

XIV^e Actualités du Pharo :

« Intoxications & envenimations tropicales

Les venins des *Atractaspis*

Dr. Frédéric DUCANCEL (CEA)

&

Pr. Max GOYFFON (MNHN).

Les serpents du genre *Atractaspis*

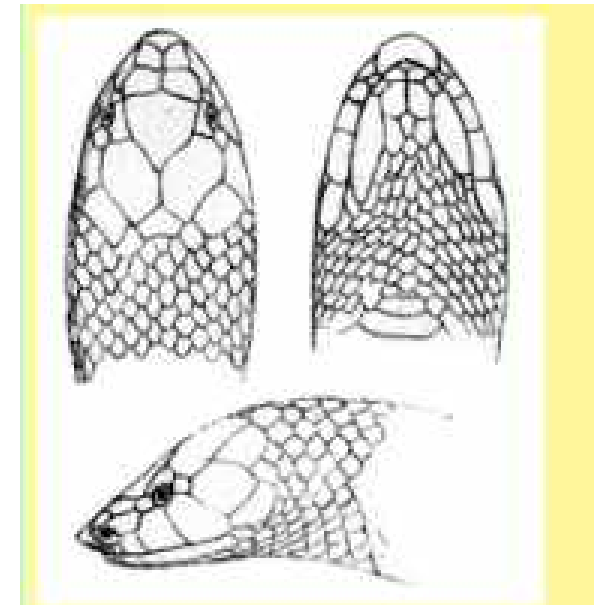
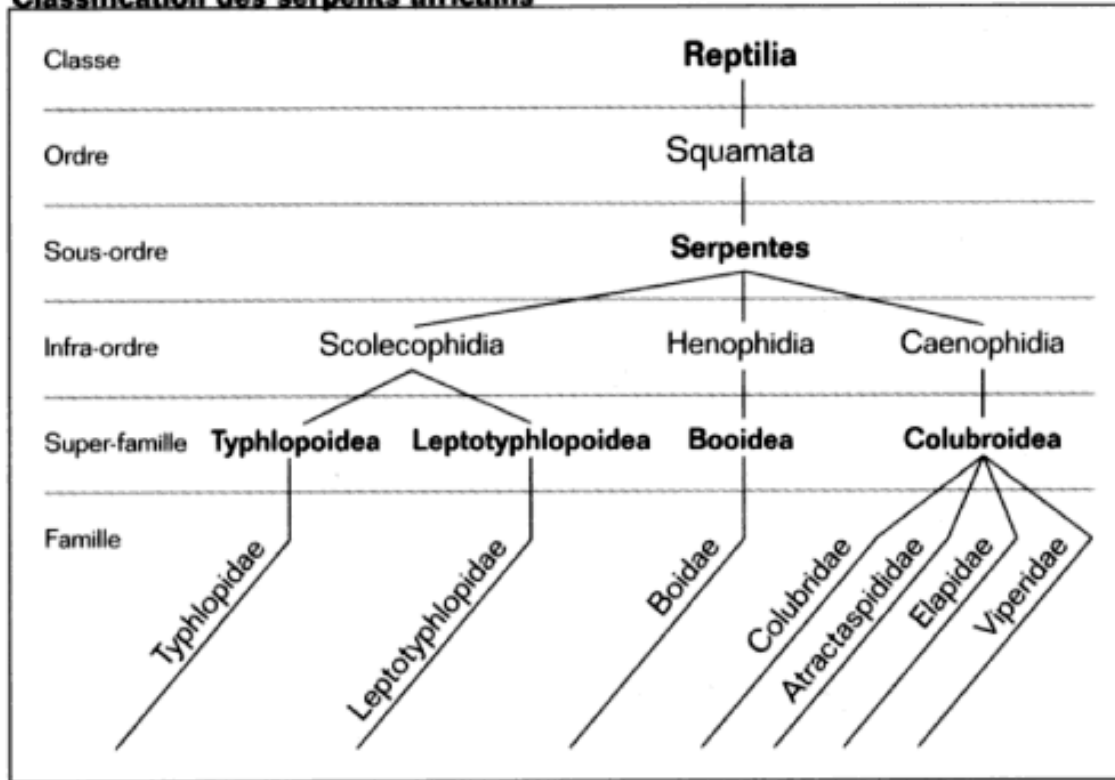
- Serpents fouisseurs de petites tailles : moins de 100 cm,
- Serpents ovipares : 2-10 œufs allongés par portée,
- Eclosion au bout d'environ 3 mois.



✉ **Position défensive/offensive : corps en partie arc-bouté et l'extrémité de la queue est courbée et émergente → leurre pour les prédateurs (mime la tête)...**

Les serpents du genre *Atractaspis*

Classification des serpents africains



Atractaspis rostrata GÜNTHER
1868, now a synonym of
Atractaspis bibronii SMITH
1849.

Modified from the original figure
in Günther 1868.

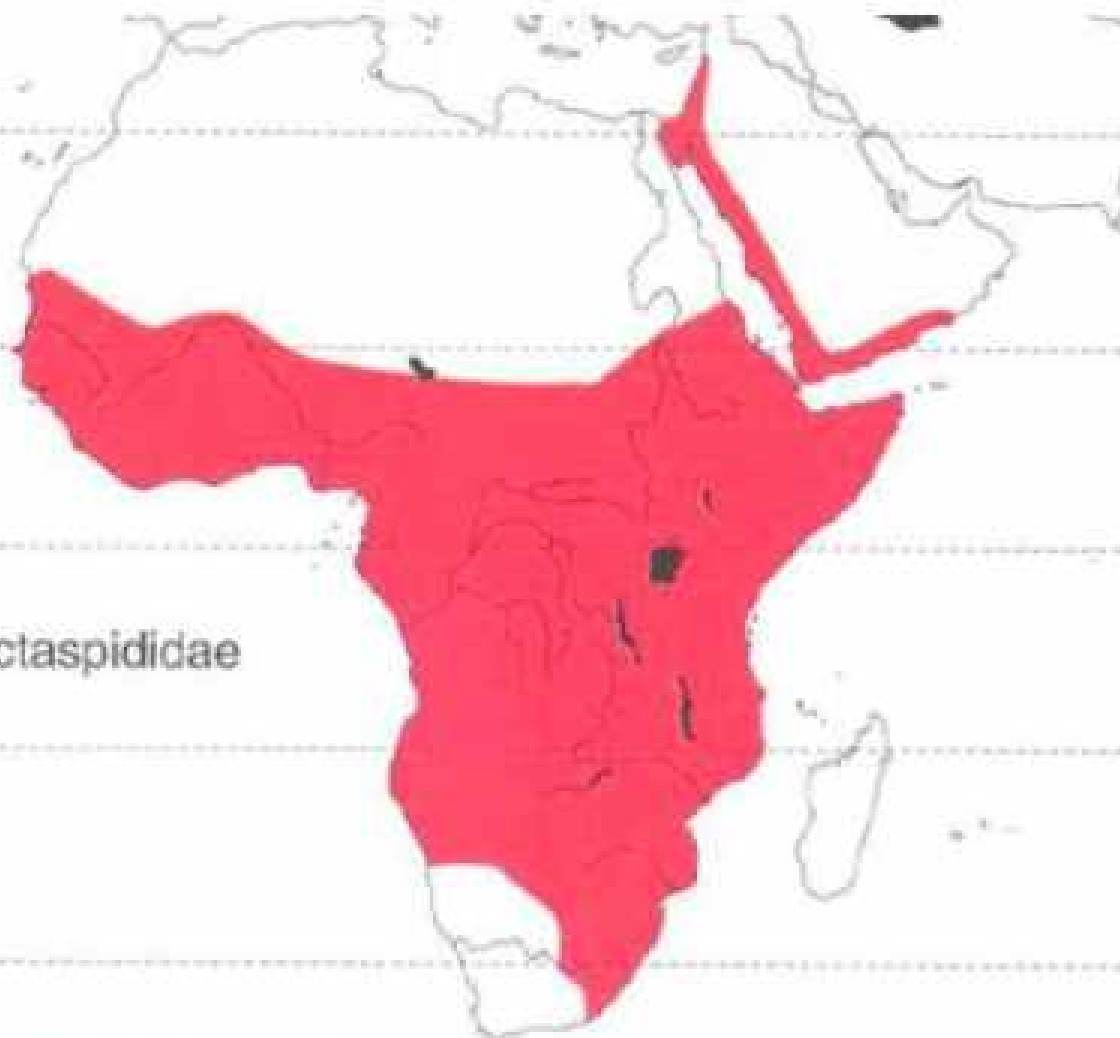
↗ Les Atractaspidés forment la quatrième famille de serpents venimeux

↗ Ressemblent aux Colubridés, tout en présentant des caractéristiques particulières :

- un maxillaire très réduit,
- avec une articulation complexe comme chez les Vipéridés,
- l'os préfrontal peut se redresser (solénoglyphe).

↗ Première description de serpents du genre *Atractaspis* en 1843, puis 1849.

**Serpents présents
dans tous les pays d'Afrique sub-saharienne,
ainsi qu'en Israël et dans la partie sud-ouest de la péninsule arabe
(Jordanie, Sultanat d'Oman, Arabie Saoudite) : 18 espèces décrites à ce jour.**



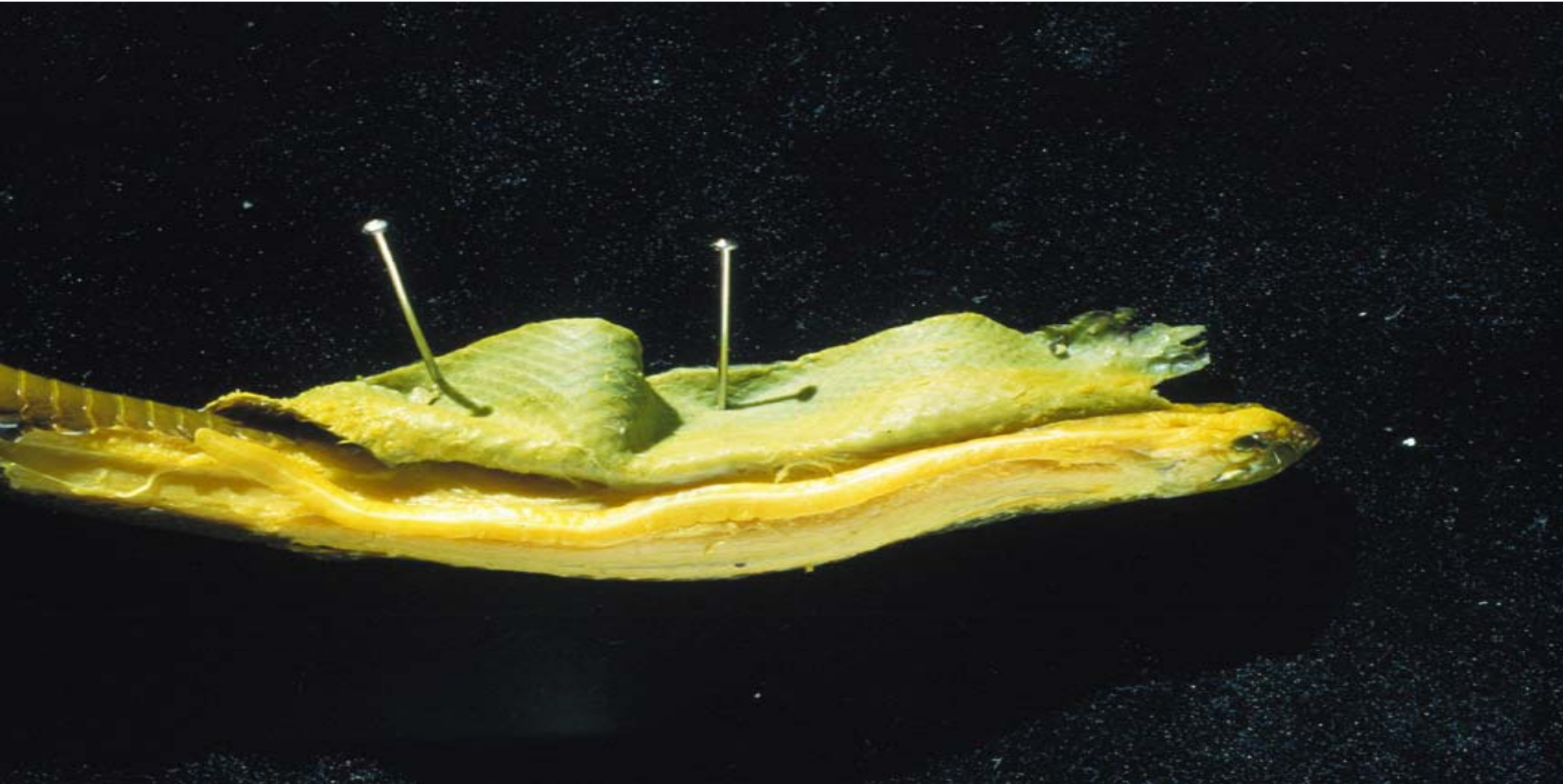
- Atrac. irregularis* (1843)
- Atrac. bibronii* (1849)
- Atrac. corpulenta* (1854)
- Atrac. Aterrima* (1863)
- Atrac. microlepidota* (1866)
- Atrac. fallax* (1867)
- Atrac. micropholis* (1872)
- Atrac. congica* (1877)
- Atrac. dahomeyensis* (1887)
- Atrac. leucomelas* (1895)
- Atrac. reticulata* (1896)
- Atrac. boulengeri* (1897)
- Atrac. duerdeni* (1907)
- Atrac. engdahli* (1913)
- Atrac. phillipsi* (1913)
- Atrac. magrettii* (1928)
- Atrac. scorteccii* (1949)
- Atrac. engaddensis* (1950)

Les serpents du genre *Atractaspis*

- Nourriture ⇒ petits animaux : lézards, serpents, amphibiens et rongeurs.
- « Piqûre » la gueule fermée (unique au sein des reptiles), grâce à deux dents creuses horizontales dont une seule dépasse à la fois !
- L'os maxillaire est de taille très réduite, et ne comprend qu'une seule dent creuse presque horizontale et capable de pivoter sur le côté (très différent des vipères).



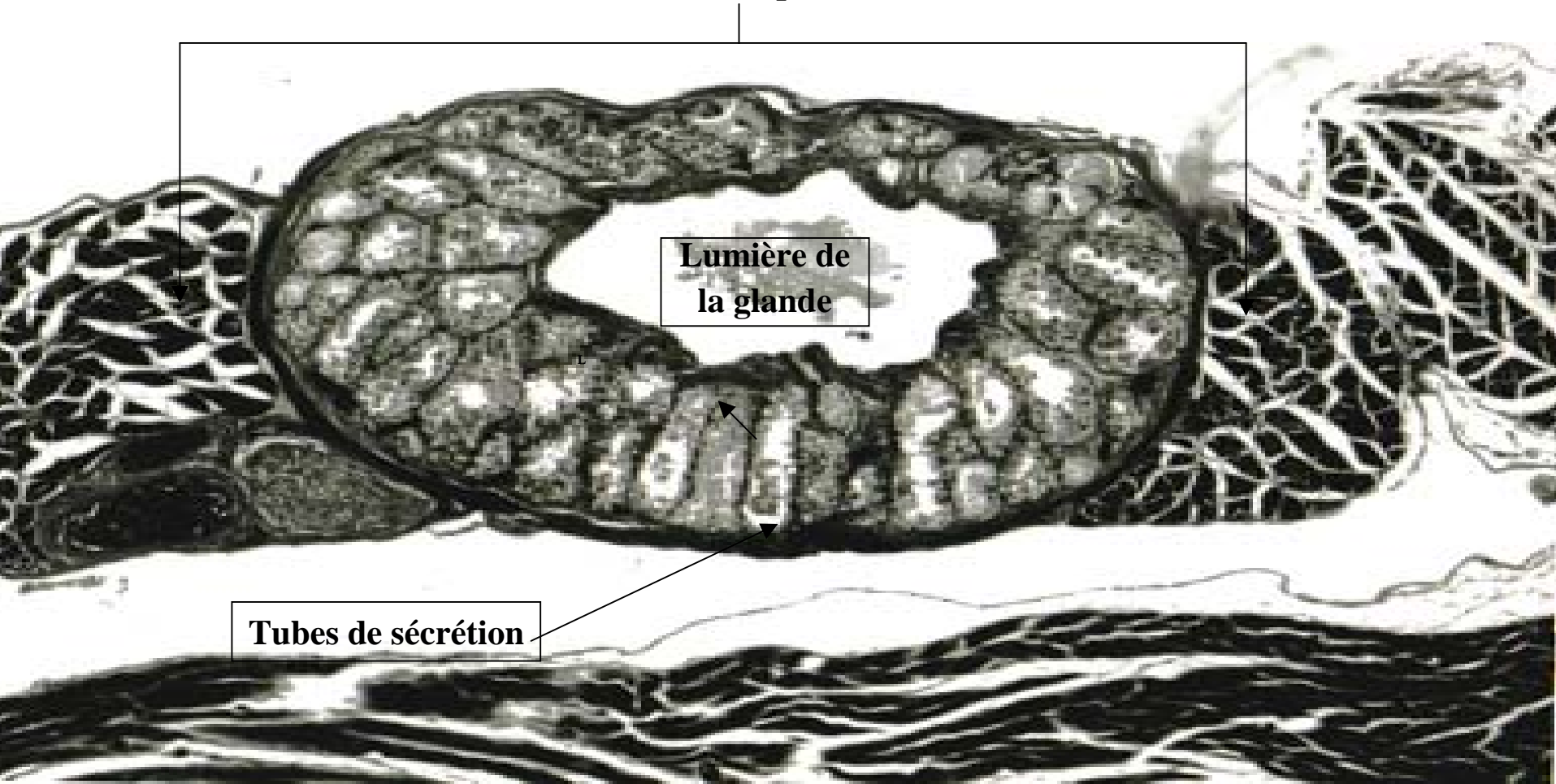
**Appareil venimeux chez *Atractaspis engaddensis* et *A. microlepidota* :
glande à venin en forme de « tube »**



**Appareil venimeux chez *Atractaspis irregularis*, *fallax* et *bibronii* :
glande à venin en forme de « sac »**

Appareil venimeux chez *Atractaspis engaddensis* : coupe transversale d'une glande à venin

Muscles compresseurs



Lumière de
la glande

Tubes de sécrétion

- ☐ On note l'arrangement concentrique des tubes de sécrétion autour de la lumière de la glande, et l'absence de glandes différenciées à mucus, comme c'est le cas pour les *Viperidae* et les *Elapidae*.
- ☐ Par contre on trouve des cellules à mucus dans chaque tube de sécrétion.
- ☐ Les muscles compresseurs sont présents tout au long de la glande.

Les venins des serpents du genre *Atractaspis*

☰ Les venins des *Atractaspis* sont principalement cardiotoxiques, avec des manifestations de type hémorragique et nécrotique. Leur toxicité est très variable d'une espèce à une autre.

Toxicité chez la souris des venins d'*Atractaspis*, (LD₅₀ en ng/g de poids corporel en i.v.)

<i>A. engaddensis</i>	75
<i>A. microlepidota</i>	80
<i>A. bibronii</i>	500
<i>A. dahomeyensis</i>	2000
<i>A. micropholis</i>	>3000

☰ Une dizaine de décès d'enfants et d'adultes répertoriées après des piqûres par *A. microlepidota*, *irregularis* et *engaddensis*.

☰ La mort survient en moins d'une heure, par arrêt du cœur, suite à un syndrome coronarien aigu et à un blocage auriculo-ventriculaire sévère.

Envenimation non mortelle par un *A. engaddensis* (Kurnik, D. et al., 1999, Toxicon)

D. Kurnik et al. / Toxicon 37 (1999) 221-227

☒ Zoologiste de 69 ans, traité depuis 10 ans pour de l'hypertension avec de l'énalapril à 5mg/dose.

Au bout de **5 minutes**, premiers signes d'envenimation :

- œdème,
- érythème,
- engourdissement.

Au bout de **15 minutes**, premiers effets toxiques :

- faiblesse générale,
- transpiration abondante,
- pâleur,
- fluctuations de la conscience.

Au bout de **30 minutes** :

- conscience normale,
- vomissements,
- diarrhée aqueuse sans saignement,
- tension de 170/70 au lieu de 140/80.



- Admission à l'hôpital **2 heures** après la piqûre avec mise sous perfusion de sérum physiologique : le malade est anxieux, présente un œdème dans tout le bras, un hématome au niveau du doigt piqué et une perte locale de sensibilité.
- Augmentation de tension sanguine diastolique (180/110), mais le rythme cardiaque est inchangé.

- **Trois heures plus tard**, pression sanguine normale, puis apparition de vésicules séreuses au niveau du doigt avec extension de l'œdème à tout le bras.

A partir du **second jour**, résorption progressive de l'œdème, retour de la sensibilité dans le bras, pression sanguine normale.

Au bout d'un mois, récupération totale de l'ensemble de la fonctionnalité du bras.

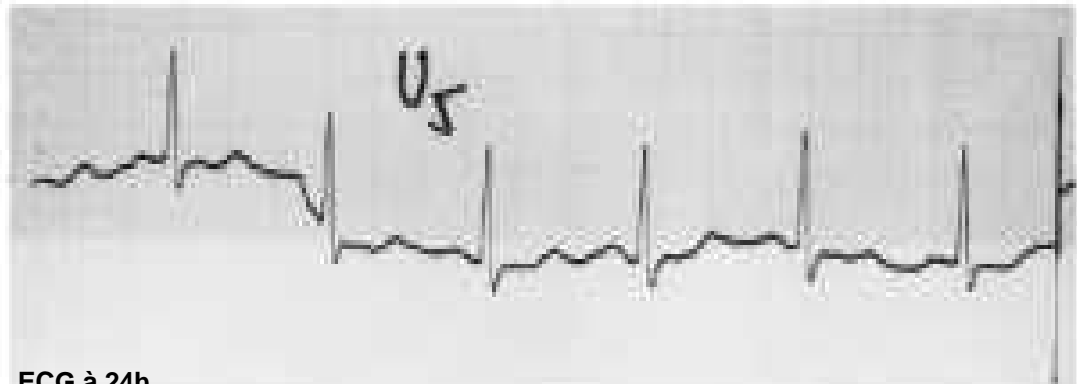
Envenimation non mortelle par un *A. engaddensis* (Kurnik, D. et al., 1999, Toxicon)

- ☐ L'électrocardiogramme effectué lors de l'admission à l'hôpital à montré :
 - une rythme cardiaque sinusal,
 - une absence de bloc auriculo-ventriculaire,
 - une réduction de l'amplitude des ondes T dans les dérivations DI et aVL.

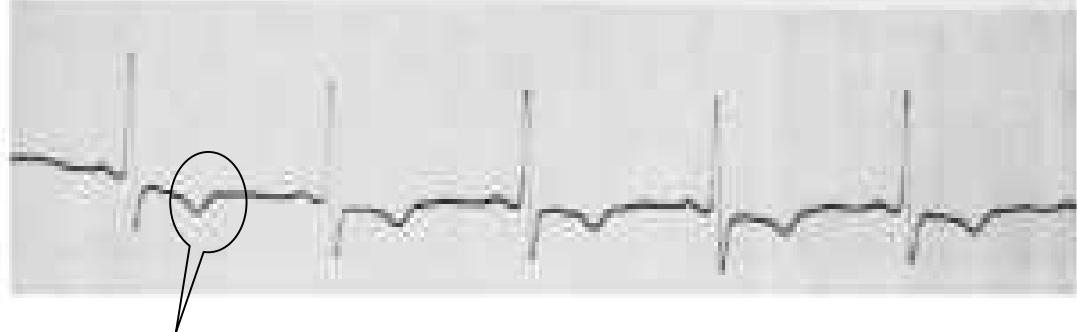
- ☐ Après 24 heures, l'ECG montre une inversion des ondes T dans les dérivations V5 et V6.
- ☐ Retour à la normale au cours des jours suivants.

- ☐ aucune arythmie n'a été observée,
- ☐ aucune douleur dans la poitrine,
- ☐ enzymes cardiaques normales,
- ☐ pas d'ischémie cardiaque,
- ☐ fonctionnement ventriculaire gauche normal.

ECG lors de l'admission.

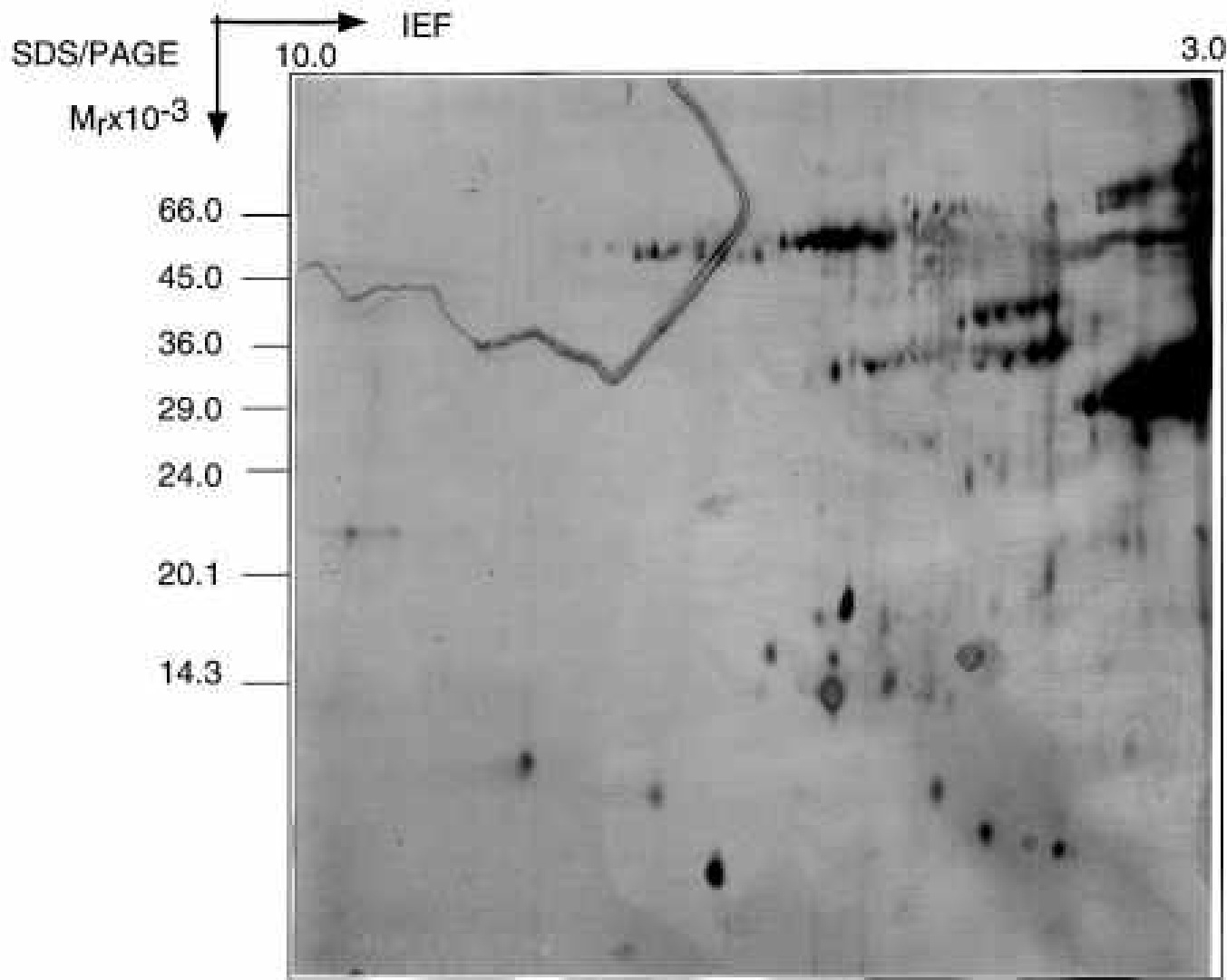


ECG à 24h.



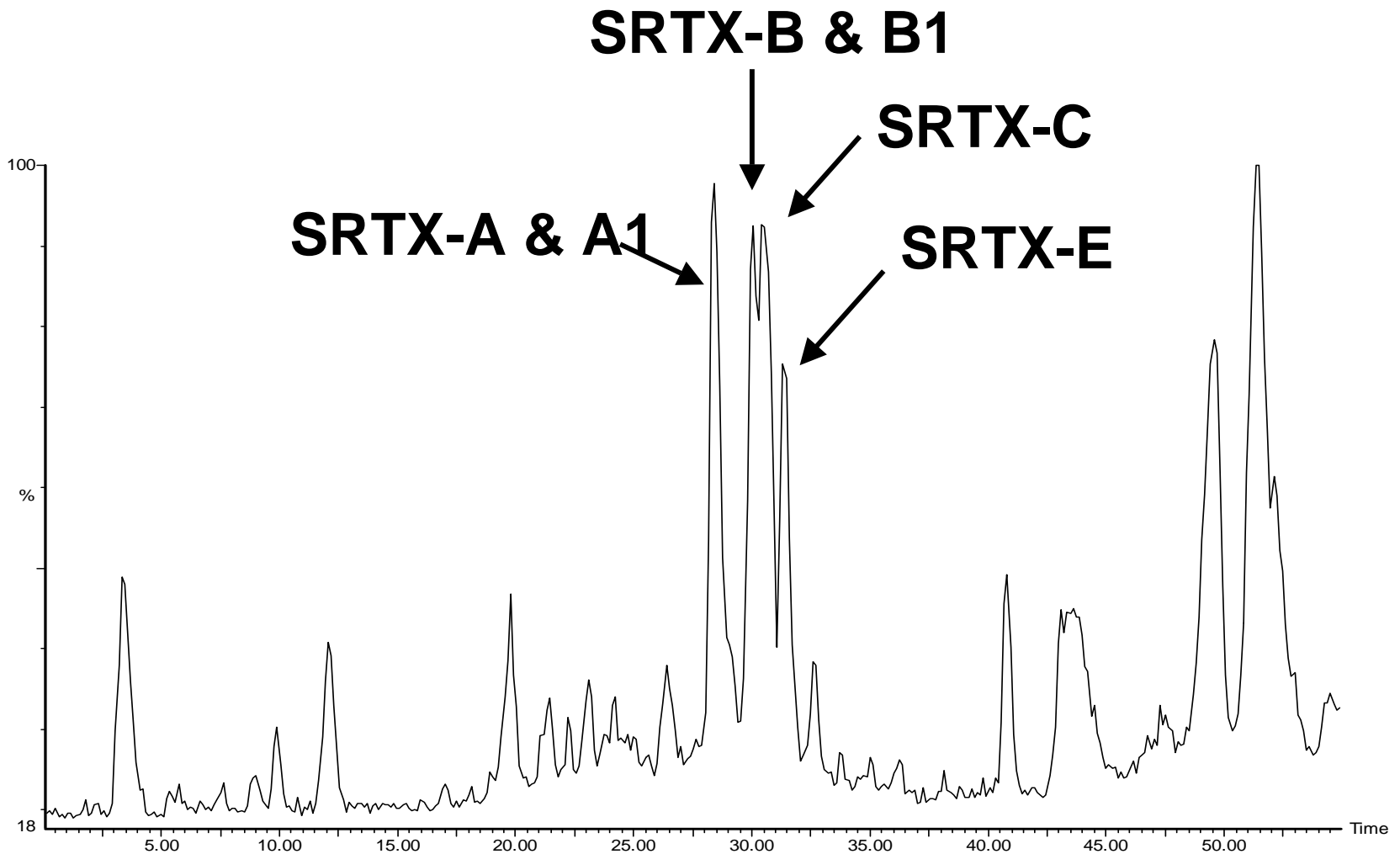
Inversion des ondes T

Gel bi-dimensionnel d'un venin brut d'*Atractaspis microlepidota*.



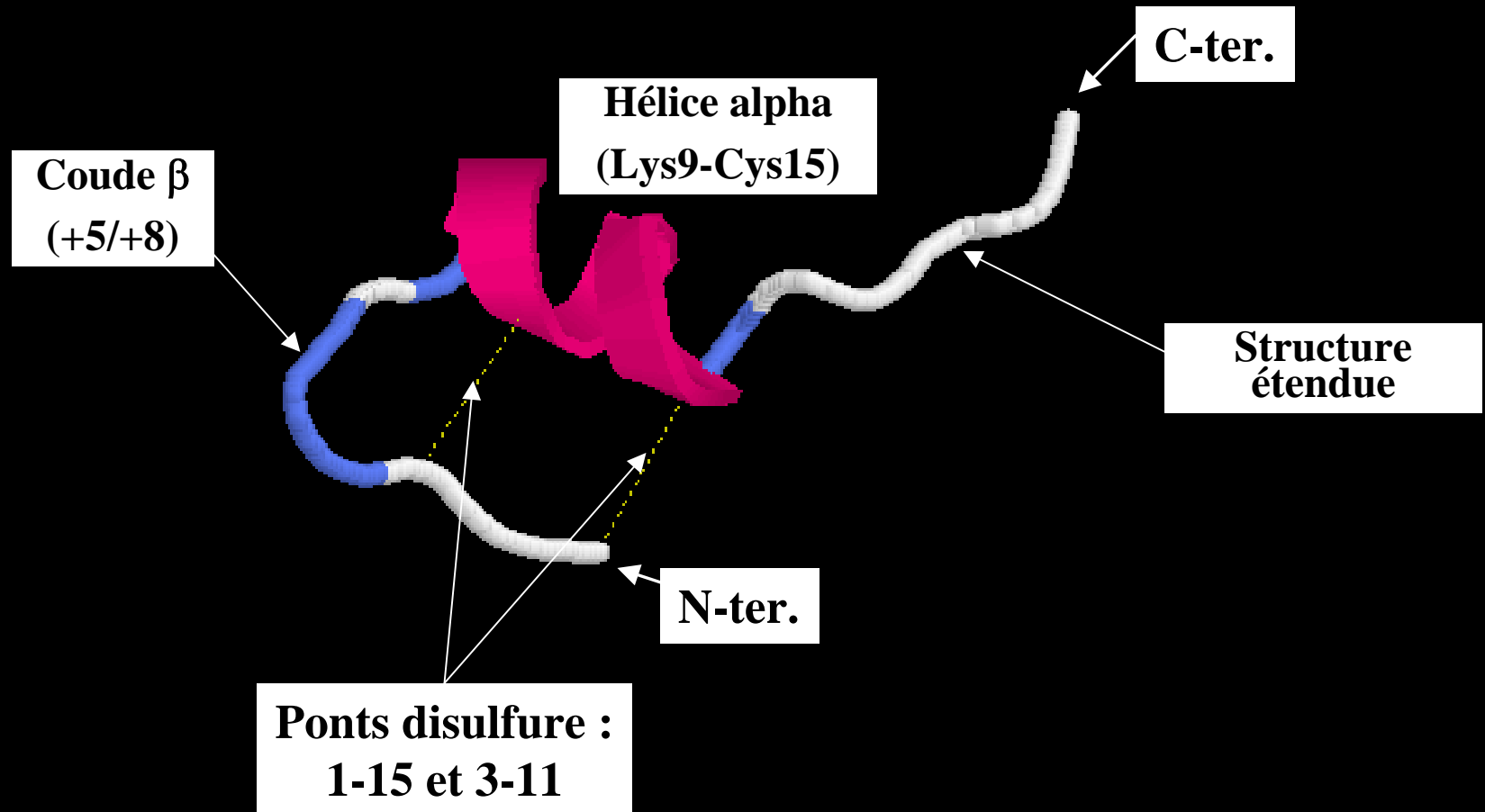
- ∟ Forte quantité (70%) de protéines vers 35 kDa (protéases), également vers 14 kDa (des PLA₂s)
- ∟ nombreux spots protéiques vers 3 kDa.

Sarafotoxines



✉ **Profil HPLC d'un venin complet d'*Atractaspis engaddensis* : plus de 100 composés différents.!**

Structure RMN de la sarafotoxine b (PDB 1SRB)



Les SRTXs d' *Atractaspis engaddensis* : 21 aa, deux ponts disulfure.

Mode d'action et cibles cellulaires des sarafotoxines

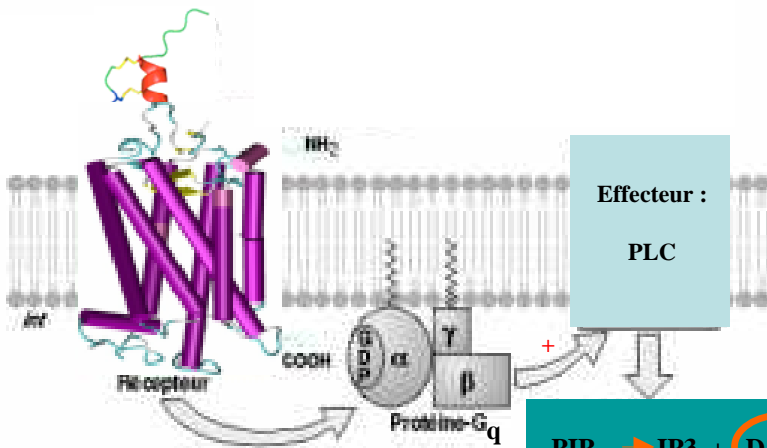
➤ SRTXs et ETs se lient aux muscles lisses de plusieurs organes : intestin, utérus, l'aorte, les vaisseaux sanguins, mais aussi au muscle cardiaque et à différents tissus cérébraux.

Muscle cardiaque

☐ ^{125}I - SRTX-b : liaison saturable, de haute affinité (K_D de 3-5 nM), et réversible pour une population homogène de sites au niveau des membranes atriales.

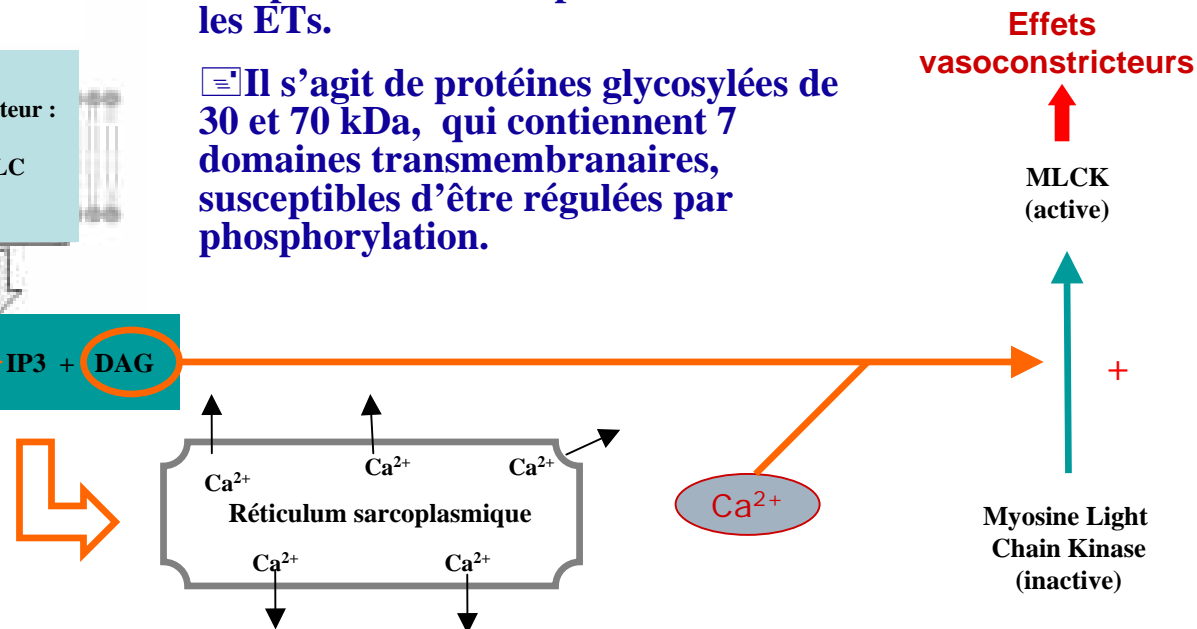
Cerveau

☐ ^{125}I - SRTX-b : liaison au cervelet de rat (K_D de 3.5 nM), et au cortex cérébral de rat (K_D de 0.3 nM).



☐ Il existe plusieurs types de récepteurs reconnus par les SRTXs et les ETs.

☐ Il s'agit de protéines glycosylées de 30 et 70 kDa, qui contiennent 7 domaines transmembranaires, susceptibles d'être régulées par phosphorylation.

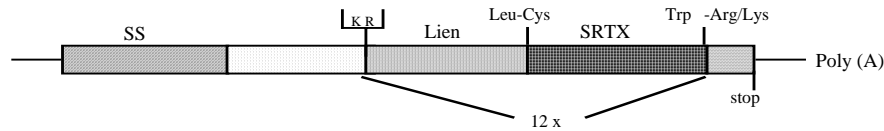


Bio-diversité moléculaire actuelle des sarafotoxines

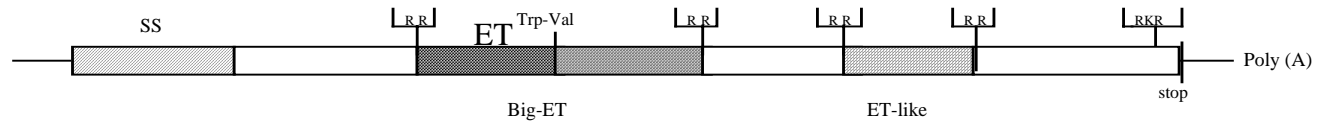
 la mise en évidence de ces nouvelles isoformes de SRTXs pose la question de leurs cibles biologiques : nouveaux récepteurs?

Précurseurs et gènes des sarafotoxines

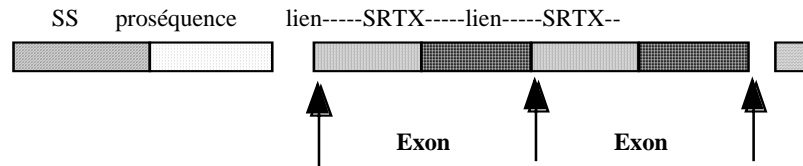
A) Structure du précurseur des sarafotoxines



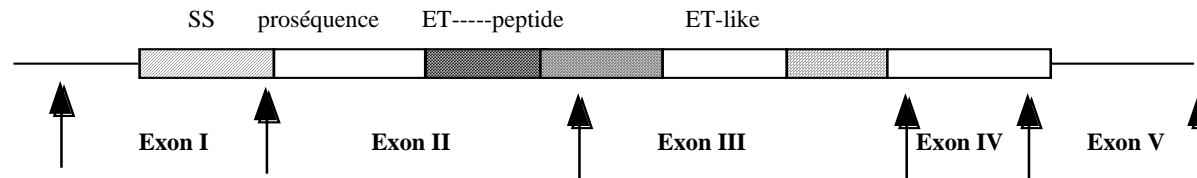
B) Structure du précurseur des endothélines



A) Organisation présumée du gène des sarafotoxines



B) Structure schématique du gène des endothélines humaines



☑ En dépit de fortes homologies structurales et fonctionnelles, SRTXs et ETs ont probablement suivi des chemins évolutifs différents!



Preparation of a novel antivenom against *Atractaspis* and *Walterinnesia* venoms[☆]

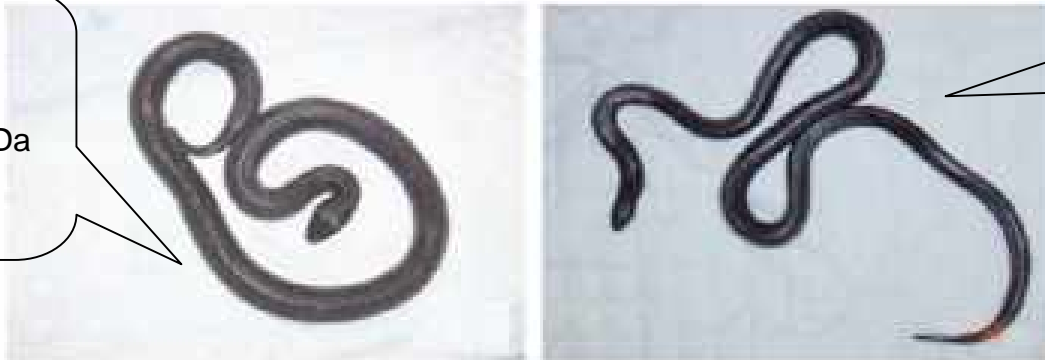
M. Ismail^a, M.S. Al-Ahaidib^b, N. Abdoon^b, M.A. Abd-Elsalam^{b,*}

^aOctober University, Cairo, Egypt

^bThe National Antivenom and Vaccine Production Center (NAVPC), Riyadh, Saudi Arabia

Available online 8 September 2006

Une des toxines majeures (TIII) du venin est une α -neurotoxine de 7 kDa qui agit au niveau post-synaptique.



30 % du venin est constitué de sarafotoxines

W. aegyptia (Black desert cobra); *A. microlepidota engaddensis* (Mole viper).

- ☐ Deux serpents qui cohabitent en Arabie saoudite.
- ☐ Pas d'anti-sérum contre les envenimations par *Atractaspis*.
- ☐ Idée : développer un anti-sérum bivalent!

Obtention du premier sérum antivenimeux efficace contre *A. microlepidota*.

Stratégie : utiliser comme antigène chez le cheval, une toxine hybride issue du couplage chimique entre TIII et la fraction SRTXs.

Lethality in mice of *Walterinnesia aegyptia* venom, *Atractaspis microlepidota* venom, their toxins and toxin conjugate

Venom, toxin or conjugate	LD50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iv \pm SEM
<i>Walterinnesia aegyptia</i> venom	230 \pm 9
T _{III} of <i>Walterinnesia aegyptia</i> venom	53.5 \pm 3.5
<i>Atractaspis microlepidota</i> venom	77.5 \pm 3.6
Sarafotoxins fraction	10.0 \pm 1.1
Toxin conjugate	408 \pm 11

Immunsation :

- 1^{ère} injection de 0,5 mg d'antigène en adjuvant complet de Freund.
- injections hebdomadaires de quantités croissantes d'antigène en adjuvant complet de Freund au cours des 2 premiers mois, puis en adjuvant incomplet pour les 4 derniers mois.
- arrêt de l'immunsation à 70 mg d'antigène.
- injections hebdomadaires de 1 mg des deux toxines pendant 2 mois.
- injections hebdomadaires de 2 mg des deux toxines pendant 2 mois.

Obtention du premier sérum antivenimeux efficace contre *A. microlepidota*.

Résultats (I) :

- La fraction $F(ab')_2$ du sérum protège les souris contre 20 DL_{50} de venin d' *A. microlepidota* et contre 50 DL_{50} de venin de *Walterinnesia aegyptia*.
- La fraction $F(ab')_2$ du sérum protège tous les rats qui ont reçu un dose minimale mortelle (33,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de venin d' *A. microlepidota* et ce jusqu'à 5 minutes après l'injection par i.v.
- La fraction $F(ab')_2$ du sérum neutralise complètement les manifestations hémorragiques et nécrotiques du venin d' *A. microlepidota*

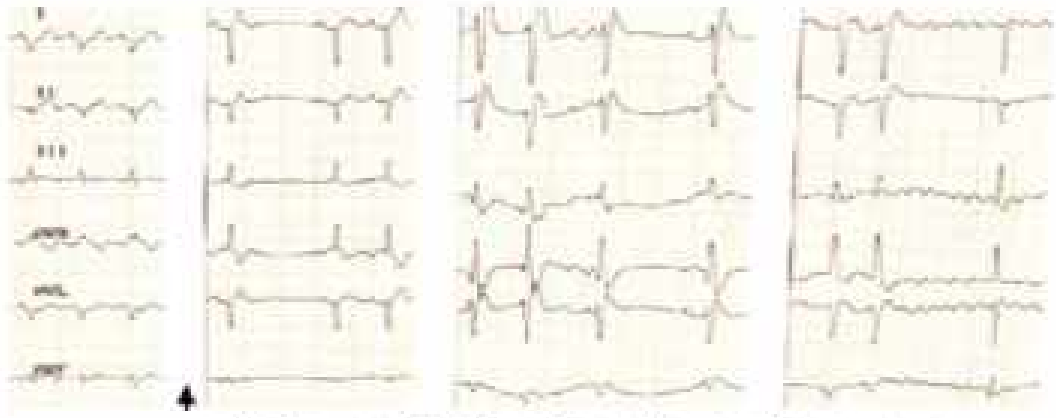


Obtention du premier sérum antivenimeux efficace contre *A. microlepidota*.

Résultats (II) :

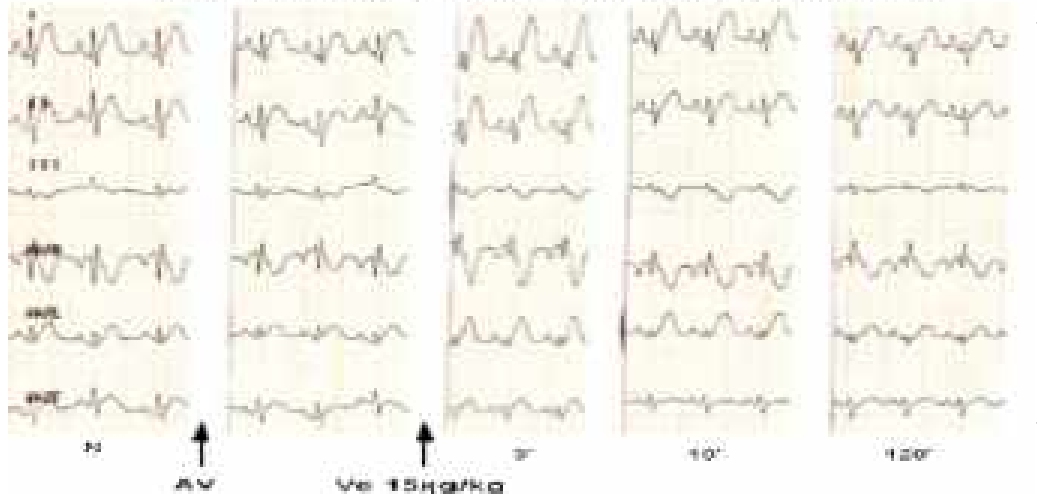
- La fraction $F(ab')_2$ du sérum protège complètement les lapins contre les effets cardiaques (cf. ECG) et la mort provoqués par le venin d'*A. microlepidota*.

Effect of *A. microlepidota* venom on ECG



- Prolongation de l'intervalle PR,
- Baisse des battements cardiaques,
- Dissociation complète AV,
- Arrêt cardiaque.

and its neutralization by antivenom



← ECG normal

Les venins des *Atractaspis*

Conclusions :

- des serpents particuliers,
- des venins atypiques susceptibles d'être mortels, riches en analogues fonctionnels et structuraux des endothélines de mammifères,
- une biodiversité naturelle de ces analogues supérieure à celle des endothélines,
- des nouveaux outils pour identifier de nouveaux sous-type de récepteurs aux endothélines ?
- un premier sérum anti-venin d'*Atractaspis engaddensis*.

MERCI !