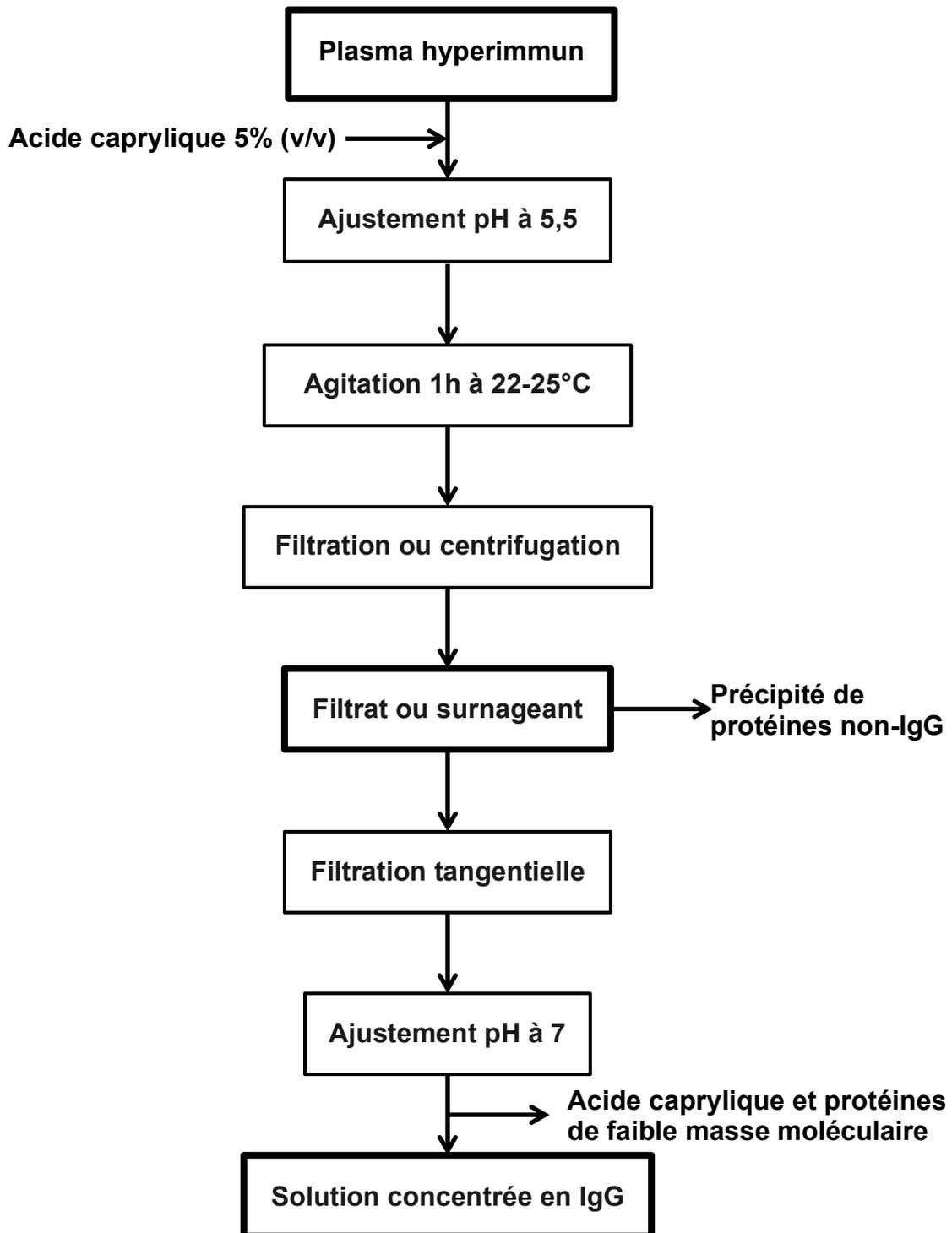


Figure 12 : Procédé de purification d'IgG entière par précipitation des protéines non IgG par l'acide caprylique [production personnelle]

4.2. La purification des fragments d'IgG F(ab')₂

De nombreux fabricants de SAO composés de fragments d'IgG F(ab')₂ suivent toujours le protocole classique décrit par Pope en 1938, additionné de quelques modifications récentes. Cette méthode de fractionnement est basée, d'une part sur une étape de digestion des IgG par la pepsine en fragment F(ab')₂ et en fragment Fc, et d'autre part sur des précipitations au sulfate d'ammonium afin d'éliminer les fragments Fc et les protéines plasmatiques indésirables. Le fractionnement des IgG permet de réduire le volume de SAO à administrer et de limiter les risques de réactions secondaires liés à la présence du fragment Fc. [2, 24, 51]

La pepsine est une endoprotéase, naturellement présente dans le suc gastrique, qui hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé aromatique engage sa fonction amine. Son pH optimal d'activité est compris entre 1.5 à 3.5. La digestion des IgG par la pepsine est effectuée par différents laboratoires à un pH variant de 3,0 à 3,5, et à des températures comprises entre 30 et 37°C. Les durées d'incubation vont de 40min à 24h avec des concentrations de pepsine variables. [1, 59, 68]

Un protocole typique, comme présenté en figure 13, est basé sur l'incubation de plasma hyperimmun à pH 3,3 durant 1h à 30-37°C, avec une concentration de pepsine de 1 g/L. Chaque fabricant ajuste la concentration de pepsine et les autres paramètres pour obtenir l'activité enzymatique requise. [1, 59]

Après digestion par la pepsine, le pH est ajusté à 4,5-5,0 par addition de NaOH ou d'un tampon alcalin faible pour inactiver l'enzyme. La durée de cette étape est calculée pour hydrolyser l'ensemble des IgG sans trop fragmenter la partie F(ab')₂ en Fab. [1, 68]

La deuxième partie du procédé débute avec l'addition de sulfate d'ammonium, sous agitation, à une concentration habituellement proche de 12% (m/v). Le précipité de protéines non-IgG est éliminé par filtration ou centrifugation. Le filtrat ou le surnageant est soumis à un traitement thermique de 56°C pendant 1h appelé thermocoagulation. La thermocoagulation à pH acide en présence de sulfate d'ammonium permet de précipiter les protéines résiduelles instables. [1, 51, 59]

Après refroidissement à moins de 30°C et centrifugation ou filtration, le précipité de protéines non-IgG est éliminé. Le pH est ajusté à 7,0-7,2 ultérieurement avec du NaOH, et une solution de sulfate d'ammonium est ajoutée sous agitation à une concentration suffisamment élevée pour précipiter les fragments F(ab')₂, soit 23% (m/v) minimum. Les petits fragments protéiques issus de l'action enzymatique de la pepsine restent dans le surnageant et sont éliminés par filtration ou centrifugation. Le sulfate d'ammonium potentiellement présent dans le précipité contenant les fragments F(ab')₂ est éliminé par diafiltration après dissolution du précipité dans du PBS. [1, 51, 59]

Ce protocole de fractionnement donne des fragments F(ab')₂ de pureté élevée, avec un rendement se situant habituellement entre 30% et 40% de l'activité du plasma hyperimmun de départ. Par ailleurs, l'étape de précipitation au sulfate d'ammonium 23% (m/v) est remplacée par certains fabricants par une ultrafiltration. [39, 59]

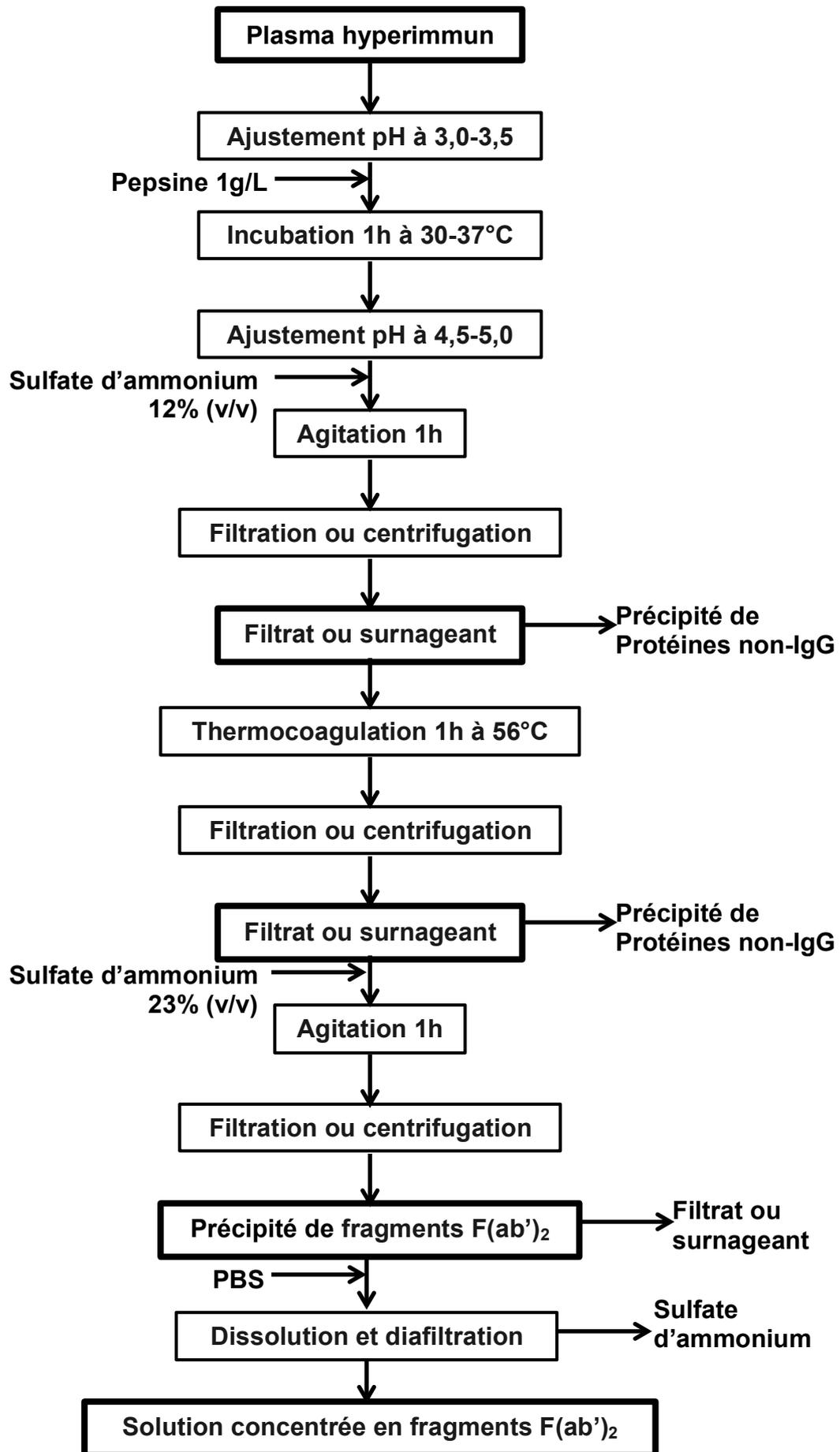


Figure 13 : Procédé de purification de fragments d'IgG F(ab')₂ [production personnelle]

4.3. La purification des fragments d'IgG Fab

La papaïne est une protéase extraite du latex du papayer, connue pour cliver les fragments Fc des immunoglobulines. Son pH optimal d'activité est compris entre 4 et 8. La production de fragments Fab par digestion enzymatique par la papaïne est opérée par quelques fabricants de SAO. [57]

La figure 14 montre un procédé dans lequel les IgG du plasma hyperimmun sont précipitées par l'ajout de sulfate d'ammonium ou de sodium à une concentration de 23% (v/v) [1, 69].

Après filtration ou centrifugation, le filtrat ou le surnageant contenant les protéines non-IgG est éliminé, alors que le précipité d'IgG est dissous dans une solution de chlorure de sodium à pH 7,4. La digestion par la papaïne, de concentration variable, s'effectue à 37°C pendant 18 à 20 heures avant d'être stoppée par addition d'iodoacétamide. L'iodoacétamide, les sels et les peptides de faible masse moléculaire sont éliminés par diafiltration. [1, 69]

Le filtrat contenant les fragments Fab et Fc est, quant à lui, équilibré avec une solution de NaCl isotonique tamponnée, puis chromatographié sur une colonne échangeuse d'anions (cf partie 2 point 3.4.4.1). Les fragments Fc et les autres impuretés sont liés sur la colonne, tandis que les fragments Fab sont récupérés pour donner une solution concentrée en fragments Fab. [69]

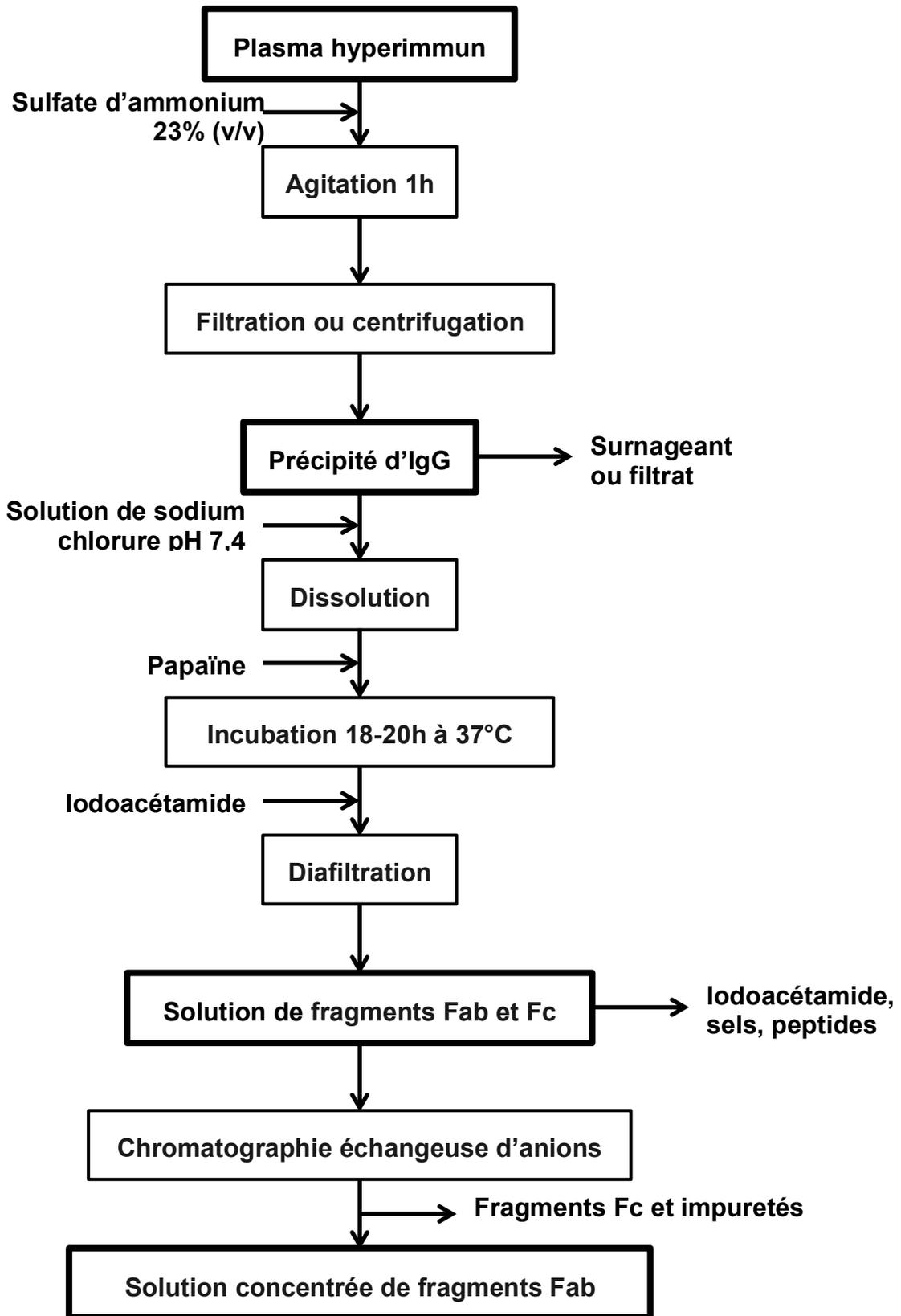


Figure 14 : Procédé de purification de fragments d'IgG Fab [production personnelle]

Les fragments Fab ont malgré tout une demi-vie faible dans l'organisme ce qui a pour conséquence de réduire la durée de leur action. L'élimination des fragments Fab est de 1 à 20 fois plus rapide que l'élimination des IgG entières, et de 4 à 5 fois plus rapide que des fragments $F(ab')_2$ [6, 70]. Une étude sur l'envenimation par des serpents nord-américains, a montré que l'administration de SAO composés de fragments $F(ab')_2$, de demi-vie plus longue, réduit le risque de récurrence post-traitement et de coagulopathies tardives, par rapport à une prise en charge avec un SAO composé de fragments Fab. [69]

4.4. Les procédés de purification additionnels

Certains producteurs de SAO ont enrichi les procédés décrits ci-dessus par des étapes supplémentaires, comme la chromatographie échangeuse d'ions ou la chromatographie d'affinité qui améliore la pureté du produit [24, 39].

L'addition des procédés de purification les plus performants permet par exemple d'atteindre une proportion en fragments $F(ab')_2$ de l'ordre de 95%, assurant une innocuité optimale et une sécurité d'emploi des SAO [24, 39].

4.4.1. La chromatographie échangeuse d'ions

La chromatographie échangeuse d'anions ou de cations peut être utilisée avec succès pour la purification des SAO, en jouant sur le différentiel de charge entre les IgG entières ou leurs fragments et les impuretés, via l'ajustement du pH [39].

Les colonnes échangeuses d'anions, sont équilibrées à un pH basique. Les IgG entières ou fragmentées chargées positivement sont éluées, alors que les impuretés chargées négativement sont retenues sur l'échangeur. [70]

A l'inverse, les colonnes échangeuses de cations, sont équilibrées à pH acide. Les IgG entières ou leurs fragments chargés négativement se lient à l'échangeur, tandis que les impuretés chargées positivement sont éluées. Les IgG entières ou fragmentées sont récupérées via un tampon d'éluion. [71, 72]

Les colonnes de chromatographie doivent être correctement régénérées et désinfectées pour éviter la contamination entre différents lots [71].

4.4.2. La chromatographie d'affinité

La chromatographie d'affinité repose sur la liaison réversible et spécifique entre une protéine et son ligand, lui-même lié à la matrice. Les ligands et les matrices sont de natures diverses selon les méthodes. Les ligands peuvent être par exemple des protéines de source bactérienne, appelées protéines A ou G, qui ont la capacité de fixer la région constante Fc des IgG. De même, des toxines de venins ou encore des ligands peptidomimétiques ressemblant à des toxines peuvent être employés. [70, 73, 74]

La première étape de la chromatographie d'affinité est la fixation. Lors de cette étape, la solution d'IgG ou de fragments d'IgG à purifier est chargée sur la colonne de chromatographie. Seul les IgG ou les fragments d'IgG sont alors fixés par leur ligand d'affinité greffé sur la matrice. [70, 73]

La colonne est traitée par la suite avec un tampon de lavage adéquat pour éliminer tous les composants non liés ou faiblement liés à la matrice ou au ligand. Les liaisons de composants non spécifiques sont facilement rompues en modifiant le pH par addition de sels tel que le chlorure de sodium, et/ou en ajoutant du détergent comme le Triton X-100 au tampon de lavage. [73, 74]

Enfin, lors de l'étape d'élution, les IgG ou leurs fragments sont décrochés de la colonne à l'aide d'un solvant, et recueillis dans l'éluat. L'élution peut être effectuée en modifiant le pH, la force ionique ou la polarité du solvant. En revanche, les conditions difficiles d'élution nécessaires pour récupérer les IgG ou leurs fragments peuvent entraîner leur dénaturation ou une lixiviation du ligand. Il est donc impératif de s'assurer que toute substance lixivante n'affecte pas la qualité et la sécurité du sérum, en particulier lorsque le ligand utilisé est une toxine de venin. [51, 62, 73]

La purification par chromatographie d'affinité peut amener une spécificité 4 fois supérieure au plasma hyperimmun source. Toutefois, cette technique très efficace est aussi coûteuse car un soin minutieux et régulier doit être apporté aux colonnes de chromatographie qui se détériorent assez rapidement. [51]

5. La formulation

La formulation de la solution d'IgG ou de fragments d'IgG purifiée est composée de 3 étapes qui sont l'ajout des excipients, l'ajustement du pH et la filtration stérilisante. L'ensemble du matériel utilisé lors de ces étapes doit être préalablement lavé et stérilisé par des moyens appropriés. [75]

5.1. L'ajout des excipients

La solution d'IgG ou de fragments d'IgG est formulée à partir de quatre excipients principaux qui sont les solutions tampons, les isotonisants, les conservateurs et les stabilisants [1].

5.1.1. Les solutions tampons

En fonction de son activité, la solution d'IgG ou de fragments d'IgG peut être diluée dans une solution tampon [57]. Les solutions tampons sont principalement destinées à réguler le pH des SAO pour assurer leur stabilité durant leur stockage [76, 77].

Les mélanges de phosphates monosodique et disodique sont les plus utilisés pour la formulation des SAO. Ils permettent de tamponner la solution à des pH de 5,4 à 8 selon la proportion des deux sels. Leur pouvoir tampon atteint son maximum au voisinage de la neutralité à pH 6,8. [76, 77, 78].

Les autres couples tampon potentiellement utilisables sont l'acide citrique–citrate trisodique de pH 3 à 6, les acides acétique–acétate de sodium de pH 3,6 à 5,6, ou encore les acides citrique–citrate trisodique de pH 3 à 6 [78].

5.1.2. Les isotonisants

Comme pour toute préparation injectable, il est recommandé que les SAO aient une pression osmotique voisine de celle du plasma humain, soit une osmolalité égale à 279 mosmol/kg [1, 78].

Les isotonisants sont utilisés pour ajuster la pression osmotique des SAO. Le chlorure de sodium est l'isotonisant le plus classique. Les fabricants peuvent également avoir recours à d'autres sels ou à des sucres tels que le glucose, en cas d'incompatibilités. [1, 78]

5.1.3. Les conservateurs

L'ajout de conservateurs pour prévenir la contamination bactérienne et fongique doit être limité et justifié [62]. La plupart des fabricants ajoutent un conservateur au plasma initial avant son stockage, et/ou à la solution d'IgG ou de fragments d'IgG lors de la formulation. Le phénol et les crésols sont les conservateurs les plus couramment utilisés. Ceux-ci peuvent avoir une concentration finale maximale de 0,25% pour le phénol et de 0,35% pour les crésols. [1]

5.1.4. Les stabilisants

Les tensioactifs Polysorbate 20 et Polysorbate 80 sont largement utilisés à de faibles concentrations pour leur propriété stabilisante. Cependant, la dégradation de ces tensioactifs par la chaleur ou la lumière génère des produits indésirables tels que des radicaux libres, de l'acide formique, du formaldéhyde ou du peroxyde d'hydrogène, dont la présence doit être surveillée. [64, 77]

Des sucres ou des polyols comme le mannitol ou le sorbitol, peuvent être utilisés en tant qu'agent stabilisateur [50, 77].

5.2. L'ajustement du pH

Le pH du SAO est mesuré et ajusté si nécessaire avec de faible quantité d'acide acétique, d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium concentrés [77].

Les SAO sont formulés à un pH neutre proche de celui du sang humain, soit $7,0 \pm 0,5$, de manière à ne pas provoquer de douleur lors de l'injection. Toutefois, certains fabricants explorent la faisabilité d'une formulation à pH acide pour améliorer la stabilité de la solution [1, 78]. La formulation à un pH supérieur à 7,5 n'est en

revanche pas recommandée, car l'instabilité des IgG et de leurs fragments en milieu alcalin favorise la formation d'agrégats. [1]

5.3. La filtration stérilisante

Les immunoglobulines étant des protéines thermolabiles, les SAO ne peuvent pas être stérilisés par la chaleur dans leur conditionnement final. Afin d'éliminer les micro-organismes, la solution d'IgG ou de fragments d'IgG formulée est donc filtrée stérilement sur une membrane 0,22 µm avant d'être répartie aseptiquement. La filtration stérilisante finale doit être effectuée au plus près du point de répartition. Si la répartition aseptique n'est pas effectuée immédiatement après la filtration, une seconde filtration sur la ligne de répartition est recommandée. [1, 39]

L'intégrité des filtres stérilisant est contrôlée avant et après usage par une méthode appropriée, comme les tests de point de bulle ou de diffusion. La biocharge en amont de la filtration est également contrôlée. Pour cela, une norme de contamination microbienne maximale est fixée, lors de la validation du procédé, en fonction de l'efficacité du filtre utilisée. Il est recommandé de placer un filtre clarifiant et un préfiltre de membrane 0,45 µm avant le filtre stérilisant, non seulement pour réduire la biocharge, mais aussi pour éviter que ce dernier soit rapidement colmaté par des particules en suspension. [75]

6. La réduction du risque de contamination virale

Le SAO final doit être exempt de contamination virale. La réduction du risque de contamination virale des SAO résulte de la combinaison de la minimisation de la charge virale initiale du plasma, et de la contribution des procédés de fabrication à l'inactivation et/ou à l'élimination des virus. Si ces mesures se révèlent insuffisantes, l'introduction d'une étape de réduction virale dédiée telle que la pasteurisation doit être envisagée. [42]

6.1. La minimisation de la charge virale initiale du plasma

Il existe plusieurs approches complémentaires reconnues pour minimiser la charge virale initiale du plasma équin, comme une surveillance épidémiologique appropriée et à un contrôle sanitaire des animaux donneurs [42, 57].

Parallèlement, la mise en place d'un système qualité tout au long de la chaîne de production constitue une mesure essentielle [42, 57].

6.2. La contribution du procédé

Les résultats d'un nombre limité d'études suggèrent que certaines des étapes de production actuellement utilisées, tels que le traitement à pH acide, la digestion par la pepsine et la précipitation par l'acide caprylique, contribuent à la réduction des virus à enveloppe [25, 59, 79, 80].

6.3. La pasteurisation

La pasteurisation est un procédé qui consiste à chauffer les solutions d'IgG entières ou fragmentées, avant ou après la formulation, à 60°C pendant 10 heures. Ces conditions opératoires permettent d'inactiver les virus éventuellement présents avec une dénaturation minimum des IgG. [1, 39]

La pasteurisation est utilisée dans le processus de production de quelques SAO dérivés d'équidés notamment chez Sanofi Pasteur [1, 39].

7. La répartition et le conditionnement

La plupart des SAO sont répartis dans leur conditionnement primaire sous forme liquide [59]. En effet, il est recommandé d'administrer les SAO soit par perfusion intraveineuse après dilution dans une solution saline, soit par injection lente mais

directe. La première méthode a pour avantage de mieux contrôler l'apparition d'effets secondaires immédiats tandis que la deuxième permet de réduire les quantités injectées, et surtout une efficacité plus rapide [2, 4]. Néanmoins, un faible nombre de producteurs poursuivent la fabrication par une étape de lyophilisation avant de procéder au conditionnement secondaire [59].

De la même manière que pour la formulation, l'ensemble du matériel utilisé lors des étapes de répartition et de lyophilisation doit être préalablement lavé et stérilisé par des moyens appropriés [75].

7.1. La répartition

Le SAO stérile est réparti aseptiquement en flacon ou en ampoule en verre borosilicaté de type I préalablement dépyrogénisés. Les principes généraux régissant la répartition aseptique des formes injectables doivent être appliqués ici. La répartition doit être effectuée dans un environnement adapté, sous une hotte à flux laminaire, avec un équipement calibré pour délivrer le volume attendu, en général autour de 10 ml. [81]

Le remplissage est effectué via des seringues de précision qui fonctionnent de la même façon que des pompes aspirantes et refoulantes. La course du piston est réglée à l'aide d'une vis micrométrique. Grâce à un jeu de clapets, chaque dose de SAO aspirée par le piston est refoulée vers l'aiguille qui pénètre dans l'ampoule ou le flacon. [78]

La figure 15 représente schématiquement une remplisseuse unitaire d'ampoule. Les ampoules se déplacent devant les postes de remplissage et de scellage. Pour les produits sensibles à l'oxydation, un gaz inerte stérile peut être introduit dans l'ampoule avant injection du liquide. [78]

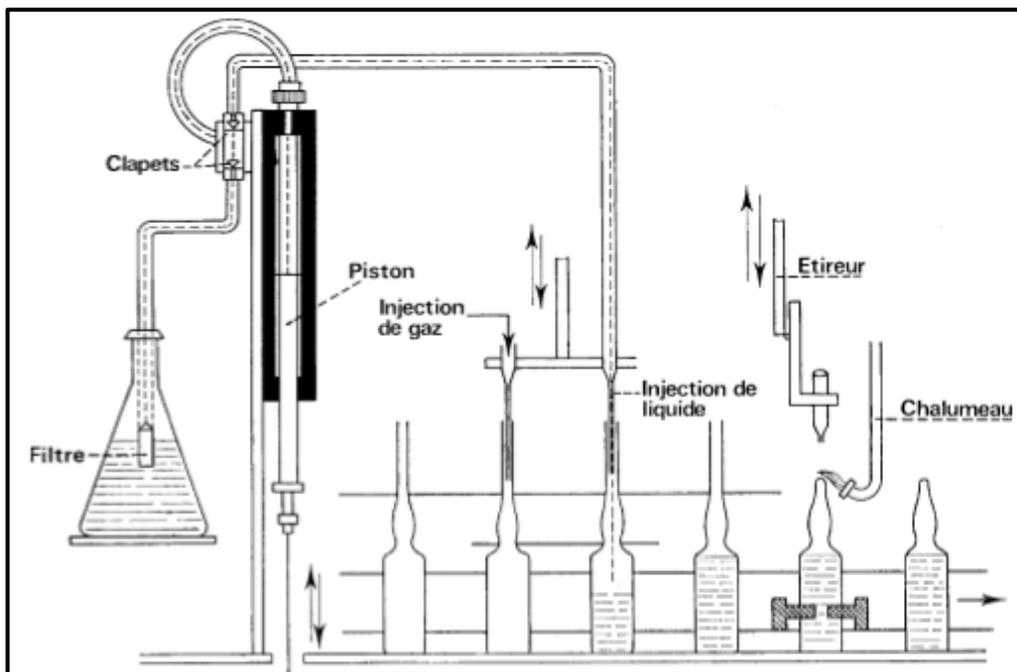


Figure 15 : Remplisseuse unitaire d'ampoules [78]

Le système de scellage des ampoules est composé de pinces qui assurent l'étirement du verre, après sa fusion au chalumeau, pour former la pointe de l'ampoule [78].

Dans le cas des flacons, un bouchon en caoutchouc inerte et stérile est utilisé pour les obturer. Comme le montre la figure 16 ci-dessous, les bouchons sont eux-mêmes sertis avec une bague et une capsule en aluminium pour assurer leur maintien. Lors de l'utilisation, le bouchon préalablement aseptisé est transpercé par l'aiguille pour le prélèvement du SAO. [78]

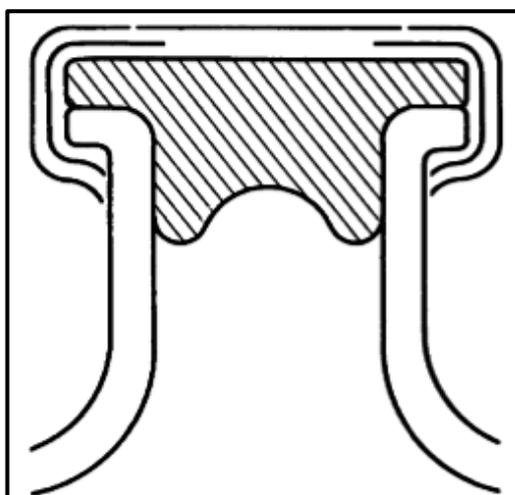


Figure 16 : Système de bouchage des flacons [78]

Les formes liquides peuvent être conservées jusqu'à 3 ans à une température de 2 à 8°C. Des températures plus élevées induisent la dénaturation des IgG réduisant ainsi leur durée de validité et leur efficacité. [59]

7.2. La lyophilisation

La lyophilisation est un procédé de conservation sous vide à température ambiante, qui consiste à extraire l'eau contenue dans une substance organique par interaction des techniques du vide et du froid. Avant utilisation, le lyophilisat est reconstitué, à l'aide d'un solvant. [82]

Le procédé de lyophilisation doit être adapté à chaque SAO. Des stabilisants spécifiques comme des polyols, visant à protéger les IgG de la dénaturation et de l'agrégation, peuvent être ajoutés à la formulation du SAO. Le solvant utilisé pour la reconstitution du lyophilisat est en général de l'eau pour préparation injectable (EPPI). [82]

Bien que la lyophilisation soit un procédé coûteux, les formes lyophilisées sont plus satisfaisantes que les formes liquides en termes de conservation. Celles-ci peuvent être conservées 5 ans à l'abri de la lumière à des températures allant jusqu'à 25°C. [51]

7.3. Le conditionnement

Le conditionnement secondaire est généralement composé d'une boîte en carton, dans laquelle le flacon ou les ampoules sont emballées avec la notice d'utilisation.

Selon la forme pharmaceutique choisie et comme exposé dans les figures 15, 16 et 17, une ampoule d'EPPI pour reconstitution du lyophilisat, une aiguille ou encore une seringue stérile peuvent être jointes au produit. [1]



Figure 17 : Lyophilisat d'un sérum anti-vipérin accompagné d'une ampoule d'EPPI [83]



Figure 18 : Flacon contenant le sérum anti-vipérin VIPERFAV® sous forme liquide [84]



Figure 19 : Ampoule du sérum anti-ophidien FAV-AFRIQUE® [85]

Les conditionnements primaires et secondaires doivent être correctement identifiés.

Le flacon ou l'ampoule doit être étiqueté avec, à minima, les informations suivantes :

- le nom du produit et du producteur ;
- le nom des espèces animales utilisées pour produire le SAO ;
- le nom commun et scientifique des espèces contre lesquelles le produit est efficace ;
- le numéro de lot ;
- la forme pharmaceutique : liquide ou lyophilisée ;
- le volume de produit contenu dans l'ampoule ou le flacon ;
- la voie d'administration ;
- le pouvoir neutralisant du produit ;
- les conditions de stockage à respecter ;
- la date de péremption.

Des informations supplémentaires peuvent être demandées par les autorités réglementaires nationales. [1]

Le conditionnement secondaire doit comporter les mêmes informations que celles fournies sur le contenant primaire avec en plus :

- la posologie recommandée ;
- le mode de reconstitution pour les formes lyophilisées ;
- le mode d'administration ;
- les effets indésirables précoces et retardés ;
- une indication que le produit est à usage unique. [1]

Les ampoules ou les flacons correctement identifiés et conditionnés sont alors stockés dans des locaux appropriés, en attente des résultats de contrôle pour leur libération. [1]

8. Le contrôle qualité

Après chaque étape intermédiaire de fabrication d'un lot de SAO, des contrôles pertinents sont effectués afin de s'assurer de la bonne qualité du produit en cours, et d'ajuster les paramètres du procédé si nécessaire. La libération du lot est ensuite

conditionnée par la conformité des tests libératoires, réalisés sur le produit final, par rapport aux spécifications établies. [39, 42, 57]

Les différents types de contrôle du produit final sont décrits ci-dessous. Dans le cas des produits lyophilisés, un échantillon représentatif du lot est dissous dans le solvant et contrôlé comme les formes liquides. [1]

8.1. L'inspection visuelle

La totalité des flacons ou ampoules de SAO sous forme liquide doivent être mirés de manière manuelle, semi-automatique ou automatique. Tout flacon ou ampoule présentant une turbidité, une coloration anormale ou des particules est éliminé.

La turbidité est évaluée quantitativement avec un turbidimètre. [1, 78]

8.2. L'étanchéité

L'étanchéité des flacons ou des ampoules est contrôlée en les plaçant dans un bain coloré. Si les ampoules ou les flacons sont microfissurés, mal scellées ou mal fermés, le colorant pénètre à l'intérieur et colore le produit. [78]

Il existe d'autres méthodes de contrôle de l'étanchéité basées sur la conductivité, ou l'observation microscopique automatique des pointes d'ampoules [78].

8.3. La solubilité

La durée de dissolution complète d'un SAO lyophilisé après ajout du solvant, sous faible agitation et à température ambiante, doit être inférieure à 10min [1].

8.4. Le volume extractible

La mesure du volume de SAO extrait du contenant doit être conforme à celui indiqué sur l'étiquette. Pour cela, il est nécessaire d'introduire dans chaque récipient un volume légèrement supérieur à celui mentionnée. La détermination du volume

extractible se fait volumétriquement au-dessus de 5 mL et par pesée pour les récipients de plus petit volume. [78]

8.5. L'humidité résiduelle

La teneur en humidité résiduelle des SAO lyophilisés peut être déterminée par plusieurs méthodes, la plus utilisée étant le titrage de Karl-Fischer. Une teneur en humidité résiduelle inférieure à 3% est habituellement conseillée pour la plupart des produits biologiques lyophilisés. Cependant, l'humidité résiduelle maximale autorisée doit être établie pour chaque SAO lyophilisé afin de garantir sa stabilité au cours de la conservation. [1]

8.6. La mesure du pH

Le pH des SAO est mesuré au moyen d'un pH-mètre. La mesure doit être conforme aux normes préétablies. [1, 78]

8.7. La mesure de l'osmolalité

L'osmolalité est obtenue au moyen d'un cryoscope ou d'un osmomètre [1, 78].

8.8. Le test de stérilité

Les SAO doivent être stériles. Le test de stérilité est effectué sur un échantillon représentatif du lot de produit prélevé après la filtration stérilisante. [1]

En théorie, l'état de stérilité absolue n'existe pas. La Pharmacopée Européenne par exemple, autorise un niveau d'assurance de stérilité de 10^{-6} , c'est à dire une unité non stérile sur un million. [1]

8.9. Le test des pyrogènes

Les SAO doivent être apyrogènes. Le test des pyrogènes est basé sur la détection d'une élévation de la température rectale des lapins, après injection du SAO dans la veine de l'oreille. [1, 78]

Par ailleurs, les endotoxines bactériennes peuvent être plus précisément détectées par le test de Limulus Amebocyte Lysate [1, 78].

8.10. La concentration en protéine

La concentration totale en protéines des SAO est mesurée en utilisant la méthode de Kjeldahl. Alternativement, des méthodes colorimétriques et la mesure de l'absorbance à 280 nm peuvent être utilisées. La concentration totale en protéines dans les SAO ne doit théoriquement pas dépasser 10 g/dl, sauf autorisation par l'autorité compétente. [1, 78]

8.11. Le pouvoir neutralisant

Le test pour évaluer le pouvoir neutralisant du SAO est appelé test de la dose efficace médiane (ED50). La ED50 est le volume de SAO qui protège 50% de souris envenimés des effets toxiques du venin contre lequel il a été conçu pour agir. Le test de la ED50 est un indicateur quantitatif du pouvoir neutralisant du SAO. [1, 57, 78]

8.12. L'identification des IgG

Les laboratoires qui produisent plusieurs SAO à partir d'animaux donneurs d'espèces différentes, doivent procéder à un test d'identification des IgG pour confirmer l'origine du produit. Les méthodes d'identification peuvent inclure des tests biologiques, physico-chimiques et immunologiques. [1, 57]

8.13. La pureté

La pureté des IgG ou des fragments d'IgG doit être mesurée. L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide permet la détection des contaminants protéiques, en particulier l'albumine et les produits de dégradation. [1, 39, 57]

8.14. La distribution de la taille moléculaire

Les analyses densitométriques des profils chromatographiques permettent de quantifier les agrégats de protéines et l'abondance relative des IgG entières, de leurs fragments, ainsi que des produits de digestion enzymatique de faible masse moléculaire [1, 39].

8.15. La concentration en excipients

La concentration des différents excipients ajoutés doit être déterminée en utilisant les méthodes chimiques appropriées [1].

8.16. La concentration en agents chimiques

Les réactifs chimiques utilisés pour la purification des IgG ou des fragments d'IgG sont éliminés du produit final par diafiltration ou dialyse. Si ces étapes d'élimination sont validées, le dosage de la quantité résiduelle en agent chimique peut être exclu. La détermination de la quantité résiduelle d'agents utilisés dans le fractionnement du plasma pourrait être exclue du test de mise en service de routine si le processus de fabrication est validé pour éliminer ces réactifs. [1]

TROISIEME PARTIE :

LA CRISE GLOBALE DE LA SERTHERAPIE ANTI-OPHIDIENNE

L'envenimation par morsure de serpent est un problème de santé publique prépondérant, surtout dans les régions rurales pauvres des pays en développement où l'incidence est la plus élevée. Pourtant depuis une trentaine d'années, la vente des SAO se réduit considérablement, donnant de très faibles volumes de production qui ne sont plus en adéquation avec les besoins du marché. Cette incohérence, dont les causes sont multiples, a entraîné une crise durable qui limite actuellement la disponibilité de ces traitements vitaux, en particulier en Afrique subsaharienne où la rupture est imminente. En 2007, les conséquences dramatiques de cette pénurie ont conduit l'organisation mondiale de la santé, non seulement à intégrer les SAO à sa liste des médicaments essentiels [86], mais aussi à élaborer un plan d'action pour réveiller les consciences et lutter contre cette urgence mondiale. [87]

1. Les circonstances et l'incidence des envenimations

Les piqûres de serpent sont des urgences médicales bien connues dans de nombreuses régions du monde où ces reptiles sont présents.

1.1. Les circonstances des morsures

Aucune espèce de serpent n'est assez agressive pour s'attaquer délibérément à l'homme. Les morsures sèches ou avec injection de venin sont une riposte à une situation critique qui peut survenir dans différentes circonstances. [19]

1.1.1. Les travaux agricoles

Dans les pays en voie de développement, les travaux agricoles non ou peu mécanisés, la chasse, la pêche, ou les déplacements pédestres en rapport avec le travail sont à l'origine du plus grand nombre d'accidents. Les hommes et les enfants en sont le plus souvent victimes. [88]

En revanche, les accidents professionnels chez les agriculteurs ou les forestiers sont devenus exceptionnels dans les pays industrialisés. Le risque de morsure est réduit

grâce à une mécanisation importante, et à des équipements de protection qui protègent les professionnels lors des attaques. [7, 19, 89]

1.1.2. Le tourisme et les loisirs

Le tourisme ou les loisirs en extérieur augmentent relativement le risque d'accidents. Le camping ou les randonnées favorisent par exemple la rencontre avec les serpents qui se camouflent sous les pierres ou dans les buissons, et mordent lorsqu'ils sont surpris ou se sentent acculés. De plus, les attitudes à risques de certains touristes, comme marcher pieds nus ou mettre la main dans une anfractuosité d'arbre ou de rocher, peuvent avoir des conséquences fâcheuses dans les pays tropicaux. [7, 19, 89]

1.1.3. La manipulation volontaire de serpents

En parallèle des morsures accidentelles, on observe depuis plusieurs décennies, des morsures induites par la manipulation intentionnelle de serpents. Ce nouveau type de morsure survient chez des herp tologistes professionnels ou amateurs et est lié au développement du phénomène des nouveaux animaux de compagnie. [7, 19, 89]

On constate ce phénomène principalement dans les régions industrialisées à forte densité urbaine y compris dans les pays émergents [7, 19, 89].

1.2. L'incidence des envenimations ophidiennes

Les figures 20 et 21 ci-après présentent respectivement l'estimation annuelle des envenimations par morsure de serpent et par région du monde, et l'incidence des envenimations ophidiennes par région du monde en 2007 selon *Kasturiratne and al.* [9].

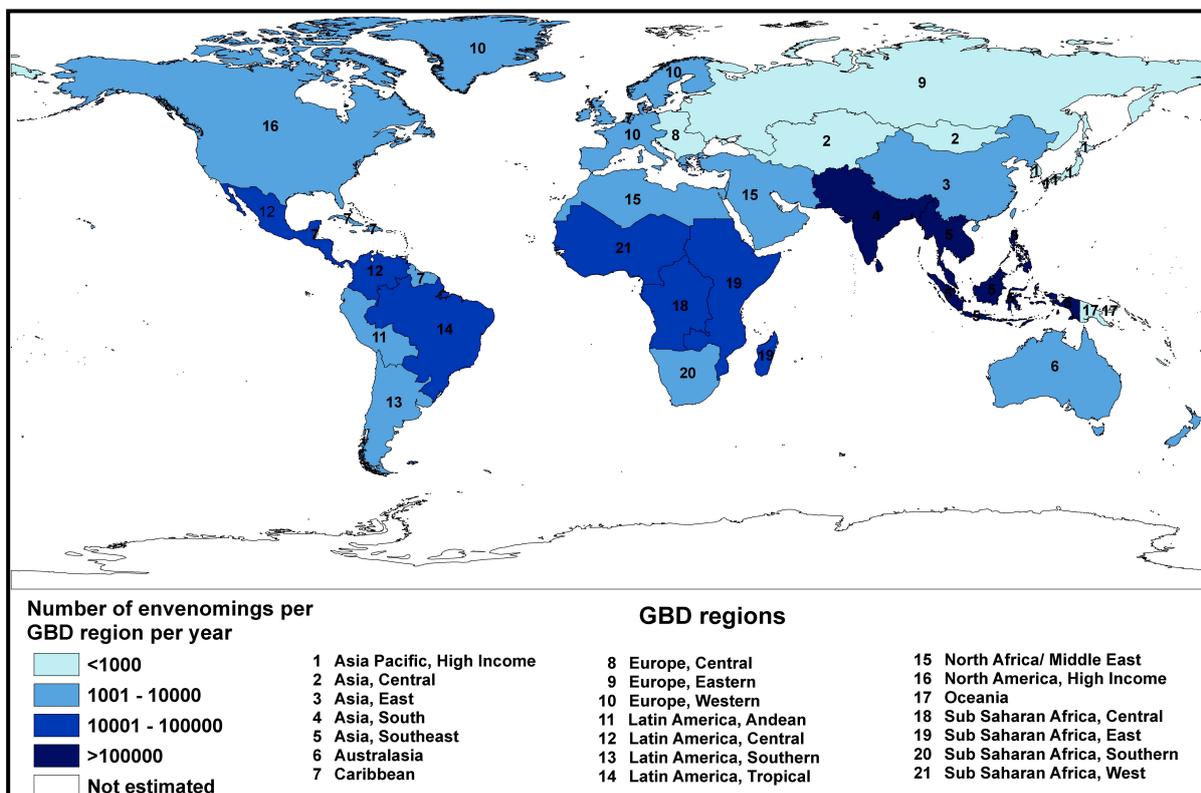


Figure 20 : Estimation annuelle des envenimements ophidienne par région [9]

| Region | Snakebite Envenomings per Year | | | | Range for Wider Region |
|------------------------------|--------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------------|
| | Low Estimate | Incidence/100,000 | High Estimate | Incidence/100,000 | |
| Asia Pacific, high income | 703 | 0.39 | 3,156 | 1.74 | 237,379–1,184,550 |
| Asia, Central | 228 | 0.29 | 1,213 | 1.55 | |
| Asia, East | 4,582 | 0.33 | 218,673 | 15.73 | |
| Asia, South | 121,333 | 7.84 | 463,350 | 29.94 | |
| Asia, Southeast | 110,533 | 18.82 | 498,158 | 84.65 | |
| Australasia | 1,099 | 4.41 | 1,260 | 5.06 | 1,099–1,260 |
| Caribbean | 1,098 | 2.82 | 8,039 | 20.66 | 1,098–8,039 |
| Europe, Central | 106 | 0.09 | 2,489 | 2.09 | 3,961–9,902 |
| Europe, Eastern | 795 | 0.38 | 795 | 0.38 | |
| Europe, Western | 3,060 | 0.74 | 6,618 | 1.61 | |
| Latin America, Andean | 6,548 | 12.90 | 27,653 | 54.47 | 80,329–129,084 |
| Latin America, Central | 42,087 | 19.04 | 67,373 | 30.47 | |
| Latin America, Southern | 2,058 | 3.46 | 2,163 | 3.63 | |
| Latin America, Tropical | 29,636 | 14.97 | 31,895 | 16.12 | |
| North Africa/Middle East | 3,017 | 0.71 | 80,191 | 18.88 | 3,017–80,191 |
| North America, high income | 2,683 | 0.79 | 3,858 | 1.14 | 2,683–3,858 |
| Oceania | 361 | 3.87 | 4,635 | 49.70 | 361–4,635 |
| Sub-Saharan Africa, Central | 18,176 | 20.28 | 47,820 | 53.37 | 90,622–419,639 |
| Sub-Saharan Africa, East | 42,834 | 12.94 | 74,823 | 22.61 | |
| Sub-Saharan Africa, Southern | 1,613 | 2.34 | 2,296 | 3.33 | |
| Sub-Saharan Africa, West | 27,999 | 8.87 | 294,700 | 93.34 | |
| Total | 420,549 | 6.28 | 1,841,158 | 27.5 | 420,549–1,841,158 |

doi:10.1371/journal.pmed.0050218.t001

Figure 21 : Incidence des envenimements ophidienne par région du monde en 2007 [9]

D'après l'étude de 2007 de *Kasturiratne and al.*, entre 420 549 et 1 841 158 envenimements ophidiennes surviendraient chaque année dans le monde. Le plus

lourd fardeau serait porté par l'Asie du Sud, suivi de l'Asie du Sud-Est, l'Est de l'Afrique subsaharienne et l'Amérique centrale. Les régions les moins concernées seraient l'Europe centrale et l'Asie centrale. [9, 90]

En France, on dénombre 100 à 200 victimes d'envenimations chaque année [15, 90].

Par association des données sur la distribution géographique des serpents venimeux et sur les circonstances des morsures, il est cohérent de retrouver une incidence des envenimations :

- élevée, voire très élevée, dans les régions chaudes où les serpents venimeux sont abondants, et les activités économiques essentiellement agricoles.
- faible dans les zones tempérées où les serpents venimeux sont plus rares, et les pays industrialisés. [15, 90]

Quel que soit la région du monde, la majorité des morsures se situent au niveau des membres inférieurs ou des mains [15, 90].

2. L'état des lieux du marché mondial

Dans les années 70, on recensait 64 producteurs de SAO dans le monde, contre 49 en 1991 [91]. En 2010, seul 45 laboratoires publics et privés, répartis dans les 35 pays présentés en figure 22, commercialisaient des SAO [92].

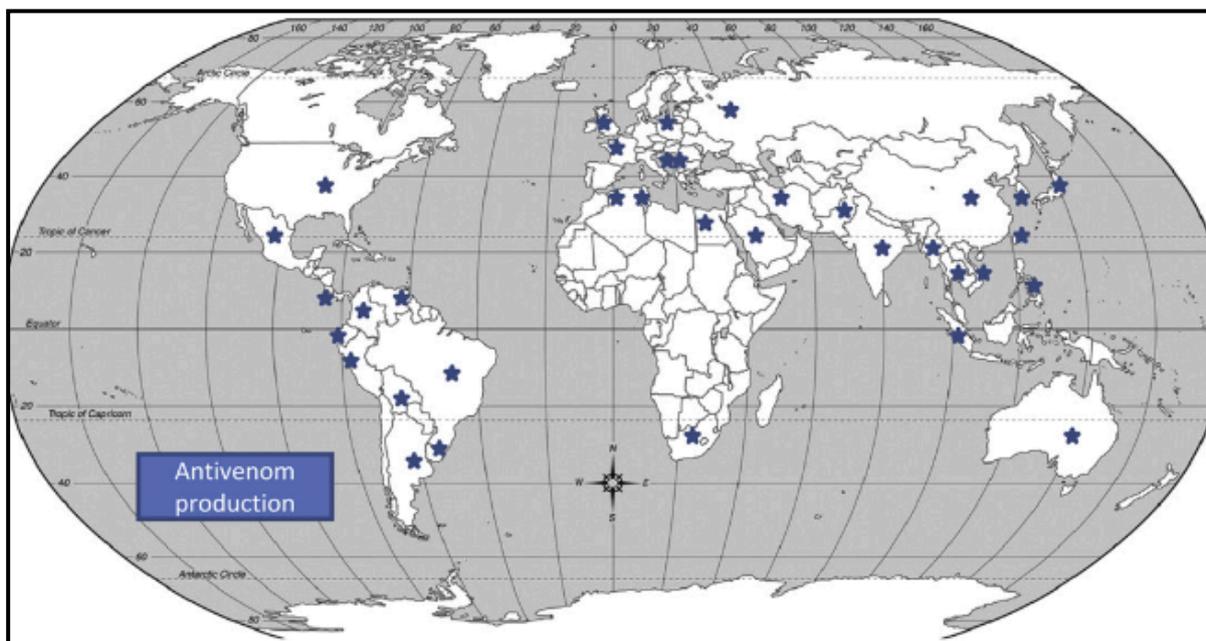


Figure 22 : Pays où étaient situés les fabricants de sérums anti-ophidiens en 2010 [92]

L'univers des producteurs de SAO est très hétérogène en termes de plates-formes technologiques, de formation du personnel, d'application des bonnes pratiques de fabrication, de volume de production, et de répartition géographique des produits. Les laboratoires, principalement publics, opèrent sur une petite échelle de production et, en tant que tels, peuvent satisfaire uniquement la demande nationale ou régionale [15, 92]. En Amérique latine par exemple, la production est réalisée essentiellement par des institutions publiques à but non lucratif, dont la capacité est généralement limitée aux exigences du pays, avec peu ou pas d'excédent [93]. Quelques fabricants privés produisent des SAO pour diverses régions du monde, mais leur capacité est malheureusement bien inférieure au besoin mondial [25, 92].

Selon l'OMS, la crise de l'approvisionnement en SAO est la plus critique et urgente en Afrique subsaharienne [94]. Le nombre des fournisseurs de SAO a considérablement diminué dans cette région, et la quantité totale de leurs productions est insuffisante pour couvrir même les besoins les plus bas. En 1998, on estimait que moins de 100000 flacons de SAO étaient disponibles en Afrique subsaharienne, ce qui représentait moins de 25% du montant nécessaire. Aujourd'hui, la disponibilité des SAO dans cette région serait réduite à environ 1% du besoin [94, 95].

Le déficit croissant actuel touche la diversité de l'offre de produits fabriqués et la production globale de SAO. La généralisation des SAO polyvalents en remplacement des monovalents est en partie responsable de la diminution du nombre de spécialités, mais elle n'explique pas tout. [4, 11]

3. Les causes de la pénurie des sérums anti-ophidiens

Les causes de la pénurie des SAO sont multiples. L'évaluation erronée des besoins réels en SAO par les autorités sanitaires nationales a entraîné une sous-estimation considérable de ce problème de santé publique, et la mise en place de stratégies d'achats et de distributions inadaptées dans ces pays [96].

En outre, l'absence de formation du personnel de santé est un point capital qui contribue à la gravité et à la complexité de cette crise [11].

Enfin, l'évolution du coût de la fabrication des SAO est une cause de premier plan de l'actuelle pénurie, car elle est à la base d'un véritable cercle vicieux qui doit être interrompu d'urgence [11, 44].

3.1. Un besoin réel mal évalué

La véritable incidence mondiale des envenimations par les morsures de serpents s'est révélée difficile à estimer. En effet, l'écrasante majorité des morsures se produisent dans les zones rurales de pays qui ne disposent pas des infrastructures et des ressources nécessaires pour collecter des données statistiques solides sur ce problème. [9, 92, 96]

De plus, le nombre de cas notifiés aux ministères de la santé par les hôpitaux, les cliniques ou les dispensaires, ne constitue qu'un faible pourcentage des victimes, car de nombreuses personnes envenimées ne parviennent pas ou ne souhaitent pas rejoindre un centre de soins, et ne sont donc pas recensés. De récentes études provenant du Nigeria et du Kenya ont rapporté que respectivement 8,5% et 27% des victimes de morsures de serpent, ont cherché un traitement hospitalier [25, 96]. Cette

situation est commune à de nombreux pays en voie de développement où le comportement de recherche de la santé, les croyances en matière de santé et l'accès aux soins n'est pas optimal. [9, 92]

De même, des enquêtes de population dans lesquelles des questionnaires sont distribués au hasard aux ménages dans des zones démographiquement bien définies, ont montré des taux étonnamment élevés de morsures, de décès et de séquelles permanentes d'envenimation. [25, 91, 97]

Ainsi, la plupart des données disponibles sur l'incidence des envenimations et des décès ou des séquelles qui s'en suivent sont sous-estimés [9].

La rareté des études épidémiologiques correctement conçues expliquent pourquoi l'impact de cet important problème de santé publique est resté longtemps non reconnu et négligé [42, 92].

3.2. Un déficit d'accessibilité

Le déficit d'accessibilité des populations aux SAO est conjointement causé par un nombre insuffisant d'établissements de soins, principalement dans les zones rurales, par des problèmes de maintien de la chaîne du froid indispensable pour les formes liquides, et enfin par un échec d'approvisionnement des zones les plus touchées par les envenimations.

3.2.1. Un nombre insuffisant d'établissements de soin

La difficulté d'accès aux SAO est en partie liée au manque d'établissements de santé dans de nombreuses régions rurales des pays en voie de développement, et à l'absence de transport adéquat des patients pour s'y rendre. D'après une étude réalisée dans le district de Monaragala au Sri Lanka de 1999 à 2003, 26,4% des décès suite à une envenimation sont dus à une arrivée trop tardive à l'hôpital. Cette situation dangereuse est aggravée lorsque les populations ne connaissent pas la marche à suivre quand une personne est mordue par un serpent. [25, 98]

3.2.2. Un maintien de la chaîne du froid difficile

La distribution et le stockage des SAO sous forme liquide impliquent une chaîne du froid sans rupture. L'organisation de cette chaîne du froid constitue un véritable handicap, particulièrement dans les pays en voie de développement dont le climat est parfois extrême et les lieux de stockage rares. [4, 25]

La forme lyophilisée des SAO, qui peut être conservée sans chaîne du froid est encore peu utilisée par rapport à la forme liquide [11, 66].

3.2.3. Un échec d'approvisionnement

Dans la plupart des pays en voie de développement, l'approvisionnement en SAO est insuffisant et limité à quelques grandes villes voire la seule capitale où les envenimations sont rares, laissant paradoxalement démunis les centres de santé périphériques où consultent la majorité des victimes de morsures de serpent [4, 11].

Cette situation reflète une planification de la distribution défectueuse, associée à un manque de coordination entre les autorités sanitaires et les distributeurs. En effet, c'est aux autorités sanitaires que revient la charge d'évaluer les besoins en SAO. Or, comme vu précédemment, celles-ci ne disposent pas des informations épidémiologiques nécessaires sur la réelle incidence des envenimations et la localisation des accidents. Il leur est donc impossible de guider les producteurs et distributeurs sur les quantités de SAO à prévoir et leurs lieux de dépôts. [4, 25]

3.3. Un personnel médical peu ou non formé

Compte tenu de la forte variabilité des venins, la diversité et la complexité des symptômes sont de nature à dérouter les praticiens mal formés à la prise en charge des envenimations, surtout dans les pays tropicaux où plusieurs dizaines d'espèces peuvent coexister [11, 89].

Les personnels des centres de soin, n'ayant pas de SAO en stock, perdent la notion de leur importance et de leur efficacité mais aussi les indications, les modalités d'administration, les points critiques à surveiller, et la conduite à tenir en cas d'incident. Bien souvent, ils ignorent également la nature, la composition des venins

de serpents et leurs effets. Ces lacunes en pharmaco-toxicologie sont dues à l'absence d'un enseignement spécifique de venimologie en faculté de médecine, de pharmacie ou en écoles d'infirmières. En dehors du Brésil et dernièrement de l'Australie, la France est un des rares pays à offrir un enseignement sur les animaux venimeux, leurs venins et les envenimations. Cette carence préjudiciable, combinée à la crainte infondée d'effets indésirables graves qui seront rapportés à tort ou à raison à l'utilisation d'un SAO, concourent à réduire le recours à la SAV. [11, 13, 89]

De leurs côtés, les patients ne voyant plus les praticiens prescrire de SAO pensent à tort que ceux-ci sont inutiles et dangereux, entraînant une perte de confiance totale en la SAV [44, 96].

3.4. Le coût des SAV

L'ensemble des améliorations techniques successives apportées à la fabrication des SAO, dans le but d'améliorer à la fois leur tolérance et leur efficacité, ont rendu leur coût inabordable pour les pays qui en ont le plus besoin [11]. En 2007, le prix d'une ampoule ou d'un flacon de SAO variait entre 8\$ et 1338\$. Le coût du traitement complet, basé sur le nombre de doses recommandées par le fabricant, était compris entre 40\$ et 24 000\$ par patient. Toutefois, des études indiquent que le traitement de certaines envenimations pouvait dépasser le montant de 35 000\$ par patient. [94]

Dans les pays à haut niveau de vie, la prise en charge du traitement par les assurances sociales ou les mutuelles occulte le problème. En revanche, dans les pays en voie de développement, le plus souvent dépourvus de prise en charge financière des soins de santé, la hausse du coût des SAO entraîne leur abandon. Mécaniquement, pour compenser la baisse des ventes, les fabricants augmentent le prix d'un facteur 10 à 100 selon les régions. Ce cercle vicieux a conduit des producteurs privés à cesser la fabrication des SAO devenus non rentables et sans avenir industriel, malgré leur bénéfice thérapeutique indiscutable. [25, 95]

Parallèlement, l'affaiblissement des budgets de la santé des différents pays a entraîné une détérioration de l'infrastructure et du matériel des producteurs publics. Cela a entraîné une réduction globale de la production et de l'accessibilité aux SAO. [25, 95]

4. Les conséquences de la pénurie

La conséquence la plus dramatique de la pénurie en SAO est l'importance de la mortalité malgré l'existence d'un traitement sûr et efficace. Cette situation ouvre la voie à de dangereuses dérives qui sont le retour à la médecine traditionnelle et la production de SAO inefficaces ou falsifiés.

4.1. Une mortalité encore importante

La figure 23 ci-dessous expose l'estimation annuelle du nombre de décès dû à une envenimation ophidienne par région du monde de *Kasturiratne and al.* [9].

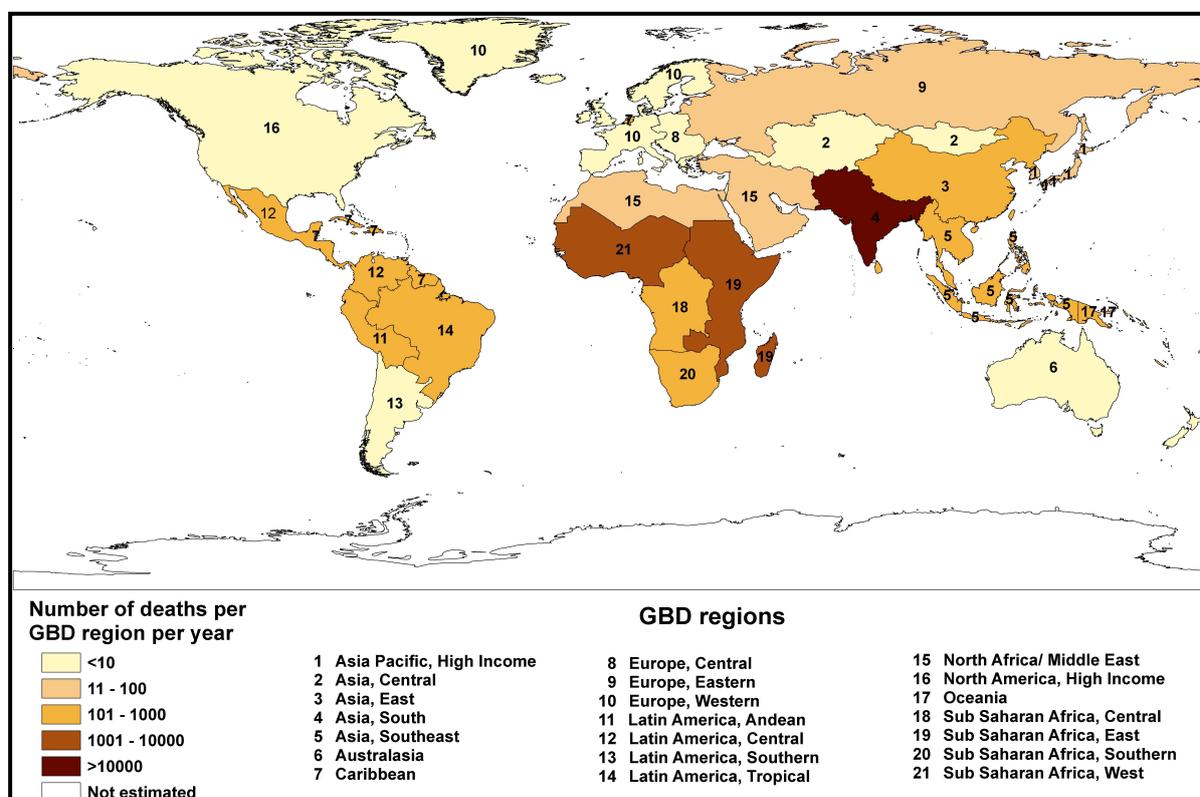


Figure 23 : Estimation annuelle du nombre de décès dû à une envenimation ophidienne par région du monde [9]

Au niveau mondial, *Kasturiratne and al.* estiment qu'entre 20 000 et 94 000 décès surviennent chaque année suite à une envenimation ophidienne. L'Asie du Sud est la région la plus touchée, avec 11000 décès annuels rien que pour l'Inde, suivi de l'Afrique subsaharienne. [9]

Malgré la comptabilisation de près d'un quart de l'incidence mondiale des envenimations, la mortalité due à une morsure de serpents est relativement faible en Amérique centrale et en Amérique du Sud. Cela peut être expliqué par le fait que dans ces régions, les SAO, produits par des laboratoires publics locaux, sont le plus souvent administrés gratuitement aux patients. [9, 99]

Par ailleurs, un pourcentage inconnu de victimes de morsures de serpents survit au prix de séquelles permanentes plus ou moins grave, pouvant aller jusqu'à l'amputation, qui nuisent gravement à leur qualité de vie [23].

En Europe, au Proche-Orient, en Océanie et en Australie, moins de 350 décès au total sont recensés chaque année [13, 89].

En France, aucun décès n'a été rapporté depuis 2003 [16, 90]. Pourtant, la rupture de stock jusqu'à mi-2018 de VIPERFAV[®], seul SAO d'origine équine contre les 3 vipères européennes *Vipera aspis*, *Vipera berus* et *Vipera ammodytes*, produit par Sanofi Pasteur risque de faire augmenter ce chiffre [100].

4.2. Un retour à la médecine traditionnelle

Le recours à la médecine traditionnelle pour les morsures de serpents est répandu dans la plupart des régions du monde en développement, car, même si un traitement est disponible, son coût apparaît vite dissuasif. Selon une étude réalisée dans le district de Kilifi au Kenya, 68% des victimes de morsures de serpents consultent un « sorcier » local de qui ils attendent plus un soulagement, voir un simple réconfort, qu'une guérison. [25]

Les guérisseurs traditionnels utilisent des préparations locales à base de plantes appliquées au site de morsure, et/ou en anneau autour du membre mordu. Ils pratiquent également des incisions cutanées locales. [98]

Malheureusement, les guérisseurs envoient souvent les patients à l'hôpital seulement après l'apparition de manifestations systémiques sévères, au cours desquelles leur état devient critique. [98]

4.3. L'apparition de produits inefficaces ou falsifiés

Un traitement efficace d'une envenimation dépend en grande partie de la disponibilité et de la qualité du SAO. Or, l'insuffisance des contrôles qualités, d'essais cliniques et l'absence de politiques réglementaires dans certains pays, entraînent la production et l'importation de SAO inefficaces ou falsifiés.

4.3.1. L'apparition de produits inefficaces

Le besoin réel en SAO pousse des états à importer d'autres pays des produits d'un coût beaucoup plus abordable. Les ministères de la santé de pays africains se sont tournés vers des sérums anti-vipérins indiens qui sont commercialisés à des prix beaucoup plus bas que les autres. Or, les vipères indiennes possèdent un venin nettement différent de celui des vipères africaines. Les sérums anti-vipérins indiens sont donc inappropriés et inefficaces pour le traitement des envenimations dues à des espèces africaines. [94]

La concurrence des produits indiens contribue à la fragilisation du marché, déjà peu viable, des SAO efficace et adapté à la région de l'Afrique subsaharienne [95].

4.3.2. L'apparition de produits falsifiés

Dès lors qu'il se crée une situation de pénurie, des produits falsifiés ont tendance à apparaître sur le marché. Sur internet, il est facile de trouver des offres de SAO à bas prix, bien étiquetés, parfois même avec des étiquettes d'un fabricant connu. Ces SAO ne sont rien d'autre que des produits falsifiés qui peuvent contenir n'importe quelle substance, dans le meilleur des cas un sérum physiologique stérile qui sera inefficace mais sans danger. [94]

On peut ainsi craindre une redoutable extension de ce phénomène avec la diminution progressive du nombre de producteurs de SAO de qualité [94].

5. L'action de l'OMS

La pénurie en SAO est un problème de santé publique qui revêt une importance capitale dans de nombreuses régions du monde. S'attaquer à ce problème exige une stratégie à composants multiples impliquant de nombreux participants. Une telle approche est actuellement encouragée par l'OMS, qui a pour ambition d'améliorer l'accès des victimes d'envenimations aux SAO [25, 101]. Le 10 janvier 2007, l'agence de santé a réuni les meilleurs experts, les pays bénéficiaires, les donateurs, les organisations internationales, et les producteurs de SAO, afin d'élaborer un plan d'action mondial comportant les 7 points suivants. [102]

5.1. La rédaction de directives sur la production, le contrôle et la régulation des sérums antivenimeux

Grâce à la mobilisation d'un grand nombre d'experts, les lignes directrices intitulées « WHO Guidelines for the Production Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins » ont été publiées par l'OMS en 2008 [1]. Ce document, couvrant tous les aspects de la fabrication, du contrôle et de la régulation des SAO, est destiné aux autorités nationales et aux fabricants pour les guider et les soutenir dans la production de ces médicaments essentiels [25, 102].

5.2. Le renforcement de la capacité de production de sérums anti-ophidiens sûrs et efficaces

L'amélioration de la qualité et de la capacité de production des laboratoires, coordonnées par les autorités nationales et l'OMS, garantirait un approvisionnement mondial suffisant et adéquat en SAO sûrs et efficaces. Pour atteindre cet objectif, l'OMS organise des ateliers régionaux et interrégionaux axés sur la mise en œuvre adéquate des étapes de fabrication pour assurer l'efficacité et la sécurité des produits. Les cibles de ces ateliers sont principalement les fabricants de SAO régionaux et nationaux des pays en développement. [25, 102]

5.3. La mise en place d'une coopération internationale

Dans le but de faire face aux écarts importants de connaissances et de savoir-faire entre les laboratoires, l'OMS organise par le biais de formations ou de conférences, un processus dynamique de transfert de technologies et d'expertise entre fabricants. [25]

Par ailleurs, l'OMS encourage la formation de groupe de recherche inter-laboratoires, notamment sur l'amélioration de la stabilité des SAO sous formes liquides ou l'assurance de l'élimination du risque viral. [92, 102]

5.4. Le développement d'un programme de préqualification des sérums anti-opioides

L'OMS a développé un programme de préqualification des médicaments essentiels visant à élargir l'accès des patients au traitement du VIH, de la tuberculose et du paludisme. Ce programme assure la qualité, l'efficacité et la sécurité des médicaments achetés par les organismes des Nations Unies, tels que l'UNICEF. Ce processus est volontaire, basée sur des procédures générales et des normes approuvées par les comités d'experts de l'OMS, et n'implique aucun coût direct pour les laboratoires. [25, 102]

L'OMS a lancé le développement d'un programme de préqualification des SAO pour assurer la qualité, l'efficacité et la sécurité des produits distribués sur le marché international. De surcroît, cela incitera les fabricants, y compris ceux des pays en développement, à améliorer leurs produits. En effet, le programme de préqualification offre aux laboratoires l'aide technique d'experts internationaux pour les assister dans la production de SAO de haute qualité. [25]

Les résultats escomptés de ce programme comprennent entre autres la publication d'une liste de produits préqualifiés et leur fabricant, pour orienter les organismes d'approvisionnement. À long terme, l'OMS espère aboutir à une amélioration généralisée de la capacité de production des laboratoires dans les pays en développement, ainsi que de la qualité, de l'efficacité, et de la sécurité des produits disponibles. [25]

5.5. L'amélioration de la gestion clinique des envenimations

L'amélioration de la gestion clinique des envenimations ophidiennes passe tout d'abord, pour l'OMS, par une connaissance approfondie de leurs impacts sur la santé publique au niveau mondial, régional et national. Cela comprend la promotion et le développement d'études épidémiologiques cohérentes sur l'incidence et la mortalité des envenimations. La participation active de la Société Internationale de Toxinologie et son soutien contribue grandement à atteindre cette cible. [25, 102]

L'OMS recommande également d'accompagner ces efforts par l'élaboration de lignes directrices nationales et régionales sur la gestion clinique des envenimations, avec pour ambition de les distribuer à l'ensemble des centres de soins, particulièrement en zones rurales. Améliorer la formation universitaire et continue du personnel médical est un enjeu majeur afin qu'il soit plus conscient de l'importance des SAO, de leurs indications et de leurs modalités d'administration. [25, 92]

5.6. L'amélioration de la distribution des sérums anti-ophidiens

Aujourd'hui, l'achat d'une quantité suffisante de SAO pour un pays ne garantit toujours pas que ces produits sauveront des vies dans les localités les plus rurales de ce pays. Une concertation est nécessaire entre les épidémiologistes, les ministères de la santé, les distributeurs et les producteurs, pour construire et mettre en œuvre une stratégie de distribution de ces produits. [92]

L'OMS préconise l'utilisation de canaux de distribution déjà développés dans les systèmes de santé pour d'autres produits comme les vaccins, et la collaboration d'organisations internationales qui soutiennent la distribution d'autres médicaments [25].

En France, l'acheminement des SAO sur le territoire est optimisé par la constitution de stocks répartis dans les pharmacies hospitalières d'Angers, de Marseille et de Lyon. Ces trois stocks sont gérés par la Banque des sérums antivenimeux (BSA), association créée à l'initiative du centre antipoison d'Angers notamment. L'objectif

principal de la BSA est l'élaboration d'un dispositif rapide et efficace de prise en charge des envenimations par morsure de serpents. Ce dispositif passe donc par la constitution et la gestion d'un stock en quantité suffisante de SAO de qualité, dont le rapport bénéfice/risque a été évalué et validé par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Les autres objectifs de la BSA sont de répertorier les espèces venimeuses détenues en France et de permettre aux centres antipoison de recenser les envenimations à des fins de toxicovigilance et de veille sanitaire. [103]

5.7. L'élaboration d'une stratégie financièrement viable

Pour contourner les limites budgétaires des pays en développement, certaines alternatives novatrices ont été proposées par l'OMS. L'application de prix différentiels par lesquels les producteurs ajusteraient leurs prix à la situation économique des pays en fait partie. [92]

De plus, une stratégie d'achat groupée entre des pays utilisant les mêmes SAO permettrait de réduire le prix d'achat des traitements [92].

Cependant, la solution à la pénurie en SAO efficaces et sûrs exige le soutien financier adéquat des gouvernements, des organisations non gouvernementales et des associations. Un effort international concerté, dirigé par l'OMS, garantira l'exposition de ce problème de santé publique, et attirera l'attention des organisations non gouvernementales et des associations. Sans ce soutien, l'OMS ne pourra pas atteindre les objectifs décrits dans son plan d'action. [25]

CONCLUSION

Depuis leur conception il y a plus d'un siècle, le procédé de production des SAO n'a pas fondamentalement changé. Les IgG présentes dans le plasma de l'animal donneur hyper-immunisé avec le ou les venin(s) d'intérêt(s), sont collectées et séparées des composants indésirables par des procédés de fractionnement. Les SAO constitués d'IgG clivées et purifiées en fragments F(ab')₂ sont les plus efficaces et les mieux tolérés. Néanmoins, des efforts doivent encore être fait pour améliorer la tolérance des SAO. Des études prometteuses, ayant pour objectif de réduire l'apparition des effets indésirables par la production d'anticorps neutralisant de camélidés et de poulets, ont été menées [104, 105].

Bien que les SAO constituent le seul traitement spécifique efficace contre les envenimations par morsure de serpents, ils restent indisponibles pour des milliers de victimes à travers le monde. Un cercle vicieux d'incohérence a entraîné la pénurie d'une thérapie sûre et abordable dans de nombreux pays du tiers monde, en particulier en Afrique sub-saharienne.

Des défis considérables restent à relever pour assurer une couverture mondiale suffisante en SAO. Il serait notamment irréaliste de s'attendre à ce que les laboratoires pharmaceutiques s'engagent à produire à long terme des SAO pour un marché si peu fiable, sans aide des états et des organisations non gouvernementales. Le plan d'action de l'OMS vise ainsi à établir une coopération multidisciplinaire internationale pour aider les laboratoires à augmenter leur volume de production mais aussi la qualité de leur SAO. Des exemples de collaboration constructive pour fournir des SAO pour l'Afrique subsaharienne ou l'Asie du Sud existent déjà. Le laboratoire anglais MicroPharm a développé un SAO pour le Nigeria en collaboration avec le ministère de la santé local, l'École de médecine tropicale de Liverpool et l'Université d'Oxford [106].

La récente catégorisation, par l'OMS, des envenimations par morsure de serpents en tant que maladie tropicale négligée est une avancée importante qui devrait entraîner une plus grande reconnaissance des autorités sanitaires et une meilleure répartition des ressources. L'envenimation par morsure de serpent nécessite d'urgence le soutien international qui s'est révélé si efficace pour d'autres maladies tropicales négligées telles que la lèpre et la dracunculose [107].

BIBLIOGRAPHIE

1. WHO. WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins. [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : http://www.who.int/bloodproducts/snake_antivenoms/snakeantivenomguide/en/
2. Chippaux J-P, Goyffon M. Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon*. 1 juin 1998 ; 36(6) : 823-46.
3. Espino-Solis GP, Riaño-Umbarila L, Becerril B, Possani LD. Antidotes against venomous animals : State of the art and prospectives. *Journal of Proteomics*. 6 mars 2009 ; 72(2) : 183-99.
4. Immunothérapie d'urgence : antivenins de serpent et de scorpion. *Biologie Aujourd'hui* [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <https://www-biologie-journal-org.docelec.u-bordeaux.fr/articles/jbio/abs/2010/01/jbio2009042/jbio2009042.html>
5. Hawgood BJ. Albert Calmette 1863–1933 Fondateur de la sérothérapie antivenimeuse. *Annales de l'Institut Pasteur / Actualités*. 1 avr. 1999 ; 10(2) : 139-46.
6. Bochner R., Goyffon M. L'œuvre scientifique de Césaire Phisalix (1852-1906), découvreur du sérum antivenimeux. *Bull. Soc. Herp. Fr.* (2007) 123 : 15-46.
7. Goyffon M. L'immunothérapie passive aujourd'hui : bref historique. *Biologie Aujourd'hui*. 2010 ; 204(1) : 51-4.
8. WHO Blood Products and related Biologicals Animal sera Antivenoms frames page. [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://apps.who.int/bloodproducts/snakeantivenoms/database/>
9. Kasturiratne A et al. Estimating the global burden of snakebite : A literature analysis and modelling based on regional estimates of envenoming and deaths. *PLoS Medicine*, 2008, 5 : e218.
10. CHIPPAUX, Jean-Philippe. Venins de serpent et envenimations. IRD Editions, 2002. ISBN : 2-7099-1507-3.
11. GOYFFON, Max. Les sérums antivenimeux : crise actuelle de leur production et conséquence. *Annales de l'Académie de Mâcon*, supplément au tome 6, 2012 [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://academiedemacon.fr/wpcontent/uploads/2012/04/Goyffon@.pdf>
12. Hsiang AY, Field DJ, Webster TH, Behlke AD, Davis MB, Racicot RA, et al. The origin of snakes : revealing the ecology, behavior, and evolutionary history of early snakes using genomics, phenomics, and the fossil record. *BMC Evolutionary Biology*. 20 mai 2015 ; 15 :87.
13. Swaroop S, Grab B. Snakebite mortality in the world. *Bull World Health Organ*. 1954 ; 10(1) : 35-76.

14. Reimann F. English : French Vipera aspis aspis seen in the wild, 2011 [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Vipera_aspis_aspis.jpg
15. Guillou L., Jestin B., Auffret Y., Picault L., Michielini B., Devaux T. Morsure de vipère. *La Revue du Practicien-Médecine Générale*, 2007, n°756, 104-106.
16. Larréché S, Mion G, Mornand P, Imbert P. Envenimations par les vipères en France. *Archives de Pédiatrie*. 1 juin 2012 ; 19(6) : 660-2.
17. WHO Blood Products and related Biologicals Animal sera Antivenons frames page [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://apps.who.int/bloodproducts/snakeantivenoms/database/>
18. Universalis : VENINS [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/venins/>
19. Chippaux J-P. Morsures et envenimations ophidiennes. *Revue Française des Laboratoires*, 2002, n°342, 55-60.
20. Yang CC. Chemistry and evolution of toxins in snake venoms. *Toxicon*. 1 janv. 1974 ; 12(1) : 1-2.
21. Kini RM, Evans HJ. Effects of snake venom proteins on blood platelets. *Toxicon*. 1 janv. 1990 ; 28(12) : 1387-422.
22. Chippaux JP, Williams V, White J. Snake venom variability : Methods of study, results and interpretation. *Toxicon*, 1991, 29 : 1279–1303.
23. Gutiérrez JM, Lomonte B, León G, Alape-Girón A, Flores-Díaz M, Sanz L, et al. Snake venomomics and antivenomics : Proteomic tools in the design and control of antivenoms for the treatment of snakebite envenoming. *Journal of Proteomics*. 6 mars 2009 ; 72(2) : 165-82.
24. Jp C. Role of antivenoms in the treatment of snake envenomation. *Bull Acad Natl Med*. 2013 ; 197(4-5) : 993-1006 ; discussion 1006-8.
25. Rabies and envenomings, a neglected public health issue. Report of a Consultative Meeting. Geneva, World Health Organization, 2007 [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : http://www.who.int/bloodproducts/animal_sera/Rabies.pdf
26. G. Mion, F. Olive, D. Giraud, E. Lambert, C. Descraques, E. Garrabé & M. Goyffon. Surveillance clinique et biologique des patients envenimés. *Bull Soc Pathol Exot*, 2002, 95, 3, 139-143.
27. Açıkalin A, Gökel Y, Kuvandık G, Duru M, Köseoğlu Z, Satar S. The efficacy of low-dose antivenom therapy on morbidity and mortality in snakebite cases. *The American Journal of Emergency Medicine*. Mai 2008 ; 26(4) : 402-7.
28. Larréché S, Boucau C, Erauso T, Mion G. Envenimations ophidiennes graves. *Le Practicien en Anesthésie Réanimation*. 1 sept 2010 ; 14(4) : 254-63.

29. Daguet A, Watier H. La sérothérapie, entre innovations thérapeutiques et progrès scientifiques à la fin du XIX^e s. et au XX^e s. *La revue du praticien*, octobre 2012, vol.62, 1177-1181.
30. Universalis : EHRLICH PAUL (1854-1915) [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/paul-ehrlich/>
31. Universalis : ANTIGÈNES [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/antigenes/>
32. Universalis : IMMUNOLOGIE [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/immunologie/>
33. Thomas J. Kindt, Richard A, Goldsby, Barbara A. Osborne, Kuby J. Kuby immunology. 6th Ed. New York : W.H. Freeman, 2007, 574p [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <https://muhammad1988adeel.files.wordpress.com/2011/04/kuby-immunology-6th-edition.pdf>. ISBN : 9780716785903.
34. Universalis : IMMUNITÉ, biologie [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/immunité-biologie/>
35. The Immune System : Immunoglobulins and B-Cell Development. *OncologyPRO* [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://oncologypro.esmo.org/Education-Library/Essentials-for-Clinicians/Lymphomas/Immunoglobulins-and-B-Cell-Development>
36. Lambin P. Les sous classes d'immunoglobulines IgG Aspects biochimiques et cliniques. *Revue Française de Transfusion et d'Hémoblogie*. 1 oct. 1989 ; 32(5) : 357-76.
37. Universalis : MACROPHAGES [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/macrophages/>
38. Leo O, Cunningham A, Stern PL. Vaccine immunology. *Perspectives in Vaccinology*. 1 août 2011 ; 1(1) : 25-59.
39. Nguyen L. Production d'immunoglobulines thérapeutiques hautement purifiées (ITHP) : analyse d'un procédé de purification. *Biologie Aujourd'hui*. 2010 ; 204(1) : 55-9.
40. Effective Equine Immunization Protocol for Production of Potent Poly-specific Antisera against *Calloselasma rhodostoma*, *Cryptelytrops albolabris* and *Daboia siamensis* [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003609>

41. Raweerith R, Ratanabanangkoon K. Immunochemical and biochemical comparisons of equine monovalent and polyvalent snake antivenoms. *Toxicon*. 1 mars 2005 ; 45(3) : 369-75.
42. Theakston RDG, Warrell DA, Griffiths E. Report of a WHO workshop on the standardization and control of antivenoms. *Toxicon*, 2003, 41 : 541–557.
43. Chippaux J-P. Recommandations pour la production, le contrôle et l'enregistrement des immunoglobulines antivenimeuses. *Biologie Aujourd'hui*. 2010 ; 204(1) : 87-91.
44. Calvete JJ, Sanz L, Angulo Y, Lomonte B, Gutiérrez JM. Venoms, venomics, antivenomics. *FEBS Letters*. 5 juin 2009 ; 583(11) : 1736-43.
45. Powell RL, Sánchez EE, Pérez JC. Farming for venom : Survey of snake venom extraction facilities worldwide. *Applied Herpetology*. 1 janv. 2006 ; 3(1) : 1-10.
46. Latoxan [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.latoxan.com/>
47. Le venin, une arme biologique redoutable [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : http://www.allodocteurs.fr/se-soigner/medicaments/le-venin-une-arme-biologique-redoutable_17517.html
48. Assessment of the anti-Naja haje antibodies elicited in a low dose multi-site immunization protocol [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com.docelec.u-bordeaux.fr/science/article/pii/S0041010109002542>
49. Preparation of a novel antivenom against Atractaspis and Walterinnesia venoms [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com.docelec.u-bordeaux.fr/science/article/pii/S004101010600328X>
50. Pratanaphon R, Akesowan S, Khaw O, Sriprapat S, Ratanabanangkoon K. Production of highly potent horse antivenom against the Thai cobra (*Naja kaouthia*). *Vaccine*. oct. 1997 ; 15(14) : 1523-8.
51. David R., Theakston G., Smith Damon C. Antivenoms : A Review of Current Status and Future Developments. *BioDrugs*, 1997 :7(5) : 366-375.
52. Angulo Y, Estrada R, Gutiérrez JM. Clinical and laboratory alterations in horses during immunization with snake venoms for the production of polyvalent (*Crotalinae*) antivenom. *Toxicon*, 1997, 35 : 81–90.
53. Moroz-Perlmutter C et al. Detoxification of snake venoms and venom fractions by formaldehyde. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1963, 112 :595–598.

54. Memoire Online - Utilisation des produits biologiques d'origine équine en thérapeutique humaine - Geraud Chancelin HELLOW TEJIOZEM [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : http://www.memoireonline.com/01/08/863/m_utilisation-produits-biologiques-origine-equine-therapeutique-humaine1.html
55. Sriprapat S, Aeksowan S, Sapsutthipas S, Chotwiwatthanakun C, Suttijitpaisal P, Pratanaphon R, et al. The impact of a low dose, low volume, multi-site immunization on the production of therapeutic antivenoms in Thailand. *Toxicon*. janv. 2003 ; 41(1) : 57-64.
56. Conseil canadien de protection des animaux. Lignes directrices du CCPA : production d'anticorps. Ottawa : Conseil canadien de protection des animaux, 2002 [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : https://www.ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Production_anticorps.pdf. ISBN : 0-919087-38-8.
57. Note for guidance on production and quality control of animal immunoglobulins and immunsera for human use (CPMP/BWP/3354/99). London : European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), 2002 : 1–14 [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/bwp/335499en.pdf>
58. Guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform encephalopathies. Geneva, World Health Organization 2006 : 1–53 [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.who.int/bloodproducts/cs/TSEPUBLISHEDREPORT.pdf>
59. Burnouf T et al. Assessment of the viral safety of antivenoms fractionated from equine plasma. *Biologicals*, 2004, 32 : 115–128.
60. Chotwiwatthanakun C et al. Production of potent polyvalent antivenom against three elapid venoms using a low dose, low volume, multi-site immunization protocol. *Toxicon*, 2001, 39 :1487–1494.
61. Perosa F, Carbone R, Ferrone S, Dammacco F. Purification of human immunoglobulins by sequential precipitation with caprylic acid and ammonium sulphate. *Journal of Immunological Methods*. 1 janv. 1990 ; 128(1) : 9-16.
62. Otero R et al. A randomized blinded clinical trial of two antivenoms, prepared by caprylic acid or ammonium sulfate fractionation of IgG, in Bothrops and Porthidium snake bites in Colombia : correlation between safety and biochemical characteristics of antivenoms. *Toxicon*, 1999, 37 : 895–908.
63. Mohanty JG, Elazhary Y. Purification of IgG from serum with caprylic acid and ammonium sulphate precipitation is not superior to ammonium sulphate precipitation alone. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 1 janv. 1989 ; 12(4) : 153-60.
64. Jones RGA, Landon J. A protocol for 'enhanced pepsin digestion' : a step by step method for obtaining pure antibody fragments in high yield from serum. *Journal of Immunological Methods*, 2003, 275 : 239–250.

65. Rojas G, Jiménez JM, Gutiérrez JM. Caprylic acid fractionation of hyperimmune horse plasma : description of a simple procedure for antivenom production. *Toxicon*, 1994, 32 : 351–363.
66. Gutiérrez JM et al. Pan-African polyspecific antivenom produced by caprylic acid purification of horse IgG : an alternative to the antivenom crisis in Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2005, 99 : 468–475.
67. Dos Santos MC et al. Purification of F(ab')₂ anti-snake venom by caprylic acid : a fast method for obtaining IgG fragments with large neutralization activity, purity and yield. *Toxicon*, 1989, 27 : 297–303.
68. Morais V, Massaldi H. Effect of pepsin digestion on the antivenom activity of equine immunoglobulins. *Toxicon*. 15 déc. 2005 ; 46(8) : 876-82.
69. Bush SP, Ruha A-M, Seifert SA, Morgan DL, Lewis BJ, Arnold TC, et al. Comparison of F(ab')₂ versus Fab antivenom for pit viper envenomation : A prospective, blinded, multicenter, randomized clinical trial. *Clin Toxicol (Phila)*. janv. 2015 ; 53(1) : 37-45.
70. Fernandes A, Kaundinya JO, Daftary G, Saxena L, Banerjee S, Pattnaik P. Chromatographic purification of equine immunoglobulin G F(ab')₂ from plasma. *Journal of Chromatography B*. 1 déc. 2008 ; 876(1) : 109-15.
71. Raweerith R, Ratanabanangkoon K. Fractionation of equine antivenom using caprylic acid precipitation in combination with cationic ion-exchange chromatography. *Journal of Immunological Methods*, 2003, 282 : 63–72.
72. Saetang T et al. Quantitative comparison on the refinement of horse antivenom by salt fractionation and ion-exchange chromatography. *Journal of Chromatography*, 1997, 700 : 233–239.
73. Arora S, Saxena V, Ayyar BV. Affinity chromatography : A versatile technique for antibody purification. *Methods*. 1 mars 2017 ; 116 : 84-94.
74. Newcombe AR, Cresswell C, Davies S, Watson K, Harris G, O'Donovan K, et al. Optimised affinity purification of polyclonal antibodies from hyper immunised ovine serum using a synthetic Protein A adsorbent, MAbsorbent® A2P. *Journal of Chromatography B*. 25 janv. 2005 ; 814(2) : 209-15.
75. Le Hir A, Chaumeil J-C, Brossard D. Chapitre 3 - Opérations pharmaceutiques. In : Pharmacie galénique (9e édition) [Internet]. Paris : Elsevier Masson ; 2009 [Internet] [cité 2 juill. 2017]. p. 118-225. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294612046000039>
76. Zbacnik TJ, Holcomb RE, Katayama DS, Murphy BM, Payne RW, Coccaro RC, et al. Role of Buffers in Protein Formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Juillet 2017 ; 106(3) : 713-33.
77. Uchiyama S. Liquid formulation for antibody drugs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. 1 nov. 2014 ; 1844(11) : 2041-52.

78. Formes pharmaceutiques - Pharmacie galénique (9ème édition) - Chapitre 4 [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com.docelec.u-bordeaux.fr/science/article/pii/B9782294612046000040>
79. Solano S, Segura Á, León G, Gutiérrez J-M, Burnouf T. Low pH formulation of whole IgG antivenom : Impact on quality, safety, neutralizing potency and viral inactivation. *Biologicals*. Mars 2012 ; 40(2) : 129-33.
80. Guidelines on viral inactivation and removal procedures intended to assure the viral safety of human blood plasma products. Geneva, World Health Organization, 2004 (WHO Technical Report Series No. 924) [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : http://www.who.int/bloodproducts/publications/WHO_TRS_924_A4.pdf.
81. Al-Abdulla I, Garnvwa JM, Rawat S, Smith DS, Landon J, Nasidi A. Formulation of a liquid ovine Fab-based antivenom for the treatment of envenomation by the Nigerian carpet viper (*Echis ocellatus*). *Toxicon*. Sept 2003 ; 42(4) : 399-404.
82. LYOPHILISATION, Principe - Encyclopædia Universalis [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/lyophilisation/2-principe/>
83. Queen Saovabha Memorial Institute [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : http://www.saovabha.com/en/product_serum.asp?nTopic=2
84. Santé : Pénurie d'anti-venin de vipère dans toute la région PACA. France 3 Provence-Alpes-Côte d'Azur [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://france3-regions.francetvinfo.fr/provence-alpes-cote-d-azur/bouches-du-rhone/metropole-aix-marseille/marseille/sante-penurie-anti-venin-vipere-toute-region-paca-1259489.html>
85. LeslieBoyerMD [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <https://scorpiondoc.silvrback.com/>
86. WHO Model List of Essential Medicines, 15th ed. Geneva, World Health Organization, 2007 [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : http://www.who.int/medicines/publications/08_ENGLISH_indexFINAL_EML15.pdf
87. Gutiérrez J-M. et al. A multicomponent strategy to improve the availability of antivenom for treating snakebite envenoming. *Bull World Health Organ* 2014 ; 92 :526-532
88. Estimate of the burden of snakebites in sub-Saharan Africa : A meta-analytic approach [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com.docelec.u-bordeaux.fr/science/article/pii/S0041010111000055>
89. Chippaux J-P. Snake-bites : appraisal of the global situation. *Bulletin of the World Health Organization*, 1998, 76 : 515–524.

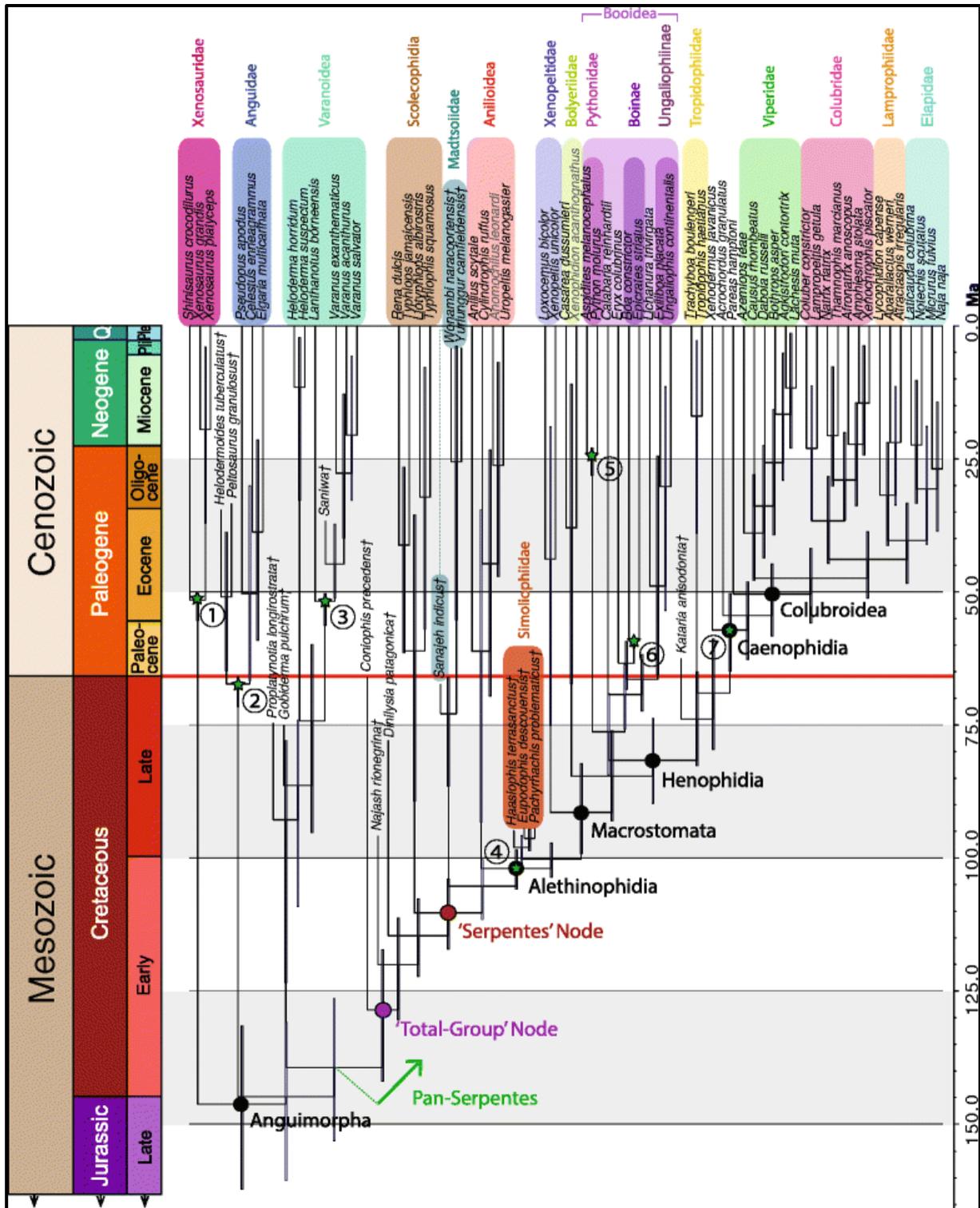
90. Chippaux J-P. Epidemiology of snakebites in Europe : A systematic review of the literature. *Toxicon*. janv. 2012 ; 59(1) : 86-99.
91. Chippaux JP, Goyffon M. Producers of antivenomous sera. *Toxicon*. 1983 ; 21(6) : 739-52.
92. Gutiérrez JM. Improving antivenom availability and accessibility : Science, technology, and beyond. *Toxicon*. 15 sept 2012 ; 60(4) : 676-87.
93. Morais V, Massaldi H. Economic evaluation of snake antivenom production in the public system. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 2006 ; 12(3) : 497-511.
94. Brown NI. Consequences of Neglect : Analysis of the Sub-Saharan African Snake Antivenom Market and the Global Context. *PLoS Negl Trop Dis*. 5 juin 2012 ; 6(6) [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3367979/>
95. Williams DJ, Gutiérrez J-M, Calvete JJ, Wüster W, Ratanabanangkoon K, Paiva O, et al. Ending the drought : New strategies for improving the flow of affordable, effective antivenoms in Asia and Africa. *Journal of Proteomics*. Août 2011 ; 74(9) : 1735-67.
96. OMS. Sérums antivenimeux [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs337/fr/>
97. Chippaux J-P, Saz-Parkinson Z, Amate Blanco JM. Epidemiology of snakebite in Europe : Comparison of data from the literature and case reporting. *Toxicon*. Décembre 2013 ; 76 : 206-13.
98. Fox S, Rathuwithana AC, Kasturiratne A, Laloo DG, de Silva HJ. Underestimation of snakebite mortality by hospital statistics in the Monaragala District of Sri Lanka. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. Juillet 2006 ; 100(7) : 693-5.
99. Harrison RA, Hargreaves A, Wagstaff SC, Faragher B, Laloo DG. Snake Envenoming : A Disease of Poverty. *PLoS Negl Trop Dis*. 22 déc. 2009 ; 3(12) [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2791200/>
100. VIPERFAV, solution à diluer pour perfusion (fragments F(ab')₂ d'immunoglobuline équine antivenimeuse de vipère européenne) - Rupture de stock - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://ansm.sante.fr/S-informer/Informations-de-securite-Ruptures-de-stock-des-medicaments/VIPERFAV-solution-a-diluer-pour-perfusion-fragments-F-ab-2-d-immunoglobuline-equine-antivenimeuse-de-vipere-europeenne-Rupture-de-stock>
101. Gutiérrez JM, Williams D, Fan HW, Warrell DA. Snakebite envenoming from a global perspective : Towards an integrated approach. *Toxicon*. Décembre 2010 ; 56(7) : 1223-35.

102. WHO. WHO plans to increase treatment access for victims of rabies and snake bites WHO [Internet] [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2007/np01/en/>
103. Banque des Sérums Antivenimeux [Internet]. [cité 13 août 2017]. Disponible sur : <https://www.banque-antivenins.fr/index.php>
104. Harrison RA, Cook DA, Renjifo C, Casewell NR, Currier RB, Wagstaff SC. Research strategies to improve snakebite treatment : Challenges and progress. *Journal of Proteomics*. Août 2011 ; 74(9) : 1768-80.
105. De Almeida CMC, da Silva CL, Couto HP, Escocard R de CM, da Rocha DG, Sentinelli L de P, et al. Development of process to produce polyvalent IgY antibodies anti-African snake venom. *Toxicon*. Août 2008 ; 52(2) : 293-301.
106. Products › Current Products : MicroPharm [Internet]. [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : https://micropharm.co.uk/products/current_products/
107. WHO. World Health Organization [Internet]. WHO. [cité 9 juill. 2017]. Disponible sur : http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/

1.

ANNEXES

Annexe 1 : Arbre phylogénétique de différenciation des familles de serpents en fonction du temps [12]



Annexe 2 : Distribution mondiale des espèces de serpents venimeux dangereuses pour l'homme [1]

AFRICA AND THE MIDDLE EAST

Island populations

Off the coast of Africa, there are no medically important snakes in Mauritius, Réunion, Rodrigues, the Comoros, the Canary Islands, the Cape Verde Islands or the Seychelles. The islands that do have venomous snakes include the Lamu group, Zanzibar, Pemba and Mafia Islands, the Bazaruto Archipelago and Inhaca Island, São Tomé, Príncipe, Bioko (Fernando Po) and Dahlak Islands. The venomous snakes on these islands tend to be similar to those on the adjacent mainland. A colubrid, *Madagascarophis meridionalis*, and perhaps other species of the same genus, are the only terrestrial snakes of possible, if minimal, medical importance found in Madagascar.

North Africa

Algeria :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> ; <i>Daboia mauritanica</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Daboia deserti</i> ; <i>Echis leucogaster</i> ; <i>Macrovipera lebetina</i> ; <i>Vipera latastei</i> |

Egypt :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> ; <i>Echis coloratus</i> (east), <i>Echis pyramidum</i> ; |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis engaddensis</i> (Sinai); <u>Elapidae</u> : <i>Naja nubiae</i> ; <i>Walterinnesia aegyptia</i> (Sinai); <u>Viperidae</u> : <i>Pseudocerastes fielsi</i> |

The Libyan Arab Jamahiriya :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> ; <i>Echis pyramidum</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Daboia deserti</i> |

Morocco :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Cerastes cerastes</i> ; <i>Daboia mauritanica</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Echis leucogaster</i> ; <i>Vipera latastei</i> |

Tunisia :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Daboia mauritanica</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> ; <i>Daboia deserti</i> ; <i>Echis leucogaster</i> ; <i>Macrovipera lebetina</i> ; <i>Vipera latastei</i> |

Western Sahara :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Cetastes cerasters</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |

Central sub Saharan Africa

Angola :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> , <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja anchietae</i> , <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> , <i>Bitis gabonica</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> , <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> , <i>Thelotornis kirtlandii</i> (north); <u>Elapidae</u> : <i>Naja christyi</i> (Cabinda), <i>Naja mossambica</i> (south), <i>Naja nigricincta</i> (south-west); <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> (Cabinda) |

Burundi :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja nigricollis</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> , <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis mossambicanus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis gabonica</i> , <i>Bitis nasicornis</i> |

The Central African Republic :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> , <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja haje</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> , <i>Bitis gabonica</i> ; <i>Echis ocellatus</i> , <i>Echis pyramidum</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja annulata</i> , <i>Naja melanoleuca</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris broadleyi</i> , <i>Atheris squamigera</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> |

Chad :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> (south); <i>Echis ocellatus</i> (south) |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja nubiae</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> |

The Congo :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis gabonica</i> , <i>Bitis nasicornis</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja annulata</i> , <i>Naja christyi</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> ; <i>Bitis arietans</i> |

The Democratic Republic of the Congo :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> , <i>Bitis gabonica</i> , <i>Bitis nasicornis</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> , <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> , <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja anchietae</i> (Katanga pedicle), <i>Naja annulata</i> , <i>Naja christyi</i> , <i>Naja haje</i> (north); <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> |

Equatorial Guinea :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis gabonica</i> , <i>Bitis nasicornis</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja annulata</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> |

Gabon :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis gabonica</i> , <i>Bitis nasicornis</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja annulata</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> ; <i>Bitis arietans</i> |

Rwanda :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> , <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja annulata</i> , <i>Naja melanoleuca</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis gabonica</i> , <i>Bitis nasicornis</i> |

East sub Saharan Africa

Djibouti :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Echis pyramidum</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis fallax</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja pallida</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |

Eritrea :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja haje</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis pyramidum</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja nubiae</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Echis megalcephalus</i> |

Ethiopia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja asheic</i> (south-east), <i>Naja haje</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis pyramidum</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis fallax</i> , <i>Atractaspis irregularis</i> (Mount Bizen) ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja pallida</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis parviocula</i> |

Kenya :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis angusticeps</i> , <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja ashei</i> (north & east), <i>Naja haje</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis pyramidum</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> , <i>Atractaspis fallax</i> , <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis mossambicanus</i> , <i>Thelotornis Usambaricus</i> (east coast); <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> (west & coastal forest), <i>Naja pallida</i> (north & east); <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> , <i>Bitis gabonica</i> (west) |

Malawi :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis angusticeps</i> , <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja annulifera</i> , <i>Naja mossambica</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> , <i>Thelotornis mossambicanus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Proatheris superciliaris</i> |

Mozambique :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis angusticeps</i> , <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja annulifera</i> , <i>Naja mossambica</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> , <i>Bitis gabonica</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> , <i>Thelotornis mossambicanus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Hemachatus haemachatus</i> , <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Proatheris superciliaris</i> |

Somalia :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja ashei arietans</i> ; <i>Echis pyramidum</i> (south) ; <i>Naja haje</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis fallax</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis mossambicanus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja pallida</i> , <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Echis hughesi</i> (north) |

The soudan :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis pyramidum</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis fallax</i> , <i>Atractaspis irregularis</i> (south); <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> (south), <i>Dendroaspis polylepis</i> (south); <i>Naja melanoleuca</i> (south), <i>Naja nubiaei</i> , <i>Naja pallida</i> (south-east); <u>Viperidae</u> : <i>Bitis gabonica</i> (south), <i>Bitis nasicornis</i> (south); <i>Cerastes cerastes</i> |

Uganda :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis pyramidum</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja melanoleuca</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> |

The United Republic of Tanzania :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis angusticeps</i> , <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja mossambica</i> (including Pemba Island), <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> , <i>Atractaspis fallax</i> (north), <i>Atractaspis irregularis</i> (north-east); <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> , <i>Thelotornis kirtlandii</i> (Mahali and Udzungwa Mountains), <i>Thelotornis mossambicanus</i> , <i>Thelotornis usambaricus</i> (East Usambara Mountains); <u>Elapidae</u> : <i>Naja ashei</i> (reported in north-east), <i>Naja annulata</i> , <i>Naja haje</i> (north), <i>Naja melanoleuca</i> (west and coast, including Mafia Island), <i>Naja pallida</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> ; <i>Bitis gabonica</i> (west and south-east), <i>Bitis nasicornis</i> (north); <i>Proatheris superciliaris</i> |

Zambia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja anchietae</i> , <i>Naja annulifera</i> , <i>Naja mossambica</i> , <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> , <i>Bitis gabonica</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> , <i>Thelotornis kirtlandii</i> , <i>Thelotornis mossambicanus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja annulata</i> , <i>Naja melanoleuca</i> |

South sub Saharan Africa

Botswana :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja anchietae</i> (west), <i>Naja annulifera</i> (east), <i>Naja mossambica</i> , <i>Naja nivea</i> (south-west); <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> |

Lesotho :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja nivea</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Hemachatus haemachatus</i> |

Namibia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja anchietae</i> , <i>Naja nivea</i> (central & southern), <i>Naja mosambica</i> (north-east), <i>Naja nigricincta</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja nigricollis</i> (Caprivi) |

South Africa :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis angusticeps</i> (Natal), <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja annulifera</i> (north-east), <i>Naja nivea</i> , <i>Naja mossambica</i> (north-east) ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Hemachatus haemachatus</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> (Natal), <i>Naja nigricincta</i> (north-west); <u>Viperidae</u> : <i>Bitis gabonica</i> (Natal); |

Swaziland :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja annulifera</i> <i>Naja mossambica</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Hemachatus haemachatus</i> |

Zimbabwe :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja anchietae</i> (west), <i>Naja annulifera</i> , <i>Naja mossambica</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis bibronii</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis capensis</i> , <i>Thelotornis mossambicanus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis angusticeps</i> (east) ; <i>Hemachatus haemachatus</i> (Nyanga Mts) ; <i>Naja melanoleuca</i> (east); <u>Viperidae</u> : <i>Bitis gabonica</i> (east) |

West sub Saharan Africa

Benin :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja senegalensis</i> ; <i>Pseudohaje nigra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis rhinoceros</i> , <i>Echis leucogaster</i> (far north) |

Burkina Faso :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja nigricollis</i> , <i>Naja katiensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja senegalensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Echis leucogaster</i> |

Cameroon :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja haje</i> , <i>Naja nigricollis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> , <i>Bitis gabonica</i> , <i>Bitis nasicornis</i> ; <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja annulata</i> , <i>Naja katiensis</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris broadleyi</i> (East Province), <i>Atheris squamigera</i> |

Côte d'Ivoire :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis viridis</i> ; <i>Naja nigricollis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja senegalensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> , <i>Bitis nasicornis</i> , <i>Bitis rhinoceros</i> ; <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Naja katiensis</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> , <i>Pseudohaje nigra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris chlorechis</i> |

The Gambia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis viridis</i> ; <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis jogeri</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja senegalensis</i> |

Ghana :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis viridis</i> , <i>Naja nigricollis</i> , <i>Naja senegalensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> , <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> , <i>Pseudohaje nigra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris chlorechis</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> , <i>Bitis rhinoceros</i> |

Guinea :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> , <i>Dendroaspis viridis</i> ; <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja nigricollis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja senegalensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis jogeri</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Pseudohaje nigra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris chlorechis</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> , <i>Bitis rhinoceros</i> |

Guinea-Bissau :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis viridis</i> ; <i>Naja nigricollis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja senegalensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis jogeri</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis rhinoceros</i> |

Liberia :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis viridis</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja nigricollis</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Pseudohaje nigra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris chlorechis</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> , <i>Bitis rhinoceros</i> |

Mali :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja nigricollis</i> , <i>Naja senegalensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis jogeri</i> (west); <i>Echis leucogaster</i> ; <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> |

Mauritania :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja senegalensis</i> (south-east); <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> ; <i>Echis leucogaster</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja melanoleuca</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> |

The Niger :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis leucogaster</i> , <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja haje</i> (south-central), <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja nubiae</i> ; <i>Naja senegalensis</i> (south-west); <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> |

Nigeria :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja haje</i> (north-east), <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> , <i>Bitis gabonica</i> ; <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> ; <i>Naja senegalensis</i> (north-west) ; <i>Pseudohaje goldii</i> , <i>Pseudohaje nigra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris squamigera</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> ; <i>Echis leucogaster</i> (north) |

Sao Tome and Principe :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> |
| Cat 2 : | None |

Senegal :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja katiensis</i> ; <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis leucogaster</i> ; <i>Echis jogeri</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis polylepis</i> ; <i>Dendroaspis viridis</i> ; <i>Naja melanoleuca</i> , <i>Naja senegalensis</i> |

Sierra Leone :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis viridis</i> ; <i>Naja nigricollis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja melanoleuca</i> ; <i>Pseudohaje nigra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris chlorechis</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> , <i>Bitis rhinoceros</i> |

Togo :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja nigricollis</i> , <i>Naja senegalensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> (south); <i>Echis ocellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis irregularis</i> ; <u>Colubridae</u> : <i>Dispholidus typus</i> ; <i>Thelotornis kirtlandii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Dendroaspis jamesoni</i> , <i>Dendroaspis viridis</i> ; <i>Naja katiensis</i> , <i>Naja melanoleuca</i> ; <i>Pseudohaje goldii</i> , <i>Pseudohaje nigra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Atheris chlorechis</i> ; <i>Bitis nasicornis</i> , <i>Bitis rhinoceros</i> |

Middle East

Cyprus :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Macrovipera lebetina</i> |

Iran (Islamic Republic of):

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja oxiana</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Echis carinatus</i> ; <i>Macrovipera lebetina</i> ; <i>Pseudocerastes persicus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Walterinnesia morgani</i> (west) ; <u>Viperidae</u> : <i>Eristicophis macmahonii</i> (east) ; <i>Gloydius halys caucasicus</i> ; <i>Montivipera raddei</i> ; <i>Vipera</i> spp. |

Iraq :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Echis carinatus</i> ; <i>Macrovipera lebetina</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Walterinnesia morgani</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes gasperettii</i> ; <i>Pseudocerastes fieldi</i> , <i>Pseudocerastes persicus</i> |

Israel :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Daboia palaestinae</i> ; <i>Echis coloratus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis engaddensis</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Walterinnesia aegyptia</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> , <i>Cerastes gasperettii</i> ; <i>Pseudocerastes fieldi</i> |

Jordan :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Daboia palaestinae</i> ; <i>Echis coloratus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis engaddensis</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Walterinnesia aegyptia</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes gasperettii</i> ; <i>Macrovipera lebetina</i> ; <i>Pseudocerastes fieldi</i> |

Kuwait and Qatar :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes gasperettii</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Walterinnesia morgani</i> (Kuwait) |

Lebanon :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Daboia palaestinae</i> ; <i>Macrovipera lebetina</i> |
| Cat 2 : | None |

Oman :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis andersonii</i> (south-west) ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> (south-west) ; <i>Echis coloratus</i> (south-west), <i>Echis carinatus</i> , <i>Echis omanensis</i> (north) |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja arabica</i> (south-west) ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes gasperettii</i> ; <i>Echis Khosatzkii</i> (south-west) ; <i>Pseudocerastes persicus</i> |

Saudi Arabia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis andersonii</i> (south-west) ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes gasperettii</i> ; <i>Echis coloratus</i> , <i>Echis borkini</i> (south-west) |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis engaddensis</i> (north-west) ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja arabica</i> (south-west); <i>Walterinnesia aegyptia</i> (west), <i>Walterinnesia morgani</i> (central & south); <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> (south-west); <i>Cerastes cerastes</i> (south-west); <i>Pseudocerastes fieldi</i> |

The Syrian Arab Republic :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Daboia palaestinae</i> ; <i>Macrovipera lebetina</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Pseudocerastes fieldi</i> |

Turkey :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Macrovipera lebetina</i> ; <i>Montivipera xanthina</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Walterinnesia morgani</i> (south) ; <u>Viperidae</u> : <i>Montivipera raddei</i> ; <i>Vipera ammodytes</i> ; <i>Vipera eriwanensis</i> ; <i>Vipera spp.</i> |

The United Arab Emirates :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Echis carinatus</i> (east) ; <i>Echis omanensis</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes gasperettii</i> ; <i>Pseudocerastes persicus</i> |

West Bank and Gaza Strip :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Daboia palaestinae</i> ; <i>Echis coloratus</i> |
| Cat 2 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis engaddensis</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Walterinnesia aegyptia</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> , <i>Pseudocerastes fieldi</i> |

Yemen :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Atractaspididae</u> : <i>Atractaspis andersonii</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Naja arabica</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bitis arietans</i> ; <i>Echis borkini</i> , <i>Echis coloratus</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Cerastes cerastes</i> , <i>Cerastes gasperettii</i> ; <i>Echis khosatzkii</i> |

ASIA AND AUSTRALASIA

Central Asia

Armenia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Macrovipera lebetina</i> ; |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Montivipera raddei</i> ; <i>Vipera eriwanensis</i> , <i>Vipera spp.</i> |

Azerbaijan :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Macrovipera lebetina</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius halys</i> ; <i>Vipera eriwanensis</i> ; <i>Vipera spp.</i> |

Georgia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Macrovipera lebetina</i> ; <i>Vipera ammodytes</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera renardi</i> , <i>Vipera ursinii</i> , <i>Vipera spp.</i> |

Kazakhstan, Kyrgyzstan, Tajikistan, Uzbekistan and Turkmenistan :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja oxiana</i> (except Kazakhstan & Kyrgyzstan) ; <u>Viperidae</u> : <i>Echis carinatus</i> (except Kyrgyzstan); <i>Macrovipera lebetina</i> (except Kazakhstan & Kyrgyzstan); <i>Gloydius halys</i> (throughout) |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera renardi</i> (except Turkmenistan) |

Mongolia :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius halys</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> , <i>Vipera renardi</i> |

EAST ASIA

China

China Mainland :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus multicinctus</i> ; <i>Naja atra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops albolabris</i> ; <i>Daboia siamensis</i> ; <i>Deinagkistrodon acutus</i> ; <i>Gloydius brevicaudus</i> ; <i>Protobothrops mucrosquamatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Rhabdophis tigrinus</i> ; <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus bungaroides</i> (south-east Tibet), <i>Bungarus fasciatus</i> ; <i>Naja kaouthia</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops septentrionalis</i> (south Tibet); <i>Gloydius halys</i> , <i>Gloydius intermedius</i> , <i>Gloydius ussuriensis</i> ; <i>Himalayophis tibetanus</i> (south Tibet); <i>Protobothrops jerdonii</i> , <i>Protobothrops kaulbacki</i> , <i>Protobothrops mangshanensis</i> ; <i>Vipera berus</i> (Jilin, western Xinjiang); <i>Vipera renardi</i> (western Xinjiang); <i>Viridovipera stejnegeri</i> |

Hong Kong, Special Administrative Region :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus multicinctus</i> ; <i>Naja atra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops albolabris</i> |
| Cat 2 : | None |

Taiwan Province :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus multicinctus</i> ; <i>Naja atra</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Protobothrops mucrosquamatus</i> ; <i>Viridovipera stejnegeri</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Deinagkistrodon acutus</i> ; <i>Daboia siamensis</i> |

The Democratic People's Republic of Korea :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius brevicaudus</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius intermedius</i> , <i>Gloydius ussuriensis</i> ; <i>Vipera berus</i> |

Japan (including Ryukyu Islands) :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius blomhoffii</i> (main islands); <i>Protobothrops flavoviridis</i> (Ryukyu Islands) |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Rhabdophis tigrinus</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius tsushimaensis</i> (Tsushima); <i>Protobothrops elegans</i> |

The Republic of Korea :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius brevicaudus</i> |
| Cat 2 : | <u>Colubridae</u> : <i>Rhabdophis tigrinus</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius intermedius</i> , <i>Gloydius ussuriensis</i> |

South Asia

Afghanistan :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja oxiana</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Echis carinatus</i> ; <i>Macrovipera lebetina</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus caeruleus</i> (east), <i>Bungarus sindanus</i> (east), <i>Naja naja</i> (reported in south-east) ; <u>Viperidae</u> : <i>Eristicophis macmahonii</i> (south-west); <i>Gloydius halys</i> (north) |

Bangladesh :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus caeruleus</i> , <i>Bungarus niger</i> , <i>Bungarus walli</i> ; <i>Naja kaouthia</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops erythrurus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus bungaroides</i> , <i>Bungarus fasciatus</i> , <i>Bungarus lividus</i> ; <i>Naja naja</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops albolabris</i> (far north-west) ; <i>Daboia russelii</i> (west) |

Bhutan :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus niger</i> ; <i>Naja naja</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus caeruleus</i> , <i>Bungarus fasciatus</i> ; <i>Bungarus lividus</i> ; <i>Naja kaouthia</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops erythrurus</i> ; <i>Daboia russelii</i> ; <i>Protobothrops jerdonii</i> |

India :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus caeruleus</i> ; <i>Naja kaouthia</i> (east), <i>Naja naja</i> (throughout) ; <u>Viperidae</u> : <i>Daboia russelii</i> ; <i>Echis carinatus</i> ; <i>Hypnale hypnale</i> (south-west) |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus bungaroides</i> , <i>Bungarus fasciatus</i> , <i>Bungarus lividus</i> , <i>Bungarus niger</i> , <i>Bungarus sindanus</i> , <i>Bungarus walli</i> ; <i>Naja oxiana</i> (west), <i>Naja sagittifera</i> (Andaman Islands); <u>Ophiophagus hannah</u> (south, north-east, Andaman Islands); <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops albolabris</i> , <i>Cryptelytrops erythrurus</i> , <i>Cryptelytrops septentrionalis</i> ; <i>Gloydius himalayanus</i> ; <i>Protobothrops jerdonii</i> , <i>Protobothrops kaulbacki</i> , <i>Protobothrops mucrosquamatus</i> ; <i>Trimeresurus gramineus</i> (south India), <i>Trimeresurus malabaricus</i> (south-west) |

Nepal :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus caeruleus</i> , <i>Bungarus niger</i> ; <i>Naja naja</i> , <i>Naja kaouthia</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Daboia russelii</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus bungaroides</i> , <i>Bungarus fasciatus</i> ; <i>Bungarus lividus</i> , <i>Bungarus walli</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops septentrionalis</i> ; <i>Gloydius himalayanus</i> ; <i>Himalayophis tibetanus</i> ; <i>Protobothrops jerdonii</i> |

Pakistan :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus caeruleus</i> , <i>Bungarus sindanus</i> ; <i>Naja naja</i> , <i>Naja oxiana</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Daboia russelii</i> ; <i>Echis carinatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Eristicophis macmahonii</i> (west) ; <i>Gloydius himalayanus</i> (north) ; <i>Macrovipera lebetina</i> (west) |

Sri Lanka :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus caeruleus</i> ; <i>Naja naja</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Daboia russelii</i> ; <i>Hypnalehypnale</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus ceylonicus</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Echis carinatus</i> ; <i>Hypnale nepa</i> , <i>Trimeresurus trigonocephalus</i> |

South-east Asia**Brunei Darussalam :**

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja sumatrana</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus fasciatus</i> , <i>Bungarus flaviceps</i> ; <i>Calliophis bivirgatus</i> , <i>Calliophis intestinalis</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Parias sumatranus</i> ; <i>Tropidolaemus subannulatus</i> |

Cambodia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus candidus</i> ; <i>Naja kaouthia</i> , <i>Naja siamensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Calloselasma rhodostoma</i> ; <i>Cryptelytrops albolabris</i> ; <i>Daboia siamensis</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus fasciatus</i> , <i>Bungarus flaviceps</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops macrops</i> |

Indonesia (Sumatra, Java, Borneo, Sulawesi & Lesser Sunda Islands):

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus candidus</i> (Sumatra & Java); <i>Naja sputatrix</i> (Java & Lesser Sunda Islands), <i>Naja sumatrana</i> (Sumatra & Borneo); <u>Viperidae</u> : <i>Calloselasma rhodostoma</i> (Java); <i>Cryptelytrops albolabris</i> ; <i>Daboia siamensis</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus fasciatus</i> , <i>Bungarus flaviceps</i> (Sumatra & Borneo); <i>Calliophis bivirgatus</i> , <i>Calliophis intestinalis</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> (Sumatra, Borneo & Java); <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops insularis</i> , <i>Cryptelytrops purpureomaculatus</i> (Sumatra); <i>Parias sumatranus</i> ; <i>Tropidolaemus subannulatus</i> |

The Lao People's Democratic Republic :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus candidus</i> , <i>Bungarus multicinctus</i> ; <i>Naja atra</i> (north), <i>Naja Siamensis</i> (south & east) ; <u>Viperidae</u> : <i>Calloselasma rhodostoma</i> ; <i>Cryptelytrops albolabris</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus fasciatus</i> ; <i>Naja kaouthia</i> (south & east) ; <i>Ophiophagus hannah</i> <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops macrops</i> ; <i>Protobothrops jerdonii</i> ; <i>Protobothrops mucrosquamatus</i> |

Malaysia :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus candidus</i> (Peninsular Malaysia); <i>Naja kaouthia</i> (northern Peninsular Malaysia), <i>Naja sumatrana</i> (Peninsular Malaysia, Sabah & Sarawak); <u>Viperidae</u> : <i>Calloselasma rhodostoma</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus fasciatus</i> , <i>Bungarus flaviceps</i> ; <i>Calliophis bivirgatus</i> ; <i>Calliophis intestinalis</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops purpureomaculatus</i> ; <i>Parias sumatranus</i> ; <i>Tropidolaemus subannulatus</i> |

Myanmar :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus magnimaculatus</i> , <i>Bungarus multicinctus</i> ; <i>Naja kaouthia</i> , <i>Naja mandalayensis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops albolabris</i> , <i>Cryptelytrops erythrurus</i> ; <i>Daboia siamensis</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus bungaroides</i> (Kachin State), <i>Bungarus candidus</i> (Thaninthayi Div.) ; <i>Bungarus flaviceps</i> (east Shan State), <i>Bungarus niger</i> (Chin State and Rakhine State) ; <i>Naja siamensis</i> (adjacent Thailand border) ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Calloselasma rhodostoma</i> (Thaninthayi Div.); <i>Cryptelytrops purpureomaculatus</i> ; <i>Protobothrops jerdonii</i> , <i>Protobothrops kaulbacki</i> , <i>Protobothrops mucrosquamatus</i> (Kachin) |

The Philippines :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : Naja philippinensis (Luzon), Naja samarensis (Mindanao), Naja sumatrana (Palawan) |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Calliophis intestinalis</i> ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Parias flavomaculatus</i> ; <i>Tropidolaemus philippensis</i> ; <i>Tropidolaemus subannulatus</i> |

Singapore :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : Bungarus candidus ; Naja sumatrana |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus fasciatus</i> ; <i>Calliophis bivirgatus</i> , <i>Calliophis intestinalis</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops purpureomaculatus</i> |

Thailand :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : Bungarus candidus ; Naja kaouthia , Naja siamensis ; <u>Viperidae</u> : Calloselasma rhodostoma ; Cryptelytrops albolabris , Daboia siamensis |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus fasciatus</i> , <i>Bungarus flaviceps</i> ; <i>Calliophis bivirgatus</i> , <i>Calliophis intestinalis</i> ; Naja sumatrana ; <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops macrops</i> ; <i>Parias sumatranus</i> |

Timor-Leste :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : Cryptelytrops insularis |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Naja sputatrix</i> (reported) |

Viet Nam :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : Bungarus candidus , Bungarus multicinctus , Bungarus slowinskii (north) ; Naja atra (north), Naja kaouthia (south) ; <u>Viperidae</u> : Calloselasma rhodostoma ; Cryptelytrops albolabris (throughout) ; Deinagkistrodon acutus |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Bungarus fasciatus</i> , <i>Bungarus flaviceps</i> (south); <i>Naja siamensis</i> (south); <i>Ophiophagus hannah</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Cryptelytrops macrops</i> ; <i>Protobothrops jerdonii</i> , <i>Protobothrops mucrosquamatus</i> (north); <i>Viridovipera stejnegeri</i> |

Australo-Papua (including Pacific Islands) :

There are no medically important land snakes in American Samoa ; Cook Islands ; Fiji ; French Polynesia ; Guam ; Kiribati ; Marshall Islands ; Nauru ; New Caledonia ; New Zealand ; Northern Mariana Islands ; Pitcairn Island ; Samoa ; Tokelau ; Tonga ; Tuvalu ; or Wallis and Futuna Islands. Fiji possesses a single terrestrial venomous snake species (*Ogmodon vitianus*) while the Solomon Islands possess three terrestrial venomous species (*Salomonelaps par* ; *Loveridgelaps elapoides* and *Parapistocalamus hedigeri*) with no and few snakebites, respectively.

Australia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Notechis scutatus</i> ; <i>Pseudechis australis</i> ; <i>Pseudonaja affinis</i> , <i>Pseudonaja mengdeni</i> , <i>Pseudonaja nuchalis</i> , <i>Pseudonaja textilis</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Acanthophis antarcticus</i> , <i>Acanthophis</i> spp. ; <i>Austrelaps</i> spp. ; <i>Hoplocephalus</i> spp. ; <i>Oxyuranus microlepidotus</i> , <i>Oxyuranus scutellatus</i> , <i>Oxyuranus temporalis</i> ; <i>Pseudechis</i> spp. ; <i>Pseudonaja aspidorhynchal</i> , <i>Pseudonaja</i> spp. ; <i>Tropidechis carinatus</i> |

Indonesia (West Papua and Maluku) :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Acanthophis laevis</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Acanthophis rugosus</i> ; <i>Micropechis ikaheka</i> ; <i>Oxyuranus scutellatus</i> ; <i>Pseudechis papuanus</i> , <i>Pseudechis rosignolii</i> ; <i>Pseudonaja textilis</i> |

Papua New Guinea :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Elapidae</u> : <i>Acanthophis laevis</i> ; <i>Oxyuranus scutellatus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Acanthophis rugosus</i> ; <i>Micropechis ikaheka</i> ; <i>Pseudonaja textilis</i> ; <i>Pseudechis papuanus</i> , <i>Pseudechis rosignolii</i> |

EUROPE

There are no venomous snakes in Iceland, Ireland, Isle of Man, Outer Hebrides, Orkney or Shetland Islands. Crete and most of the islands of the western Mediterranean are also without venomous snakes.

Central Europe

Albania ; Bosnia and Herzegovina ; Bulgaria ; Croatia ; Romania ; Serbia ; Montenegro ; Slovenia ; The former Yugoslav Republic of Macedonia :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera ammodytes</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> , <i>Vipera ursinii</i> |

The Czech Republic ; Poland ; Slovakia :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> |

Greece :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera ammodytes</i> (including Corfu) |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Macrovipera schweizeri</i> ; <i>Montivipera xanthina</i> ; <i>Vipera berus</i> , <i>Vipera ursinii</i> |

Hungary :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> ; <i>Vipera ursinii</i> |

Eastern Europe :

Belarus ; Estonia ; Latvia ; Lithuania ; The Republic of Moldova :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> , <i>Vipera nikolskii</i> (Moldova), <i>Vipera ursinii</i> (Moldova) |

The Russian Federation :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Gloydius halys</i> , <i>Gloydius intermedius</i> , <i>Gloydius ussuriensis</i> ; (far-east Russia); <i>Macrovipera lebetina</i> (Dagestan); <i>Vipera nikolskii</i> ; <i>Vipera renardi</i> , <i>Vipera spp.</i> |

Ukraine :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> , <i>Vipera nikolskii</i> , <i>Vipera renardi</i> , <i>Vipera ursinii</i> |

Western Europe :

Austria :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera ammodytes</i> , <i>Vipera berus</i> |

Belgium ; Denmark ; Finland ; Germany ; The Netherlands ; Norway :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> |

France :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera aspis</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> , <i>Vipera ursinii</i> |

Italy :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera aspis</i> |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera ammodytes</i> , <i>Vipera berus</i> , <i>Vipera ursinii</i> |

Portugal :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera latastei</i> , <i>Vipera seoanei</i> |

Spain :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera aspis</i> , <i>Vipera latastei</i> , <i>Vipera seoanei</i> |

Sweden ; The United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera berus</i> (not Northern Ireland) |
| Cat 2 : | None |

Switzerland :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Vipera aspis</i> , <i>Vipera berus</i> |

THE AMERICAS

North America :

Canada :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | None |
| Cat 2 : | <u>Viperidae</u> : <i>Crotalus oreganus</i> , <i>Crotalus viridis</i> , <i>Sistrurus catenatus</i> |

Mexico :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon bilineatus</i> , <i>Agkistrodon taylori</i> ; <i>Crotalus atrox</i> , <i>Crotalus scutulatus</i> , <i>Crotalus simus</i> , <i>Crotalus totonacus</i> ; <i>Bothrops asper</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micruroides euryxanthus</i> , <i>Micrurus nigrocinctus</i> , <i>Micrurus tener</i> , <i>Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon contortrix</i> ; <i>Atropoides mexicanus</i> , <i>Atropoides occiduus</i> , <i>Atropoides spp.</i> ; <i>Bothriechis schlegelii</i> , <i>Bothriechis spp.</i> ; <i>Cerrophidion godmani</i> , <i>Cerrophidion spp.</i> ; <i>Crotalus basiliscus</i> , <i>Crotalus molossus</i> , <i>Crotalus oreganus</i> , <i>Crotalus ruber</i> , <i>Crotalus tzabcani</i> , <i>Crotalus viridis</i> , <i>Crotalus spp.</i> ; <i>Ophryacus spp.</i> ; <i>Porthidium nasutum</i> , <i>Porthidium spp.</i> ; <i>Sistrurus catenatus</i> |

The United States of Americas :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon contortrix</i> , <i>Agkistrodon piscivorus</i> ; <i>Crotalus adamanteus</i> , <i>Crotalus atrox</i> , <i>Crotalus horridus</i> , <i>Crotalus oreganus</i> , <i>Crotalus scutulatus</i> , <i>Crotalus viridis</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus fulvius</i> , <i>Micrurus tener</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Crotalus molossus</i> , <i>Crotalus ruber</i> , <i>Crotalus</i> spp., <i>Sistrurus catenatus</i> , <i>Sistrurus miliarius</i> |

Central America :

The medically most important species are *Bothrops asper* and *Crotalus simus*.

Belize :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops asper</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus</i> spp.; <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon bilineatus</i> ; <i>Atropoides mexicanus</i> ; <i>Bothriechis schlegelii</i> ; <i>Crotalus tzabcan</i> ; <i>Porthidium nasutum</i> |

Costa Rica :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops asper</i> ; <i>Crotalus simus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus nigrocinctus</i> , <i>Micrurus</i> spp. ; <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon bilineatus</i> ; <i>Atropoides mexicanus</i> , <i>Atropoides</i> spp. ; <i>Bothriechis schlegelii</i> , <i>Bothriechis lateralis</i> , <i>Bothriechis</i> spp. ; <i>Cerrophidion godmani</i> ; <i>Lachesis melanocephala</i> , <i>Lachesis stenophrys</i> ; <i>Porthidium nasutum</i> , <i>Porthidium ophryomegas</i> , <i>Porthidium</i> spp. |

El Salvador :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Crotalus simus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus nigrocinctus</i> ; <i>Micrurus</i> spp. ; <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon bilineatus</i> ; <i>Atropoides occiduus</i> ; <i>Bothriechis</i> spp. ; <i>Cerrophidion godmani</i> ; <i>Porthidium ophryomegas</i> |

Guatemala :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops asper</i> ; <i>Crotalus simus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus nigrocinctus</i> , <i>Micrurus</i> spp. ; <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon bilineatus</i> ; <i>Atropoides mexicanus</i> , <i>Atropoides occiduus</i> , <i>Atropoides</i> spp. ; <i>Bothriechis schlegelii</i> , <i>Bothriechis</i> spp. ; <i>Cerrophidion godmani</i> ; <i>Crotalus tzabcan</i> , <i>Porthidium nasutum</i> , <i>Porthidium ophryomegas</i> |

Honduras :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops asper</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus nigrocinctus</i> , <i>Micrurus</i> spp. ; <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon bilineatus</i> ; <i>Atropoides mexicanus</i> , <i>Atropoides occiduus</i> , <i>Atropoides</i> spp. ; <i>Bothriechis marchi</i> , <i>Bothriechis schlegelii</i> , <i>Bothriechis</i> spp.; <i>Cerrophidion godmani</i> ; <i>Crotalus simus</i> ; <i>Porthidium nasutum</i> , <i>Porthidium ophryomegas</i> |

Nicaragua :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops asper</i> ; <i>Crotalus simus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus nigrocinctus</i> , <i>Micrurus</i> spp. ; <u>Viperidae</u> : <i>Agkistrodon bilineatus</i> ; <i>Atropoides mexicanus</i> ; <i>Bothriechis schlegelii</i> ; <i>Cerrophidion godmani</i> ; <i>Lachesis stenophrys</i> ; <i>Porthidium nasutum</i> , <i>Porthidium ophryomegas</i> |

Panama :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops asper</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus mipartitus</i> , <i>Micrurus nigrocinctus</i> , <i>Micrurus</i> spp. ; <u>Viperidae</u> : <i>Atropoides mexicanus</i> , <i>Atropoides</i> spp. ; <i>Bothriechis lateralis</i> , <i>Bothriechis schlegelii</i> , <i>Bothriechis</i> spp. ; <i>Cerrophidion godmani</i> ; <i>Lachesis acrochorda</i> , <i>Lachesis stenophrys</i> ; <i>Porthidium nasutum</i> , <i>Porthidium lansbergii</i> , <i>Porthidium</i> spp. |

Caribbean :

No medically important snakes occur naturally in Anguilla ; Antigua and Barbuda ; the Bahamas ; Barbados ; Bermuda ; The British Virgin Islands ; Cayman Islands ; Cuba ; Dominica ; the Dominican Republic ; Grenada ; Guadeloupe ; Haiti ; Jamaica ; Montserrat ; the Netherlands Antilles ; Saint Kitts and Nevis ; Saint Vincent and the Grenadines ; and Turks and Caicos Islands.

Aruba ; Martinique ; Saint Lucia ; Trinidad and Tobago, and offshore islands :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops cf. atrox</i> (Trinidad), <i>Bothrops caribbaeus</i> (St Lucia), <i>Bothrops lanceolatus</i> (Martinique) ; <i>Crotalus durissus</i> (Aruba) |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus circinalis</i> (Trinidad), <i>Micrurus lemniscatus</i> (Trinidad) ; <u>Viperidae</u> : <i>Lachesis muta</i> (Trinidad) |

South America :

No venomous snakes are naturally occurring in the Falkland Islands ; and no dangerously venomous snakes are naturally occurring in Chile.

Argentina :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops alternatus</i> , <i>Bothrops diporus</i> <i>Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus corallinus</i> , <i>Micrurus lemniscatus</i> , <i>Micrurus</i> spp. ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops ammodytoides</i> , <i>Bothrops jararaca</i> , <i>Bothrops jararacussu</i> , <i>Bothrops mattogrossensis</i> , <i>Bothrops neuwiedi</i> , <i>Bothrops pubescens</i> |

Bolivia (Plurinational State of) :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops atrox, Bothrops mattogrossensis Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus lemniscatus, Micrurus spixii, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothrocophias hyoprora, Bothrocophias microphthalmus ; Bothrops bilineatus, Bothrops brazili, Bothrops jararacussu, Bothrops jonathani, Bothrops moojeni, Bothrops sanctaecrucis, Bothrops spp., Bothrops taeniatus ; Lachesis muta</i> |

Brazil :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops atrox, Bothrops jararaca, Bothrops jararacussu, Bothrops leucurus, Bothrops moojeni ; Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus corallinus, Micrurus lemniscatus, Micrurus spixii, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothrocophias hyoprora, Bothrocophias microphthalmus, Bothrops alternatus, Bothrops bilineatus, Bothrops brazili, Bothrops diporus, Bothrops mattogrossensis, Bothrops neuwiedi, Bothrops pubescens, Bothrops taeniatus, Bothrops spp. ; Lachesis muta</i> |

Colombia :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops asper, Bothrops atrox, Bothrops bilineatus ; Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus lemniscatus, Micrurus mipartitus, Micrurus nigrocinctus, Micrurus spixii, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothriechis schlegelii ; Bothrocophias hyoprora, Bothrocophias microphthalmus, Bothrocophias spp. ; Bothrops brazili, Bothrops taeniatus, Bothrops spp. ; Lachesis acrochorda, Lachesis muta ; Porthidium nasutum, Porthidium lansbergii</i> |

Ecuador :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops asper, Bothrops atrox, Bothrops bilineatus ; Lachesis muta</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus lemniscatus, Micrurus mipartitus, Micrurus spixii, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothriechis schlegelii ; Bothrocophias hyoprora, Bothrocophias microphthalmus, Bothrocophias spp. ; Bothrops brazili, Bothrops taeniatus, Bothrops spp. ; Lachesis acrochorda ; Porthidium nasutum, Porthidium spp.</i> |

French Guiana (France):

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops atrox, Bothrops brazili, Bothrops bilineatus ; Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus lemniscatus, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops taeniatus ; Lachesis muta</i> |

Guyana :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops atrox, Bothrops bilineatus, Bothrops brazili</i> ; <i>Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus lemniscatus, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops taeniatus</i> ; <i>Lachesis muta</i> |

Paraguay :

| | |
|---------|---|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops alternatus</i> ; <i>Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus corallinus, Micrurus lemniscatus, Micrurus spixii, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops diporus, Bothrops jararaca, Bothrops jararacussu, Bothrops matto grossensis, Bothrops moojeni, Bothrops neuwiedi, Bothrops spp.</i> |

Peru :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops atrox, Bothrops bilineatus, Bothrops pictus</i> ; <i>Crotalus durissus</i> ; <i>Lachesis muta</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus lemniscatus, Micrurus mipartitus, Micrurus spixii, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothriechis schlegelii</i> ; <i>Bothrocophias hyoprora, Bothrocophias microphthalmus</i> ; <i>Bothrops asper</i> ; <i>Bothrops brazili, Bothrops matto grossensis, Bothrops taeniatus, Bothrops spp.</i> |

Suriname :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops atrox, Bothrops bilineatus, Bothrops brazili</i> ; <i>Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus lemniscatus, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops taeniatus</i> ; <i>Lachesis muta</i> |

Uruguay :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops alternatus</i> ; <i>Crotalus durissus</i> |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus corallinus, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops pubescens</i> |

Venezuela (Bolivarian Republic of) :

| | |
|---------|--|
| Cat 1 : | <u>Viperidae</u> : <i>Bothrops atrox, Bothrops cf. atrox, Bothrops venezuelensis</i> ; <i>Crotalus durissus</i> (including Isla de Margarita) |
| Cat 2 : | <u>Elapidae</u> : <i>Micrurus circinalis, Micrurus lemniscatus, Micrurus mipartitus, Micrurus spixii, Micrurus surinamensis, Micrurus spp.</i> ; <u>Viperidae</u> : <i>Bothriechis schlegelii</i> ; <i>Bothrops asper, Bothrops brazili, Bothrops bilineatus</i> ; <i>Lachesis muta</i> ; <i>Porthidium lansbergii</i> |

Annexe 3 : Virus potentiellement contaminants identifiés chez les chevaux [1]

| Virus | Family | Size (nm) | Genome | Presence in blood reported | Classified as pathogenic to humans |
|--|------------------|------------------|---------------|-----------------------------------|---|
| Lipid-enveloped viruses | | | | | |
| Borna virus | Bornaviridae | 70-130 | ss-RNA | Yes | |
| Equine arteritis virus | Arteriviridae | 50-60 | ss-RNA | | |
| Equine encephalitis virus, Eastern and Western | Togaviridae | 40-70 | ss-RNA | | Yes |
| Equine coronavirus | Coronaviridae | 75-160 | ss-RNA | | |
| Equine foamy virus | Retroviridae | 80-100 | ss-RNA | Yes | |
| Equine herpes virus 1-5 | Herpesviridae | 125-150 | Ds-DNA | | Yes |
| Equine infectious anaemia virus | Lentiviridae | 80-100 | ss-RNA | Yes | |
| Equine influenza virus | Orthomyxoviridae | 80-120 | ss-RNA | | Yes |
| Equine morbillivirus (Hendra virus) | Paramyxoviridae | 150 | ss-RNA | | Yes |
| Japanese encephalitis virus | Flaviridae | 40-70 | ss-RNA | | Yes |
| Nipah virus | Paramyxoviridae | 150-300 | ss-RNA | | Yes |
| Rabies virus | Rhabdoviridae | 75-180 | ss-RNA | | Yes |
| Salem virus | Paramyxoviridae | 150-300 | ss-RNA | | |
| St Louis encephalitis virus | Flaviviridae | 40-70 | ss-RNA | | Yes |
| Venezuelan equine encephalitis virus | Togaviridae | 40-70 | ss-RNA | Yes | Yes |
| Vesicular stomatitis virus | Rhabdoviridae | 50-80 | ss-RNA | Yes | Yes |
| West Nile virus | Flaviviridae | 40-70 | ss-RNA | Yes | Yes |
| Non-lipid enveloped viruses | | | | | |
| Equine encephalosis viruses | Reoviridae | 80 | Ds-RNA | | |
| Equine rhinitis A and B viruses | Picornaviridae | 22-30 | ss-RNA | | |
| Equine rotavirus | Reoviridae | 60-80 | Ds-RNA | | |

Annexe 4 : Virus potentiellement contaminants identifiés chez les moutons et les chèvres [1]

| Virus | Family | Size (nm) | Genome | Presence In blood reported | Classified as pathogenic to humans |
|--|------------------|-----------|--------|----------------------------|------------------------------------|
| Lipid-enveloped viruses | | | | | |
| Adenovirus | Adenoviridae | 80-110 | ds-DNA | | |
| Akabane virus | Bunyaviridae | 80-120 | ss-RNA | | |
| Bluetongue virus | Reoviridae | 80 | ds-DNA | | Yes |
| Border disease virus | Flaviviridae | 40-70 | ss-RNA | | |
| Borna virus | Bornaviridae | 70-130 | ss-RNA | Yes | |
| Bovine herpes virus types 1, 2, 4 | Herpesviridae | 120-200 | ds-DNA | | |
| Bovine viral diarrhoea virus | Togaviridae | 40-60 | ss-RNA | | |
| Loiping ill virus | Flaviviridae | 40-50 | ss-RNA | | Yes |
| Nairobi sheep disease | Bunyaviridae | 80-120 | ss-RNA | | |
| Ovine/bovine papillomavirus | Papillomaviridae | 40-55 | ds-DNA | | |
| Ovine herpes virus 2 | Herpesviridae | 120-200 | ds-DNA | | |
| Parainfluenza virus type 3 | Paramyxoviridae | 150-300 | ss-RNA | | Yes |
| Peste des petits ruminants (Morbillivirus) | Paramyxoviridae | 150-300 | ss-RNA | | |
| Poxviruses (Parapox, Capripox, Cowpox) | Poxviridae | 140-260 | ds-DNA | | Yes |
| Respiratory syncytial virus | Paramyxoviridae | 150-300 | ss-RNA | | |
| Retroviruses (Caprine arthritis encephalitis virus, Maedi-Visna virus, Jaagsiekte virus, Bovine leukaemia virus) | Retroviridae | 80-100 | ss-RNA | | |
| Rift Valley fever complex | Bunyaviridae | 80-120 | ss-RNA | | Yes |
| Ross river virus | Togaviridae | 70 | ss-RNA | | |
| Rotavirus | Reoviridae | 80 | ds-DNA | | |
| Tick-borne encephalitis virus | Flaviviridae | 40-50 | ss-RNA | | Yes |
| Vesicular stomatitis virus | Rhabdoviridae | 50-380 | ss-RNA | Yes | Yes |
| Wesselbron virus | Flaviviridae | 40-50 | ss-RNA | | Yes |
| Non-lipid enveloped viruses | | | | | |
| Epizootic haemorrhagic disease virus | Reoviridae | 80 | ds-DNA | | |
| Foot and mouth disease virus | Picornaviridae | 27-30 | ss-RNA | | Yes |
| Reovirus 1-3 | Reoviridae | 60-80 | ds-DNA | | |

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

TITRE ET RÉSUMÉ EN ANGLAIS

TITLE :

Anti-ophidian serums: from industrial production to present scarcity.

ABSTRACT :

Anti-venom serums are prepared from animal plasma that has been previously hyperimmunised against a pertinent target venom. When injected into to an affected patient, anti-venom serum neutralizes the target venom. This is referred to serotherapy or anti-venom immunotherapy.

This thesis aims to describe different stages of industrial manufacturing for anti-venom serum against venomous snakebites. Such a serum is called anti-ophidians serum. The secondary goal of this thesis is to inform people about causes and consequences of the present scarcity of this anti-venom serum.

Manufacturing of anti-ophidians serums must be compliant with essential quality principles. New generations of anti-ophidian serums have been developed with a high tolerance and effectiveness thanks to continuous improvement of their respective manufacturing processes.

While anti-ophidian serums are the only specific and efficient treatments against venomous snakebites, they remain unavailable for a significant proportion of victims across the world. The scarcity of these serums is a significant public health problem, especially in Sub-Saharan Africa and for some Asian countries in which the supply breakdown is imminent. In response to this situation, the World Health Organization has set up an action plan based on a multidisciplinary international cooperation aiming to improve quality and quantity of anti-ophidians serum production.

RESUME :

Les sérums antivenimeux sont préparés à partir du plasma d'animaux préalablement hyper-immunisés contre le venin pertinent. Lorsqu'il est injecté à un patient envenimé, le sérum antivenimeux neutralise le venin utilisé pour sa production. On parle alors de sérothérapie ou d'immunothérapie antivenimeuse.

Cette thèse a pour objectif de présenter les différentes étapes de production industrielles des sérums antivenimeux dirigés contre les venins de serpents, appelés sérums anti-ophidiens, mais aussi d'informer sur les causes et les conséquences de la pénurie actuelle de ces traitements.

La production des sérums anti-ophidiens doit respecter les principes qualité essentiels. Les améliorations successives des procédés de fabrication ont conduit à la production de nouvelles générations de sérums anti-ophidiens dotés d'une tolérance et d'une efficacité accrues.

Bien que les sérums anti-ophidiens constituent le seul traitement spécifique efficace et sûr contre les envenimations par morsure de serpent, ceux-ci restent indisponibles pour des milliers de victimes à travers le monde. Cette pénurie est un véritable problème de santé publique, particulièrement en Afrique subsaharienne et dans certains pays d'Asie où la rupture d'approvisionnement est imminente. Face à cette urgence, l'Organisation Mondiale de la Santé a mis en place un plan d'action, basé sur une stratégie de coopération multidisciplinaire internationale, visant à améliorer la qualité et le volume de la production des sérums anti-ophidiens.

DISCIPLINE :

Science pharmaceutique.

MOTS-CLES :

Sérum anti-ophidien – Morsure de serpent – Venin – Envenimation — Sérothérapie - Production industrielle – Immunoglobuline G - Pénurie.

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R :

Université de Bordeaux

UFR des Sciences pharmaceutiques

146 rue Léo Saignat

33076 BORDEAUX cedex