



La découverte des sérums antivenins

Auguste, Césaire
PHISALIX (1852 - 1906)

P. 16



Les travaux de Louis Pasteur inscrits au
Registre international de la Mémoire du
monde de l'Unesco P.18



Institut Pasteur
du Maroc

LETTRE PASTEUR

Lettre trimestrielle d'informations Mai 2016 / N°5

Consultable sur le site : www.pasteur.ma



Pr Noima Elmdaghri
Directrice de l'Institut Pasteur du Maroc

Edito

Les piqûres de scorpion et les envenimations qui en découlent représentent un problème majeur de santé public. Au Maroc, les données épidémiologiques établies par le centre anti-poison (CAPM) montrent que les piqûres scorpioniques se placent en tête de toutes les intoxications relevées par le centre.

Malgré son importance, le traitement symptomatique devrait être associé au traitement spécifique (sérothérapie) afin de minimiser la létalité chez les envenimés. L'absence de production nationale de sérums antivenimeux est une question préoccupante et rend le Maroc vulnérable vu la raréfaction des fournisseurs en ces produits à l'échelle internationale. et la spécificité des espèces

La production des sérums à l'Institut Pasteur du Maroc a été effective jusqu'en 2001. Depuis, le Maroc dépend des importations pour ses besoins en médicaments d'origine biologique ainsi qu'en médicaments immunologiques et principalement les sérums antivenins.

Pour lutter contre ces envenimations, l'IPM a développé plusieurs axes de recherche sur les venins de scorpion, permettant de comprendre leur mode d'action et d'améliorer la production des anticorps anti-venins. D'autre part l'IPM a élaboré une feuille de route pour mettre en œuvre le projet de « Mise en place d'une unité de production de sérums anti-venins » afin de satisfaire à court terme les besoins nationaux en sérums anti-venin spécifiques aux espèces marocaines et de répondre, à moyen et long terme, aux besoins de la région (Afrique et Moyen-Orient).

De ce point de vue, la collaboration entre l'IPM et le CAMP est primordiale et pourrait contribuer à résoudre le tragique dilemme de tant de patients confrontés à une piqûre de scorpion

Les Envenimations Scorpioniques



A travers le monde et surtout en période estivale, les envenimations scorpioniques (ES) constituent par leurs fréquence et leur gravité, un réel problème de santé publique. Le bassin méditerranéen constitue l'une des régions du globe connue pour l'abondance mais aussi la diversité des espèces scorpioniques avec un endémisme élevé des espèces réputées dangereuses à l'échelle mondiale. Au Maroc, la gravité des ES est due à la diversité des genres de la famille des *Buthidae*, essentiellement le genre *Androctonus*, *Buthus* et *Hottentota* dont le venin est potentiellement létal.

Epidémiologie

Le scorpionisme est un problème de santé publique dans plusieurs pays du monde en particulier en Amérique Centrale, en Amérique du Sud, en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et en Inde. En 2008, l'incidence mondiale annuelle des piqûres de scorpion a été estimée à 1,2 million et la mortalité à plus de 3 250 décès (Chippaux 2008).

La carte de répartition géographique (figure 1) et le tableau 1 donnent une idée plus globale sur les envenimements scorpioniques à l'échelle mondiale et leur répartition géographique.

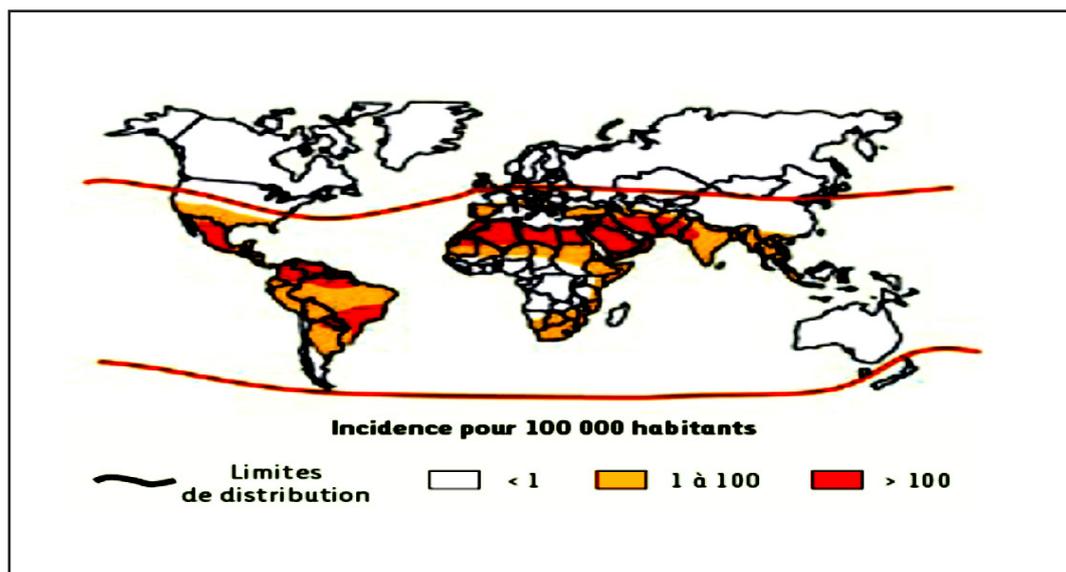


Figure 1 : Incidence mondiale des piqûres de scorpion. L'incidence est essentiellement limitée à quatre régions fortement endémiques : Mexique, Amérique du Sud à l'Est des Andes, Afrique du Nord, Proche et Moyen-Orient.

Tableau 1 : Incidence et mortalité (/100000 hab.) par piqûres de scorpions dans les principales régions du Monde où le scorpionisme est élevé. [Chippaux 2008]

Région	Population	Piqûres	Décès	Incidence	Mortalité
Afrique du Nord	157 000 00	350 000	810	223	0,52
Sahel Africain	162 000 000	6 15 0 0	570	38	0,35
Afrique Est et Sud	84 000 000	7 9 0 0 0	245	94	0,29
Proche et Moyen Orient	190 000 000	166 500	796	88	0,42
Asie	1 265 000 000	2 5 0 0 0 0	645	20	0,05
Mexique	107 000 000	250 000	75	234	0,07
Bassin Amazonien	79 000 000	1 7 5 0 0	20	22	0,03
Amérique du Sud Est	220 000 000	36 000	110	16	0,05

Au Maghreb, l'incidence annuelle des piqûres peut atteindre 500 pour 100.000 habitants avec une létalité de 1 à 2%. Celle-ci est en forte diminution grâce à une prise en charge mieux adaptée. Cependant, dans les régions sahéliennes, la létalité reste très élevée, en raison d'une faible couverture sanitaire.

Au Maroc, l'intoxication par piqûres et envenimations scorponiques (PES) représente une vraie problématique de santé publique durant les périodes chaudes. En effet, selon les données du Centre Anti-Poison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM), la piqûre de scorpion occupe la première place parmi les différentes intoxications (30-50 %). avec un taux d'incidence annuel de 1,2 ‰ variable de 0 à 2,6 ‰ selon les régions (Fig. 2). Chaque année 4 décès sont notifiés pour 1000 piqûres dont 90 % sont rapportées chez les enfants âgés de moins de 15 ans. (Dr R. El Oufir - CAPM)

MAGHREB

-Incidence annuelle
500 / 100.000 habitants
- Létalité 1 à 2%
(Chippaux 2008)

MAROC

-Incidence annuelle
1,2‰ habitants
- Décès 4 pour
1000 piqûres
(CAPM)

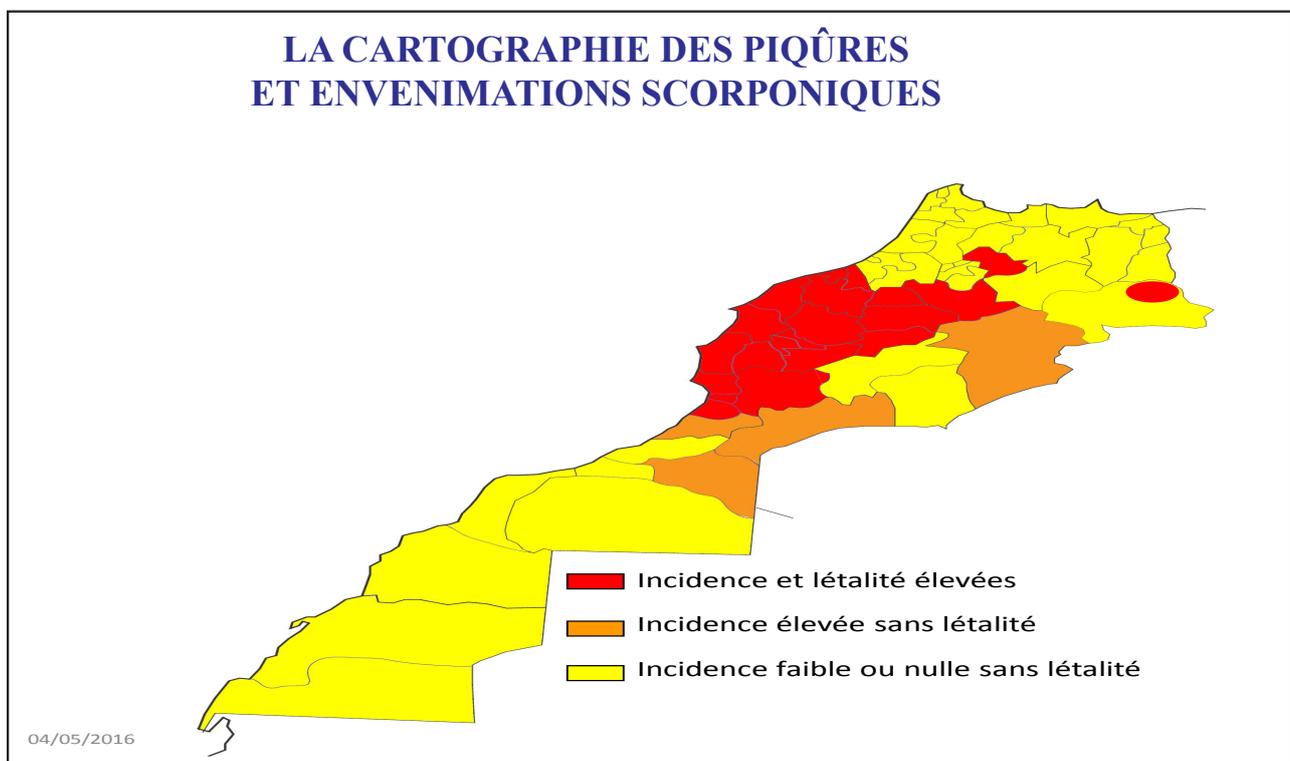


Figure 2: Carte du Maroc montrant les zones d'endémicité variable selon l'incidence et la létalité des piqûres et envenimations scorponiques (CAPM)

Répartition des scorpions

Sur 1.500 espèces de scorpions, moins d'une trentaine sont reconnues comme dangereuses pour l'homme. Ils sévissent principalement dans la zone intertropicale, en Amérique latine (Mexique, Brésil), en Afrique du nord, au Moyen Orient et dans le sous continent indien. Tous les scorpions dangereux font partie de la famille des Buthidae (Francke 1982); sauf à Madagascar et en Australie où les Buthidae autochtones ne posent pas de problèmes médicaux particuliers (Goyffon et Heurtault 1995).



Le Maroc possède la faune scorpionique la plus riche et la plus diversifiée de l'Afrique du nord et même du pourtour méditerranéen. Sa particularité écologique (massifs montagneux, plateaux, plaines et dunes littorales), démographique (population urbaine et rurale dispersée) et climatique (dominance atlantique, saharienne et continentale) sont à l'origine d'une biodiversité scorpifanistique élevée. Il compte quelque 50 espèces de scorpions, dont 22 venimeuses et dangereuses, (Ali Boumezzough Jeuneafrique.com 21/5/2013)

Au Maroc les PES sont dues aux scorpions appartenant à trois familles: les Chactidae, les scorpionidae et les Buthidae. Cette dernière est la seule famille qui possède les formes à venin mortel pour l'Homme.

Dans la famille des Buthidae, il y a les scorpions de couleur noire : *Androctonus mauritanicus* ; l'espèce la plus répandue et la plus dangereuse particulièrement dans les régions Sud (zone côtière atlantique, dans la vallée de Souss) , et les scorpions de couleur jaune : *Buthus occitanus*, l'espèce la plus dangereuse dans le monde récemment découverte au Nord-est du Maroc (Lourenço & al. 2009)

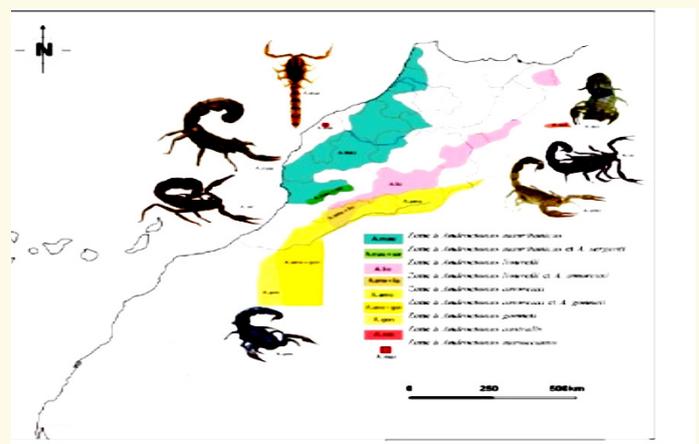


Figure 3 : Zone de répartition du genre *Androctonus* selon Lourenço & al. 2009

Composition

Les scorpions sont de véritables fossiles vivants qui datent du Silurien. Ils sont parmi les premiers arthropodes à apparaître à la surface de la terre. Ce sont des invertébrés pourvus d'un exosquelette chitineux articulé. Ce sont des arthropodes nocturnes, résistants et adaptables à des milieux très variés, y compris anthropiques. Ils sont définis, sans ambiguïté, avec la vésicule à venin située à l'extrémité de la queue prolongée par un aiguillon permettant l'inoculation du venin. Cette vésicule renferme deux glandes oblongues symétriques par rapport au plan sagittal logées dans le dernier segment caudal, lequel se termine par un aiguillon arqué robuste et très acéré (Fig 4)

Le scorpion se sert souvent de son venin pour paralyser les grandes proies mais aussi pour se défendre. L'inoculation est contrôlée par l'animal de sorte que toute piqûre ne signifie pas obligatoirement injection de venin. Ce dernier est composé des neurotoxines, des enzymes tels

que les phospholipase, acétylcholinestérase, hyaluronidase et des molécules allergiques comme l'histamine. Suivant leurs caractéristiques immunologiques et chimiques, les neurotoxines sont subdivisées en quatre familles selon le type de canal ionique auquel elles réagissent (les canaux sodium (Na⁺), potassium (K⁺), chlore (Cl⁻) et calcium (Ca²⁺).

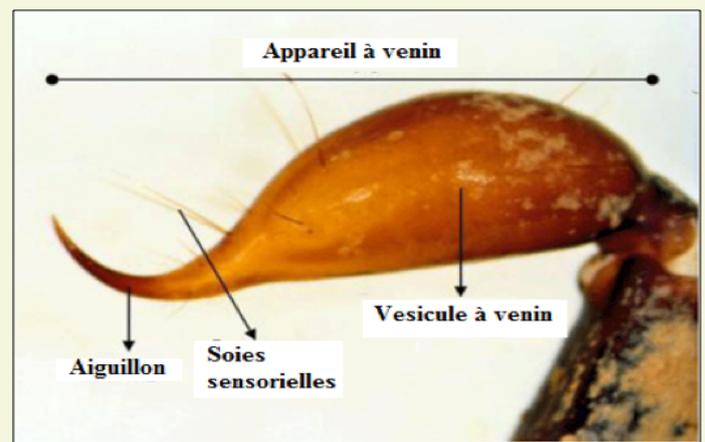


Figure 4 : Telson de scorpion (Yigit.N, Benti. M, 2010)

Mode d'action et Physiopathologie

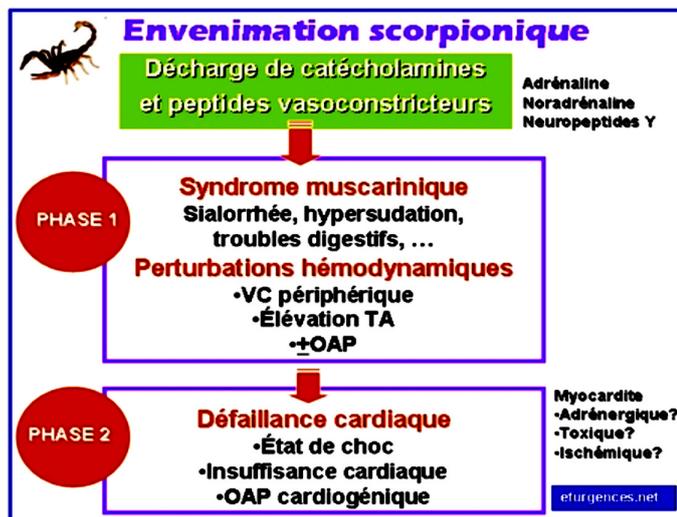


Figure 5: Effets physiopathologiques de l'Envenimation scorpionique
<http://www.efurgences.net/index.php/seformer/toxicologie>

Les neurotoxines présentes dans le venin sont un puissant activateur du système nerveux autonome engendrant une libération massive des neurotransmetteurs issus des terminaisons nerveuses sympathiques et parasympathiques et des glandes surrénales, cette décharge est la principale responsable des effets physiopathologiques du venin dont le résultat est une défaillance multi-viscérale des organes, incluant une insuffisance cardiorespiratoire associée à une défaillance neurologique. Goyffon et Heurtault 1995 ; Loret et Hammock 2001). (Figure 5)

La réponse cardiovasculaire de l'organisme à l'envenimation scorpionique se produit en deux phases : la première, vasculaire périphérique secondaire à la libération massive des catécholamines et d'autres peptides vasoconstricteurs. La seconde, consiste en des modifications structurales morphologiques et fonctionnelles de la performance du myocarde.

Manifestations cliniques

Le patient peut être simplement piqué (signes locaux) ou envenimé présentant alors des signes généraux. Les manifestations cliniques de l'envenimation sont très variables d'un patient à un autre aboutissant à des tableaux cliniques divers. (Goyffon et al, 2007)

L'évolution de l'envenimation est rapide, après une phase de latence d'une à deux heures pendant lesquelles le seul signe clinique est la vive douleur manifestée par le patient. Généralement, le tableau clinique se résume à des manifestations locorégionales (90 % des cas). La sévérité de l'envenimation scorpionique est classée selon les stades suivants : (Tableau III).

Tableau III : Classification clinique des Piqûres et des Envenimations Scorpioniques (PES)
(Adaptée par Pr R Soulaymani Bencheikh)

Classe I 90%	Symptomatologie locale : Isolée au point d'inoculation : douleur, rougeur, œdème local
Classe II 7%	Présence de signes généraux : T>38°C, manifestations digestives (nausées, vomissements, diarrhées, ballonnement abdominal), accès hypertensif et priapisme Signes prédictifs de gravité : Priapisme, vomissements, hypersudation, fièvre >39°C et âge ≤ 15 ans.
Classe III 3%	Signes de défaillance vitale : <ul style="list-style-type: none"> - Cardio circulatoire : hypotension, troubles du rythme, état de choc ... - Respiratoire : Cyanose, difficulté respiratoire, OAP... - Neurologique : agitation, irritabilité, convulsions, obnubilation, coma...

Les facteurs de risque sont :

- **L'âge du malade** : l'adulte jeune est le plus touché par les piqûres, mais nous retrouvons les taux de létalité plus importants aux âges extrêmes.
- **La taille du scorpion** : la quantité de venin inoculée peut-être proportionnelle à la taille du scorpion.
- **Le siège anatomique de la piqûre** : les membres sont plus fréquemment touchés, mais la piqûre est plus dangereuse dans les régions vascularisées
- **Les tares associées**
- **La saison** : la période chaude est la plus redoutable

Stratégie Nationale de lutte contre les envenimations scorpioniques



Dr Rhizlane El Oufir (CAPM)

Conscient de l'importance des Piqûres et Envenimations Scorpioniques (PES) puisque c'est la 1^{ère} cause des intoxications (30% - 50%) déclarées au centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM) et de leur gravité car 90% des cas de décès sont des enfants ≤ 15 ans, le CAPM s'est engagé depuis 1990 à mettre le point sur cette pathologie. Le résultat étant l'élaboration en 2001 d'une stratégie nationale de lutte contre les PES objet d'une circulaire ministérielle (DELM/ INH/CAPM du 17 mars 1999) adressée à toutes les délégations du Ministère de la santé et qui a été renforcée en 2013 par l'introduction de la lutte anti ophidienne.

La stratégie nationale de lutte contre les PES a pour objectifs de diminuer la morbidité et la mortalité causées par les PES et de rationaliser les dépenses de santé.

Les principales composantes de la stratégie reposent sur:

1/Formation du personnel médical et paramédical

2/Amélioration de la *CAT devant une *PES

Afin de faciliter et d'assurer une bonne prise en charge des patients envenimés, des kits thérapeutiques spécifiques aux PES ont été conçus par le CAPM en 2007, comprenant tous les médicaments et les fongibles nécessaires en plus d'un dossier d'hospitalisation, une fiche des effets indésirables et une affiche CAT. Ces Kits ont été distribués aux provinces ayant notifié des cas de décès et à toutes les régions du Maroc à partir de 2010.

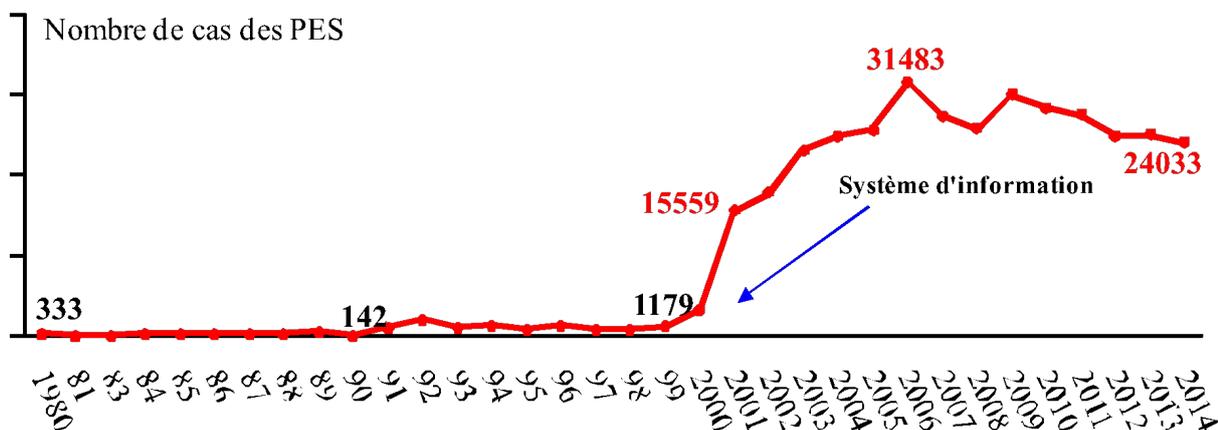
3/ Mise en place d'un système d'information spécifique.

Ce système d'information comporte 4 supports distincts :

Le registre: est une base de données sur laquelle on repère les cas de PES. Il est mis à la disposition de toutes les formations sanitaires (dispensaires, centres de santé et services des urgences des hôpitaux). Les données recueillies sont analysées mensuellement, au niveau de chaque délégation médicale puis transmises sous forme de relevé mensuel au CAPM pour le calcul des indicateurs de suivi, provinciaux, régionaux et nationaux

En cas d'envenimation (classe II ou III), **La Fiche de Référence** : accompagne le patient au cours de son transfert vers une autre structure sanitaire. Elle permet la communication entre la formation sanitaire qui réfère et celle de référence.

La fiche d'hospitalisation : équivalente à **une fiche de réanimation** : elle permet la standardisation de la surveillance clinique, évolutive et thérapeutique ainsi que l'évaluation de la prise en charge thérapeutique.



* CAT : Conduite à tenir

Figure 6 : Evolution des déclarations des PES de 1980 à 2014

4/ Information, Éducation et Communication (IEC)

Plusieurs actions d'éducation et de sensibilisation de la population sont entreprises pour prévenir les piqûres de scorpion et pour améliorer la prise en charge des patients piqués avant l'arrivée à la structure sanitaire. Ce programme (IEC) implique la participation de plusieurs intervenants sociaux à savoir la communauté elle-même, les autorités et les collectivités locales, les leaders religieux, les départements ministériels de la santé mais aussi de l'agriculture, de l'éducation nationale, des travaux publics. IEC repose sur la diffusion de supports d'information (Affiches, cassettes/CD audio, dépliants, autocollants, brochures, émissions radio...) et sur l'organisation des séances de sensibilisation au niveau des lieux de rassemblement de la population, au niveau des centres de santé et au niveau des écoles lors des campagnes IEC en milieu scolaire.

لنحمي أنفسنا من لسعة العقرب

عند وقوع اللسعة

وسائل الوقاية من اللسعة

- إزالة الحطب للتراحة قرب البيوت
- تليط حيطان المنزل لتصبح ملساء على ارتفاع متر على الأقل
- ترتيب الأمتعة المرصعة والحقن كما هو معتاد
- تربية الدواجن التي تأكل الحشرات
- إزالة الحطب من العروق أو في فصل الصيف
- فحص الإطعمة، الملابس والبراق قبل استعمالها
- البحر الماء للتراحة أو نقل الأمتعة، الأثاث، الأحطاب أو الأمتعة

علامات التسمم

- ارتفاع أو انخفاض درجة الحرارة
- قيء، وسخ في البطن وإسهال
- عرق وإرهاق
- إضطراب في دقات القلب و في التنفس
- ما يجب تجنبه
- البرق أو القوس
- ربط العنق للصاب
- استعمال بعض المواد الحادة، الفلز
- استعمال الأمتعة

ما يجب عمله

- إزالة الثوب من الملابس، الأحذية، الحذاء أو حذاء
- إخراج الصاب من المكان الذي لسع فيه
- ملاحظة حجم و لون الحبوب
- تحلية شايه و فرغ القعدة
- حصول الصاب من أقرب محطة طبية



Mauvaises Pratiques A Eviter

Inspiré des croyances légendaires de la population, le traitement traditionnel reste sans effet, voire même dangereux, et il faut impérativement bannir:

- » L'incision et la scarification: risque d'élargir la surface de diffusion du venin avec risque d'infection,
- » La succion: risque d'entraîner l'envenimation de la personne qui la pratique,
- » La pose du garrot: risque d'entraîner une gangrène et par conséquent une amputation du membre blessé ou encore risque de «crush syndrome» lors de la levée brutale du garrot,
- » La cryothérapie qui engendre une vasoconstriction et peut occasionner des gelures qui induiraient une nécrose cutanée,
- » Le recours aux moyens traditionnels (gaz, brûlures,....).



CONDUITE À TENIR DEVANT UNE PIQÛRE DE SCORPION



TRAITEMENT SYMPTOMATIQUE

Interrogatoire

- Mettre en confiance le patient, confirmer la piqûre,
- Préciser les conditions de la piqûre (lieu géographique, date et heure; circonstances...),
- Noter le temps post piqûre (T.P.P),
- S'interroger de l'existence des signes généraux,
- Reliever les facteurs de risque (jeune âge, origine, type de scorpion...).

Examen local

- Préciser le siège de la piqûre (point punctiforme),
- Rechercher les signes locaux,
- Rechercher les signes locorégionaux

Examen général

- Evaluer l'état de conscience (score de Glasgow),
- Rechercher les signes de détresse vitale (bruit de galop, râle crépittants, signes de lutte chez l'enfant, marbrures, cyanose avec froideur des extrémités, convulsions, coma...)
- Prendre: tension artérielle (TA), fréquence cardiaque (FC), rythme cardiaque (RC), fréquence respiratoire (FR), température (T°), poids (P),
- Rechercher les signes généraux,
- Rechercher les signes prédictifs de gravité.

Mise en condition

- Lors du transfert**
- Position demi-assise ou position latérale de sécurité avec liberté des voies aériennes,
 - Prise d'une voie veineuse périphérique de bon calibre avec perfusion de base de sérum glucosé à 5%: enrichi, par litre, de NaCl (3g) + KCl (1.5g): 80 ml/kg/24h pour nourrisson, 50ml/kg/24h pour enfant <12 ans, 30 ml/kg/24h pour enfant 12 ans et adulte
 - Initier le traitement de l'état de choc pour la classe III: Dobutamine goutte à goutte (*)
 - Oxygénothérapie nasale par masque ou sonde (3 L/min),
 - Massage cardiaque externe (M.C.E), et le bouche à bouche (15 massages pour 2 insufflations), perfusion de SS à 9‰ et injection d'adrénaline (1mg en IV) à répéter toute les 3 à 5 min) en cas d'arrêt cardio-circulatoire.

- En milieu de réanimation**
- Maintenir la mise en condition du patient,
 - Mise en place d'une sonde urinaire,
 - Mise en place d'une sonde gastrique.

NB: Dobutamine goutte à goutte (*): diluer une ampoule de 250mg de dobutamine dans 250ml de sérum salé à 9‰, soit 1 goutte=50µg de dobutamine: la dose de départ est de 5µg/kg/min; en sachant que 1mg=1ml et 1ml=20 gouttes et donc on peut calculer le nombre de gouttes par minute (1er exemple pour un enfant de 10kg: 5x10/60 = 50µg/min = 1goutte/min; 2ème exemple pour un enfant de 15kg: 5x15/60 = 75µg/min = 1.5 gouttes/min; mais sur le plan pratique majorer à 2 gouttes/min).

En milieu extra hospitalier (classe I):

- Désinfection locale par un antiseptique non alcoolique.
- Douleur locale:
 - Paracétamol:
 - Enfant: 60 à 80 mg/kg/24h en 4 prises
 - Adulte: 3g/24 en 3 prises.
 - Crème Lidocaïne-prilocaine (EMLA® 5%) en application locale (à couvrir d'un pansement)
 - Vessie de glace (à défaut de la crème anesthésiante).

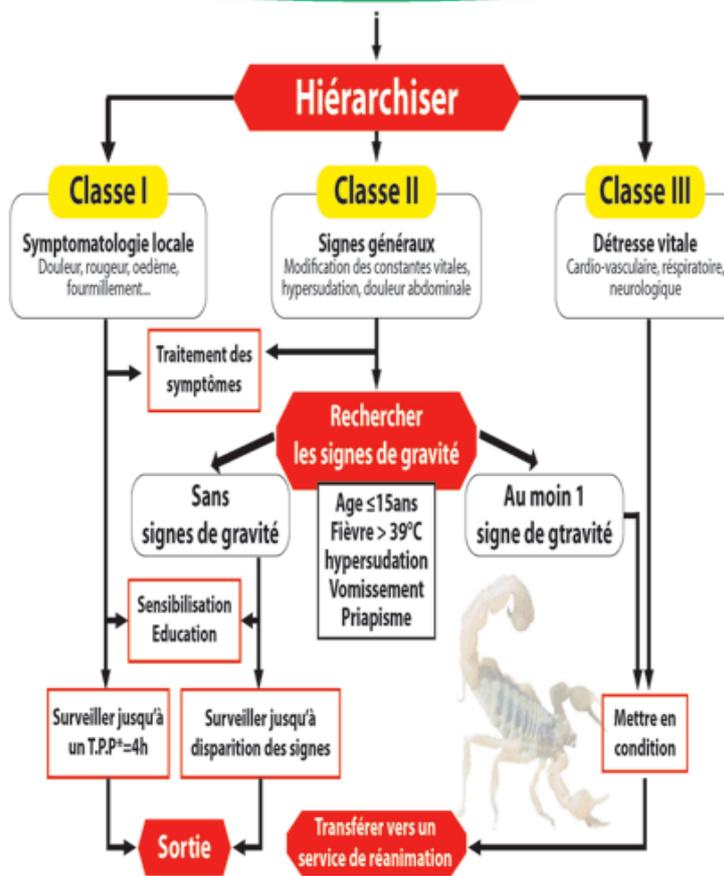
En milieu hospitalier (classe II):

- Fièvre:
 - Moyens physiques (vessie de glace),
 - Paracétamol: (voir dose ci-dessus).
- Vomissements:
 - Antémétique disponible: 0,15 mg/kg à répéter toutes les 6 heures.
- Douleurs abdominales: Antispasmodique non atropinique:
 - Phloroglucinol (Spasfon®):
 - Adulte: 1 à 2 ampoules en IV ou IM 3 fois/24h.

En milieu de réanimation (classe III):

- Convulsions: Diazépam (Valium®):
 - Enfant: 0.5 mg/kg en intra rectal (IR) sans dépasser 10mg par injection,
 - Adulte: 5 à 15 mg/24h en IM profonde.
- Agitation: Midazolam (Hypnovel®) en IV lente à répéter si besoin:
 - Enfant: 0.1 à 0.3 mg/kg,
 - Adulte: 2.5 à 5 mg.
- Hypertension artérielle menaçante (défaillance viscérale suscitée):
 - Nicardipine (Loxen®): 1 à 2 mg en IV en bolus, répéter toutes les 5 à 10 mn si besoin ou en seringue électrique à 1 mg/h.
- Détresse vitale:
 - Etat de choc (hypotension artérielle, tachycardie)
 - Gdème aigu du poumon (polypnée > 30 cycles/minute, sueurs, cyanose, râles crépittants, SaO2 < 90 %)
 - Trouble de la conscience, coma (Glasgow < 9/15):
 - Ventilation artificielle contrôlée sous intubation est un acte décisif, oxygénothérapie par masque CPAP (VS-PEP) - VM - VM.
 - Dobutamine: 7µg/kg/min à augmenter par palier de 2µg toutes les 15 mn jusqu'à 20 µg/kg/min en fonction des valeurs de la TA, FC et diurèse. Utiliser la seringue autopulvéuse.
 - Remplissage vasculaire prudent par sérum salé (SS) à 9‰: 5 ml/kg chez l'enfant et 250 ml chez l'adulte, à passer en 30mn sous contrôle de la TA et FC.

Interrogatoire - Examen local - Examen général



*T.P.P: Temps Post Piqûre: Intervalle de temps entre la piqûre et la consultation

Pour plus de précision consultez le livret CAT ou téléphonez au
CENTRE ANTI POISON ET DE PHARMACOVIGILANCE DU MAROC

Rue Lamfalhel Cherkaoui, BP 6671, Madinat Al Irhane - Rabat 10100 - MAROC
Tél.: 05 37 77 71 69 - Fax: 05 37 77 71 79 - Site web: www.capm.ma - Email: capm@capm.ma

N° Eco 0 801 000 180

24/24 heures et 7/7 jours

La prise en charge rationnelle d'un patient piqué par le scorpion est la distinction entre une piqûre simple sans envenimation et une piqûre avec envenimation. Cette distinction se base sur un interrogatoire précis du patient et de son entourage, sur un examen local et locorégional et sur un examen général précis et méthodique.

L'INSTITUT PASTEUR DU MAROC AU CŒUR DE LA PROBLEMATIQUE



Equipe du laboratoire Venins et Toxines

Pour lutter contre les envenimations scorpioniques et ophidiennes, le laboratoire « Venins et Toxines » crée depuis 1990 à l'institut Pasteur du Maroc, a développé plusieurs axes de recherche sur les venins et anti-venins pour :

- Etablir des cartes peptidiques des venins, de comprendre la physiopathologie et le mode d'action des toxines afin d'orienter le diagnostic.
- Améliorer la production des anticorps anti-venins (au grand pouvoir neutralisant) afin de développer l'immunothérapie, seul traitement spécifique des envenimations.

Actuellement, le laboratoire vise le Développement Biotechnologique par deux grands axes de recherche complémentaires ayant pour but ultime la mise au point de nouveaux procédés et de biomolécules à visée thérapeutique dans les domaines de cancérologie, de l'auto-immunité, des maladies neuro-dégénératives et de l'immunothérapie anti-scorpionique et ant-vipérine.

Méthodes et Techniques développées au Laboratoire

Production des anticorps polyclonaux (lapins et chevaux)

Mesure de la toxicité des venins (DL50)
Séroneutralisation des anti-venins (DP50)

Immunodiffusion radiale : Immuno réactivité croisée

Mise au point des tests ELISA pour le dosage des venins et des anti-venins dans le sang des patients et des animaux envenimés

Essais expérimentales : Etudes physiopathologiques chez les animaux (souris et lapins), études de toxico-cinétiques des venins et des anti-venins

CARACTÉRISATION BIOCHIMIQUE

CARACTÉRISATION IMMUNOLOGIQUE

CARACTÉRISATION PHARMACOLOGIQUE

ETUDE PHYSIOPATHOLOGIQUE

ETUDE TOXICO-CINÉTIQUE

ANALYSE PROTÉOMIQUE



COMPRENDRE LA PHYSIOPATHOLOGIE DES ENVENIMATIONS

ORIENTER LE DIAGNOSTIC

AMÉLIORER L'IMMUNOTHÉRAPIE

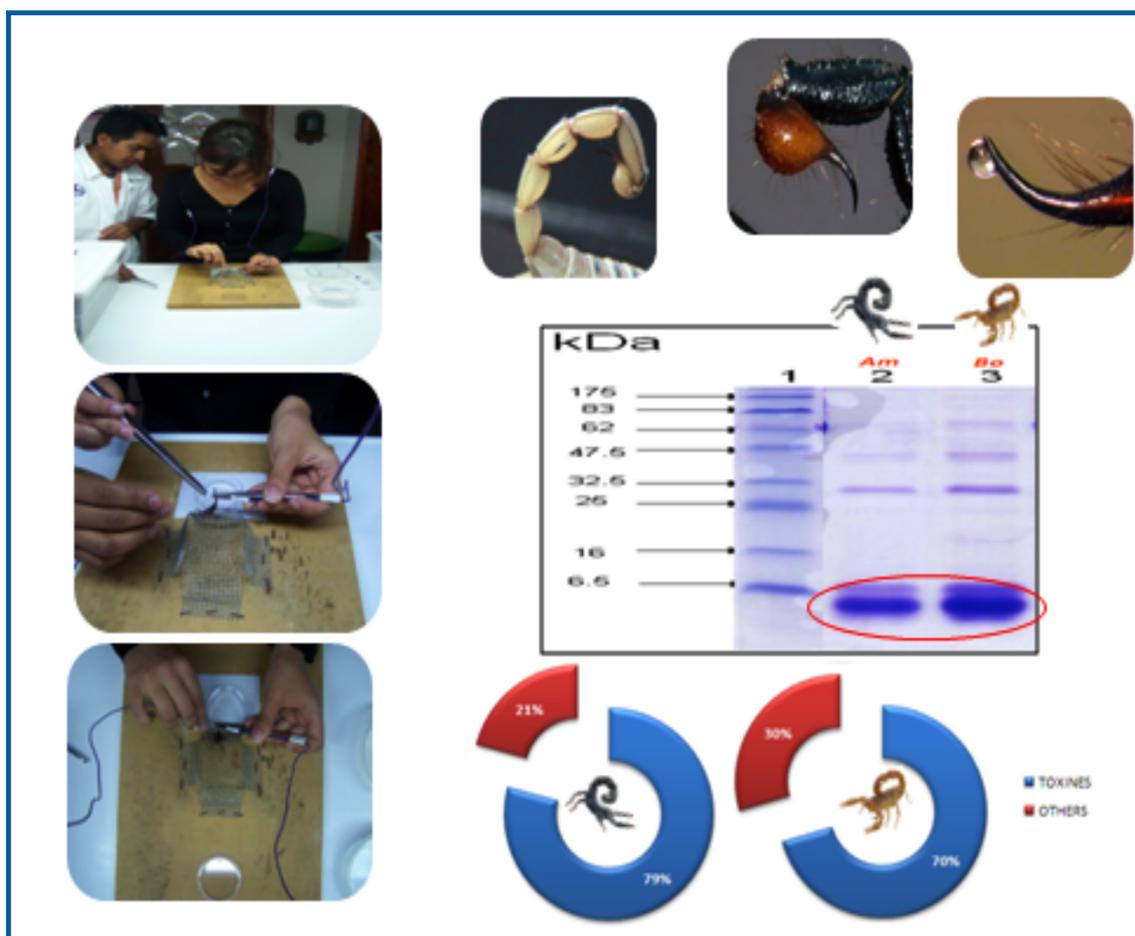


Dr Naoual Oukkache
Responsable du laboratoire Venins & Toxines
Naoual.oukkache@pasteur.ma

Etude des venins et anti-venins des scorpions marocains.

Comparaison entre deux méthodologies de collecte de venin de scorpions : Amélioration de la qualité du venin par la mise au point de méthode de collecte du venin par stimulation électrique.

Nous avons montré que l'anti-venin produit avec le venin obtenu par stimulation électrique contient des anticorps plus spécifiques des toxines et possédant un grand pouvoir neutralisant par rapport à celui produit par le venin manuel contenant d'autres anticorps qui sont spécifiques de l'hémocyanine et non des toxines.



Collecte du venin

Collecte de venin par stimulation manuelle du post abdomen des scorpions

Pour la collecte de venin par stimulation électrique, le telson est soumis à des stimulations électriques discontinues de faible fréquence permettant l'éjection du venin

Composition du venin

La caractérisation des venins des deux scorpions Am et Bo par les nouvelles techniques de spectrométrie de masse montrent un total d'environ 148 molécules pour le venin de scorpion

Am et 88 molécules pour le scorpion Bo. Pour les deux scorpions, les toxines représentent plus que 70% de la composition du venin dont les toxines spécifiques des canaux sodium sont les prédominantes.

On peut conclure que le venin de scorpion Am est plus riche en molécules, principalement, les toxines expliquant pourquoi le venin de scorpion Am est le plus toxique que le venin de scorpion Bo.

Effets histopathologiques engendrés par le venin du *Androctonus mauretanicus*

Au Maroc, l'espèce la plus dangereuse est l'*Androctonus mauretanicus mauretanicus* (Am) qui est responsable du plus grand nombre d'envenimations graves et souvent mortelles, en particulier chez les enfants.

Nos résultats montrent que le venin d'Am et/ou sa fraction toxique, injecté à une souris, induisent :
 1) Au niveau du cerveau: une perte neuronale, une atypie et atrophie cellulaire, une infiltration de cellules mononuclées (des macrophages), un noircissement neuronal et un œdème des hémorragies.

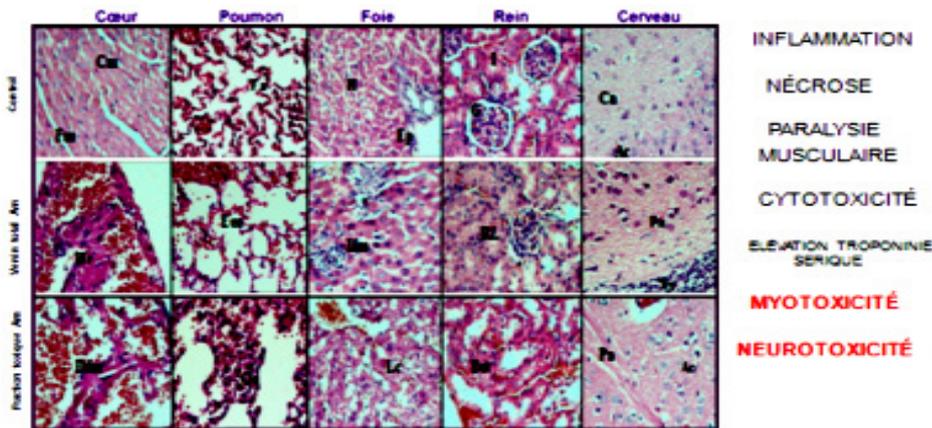
2) Au niveau du cœur: des changements dégénératifs des fibres musculaires, des zones hémorragiques, des œdèmes interstitiels.

3) Au niveau du poumon : un élargissement des espaces alvéolaires, une infiltration de cellules mononuclées, des hémorragies, des œdèmes intra-alvéolaires et une destruction des parois bordant les espaces alvéolaires.

4) Au niveau hépatique : des hémorragies interstitielles, une dilatation des espaces sinusoides avec une turgescence des hépatocytes, une infiltration de cellules mononuclées, une nécrose des cellules hépatiques, des hémorragies et des œdèmes.

5) Au niveau rénal : des lésions de l'épithélium tubulaire, une nécrose, la rupture des limites séparant les glomérules des tubules, une infiltration de cellules mononuclées, des hémorragies et des œdèmes.

Plusieurs Alterations Morphologiques



LA MYOTOXICITÉ EST LA PRINCIPALE CAUSE DE MORTALITÉ ET MORBIDITÉ QUI EST PRINCIPALEMENT ASSOCIÉE AUX EFFETS NEUROTOXIQUES



Les mécanismes physio-pathogéniques expliquant ces modifications tissulaires sont d'étiologie très complexe. La présente étude a montré que les effets du venin d'Am et/ou sa fraction toxique sur les structures tissulaires des organes étudiés sont très considérables et que la toxicité du venin d'Am est due principalement aux toxines présentes dans sa fraction toxique. Les similitudes qui existent entre les effets du venin total et ceux de la fraction toxique confirment l'hypothèse avancée depuis longtemps selon laquelle les toxines étaient les seules responsables de la létalité des venins de scorpion et de la quasi-totalité de la symptomatologie observée lors de l'envenimation.

Effets neurotoxiques et myotoxiques de venins de deux scorpions les plus dangereux au Maroc

Nous avons étudié les effets neurotoxiques et myotoxiques des venins de deux scorpions les plus dangereux au Maroc *Androctonus mauretanicus* (Am) et *Buthus occitanus* (Bo), de comparer leurs effets et d'étudier la capacité d'un antivenin polyvalent à neutraliser la toxicité et les effets neurotoxiques et myotoxiques des venins des deux scorpions.

Les études in vitro des effets pharmacologiques des venins de scorpions Am et Bo ont été étudiés par stimulation direct et indirect de la préparation neuromusculaire isolée à partir de « *biventer cervicis* » du poussin. La capacité de neutralisation d'un antivenin polyclonal spécifique des venins de scorpion les plus dangereux au Maghreb a été évaluée par deux méthodes : (1) in vivo chez la souris pour tester la capacité de neutralisation de la létalité de l'antivenin ; (2) in vitro au niveau de la préparation neuromusculaire isolée à partir de « *biventer cervicis* » du poussin.

Les résultats de toxicité des venins montrent que le venin de scorpion Am est plus toxique que celui de Bo. Ceux-ci est en corrélation avec les résultats des activités pharmacologiques puisque le venin de scorpion Am est plus neurotoxique et myotoxique que celui de Bo. Sachant que l'antivenin polyvalent est produit en utilisant les venins de scorpions *Leiurus quinquestriatus* (Lq), *Buthus occitanus* (Bo) et *Androctonus australis hector* (Aah).

Neutralisation par un antivenin polyclonal.

La neutralisation in vivo, montre que l'antivenin polyvalent possède une grande capacité de neutralisation de la mortalité.

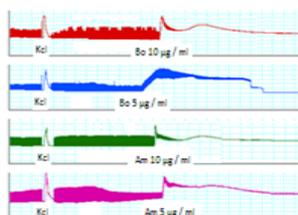


EFFETS MYOTOXIQUES

Les faibles concentrations de venins Am et Bo induisent:

- Une inhibition complète des contractions.
- La réponse au KCl est **complètement supprimée**.

Les venins Am et Bo ont un effet myotoxique



Le tissu sera testé **UNIQUEMENT** avec KCl avant et après chaque test.

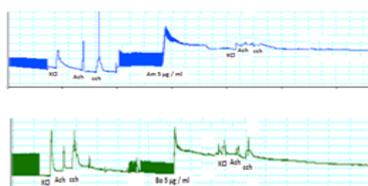
Il a été constaté que les venins d'Am et Bo ont un effet neurotoxique et myotoxique et contenant des neurotoxines de nature postsynaptique et des mycotoxines.



EFFET NEUROTOXIQUE

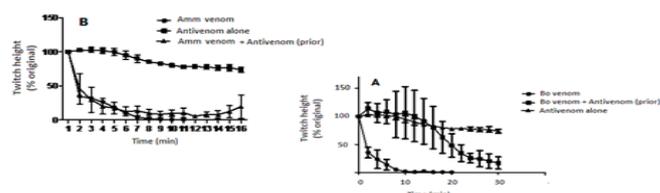
- Les venins Am et Bo entraînent une inhibition complète des contractions.
- Venin Am: A la fin de l'expérience, les réponses au KCl, Ach et cch ont été **complètement supprimées**.
- Venin Bo: A la fin de l'expérience, les réponses au KCl, Ach et cch ont été **partiellement supprimées**.

→ Cela peut indiquer la présence de neurotoxines postsynaptiques.



Le tissu sera testé avec Ach, CCh, KCl avant et après chaque test.

CAPACITE DE NEUTRALISATION DES EFFETS NEUROMUSCULAIRES



- Pour le venin Am, l'antivenin n'a pas d'effet sur la neutralisation des contractions musculaires.
- Pour le venin de Bo, l'antivenin est capable de neutraliser les effets neurotoxiques et myotoxiques induits par le venin.

Les résultats in vitro au niveau de muscle squelettique du poussin (transmission neuromusculaire) montrent que l'antivenin est capable de neutraliser les effets neurotoxiques et myotoxiques du venin Bo mais il n'est pas capable de neutraliser les effets neurotoxiques et myotoxiques causés par le venin Am.

Ces résultats suggèrent fortement que les venins de scorpion Am et Bo contiennent des toxines distinctes responsables des effets myotoxiques et / ou neurotoxiques et que ces deux effets sont les principales causes de la mortalité et de la morbidité. Pour produire un antivenin polyvalent plus efficace et plus spécifique pour les envenimations les plus graves au Maghreb, les données indiquent qu'il serait important d'ajouter le venin Am dans le programme des immunisations.

Étude de paraspécificité des antivenins polyclonaux et recombinants type Nanobodies



Dr Fatima Chgoury
Chercheur au Laboratoire Venins & Toxine
fatima.chgoury@pasteur.ma

On a exploré des réactions croisées par la technique ELISA entre les venins de scorpions *Androctonus australis hector* (Aah) (Tunisie), *Androctonus mauretanicus* (Am) (Maroc), vis-à-vis des anticorps polyclonaux dirigés contre le venin Aah et ses toxines. On a étudié également de nouveaux concepts immun-thérapeutiques recombinants de type Nanobodies NbF12-10, NbAahI'F12 et NbAahII10 anti-toxines du venin Aah. L'examen histologique après envenimations expérimentales (souris Swiss) par la fraction toxique Am3 par voie intra-cérébro-ventriculaire a mis en évidence d'importantes altérations tissulaires aux niveaux des parenchymes cérébral, pulmonaire et hépatique. L'analyse statistique des tests ELISA a révélé une activi-

té para-spécifique significative des anticorps polyclonaux et recombinants.

Le complexe immun Am3/NbF12-10 (à ratio molaire 1:8) a montré non seulement un effet neutralisant contre l'effet toxique de la fraction Am3 mais aussi sa capacité de sauver 50 % des souris envenimées en induisant une réduction considérable des lésions tissulaires.

En conclusion, la présence de motifs antigéniques en commun entre les toxines des venins Aah et Am pourrait servir à l'élaboration d'un antivenin polyclonal à haut potentiel neutralisant. La Nanothérapie à base de fragments d'anticorps recombinants NbF12-10, pourrait être à l'origine d'une nouvelle approche thérapeutique contre les envenimations scorpioniques au Maroc et en Tunisie (Figure).

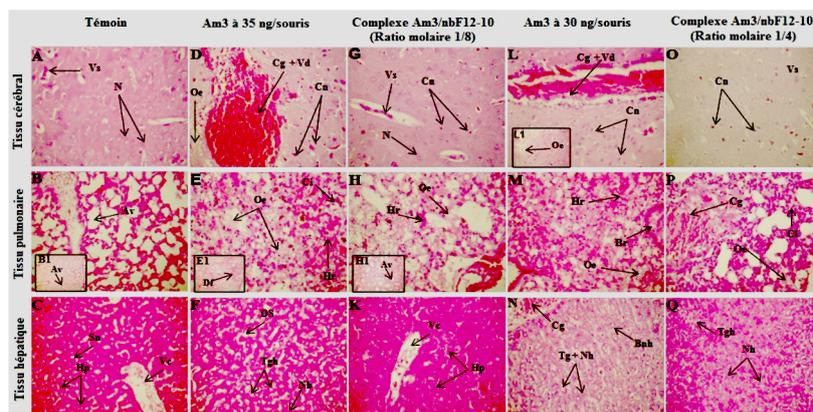


Figure 7 : Histologie cérébrale, pulmonaire et hépatique de souris envenimées par la fraction Am3 à deux doses létales à 35 ng /souris ou à 30 ng/souris ou ayant reçu le complexe immun Am3/NbF12-10 à deux ratios molaires 1:4 et 1:8. Histologie cérébrale, pulmonaire et hépatique de souris envenimées par la fraction toxique Am3 à deux doses létales : à 35 ng /souris (Figure D,E, E1, F) ou à 30 ng/souris (Figure L, L1, M, N) ou ayant reçu le complexe immun Am3/NbF12-10 à deux ratios molaire 1/4 et 1/8 (Figure O, P,Q) (Grossissement x 40) par comparaison aux tissus d'animaux témoin (Figure A, B, B1, C). Vs : Vaisseau sanguin, N : Neurone, Oe : Œdème, Cg + Vd : Congestion + Vasodilatation, Cn : Constriction neuronale, Av : Alvéole, Ci : Cellules inflammatoires, Hr : Hémorragie, Br : Bronchiole, Hp : Hépatocyte, Vc : Veine centrolobulaire, Sn : Sinusoïdes, Tgh : Turgescence hépatocyttaire, Nh : Nécrose hépatocyttaire, Bnh : Binucléation hépatocyttaire.

Historiquement, les Instituts Pasteur de part le monde ont toujours montré un grand intérêt à la problématique des envenimations animales (scorpions, serpents, araignée, etc...). Les premières études sur les méthodes de neutralisation des venins datent de 1892 et ont été rapportées dans les annales de l'Institut Pasteur à Paris (Calmette A. Etude expérimentale du venin de Naja Tripudians ou Cobra Capel et exposé d'une méthode de neutralisation de ce venin dans l'organisme «, Annales de l'Institut Pasteur, VI(3), pp. 160-183).

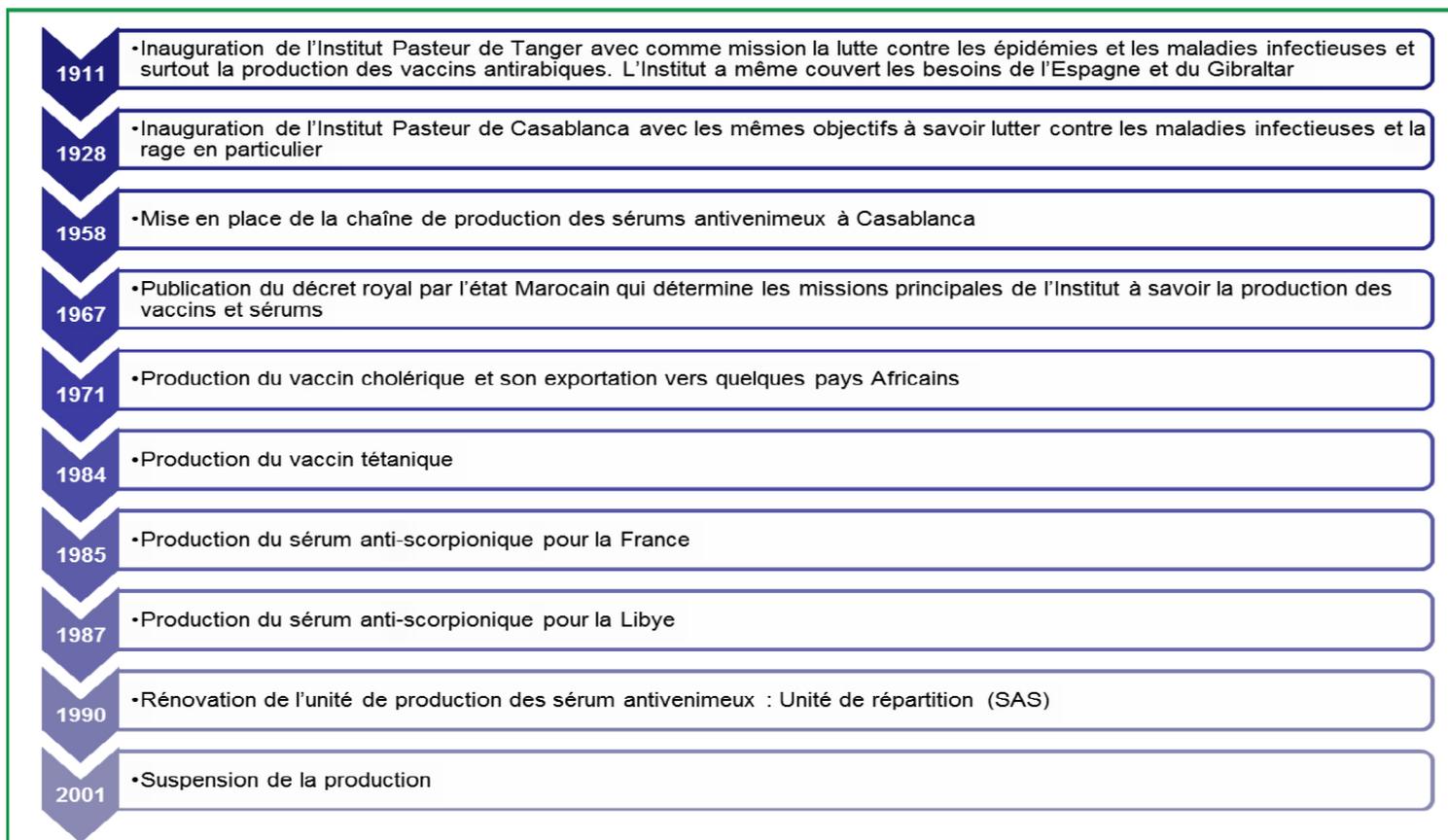


Auguste, Césaire PHISALIX (1852 - 1906)

Auguste, Césaire PHISALIX est né le 8 octobre 1852 à Mouthier, il poursuit ses études au Val de Grâce, à Paris, et devient docteur en médecine de la Faculté de Paris en 1877. Parallèlement à ses études de médecine, il s'intéresse aux sciences naturelles. Il obtient son doctorat ès sciences à Paris en 1885. La liste des travaux de Phisalix comporte près de 150 publications, dont la moitié est consacrée à l'étude des venins, de reptiles et d'amphibiens principalement. Chauveau, croyant à l'analogie des toxines microbiennes connues à l'époque et des toxines des venins, poussa Phisalix dans la voie de la recherche d'un sérum antivenimeux après la découverte en 1890 des sérums antidiphthériques et antitétaniques. C'est le 10 février 1894 que Phisalix présente à la Société de Biologie (Paris) les résultats de ses observations sous l'intitulé : «Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de la vipère», note co-signée par G. Bertrand. Au reste, l'année même de leur découverte, Phisalix et Bertrand reçoivent le prix Monthyon de l'Académie des Sciences pour la découverte du sérum anti-venimeux. Les suites de cette découverte furent considérables : sans tarder, de multiples instituts de préparation de sérums antivenimeux se créent

BRYGOO E - Bull Assoc Anc El Inst Paris - 1985 ; 106 (4) : 10-22.

Production des vaccins & sérums à L'institut Pasteur du Maroc



Le Maroc devrait-il produire ses propres anti-venins ??



Dr Hasna El malouki
Pharmacie Responsable

L'Institut Pasteur du Maroc est un établissement public assimilé à un établissement pharmaceutique industriel, habilité à effectuer des opérations de fabrication, d'importation et de commercialisation des médicaments d'origine biologique, ainsi que des médicaments immunologiques (article 27 de la loi 17-04 portant code du médicament et de la pharmacie).

La production des sérums à l'IPM a été effective jusqu'en 2001. Ce dernier, était en charge de produire les sérums anti-vipérins et anti-scorpioniques, administrés par voie intramusculaire. En 200. Depuis cette date et jusqu'à présent, le Maroc dépend des importations pour ses besoins en médicaments d'origine biologique ainsi qu'en médicaments immunologiques et principalement les sérums.

L'importation de ces produits n'est donc pas une solution à long terme pour sécuriser et satisfaire les besoins nationaux et régionaux.

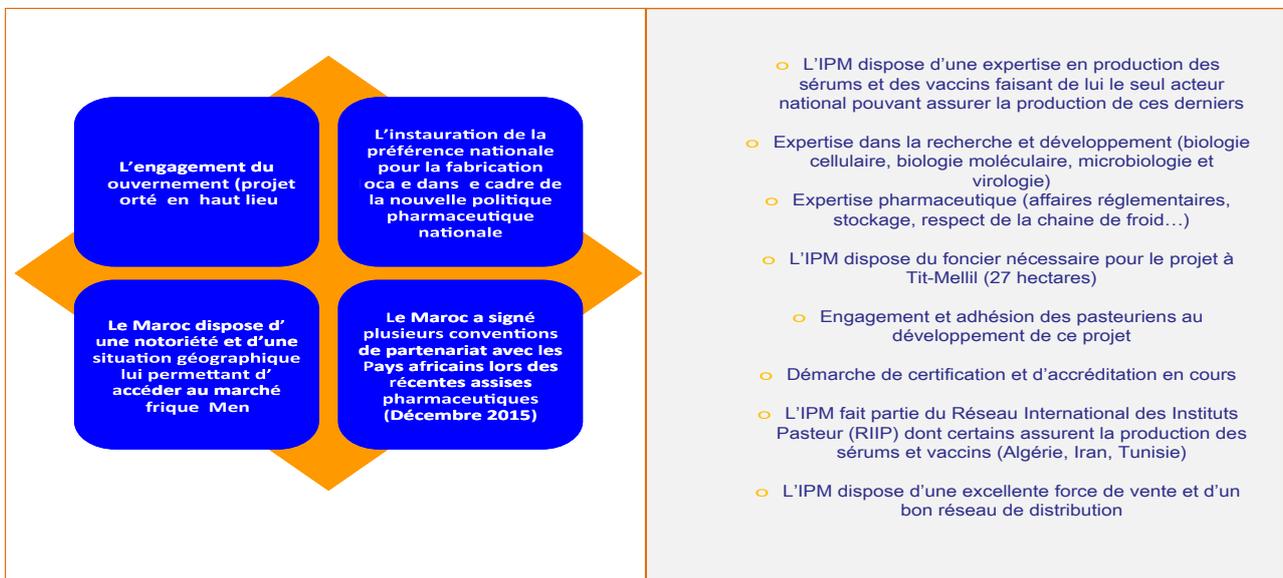
Le pays devrait, par une production locale, satisfaire ses besoins en sérums anti-venins spécifiques aux espèces marocaines qui respectent les standards internationaux de sé-

curité et d'efficacité ainsi que la réglementation, en étant financièrement accessibles à la population.

Pour cela, l'IPM est en cours d'élaborer une feuille de route pour mettre en œuvre le projet de « Mise en place d'une unité de production de sérums, vaccins et produits biologiques au Maroc » afin de répondre, à court terme, au besoin national et à moyen et long terme, à celui de la région (Afrique et Moyen-Orient).

Ce Projet s'inscrit dans le cadre des orientations politiques du gouvernement puisqu'il s'agit en premier lieu de la création d'un écosystème industriel dans le cadre de la stratégie 2014-2020 du ministère de l'industrie. Il s'inscrit aussi dans la stratégie de coopération bilatérale sud-sud suivie par le Royaume. Il tient également compte des objectifs stratégiques de l'OMS qui encourage les pays à développer les unités nationales de production de vaccins. Tenant compte de la loi n° 86-12 relative aux contrats de partenariat public-privé promulguée par le dahir n° 1-14-192 du lerrabii l 1436 (24 décembre 2014) et du décret n° 2-15-45 du 24 rejev 1436 (13 mai 2015), l'IPM envisage de mettre en œuvre ce projet dans le cadre d'un contrat de partenariat public-privé.

Atouts de l'Institut Pasteur du Maroc



Les travaux de Louis Pasteur inscrits au Registre international de la Mémoire du monde de l'Unesco



Le 16 février dernier, l'Académie des Sciences a célébré un événement exceptionnel et rare que seulement quatre scientifiques – Copernic, Linné, Newton et Tesla – avaient connu pour leur œuvre : l'inscription des archives de Louis Pasteur au Registre de la Mémoire du monde de l'Unesco.

Les archives de Louis Pasteur, conservées par l'Académie des sciences et la Bibliothèque nationale de France, couvrent la période 1838-1895, des années de formation jusqu'aux années des grandes découvertes et de la consécration.

FTOUR DEBAT

ANIME PAR

Anthony THILLIEN
Naoual OUKKACHE
LE 09 Juin 2016

**Sur Les Envenimations
Scorpioniques:
Comment améliorer la prise
en charge ? ».**



Collaboration Institut Pasteur du Maroc & Institut Pasteur de Tunisie

Collaboration avec le laboratoire des venins et toxines à l'Institut Pasteur de Tunisie (Pr Balkiss Bouhaouala), s'inscrit dans le cadre des efforts entrepris, et soutenus par le réseau des Instituts Pasteur MATI (Maroc, Algérie, Tunisie et Iran), pour améliorer l'immunothérapie actuelle.

Le programme scientifique a porté sur l'étude des immuno-réactivités croisées entre différentes formes d'anticorps

et de toxines issues de venins marocains (*Androctonus mauritanicus mauritanicus*, Amm) et tunisiens (*Androctonus australis hector*, Aah; *Buthus occitanus tunetanus*, Bot). Il est de ce fait d'un grand intérêt médical de poursuivre nos investigations en vue de mieux caractériser le pouvoir protecteur des nanobodies d'une part et des antivenins commerciaux d'autre part.



Anthony THILLIEN, Né le 24 avril 1982

Expert dans le domaine de collecte, élevage et étude systématique des arachnides et des scorpions. C'est un partenaire. Actuellement, il a son propre laboratoire de recherche pour mettre au point les conditions optimales pour l'élevage des scorpions de différentes origines (Afrique, Europe,...). Fondateur de la société scorpion word, il a créé aussi un site web mentionnant toutes les actualités de ses résultats.

Cérémonie de départ à la retraite

La Direction de l'IPM a organisé une cérémonie en l'honneur de nos chers collègues (voir la liste ci-dessous) admis à la retraite au titre de l'année 2014/2015 et début 2016. le 27/04/2016 à 14 h. A cette occasion Madame la directrice Pr Naima El Mdaghri a tenu à rendre un vibrant hommage à l'ensemble des retraités, qui traduit la reconnaissance pour leurs efforts et dévouement durant leurs parcours professionnels au service de l'IPM. Au cours de cette cérémonie, il a été procédé également, à la remise de cadeaux symboliques. En clôture, un cocktail a réuni l'ensemble du personnel de l'IPM dans une ambiance conviviale et chaleureuse.

FEU MOUNJY AHMED
FEU BABA ABDELATIF
BELHAMDOUNIA ABDELLAH
EL OUARDI MOHAMMED
AGUEJJOUF MOUSSA

BIRJA AHMED
RAHHALI HASSAN
GHALIM NOUREDDINE
SEBBANI LATIFA
BOUQDIR FATIMA

ZEROUALI SIHAM
RASSAM SAIDA
MAKBOULE SAADIA
LAKHOYAALI MINA

Inauguration du Centre Dr Nadia Benabdeljalil



Pour honorer la mémoire du Dr Nadia Benabdeljalil une cérémonie d'inauguration s'est déroulée le vendredi 18/03/2016

Bioinformatique

Formation sur le système d'exploitation «scientifique Linux» assurée par Mr Adnane Laghrissi
Les 7, 14 et 21 juin 2016

LETTRE PASTEUR

Lettre trimestrielle éditée par l'Institut Pasteur du Maroc

Directeur de la publication :
Pr. Naima Elmdaghri

Directeur de rédaction :
Dr. Fatima Maachi

Comité de rédaction :
Dr. Hakima Benomar
Dr. Fatima Chgoury
Dr Naoual Oukkache
Dr Hasna Boura

Comité de lecture :
Dr. Mohammed Timinouni (IPM)
Pr Jean Marc Sabatier Université Aix-Marseille
Dr Rhizlane El oufir (CAPM)
Pr Balkiss Bouhaouala (IP Tunisie)

Réalisé par : Rachida Moussadak
Impression : BCC

Biosécurité et Biosûreté

Formation de sensibilisation à la Biosécurité, Biosûreté et gestion des risques assurée conjointement par Drs : Abid Mohammed et Wakrim Lahcen les 25 février et 05 mai 2016

Le journal LE MATIN a publié un article sur

« Production de Sérums, Vaccins et produits biologiques » le 3 avril 2016
<http://lematin.ma/journal/2016/un-projet-de-laboratoire-national-dans-le-pipe/244744.html>

Contact :
Institut Pasteur du Maroc
1, Place Louis Pasteur, 20 360 Casablanca
www.pasteur.ma
lettrepasteur@pasteur.ma
Tél : 05 22 43 44 50





Auguste Césaire Phisalix