

L'œuvre scientifique de Césaire Phisalix (1852-1906), découvreur du sérum antivenimeux

par

Rosany BOCHNER ⁽¹⁾ et Max GOYFFON ⁽²⁾

⁽¹⁾ *Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)*
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde (ICT)
Laboratório de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde (LabCITeS)
Av. Brasil 4365, 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brésil
rosany@cict.fiocruz.br

⁽²⁾ *USM 505 - LERAI, Département RDDM*
Muséum national d'Histoire naturelle
CP 57, 57 rue Cuvier, 75005 Paris
mgoyffon@mnhn.fr

Résumé - Pendant les dix-neuf années passées au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris, jusqu'à sa mort, Césaire Phisalix s'est consacré à l'herpétologie, plus particulièrement aux amphibiens et aux serpents. Assimilant les toxines présentes dans les venins aux toxines microbiennes, il a mis au point et découvert le premier les sérums antivenimeux. Biologiste et pharmacologiste plutôt que naturaliste, des découvertes ont jalonné ses différents champs de recherche, comme celles de la bufoténine chez le crapaud, ou de la quinone dans les sécrétions cuticulaires des diplopodes. Bien qu'elle soit restée inachevée en raison d'un état de santé fragile qui l'a conduit à un décès prématuré, son œuvre mérite toujours d'être lue.

Mots-clés : Venins, Vipère, Salamandre, Crapaud, Sérum antivenimeux.

Summary - **The scientific work of Césaire Phisalix (1852-1906), discoverer of antivenomous sera.** During his 19 years spent at the National Museum of Natural History, Paris, until his death, Césaire Phisalix devoted himself to herpetology, particularly amphibians and snakes. Considering the venom toxins as similar to microbial ones, he was the first to perform and discover the antivenomous sera. As a biologist and pharmacologist rather than a naturalist, many discoveries have marked his different fields of research, such as the bufotenin in the toad venom, or the quinone in the cutaneous Diplopoda secretions. Although his work remained unfinished due to constant health problems which caused his early death, it is well worth reading nowadays.

Key-words: Venoms, Viper, Salamander, Toad, Antivenomous sera.

INTRODUCTION

L'essentiel de l'œuvre scientifique de Césaire Phisalix est constitué par 157 articles parus dans les grandes revues scientifiques et les comptes-rendus des sociétés savantes de

son époque. Elle est entièrement rédigée en français. Différents thèmes, inégalement développés, se dégagent de ces publications : venins (55%), microbiologie (22%), anatomie et physiologie (13%), embryologie (7%), pathologie générale (3%). On voit ainsi que la part majoritaire des recherches de Césaire Phisalix, à laquelle sera consacrée notre étude, est dévolue aux travaux sur les venins et aux sérums antivenimeux, travaux pour lesquels il sera récompensé à deux reprises par l'Académie des sciences. On peut chronologiquement distinguer trois périodes : avant, pendant et après la découverte de la sérothérapie antivenimeuse, présentée pour la première fois à la Société de Biologie le 10 février 1894, par Césaire Phisalix et Gabriel Bertrand (Muséum national d'Histoire naturelle) d'une part, et peu après dans la même séance par Albert Calmette (Institut Pasteur) d'autre part.

1. AVANT LA DÉCOUVERTE DE LA SÉROTHÉRAPIE ANTIVENIMEUSE

La première période (1889-1894) compte une quinzaine d'articles consacrés aux venins et aux glandes venimeuses d'amphibiens (salamandre, crapaud), puis de vipères. Césaire Phisalix aborde la question du point de vue d'un naturaliste et d'un physiologiste. S'il parle d'immunité, c'est pour rechercher une "immunité naturelle" de diverses espèces vis-à-vis d'un venin ou d'une espèce vis-à-vis de son propre venin. Les six premiers articles (1891-1893) étudient le venin de la salamandre terrestre (*Salamandra salamandra*) qui ne possède pas, constate-t-il, de véritable immunité à l'égard de son propre venin (Phisalix 1889a, 1889b, 1890, 1893, Phisalix & Coutejean 1891, Phisalix & Langlois 1889). Phisalix commence ses travaux en évaluant d'abord la résistance des animaux à leur propre venin, puis il étudie l'histophysiologie des glandes à venin et, les considérant *a priori* comme des glandes à sécrétion interne, il vérifie si le sang est toxique et donc s'il peut contenir des substances actives physiologiquement comparables ou identiques à celles que contiennent les venins. Ce plan de recherche sera constamment suivi. Phisalix sera le premier à montrer que la salamandre possède deux types de glandes cutanées, des glandes muqueuses à sécrétion alcaline, et des glandes venimeuses spécifiques à sécrétion acide (Phisalix 1890).

Les articles qui viennent ensuite marquent le début de la collaboration, sans doute décisive, entre Phisalix et Bertrand. Les premiers travaux sur le crapaud *Bufo vulgaris* [actuellement : *Bufo bufo*] (deux articles) s'appuient sur des travaux antérieurs de Brown-Séguard (*in* Phisalix & Bertrand 1893a) qui a établi, par des expériences d'ablation chez le crotale, le rôle décisif des glandes venimeuses dans la résistance de ce serpent à son propre venin. Mais

Brown-Séguard n'a pas montré que le sang du crapaud possède un pouvoir toxique comparable à celui de son venin. C'est cette expérience complémentaire que réalisent Phisalix et Bertrand. En injectant du sang de crapaud à des cobayes et à des grenouilles, ils en démontrent les effets toxiques, identiques à ceux du venin. (Phisalix & Bertrand 1893a, 1893b). Les deux auteurs concluent : *“Il existe dans le sang du crapaud des principes actifs doués des mêmes propriétés physiologiques que ceux du venin, mais ils ne s'y trouvent qu'en très faible proportion. Ils proviennent sans doute d'une sécrétion interne des glandes cutanées. C'est à cette sécrétion interne qu'il faut attribuer l'accoutumance et l'immunité relative de cette espèce pour son propre venin”* (Phisalix & Bertrand 1893a). En résumé, disent-ils, *“les glandes venimeuses, indépendamment de leur sécrétion externe, fournissent au sang une partie des éléments qu'elles élaborent et apportent ainsi dans ce liquide des modifications et des qualités particulières qui jouent sans doute un rôle considérable dans la biologie de l'espèce”* (Phisalix & Bertrand 1893b). À cette date, Bertrand a 26 ans, Phisalix 41 ans.

Poursuivant leur collaboration, Phisalix et Bertrand s'intéressent alors à la toxicité du sang de la vipère (*Vipera aspis*) dont le venin possède une composition et des effets différents des venins de salamandre et de crapaud. Le choix de cette espèce est ainsi justifié : *“Le choix de ce reptile s'explique par l'opposition qui existe entre la composition et les propriétés de son venin et celles des venins du crapaud et de la salamandre. Chez la vipère, en effet, le principe actif, ou échidnine, est une espèce de matière albuminoïde, complètement insoluble dans l'alcool, de telle sorte que ce dissolvant n'enlève au venin aucun composé toxique ; en outre, les troubles et les lésions qu'il provoque sont tout à fait caractéristiques. Cette opposition devait ajouter une certaine valeur à nos nouvelles expériences si, nos prévisions étant exactes, nous retrouvions l'échidnine dans le sang de la vipère ; c'est précisément le résultat auquel nous ont conduits les essais comparatifs que nous avons faits d'une part avec le venin et de l'autre avec le sang”*. La conclusion est analogue à celle des études précédentes du venin et du sang de crapaud : il existe dans le sang de la vipère des principes très actifs analogues à ceux du venin, dotés d'une grande activité physiologique, qui procèdent de la sécrétion interne des glandes venimeuses, et leur présence doit être considérée comme la cause de l'immunité de la vipère à son propre venin (Phisalix & Bertrand 1893c, 1894a).

Au tout début de l'année 1894, ils constatent d'une part l'immunité naturelle de la couleuvre à collier (*Natrix natrix*) et de la couleuvre vipérine (*Natrix maura*) vis-à-vis du venin

de vipère, et d'autre part que le sang et les glandes salivaires de ces couleuvres possèdent le même effet toxique que le venin de vipère : ainsi existe-t-il dans le sang des couleuvres des principes toxiques analogues à l'échidnine qui proviennent de la sécrétion des glandes labiales supérieures et qui expliquent l'immunité de la couleuvre vis-à-vis du venin de vipère (Phisalix & Bertrand 1894b, 1894e).

Un tournant apparaît en ce début de l'année 1894 lorsqu'ils découvrent la possibilité d'atténuer les effets toxiques du venin de vipère en le chauffant pendant 5 minutes à 80° C et qu'il devient alors possible de vacciner des cobayes à l'aide de ce venin atténué (Phisalix & Bertrand 1894f, 1894h). En termes actuels, on écrirait que la chaleur efface la toxicité du venin sans en modifier les propriétés antigéniques : les publications des 5 et 7 février 1894 annoncent la découverte très proche du sérum antivenimeux. Ils remarquent aussi que le venin porté à ébullition une vingtaine de secondes seulement conserve ses effets généraux mortels, mais n'induit plus de réaction locale : cette observation est à rapprocher du fait, maintes fois signalé, que la sérothérapie est sans efficacité préventive ou curative sur les lésions locales (nécroses) de l'envenimation ophidienne (Chippaux & Goyffon 1991). Le venin de vipère contiendrait donc deux toxines au moins : l'échidnine (ou échidno-toxine) responsable de la toxicité générale, relativement thermostable, et l'échidnase, thermolabile et responsable d'une activité locale "phlogogène", c'est-à-dire inflammatoire.

À cette date, Phisalix et Bertrand ne parlent pas encore explicitement de l'intérêt d'une utilisation médicale de ce résultat. La possibilité d'un transfert d'immunité n'est pas évoquée. Ils signalent toutefois des modifications importantes du sang des cobayes vaccinés analogues à celles des animaux vaccinés contre le tétanos (Phisalix & Bertrand 1894h).

2. LA DÉCOUVERTE DE LA SÉROTHÉRAPIE ANTIVENIMEUSE

La présentation de la découverte de la sérothérapie antivenimeuse a lieu lors de la séance de la Société de Biologie de Paris du 10 février 1894, par des chercheurs de deux institutions françaises : Césaire Phisalix et Gabriel Bertrand du Muséum national d'Histoire naturelle en premier lieu (Phisalix & Bertrand 1894h), et ensuite Albert Calmette de l'Institut Pasteur de Paris (Calmette 1894a).

Phisalix et Bertrand présentent leur travail devenu classique : ils utilisent un venin de *Vipera aspis* chauffé pour immuniser des cobayes et ensuite le sérum de ces animaux immunisés comme agent thérapeutique pour traiter un animal envenimé. Ils précisent que l'immu-

nité des animaux traités par le venin chauffé n'est pas immédiate, mais qu'elle apparaît au bout d'un certain temps. Le mécanisme de la protection leur apparaît identique à celui qui est mis en jeu dans le tétanos et dans l'immunité antitétanique, et cette méthode est plus efficace que celle qui est obtenue par une accoutumance au venin. Ils concluent que les processus physiologiques qui entraînent une accoutumance et une vaccination ne sont pas identiques (Phisalix 1894, Phisalix & Bertrand 1894d). Enfin, ils espèrent obtenir un sérum d'animal immunisé suffisamment actif pour être utilisé comme agent curatif chez l'homme : ils désirent confirmer leurs premiers résultats par un nombre plus élevé d'expériences. Calmette présente ses résultats au cours de la même séance, et retrouvera un peu plus tard Phisalix et Bertrand au XI^e Congrès international de médecins à Rome. De là naîtra une vive querelle de priorité entre Phisalix et Bertrand d'une part, Calmette d'autre part. Pour le détail de cette affaire, nous renvoyons à l'article de Brygoo (1985) qui souligne : *“Même s'il ne s'en fallait que de très peu, Phisalix et Bertrand étaient manifestement gagnants aussi bien à la Société de Biologie qu'à l'Académie des sciences, tandis que Calmette ne se montrait vraiment pas beau joueur”*. E. R. Brygoo ayant travaillé à l'Institut Pasteur et au Muséum national d'Histoire naturelle est très bien placé pour exprimer un jugement équitable !

Les contemporains ne s'y sont pas trompés puisque Phisalix et Bertrand ont été récompensés par l'Académie des sciences : Prix Monthyon (1894) pour leur travail : *“Recherches expérimentales sur le venin de vipère. Propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère”*, puis Phisalix seul : prix Bréant (1898) pour ses *“travaux sur l'envénement contre les poisons et pour la découverte des sérums antivenimeux”*. Ainsi l'Académie des sciences reconnaissait-elle très tôt la priorité de Phisalix.

3. APRÈS LA DÉCOUVERTE DE LA SÉROTHÉRAPIE ANTIVENIMEUSE

Les travaux sur la toxicité des venins, des sangs d'animaux (venimeux ou non), des résistances naturelles et des antidotes seront développés par Césaire Phisalix jusqu'à son décès. On peut dégager plusieurs thématiques qui s'intriquent inévitablement : recherches sur les venins d'autres serpents, d'amphibiens, d'arthropodes aussi, résistance naturelle (*“immunité naturelle”*, selon Phisalix) aux venins et recherche d'antidotes, étude de nouveaux procédés d'atténuation des venins avec conservation du pouvoir vaccinant, pour l'essentiel. De temps à autre, Phisalix rédige une mise au point sur ses travaux : c'est pour lui l'occasion de préciser sa pensée et d'exprimer des vues personnelles. Son travail est avant

tout celui d'un naturaliste qui élargit son domaine de recherche. La recherche de nouveaux antidotes montre toutefois que les préoccupations thérapeutiques ne sont jamais absentes.

Très rapidement après leur communication princeps du 10 février 1894, Phisalix et Bertrand dressent un état des connaissances sur la toxicité du venin de *Vipera aspis*, sur son atténuation par la chaleur, et sur la vaccination contre ce venin (Phisalix & Bertrand 1894c). Ils rappellent l'idée, émise par Chauveau, de poisons solubles d'origine microbienne, et sa transposition aux venins. De là encore l'idée que certaines cellules de l'organisme, et en particulier celles des glandes à venin, pourraient fabriquer les toxines des venins ("des poisons variés"), à la manière des bactéries. Ils soulignent que suivant les conditions de chauffage du venin, il est possible d'obtenir une suppression des effets locaux sans modification des effets généraux, comme cela avait déjà été constaté par d'autres auteurs en traitant le venin par du permanganate de potassium ou de l'acide chromique. Le meilleur pouvoir vaccinant est fourni par un venin chauffé à 80 C° pendant cinq minutes : c'est "l'échidno-vaccin". Au total, la ressemblance avec les toxines microbiennes en ce qui concerne l'atténuation par la chaleur et la transformation du venin en vaccin est bien démontrée. Dans la même revue, ils publient un autre travail sur les propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés par le venin atténué, dans lequel ils concluent que : "*l'immunité résulte de la formation d'une substance anti-toxique neutralisant physiologiquement les effets du venin et qui semble dériver d'une action chimique entre l'échidno-vaccin et l'un des principes du sang*" (Phisalix & Bertrand 1894d).

3.1. Étude des venins de serpents

Phisalix et Bertrand poursuivent leur collaboration. En 1895, ils publient deux articles sur les variations de virulence du venin de vipère (Phisalix & Bertrand 1895b, 1895c). Ils observent que parmi les facteurs susceptibles de modifier quantitativement et qualitativement le venin de vipère, seuls sont manifestes la saison et la localité. Dans un troisième article où sont comparés venins de vipère et venin de cobra, ils estiment que d'autres facteurs entrent en jeu et qu'il existe des populations particulières vivant dans certaines localités : "*Le venin des Serpents diffère non seulement d'une espèce à l'autre, mais aussi chez la même espèce ; c'est ainsi que, chez la Vipère, il contient plusieurs substances, dont l'une au moins peut manquer chez certains individus et à certaines époques. Ces individus semblent appartenir à des races physiologiques que seuls les caractères morphologiques n'auraient pu mettre en évidence*" (Phisalix & Bertrand 1895d).

Ils reviennent l'année suivante sur les deux procédés principaux d'immunisation, l'accoutumance et la vaccination (Phisalix & Bertrand 1896a). L'accoutumance, dérivée du procédé de Mithridate, est connue et employée depuis longtemps pour habituer l'organisme à divers poisons. La vaccination, d'usage récent, a pour but de rendre l'organisme insensible à un virus par l'inoculation de ce virus sous une forme virulente atténuée : *“Dans la vaccination, la séparation des substances toxiques et vaccinantes est produite artificiellement en dehors de l'organisme ; on détruit les premières pour n'injecter que les secondes ; dans l'accoutumance, au contraire, c'est l'organisme lui-même qui produit cette séparation. Dans l'une comme dans l'autre, il y a réaction de l'organisme qui conduit à la formation de substances antitoxiques. Cette réaction se produit seule dans la vaccination ; dans l'accoutumance, elle est troublée et momentanément masquée par une réaction simultanée due aux substances toxiques. D'après cette manière de voir, l'accoutumance se confond avec la vaccination, si l'on n'envisage que le but, c'est-à-dire l'immunisation de l'organisme”*. Ainsi Phisalix et Bertrand font une distinction entre substances vaccinantes (thermostables) et substances toxiques (thermolabiles) : le concept d'anatoxine (ou toxoïde) n'était pas encore clairement acquis. Rappelons qu'une anatoxine est une molécule toxique qui a perdu son pouvoir toxique après un traitement physique (chaleur) ou chimique (dénaturation) mais a conservé les propriétés immunologiques de la toxine d'origine. Cependant, les conclusions de Phisalix et Bertrand restent parfaitement acceptables aujourd'hui encore : *“En ce qui concerne les venins et probablement les toxines microbiennes, le processus le plus important d'où résulte l'accoutumance consiste dans la réaction antitoxique de l'organisme, et à ce point de vue l'accoutumance peut être considérée comme une vaccination progressivement croissante”*.

Dans deux articles qu'il signe seul, Phisalix confirme ses conclusions précédentes par une “démonstration directe” de l'existence dans le venin de vipère, de principes vaccinants indépendants des substances toxiques : *“après filtration sur porcelaine, le venin de Vipère a perdu sa toxicité et possède des propriétés vaccinantes”* et il ajoute : *“les substances vaccinales qui ont traversé le filtre ont donc la plus grande analogie avec celles du venin chauffé et, comme vraisemblablement elles n'ont pas été produites par l'action du filtre, il faut admettre qu'elles existent primitivement dans le venin de Vipère, à côté des substances toxiques”*. Il en déduit que *“dans le venin de Vipère, les matières vaccinantes sont distinctes des matières toxiques. [...] Toutefois, avec ce seul fait, ce serait aller trop loin que de géné-*

raliser cette théorie, d'autant plus que l'immunisation peut se réaliser par divers mécanismes" (Phisalix 1896a). Et puisque *"dans le venin de vipère, les matières vaccinales sont distinctes des matières toxiques"*, au point de vue pratique *"la filtration est préférable au chauffage : elle permet d'isoler les substances vaccinales sans en affaiblir les propriétés"* (Phisalix 1896d). Phisalix dresse l'état des connaissances sur les venins dans une de ces revues générales qu'il produit à intervalles réguliers. Cette revue générale sert de base aux leçons que Phisalix prononce désormais au Muséum d'Histoire naturelle de Paris sur les venins et les animaux dans la série animale, et qu'il publiera dans la "Série animale" du *Bulletin du Muséum d'Histoire naturelle* (Phisalix 1897a, 1897b, 1897c). Citons-le encore : *"Les études sur les venins n'ont pas seulement apporté une méthode de traitement pour les morsures des serpents, elles ont éclairé d'un jour nouveau les grands problèmes de l'immunité. Elles ont montré notamment que les sérums antitoxiques n'agissent pas comme des antidotes chimiques en détruisant le venin, mais comme des antidotes physiologiques, comme des antagonistes, par une action inverse de celle des venins. [...] Elles ont [...] conduit à la découverte de ce fait inattendu que dans le sang des animaux réfractaires, le contre-poison existe à côté du poison [...]. L'immunité naturelle et l'immunité artificielle sont produites par le même mécanisme. Sous l'influence d'une excitation intrinsèque dans le premier cas, extrinsèque dans le second, les substances anti-toxiques sont déversées dans le sang"*. Ce dernier aspect sera développé à l'occasion d'un exposé au XII^e Congrès international de Moscou, en 1897, (Phisalix 1897d) et sera complété par une deuxième conférence sur la filtration du venin sur porcelaine (Phisalix 1897e).

Petit à petit, les thématiques médicales prennent de l'importance dans les travaux de Phisalix. Dans un article paru en 1898 (Phisalix 1897-1898b), il estime que la quantité de venin de vipère nécessaire pour tuer un homme de 60 kg est de 72 mg de venin sec. La quantité maximale de venin que puissent contenir les deux glandes venimeuses d'une vipère s'élève à 45 mg, et cependant les cas mortels d'envenimation humaine sont assez fréquents. Phisalix en conclut que : *"la sensibilité de l'Homme au venin de la Vipère est au moins aussi grande, à poids égal, que celle du Cobaye ou du Lapin et qu'il n'est pas inutile d'employer un traitement énergique contre cette morsure"*. À la même époque, il présente un travail montrant l'effet préventif du sérum antivenimeux qui résulte d'une réaction de l'organisme : il s'agit donc en réalité d'une propriété vaccinale. Il définit deux degrés d'immunisation, la vaccination simple dans laquelle l'animal fabrique la quantité d'antitoxine nécessaire pour se

protéger, et l'hypervaccination dans laquelle l'animal en fabrique assez pour que son sérum devienne un remède pour d'autres animaux. Il affirme que la propriété "préventive" (autrement dit l'effet vaccinant) apparaît avant et disparaît après la propriété antitoxique (c'est-à-dire l'effet d'immunisation passive) et qu'elle persiste la dernière dans le sérum antivenimeux conservé *in vitro*. De son point de vue, et en raison du rôle actif de l'organisme, le terme d'immunité passive ne doit pas être pris dans un sens absolu (Phisalix 1898c). On retiendra avant tout, même si une partie des explications est inexacte, que Phisalix a vu très tôt la nécessité d'une hyperimmunisation des animaux si on désire disposer d'un sérum antivenimeux médicalement intéressant, ce qui reste toujours d'actualité.

Avec le concours d'un nouveau collaborateur (Phisalix & Charrin 1898), Phisalix aborde la pathologie expérimentale de l'envenimation vipérine (Phisalix, Charrin & Claude 1898). Il décrit des manifestations neurologiques centrales et périphériques consécutives à une envenimation vipérine chez un lapin préalablement traité par des broyats de sangsue pour éviter une coagulation intra-vasculaire généralisée. Cette observation complexe, et unique, ne permet guère de conclusions. Toutefois, l'examen nécropsique confirme l'atteinte neurologique centrale et périphérique. Et surtout, ces désordres sont similaires à ceux qu'on peut voir apparaître au décours de certaines infections bactériennes (bacille pyocyanique). Ce travail fait apparaître en outre que la similitude entre les désordres provoqués par les venins et par certaines "sécrétions" bactériennes était l'idée-guide de Bertrand mais aussi de Chauveau dans le laboratoire duquel travaillaient Phisalix et Bertrand.

Il étend ses recherches à d'autres serpents. C'est ainsi qu'il étudie le venin d'un opisthogyphie, la couleuvre de Montpellier, *Malpolon monspessulanus* (à l'époque nommée *Caelo-peltis insignitus*). Ce venin diffère beaucoup, par ses effets, des venins de vipères et de couleuvres, et se rapproche beaucoup du venin de cobra. Il y a là, aux yeux de Phisalix, un caractère de premier ordre qui ne peut être négligé du point de vue de la systématique, tant dans la classification que dans la phylogénie ("filiation généalogique") des serpents venimeux. Il est évident pour lui que deux venins dont la nature et l'action sont dissemblables sont élaborés par des cellules glandulaires de structure et de fonctionnement différents. Le mode de développement et l'histogenèse de ces cellules glandulaires pourraient donc fournir des renseignements plus importants que la denture, et ils n'ont pas encore été utilisés pour la classification des reptiles venimeux. Mais quels que puissent être les résultats de cette étude, ces caractères resteront subordonnés à ceux qui seront tirés de l'analyse des effets du venin. Car

la nature et les propriétés du venin exercent sur le comportement, le mode de nutrition, le sang, sur l'organisme entier du reptile, une telle influence que les caractères fournis par son étude doivent dominer tous les autres. Plus généralement, il est à prévoir que l'analyse comparative des fonctions pourra jouer, dans la classification des êtres, un rôle aussi important que celle des connexions anatomiques. En attendant, et comme conclusion de cette étude, Phisalix admet que les opisthoglyphes ne sont pas intermédiaires entre les vipéridés et les couleuvres aglyphes, mais bien plutôt entre celles-ci et les colubridés protéroglyphes (Phisalix 1899c). Ainsi, après plusieurs années de travail consacrées à la résistance naturelle des certaines espèces au venin de vipère, à la recherche de nouveaux antidotes, Phisalix laisse parler à nouveau son tempérament de naturaliste pour une étude de fond de taxonomie et de phylogénie, un terrain où à l'évidence il se montre à l'aise et exprime toutes ses qualités d'analyse et de réflexion : les commentaires et les conclusions de son travail, un travail qui peut paraître bien pauvre en moyens techniques, pour ne pas dire rudimentaire, sont d'une pertinence remarquable et n'ont pas été démentis à ce jour.

Un peu plus tard, en 1902, Phisalix reprendra ces conclusions pour une étude des relations de parenté entre deux espèces indigènes de vipères, *Vipera aspis* et *V. berus*. Dans son article, il présente les observations réalisées sur plus de huit cents vipères provenant d'une même région de la Vendée. Il estime que : *“Pour établir une classification rationnelle des Ophidiens, il faut tenir compte non seulement des faits anatomiques et embryologiques, mais encore des caractères physiologiques fournis par l'étude des glandes venimeuses”*. Il propose d'introduire des modifications dans la classification des ophidiens au sein desquels il distingue deux groupes. Le groupe I, celui des “hémotoxiphores”, rassemble les serpents dont le venin exerce des effets locaux intenses, et comprend les solénoglyphes et les aglyphes. Les serpents du groupe II, ou “pneumotoxiphores”, ont un venin aux effets locaux absents ou modestes, qui entraîne la mort par paralysie et asphyxie ; ils comprennent les protéroglyphes et les opisthoglyphes (Phisalix 1902a). Un travail ultérieur, en 1904, comparant les venins de vipère et de cobra (Phisalix parle de “cobridés”), contient ces conclusions : *“les venins de Vipère et de Cobra diffèrent l'un de l'autre par tous leurs caractères physiologiques et leurs principes actifs appartiennent à des espèces chimiques différentes. Ces résultats concordent d'une façon parfaite avec ceux que les caractères anatomiques ont fourni aux zoologistes. Aussi l'analyse physiologique des venins peut-elle, comme je l'ai montré pour les Opisthoglyphes, rendre les plus grands services dans la classification des Ophidiens, où la place de*

certains groupes est douteuse et difficile à déterminer d'après les seuls caractères anatomiques" (Phisalix 1904a).

Mais Phisalix n'en désire pas moins comprendre les mécanismes d'action du venin de vipère et entreprend sur ce thème une série de travaux originaux. Il apporte des précisions sur les propriétés enzymatiques ("diastasiques") de l'échidnase, "ferment" responsable des effets locaux du venin de vipère. Il considère l'échidnase comme une "diastase salivaire", d'origine digestive et ayant une action digestive sur l'échidnotoxine. Cette action digestive ne s'exerce donc pas uniquement sur les tissus des animaux envenimés. Aux causes externes de destruction du venin (oxydation, lumière, chaleur, électricité), il convient donc d'ajouter des causes internes dues à la présence dans le venin des vipères d'un "ferment spécifique", l'échidnase, dont le mode de formation est indépendant de celui des autres principes actifs et qui constitue à lui seul un caractère différentiel des plus important (Phisalix 1899b).

Plus intéressants encore sont les effets du venin sur le sang, coagulation surtout mais aussi hémolyse (destruction des globules rouges). Dans un article publié en 1899, Phisalix affirme : *"Les observations des physiologistes, en ce qui concerne la coagulabilité du sang, sous l'influence des injections de venin, sont tout-à-fait discordantes. Les uns ont vu que le sang est coagulé, les autres qu'il reste fluide dans les vaisseaux des animaux morts d'envenimation. [...] Les conditions qui font varier la coagulabilité du sang, chez les animaux envenimés, sont nombreuses et complexes ; d'où la nécessité de multiplier les expériences pour arriver à un déterminisme plus parfait"* (Phisalix 1899d). Il commence par comparer les effets du venin de vipère et les extraits de sangsue, qu'il a déjà utilisés antérieurement (Phisalix & Charrin 1898). Il écrit ainsi que : *"l'extrait de sangsue est un mélange de substances diverses, peut-être antagonistes, de même que le venin et les peptones du commerce. Pour comparer entre eux, dans des conditions identiques, ces différents produits au point de vue de l'analyse physiologique, il faudrait en isoler les principes immédiats et les étudier séparément. Pour le moment, les expériences faites avec la peptone, l'extrait de sangsue et le venin, montrent qu'aucune de ces substances injectées préventivement dans les veines ne peut empêcher les effets des autres sur la coagulation du sang. Il faut en conclure ou bien que ces substances agissent sur le sang par un mécanisme différent ou bien que, si le processus est le même, les effets en sont complètement modifiés par l'intervention de phénomènes antagonistes"* (Phisalix 1899e). Chez la vipère, Phisalix réalise quelques expériences complémentaires. Il constate : *"la bouillie globulaire mélangée au plasma empêche la coagulation spon-*

tanée, comme si les globules rouges vivants laissaient diffuser une substance empêchante. Les globules altérés ou détruits favorisent, au contraire, la coagulation. La plus ou moins grande résistance des globules rouges aux causes de destruction jouerait donc un rôle important dans la coagulation spontanée. [...] la résistance globulaire chez la vipère (V. aspis et V. berus) était beaucoup plus grande que celle des mammifères”. Phisalix se pose la question de savoir s’il s’agit là d’une simple coïncidence fortuite ou le résultat d’un phénomène plus général (Phisalix 1899f). Ces travaux sont complétés par une deuxième revue générale sur les mécanismes d’action de la sérothérapie : faits et théories relatifs aux propriétés des sérums des animaux vaccinés, rappel des travaux antérieurs, modifications du sérum induites par les poisons animaux analogues aux toxines, mode de préparation et mode d’action des sérums antivenimeux (Phisalix 1899g).

Un peu plus tard, les travaux sur la coagulation connaissent un nouveau développement. Phisalix, étudiant l’action du venin de vipère sur le sang de chien et de lapin observe que : *“le venin de vipère exerce donc une action directe sur la coagulabilité du sang, et le sens de cette action paraît être en rapport avec la résistance relative des deux espèces de globules. En effet, chez le chien, ce sont les globules rouges qui sont les premiers attaqués par le venin ; chez le lapin, ce sont les globules blancs ; dans le premier cas, le sang est incoagulable ; dans le second, au contraire, on voit apparaître un coagulum partiel dont le volume semble diminuer à mesure que l’hématolyse (= hémolyse) progresse. Les choses se passent comme si la destruction des globules rouges avec transformation de l’oxyhémoglobine en méthémoglobine mettait en liberté des substances anticoagulantes”.* Il ajoute encore : *“Les globules jouent un rôle important dans les phénomènes de coagulabilité, et cela même en dehors de l’intervention indirecte du foie, mais [...] sous l’influence du venin de vipère, l’altération des globules rouges et de l’hémoglobine a pour effet de mettre en jeu l’activité de substances anticoagulantes”* (Phisalix 1902b). En résumé : *“le venin de vipère produit des effets inverses sur la coagulation du sang, suivant qu’il est inoculé au chien ou au lapin, et cette différence tient à une variation physiologique de l’espèce. Chez le lapin, les globules rouges sont beaucoup plus résistants que les globules blancs et le sérum contient en excès une anti-hémolysine très active ; les globules rouges du chien sont moins résistants que les globules blancs et plus fragiles que ceux du lapin ; en outre, dans le sérum du chien prédomine une sensibilisatrice qui favorise l’hémolyse. Enfin c’est à l’échidnase qu’est due la transformation de l’hémoglobine et la mise en liberté des substances anticoagulantes”* (Phisalix 1902c).

Une nouvelle revue générale de Phisalix sur ses travaux paraît en 1903 (Phisalix 1903a). Les venins sont considérés dans leur rapport avec la biologie générale et la pathologie comparée, à la lumière de ses dernières recherches : composition chimique des venins, venins et glandes à sécrétion interne, venins et coagulation, venins et évolution. Il conclut que la question des venins touche aux problèmes les plus variés de la biologie et de la pathologie générales.

3.2 Glandes venimeuses des serpents. Résistance naturelle aux venins

Les travaux sur les glandes venimeuses sont inséparables des études de la résistance naturelle des serpents à leur propre venin puis, plus largement, des états de résistance naturelle (Phisalix parle “d’immunité”) de diverses espèces autres que les serpents (mammifères en particulier) à ces mêmes venins. Phisalix et Bertrand entreprennent alors sur *V. aspis* des expériences d’ablation des glandes venimeuses. Au terme de leur expérimentation, ils estiment : *“qu’une partie au moins des principes toxiques du sang de la vipère provient des glandes venimeuses : ils sont élaborés et cédés par elles à la circulation par le mécanisme de sécrétion interne”*. Ils estiment que leurs résultats apportent une preuve directe de la théorie de la sécrétion interne des glandes (Phisalix & Bertrand 1894g, 1895a). Cependant, ils constatent que le sang de couleuvres dépourvues de glandes venimeuses est tout aussi toxique que le sang de vipère. Ils en concluent que *“l’immunité des couleuvres pour le venin de vipère résulte de la présence dans le sang de principes toxiques analogues à ceux de ce venin. Ces principes se trouvent aussi dans les glandes labiales supérieures de la couleuvre qui sont non seulement les homologues des glandes à venin de la vipère, mais encore leurs homologues, du moins en ce qui concerne la sécrétion interne”* (Phisalix & Bertrand 1894b). Ils observent aussi que le hérisson, actif destructeur de vipères, est très résistant à leur venin et que le sang du hérisson est lui-même toxique. Ce sang, chauffé à 58°C, devient atoxique mais conserve ses propriétés antitoxiques (que les auteurs appellent “immunisantes”), mais pour peu de temps. Pour obtenir un sérum d’une activité assez grande pour être utilisé en thérapeutique, ils suggèrent de recourir à des espèces plus réfractaires encore que le hérisson, comme la mangouste (Phisalix & Bertrand 1895h). La résistance du hérisson serait donc due à la présence d’une substance immunisante, qui au reste ne serait pas spécifique parce qu’il y a dans le sang d’un grand nombre d’animaux des substances capables de neutraliser les effets du venin et de certaines toxines : il n’y a chez le hérisson que l’exagération d’un fait général

(Phisalix & Bertrand 1895f). Ce travail sur l'immunité du hérisson vis-à-vis du venin de vipère sera confirmé ultérieurement : *“la véritable cause de cette immunité naturelle réside bien dans la composition du sang de cet Insectivore. Ce sang renferme en effet des substances capables de neutraliser les effets du venin. Ces substances peuvent être isolées par chauffage ou précipitation alcoolique. L'existence de ces principes antitoxiques dans le sang d'animaux à immunité naturelle, tels que le Hérisson et la Vipère, présente un intérêt général sur lequel il est inutile d'insister. En tout cas, ce fait montre qu'il y a entre l'immunité naturelle et l'immunité acquise des relations très étroites, puisque dans les deux cas, au moins en ce qui concerne le venin de Vipère, le sang possède les mêmes propriétés”* (Phisalix 1897-1898a). Sur cette question de l'immunité naturelle du hérisson, il entre en polémique, et l'article est à nouveau cosigné par Bertrand, alors à l'Institut Pasteur de Paris : les deux cosignataires manifestent leur désaccord avec Lewin qui parle d'un état réfractaire des tissus du hérisson et récuse l'existence d'une propriété antitoxique du sang de l'animal (Phisalix & Bertrand 1899). D'autres travaux montrent l'existence à l'état normal de substances antivenimeuses dans le sang atoxique de quelques mammifères (cobaye, cheval) ou d'oiseaux (poule) : dans de tels cas, l'immunité artificielle consisterait dans l'exagération d'un moyen de défense naturel de l'organisme. Cette manière d'interpréter les faits est d'autant plus vraisemblable qu'elle ramène aux mêmes lois les phénomènes de l'immunité naturelle et d'immunité artificielle (Phisalix & Bertrand 1896b). Ils enchaînent alors en proposant l'emploi du sang de vipère et du sang de couleuvre comme substances antivenimeuses : *“chez la vipère et la couleuvre, il y aurait, comme en général chez les animaux vaccinés artificiellement, production de substances antitoxiques par suite d'une réaction défensive de l'organisme. D'après cela, on pourrait peut-être expliquer l'immunité de ces reptiles pour leur propre venin, plutôt par une sorte d'auto-vaccination que par accoutumance. Mais, à supposer qu'il n'en soit pas ainsi, l'existence de principes antivenimeux dans le sang de la vipère et de la couleuvre n'en a pas moins une signification importante au point de vue de la physiologie générale : elle démontre une fois de plus que, dans l'organisme, à mesure que les cellules sécrètent une toxine, il se produit une réaction antagoniste dont le résultat est la formation d'une antitoxine spécifique”* (Phisalix & Bertrand 1895g). Le moment est venu pour Phisalix de dresser en 1896, l'état actuel des connaissances sur les venins et la production de l'immunité contre les venins inoculés par morsure (Phisalix 1896f). Après une rétrospective des travaux antérieurs et de ses travaux personnels sur les venins, Phisalix expose le principe de ses

recherches : *“étudier les procédés naturels de défense de l’organisme, là où ils sont le plus développés, c’est-à-dire chez les animaux réfractaires aux venins, dans le but de découvrir les lois et le mécanisme de l’immunité”*. Il termine en concluant que *“dans le traitement de morsures de serpents venimeux, la première indication à remplir, c’est de faire sortir le venin de la plaie et de neutraliser celui qui est resté fixé dans les tissus. La méthode ordinaire, ligature élastique, succion, pression avec les doigts, lavages, injections interstitielles de chlorure de chaux, de permanganate de potassium ou d’acide chromique répond à ce but et suffit, dans la majorité des cas, à empêcher la mort. Mais la guérison sera, pour ainsi dire, certaine, si l’on peut instituer assez vite le traitement par le sérum antivenimeux”* (Phisalix 1896f). Précisons qu’aujourd’hui toute intervention directe sur le siège de la morsure est proscrite afin de ne pas provoquer de nécrose et de surinfection étendues localement. Le traitement symptomatique a beaucoup évolué depuis Phisalix, il est aujourd’hui très efficace, mais le sérum antivenimeux reste encore indispensable, irremplaçable, dans un certain nombre d’envenimations ophidiennes graves (morsures d’*Echis* sp., par exemple).

Quelques années plus tard, peut-être pour répondre à des critiques, Phisalix reviendra sur l’immunité naturelle des vipères et des couleuvres. Il tiendra à préciser que *“l’immunité naturelle des vipères et des couleuvres n’est pas absolue ; si elle est très élevée (5 à 600 fois plus grande que celle du cobaye), quand le venin pénètre par voie cutanée ou péritonéale, elle est beaucoup plus faible (elle n’est plus que 25 à 30 fois plus grande que celle du cobaye), quand le venin est mis directement en contact avec le cerveau. Une vipère pourrait donc être tuée dans un combat avec une de ses semblables si les crochets venimeux pénétraient dans le crâne ; mais en raison de la dureté des os, cette éventualité doit être, sinon impossible, du moins extrêmement rare et on peut admettre l’aphorisme de Fontana en le modifiant de la manière suivante : Le venin de la vipère n’est pas un poison pour son espèce, dans les conditions naturelles de l’inoculation”* (Phisalix 1903b). Une note suivante sera plus affirmative encore : *“l’immunité naturelle des vipères et des couleuvres doit être attribuée à la présence dans le sang d’une antitoxine libre qui neutralise le venin à mesure qu’il pénètre dans la circulation”* (Phisalix 1904c). À cette époque, la notion de récepteur cellulaire était inconnue et les faits observés par Phisalix ne pouvaient pas recevoir d’autre explication claire.

Cependant, en travaillant sur le sang de cobra, Phisalix et Bertrand observent que le pouvoir toxique du sang des serpents ne se manifeste pas de la même façon d’une espèce à

l'autre : chez le cobra, par exemple, le chauffage n'atténue pas sa toxicité. D'autre part, les effets toxiques du sang de cobra diffèrent de ceux du sang de vipère. En fait, la toxicité des sangs de serpents, vipère ou cobra, évoque celle de chacun des venins correspondants : *“chez les ophidiens, comme chez le crapaud, il y a une relation intime entre les propriétés toxiques du sang et celles du venin”* (Phisalix & Bertrand 1896c). Toujours méticuleux, Phisalix va préciser et confirmer son travail sur le venin de cobra. Il multiplie les expériences pour en arriver à la conclusion que *“le sang de Cobra renferme une substance phlogogène (= inflammatoire) qui est détruite à 58 degrés et qui paraît analogue à l'échidnase chez la Vipère. Il contient, en outre, un principe actif qui résiste à 58 degrés et qui possède toutes les propriétés physiologiques du venin. On peut donc admettre, d'après nos connaissances acquises sur les rapports entre le sang et les glandes venimeuses, que, chez le Cobra, le venin pénètre en nature dans le sang par le mécanisme de la sécrétion interne et que cette quantité de venin varie suivant les conditions d'activité physiologiques de la glande”* (Phisalix 1902d). Avec justesse, Phisalix insiste sur l'importance de la voie de pénétration du venin dans l'expression de sa toxicité et souligne bien l'intérêt de la voie intra-cérébrale. De nos jours, la voie intra-cérébrale est de plus en plus utilisée car elle permet une économie d'utilisation du produit toxique et des animaux-tests, étant donné la grande sensibilité habituelle du système nerveux central des vertébrés aux produits toxiques. D'autre part, certaines neurotoxines ne manifestent leur pouvoir toxique que par cette voie : tel est le cas des bloqueurs de canaux potassium des venins de scorpion (Goyffon 2000). Les études sur le venin de cobra n'en resteront pas là. En 1904, Phisalix montre que le sérum de cobra ne possède pas le moindre pouvoir antitoxique sur le venin de vipère. Les venins de vipère et de cobra appartiennent à des espèces chimiques différentes, et ces résultats concordent d'une façon parfaite avec ceux que les caractères anatomiques ont fourni aux zoologistes. Aussi l'analyse physiologique des venins peut, comme l'a montré l'auteur pour les opisthoglyphes (Phisalix 1899c), rendre les plus grands services dans la classification des ophidiens où la place de certains groupes est douteuse et difficile à déterminer d'après les seuls caractères anatomiques (Phisalix 1904a).

Au cours des années 1894-1896, l'activité de Phisalix et Bertrand est remarquable. Non seulement ils sont les découvreurs du sérum antivenimeux, mais dans le même temps ils observent la toxicité du sérum des serpents venimeux, l'effet protecteur de ce sérum chauffé, puis celui des animaux résistants au venin de vipère, allant jusqu'à proposer un traitement de l'envenimation par un sérum de serpent venimeux ou d'animal naturellement résistant au

venin de vipère. Certes, l'interprétation des faits est partielle ou même caduque : on se rappellera que le mot d'anticorps était à peine créé, et que Phisalix ne l'emploiera jamais. Cependant, des observations premières de Phisalix, on en perçoit des échos maintenant encore, après que bien des années se sont écoulées. En 1983, Rekow *et al.* notent que les composants toxiques du venin des araignées du genre *Loxosceles* se retrouvent dans les broyats d'abdomen : s'agit-il d'une libération dans la circulation générale de composants toxiques provenant de la glande venimeuse agissant comme une glande à sécrétion interne – c'est l'hypothèse de Phisalix (Phisalix & Bertrand 1894b) pour les crapauds et les serpents – ou la glande à venin accumule-t-elle des métabolites secondaires présents dans l'organisme de l'animal ? C'est en réalité le problème de la biosynthèse des toxines du venin que soulève Phisalix, du site de la synthèse des toxines dans l'organisme, et ce problème est loin d'être résolu aujourd'hui encore. Mieux même, on redécouvre actuellement son idée d'utiliser les inhibiteurs naturels des venins de serpent dans le traitement des envenimations (Faure 2000), mais les noms de Phisalix et de Bertrand qui ont à la fois étudié cette question et proposé cette solution originale paraissent bien oubliés...

Fidèle à sa théorie, Phisalix va rechercher la présence du venin en nature dans les organes de la vipère. Des broyats de foie, de pancréas, de rate, de thymus, de thyroïde ne provoquent aucun signe d'intoxication chez le cobaye (Phisalix & Bertrand 1894b). Il va alors s'intéresser d'abord aux glandes de Duvernoy de vipère et de couleuvre, glande qu'il appelle encore "glandes salivaires sus-maxillaires" ou "glandes labiales supérieures". Les broyats de glandes labiales supérieures de couleuvre à collier (*N. natrix*) sont très toxiques pour le cobaye (mais non les broyats de glandes labiales inférieures). Phisalix considère les glandes labiales supérieures des couleuvres comme homologues des glandes à venin chez la vipère, et souligne "*le parallélisme absolu entre les propriétés des substances toxiques sécrétées par les glandes labiales supérieures des couleuvres et celles qui se trouvent dans leur sang*" (Phisalix & Bertrand 1894b). Mieux encore : l'injection de broyats de glandes labiales supérieures de vipère et de couleuvre à des cobayes les immunise durablement contre leur venin, c'est-à-dire les vaccine. Phisalix tire aussi de ses observations des conclusions d'ordre phylogénétique : "*le venin et le sang de la Vipère, d'une part, et d'autre part, le venin et le sang des Protéroglyphes (Cobra capello [cobra à coiffe], ophiophage [Ophiophagus hannah]) déterminent des symptômes d'empoisonnement complètement différents de ceux de l'envenimation vipérique. Si l'on ajoute à cela que le venin de Couleuvre atténué par la chaleur ou*

inoculé à dose non mortelle devient un vaccin contre le venin de Vipère et que les glandes labiales supérieures de la Couleuvre, à l'égal de celles de la Vipère, vaccinent aussi contre son venin, on sera convaincu qu'il y a non seulement homologie, mais encore analogie entre ces glandes et que la parenté entre les Colubridés Aglyphodontes et les Vipéridés peut être admise comme définitivement établie" (Phisalix 1896b). En 1905, alors qu'il lui reste une année à vivre, il recherchera le venin dans les ovaires de la vipère. Il observe qu'au moment de l'ovogenèse, les principes actifs du venin de la vipère s'accumulent dans les ovules. Il est probable que d'autres substances spécifiques passent aussi du sang dans l'ovule et que ces substances, de même que le venin, interviennent dans le développement de l'œuf. S'il en est ainsi, les phénomènes mécaniques de l'ontogenèse seraient accompagnés de phénomènes chimiques qui joueraient un rôle essentiel dans la formation des organes et dans le mécanisme de l'hérédité (Phisalix 1905a).

Au total, Phisalix et Bertrand d'abord puis Phisalix seul ont développé deux grandes axes de recherche se rapportant l'un et l'autre à la neutralisation des venins de serpent par un organisme. Ce travail leur a permis de découvrir l'immunité qu'ils appellent "artificielle" des animaux vis-à-vis des venins, c'est-à-dire la possibilité de vacciner un animal par un venin atténué. Cette immunité est transférable : c'est le principe même de la fabrication d'un sérum antivenimeux dont Phisalix et Bertrand sont les découvreurs. Ils se sont dans le même temps attachés à comprendre la signification de l'immunité naturelle des serpents venimeux vis-à-vis de leur propre venin, puis de diverses espèces animales vis-à-vis de ces mêmes venins. Affirmant l'existence de substances antitoxiques dans le sérum de ces espèces résistantes, ils ont nourri l'espoir de disposer d'un substitut thérapeutique du sérum antivenimeux. Enfin, Phisalix a clairement posé le problème de la biosynthèse du venin chez les animaux venimeux, problème encore non résolu à l'heure actuelle. La vision des venins par Phisalix et Bertrand est celle de naturalistes physiologistes qui, l'un médecin et l'autre pharmacien, ont toujours conservé l'optique d'une finalité thérapeutique de leurs recherches. Le départ précoce de Bertrand du Muséum national d'Histoire naturelle, puis le décès prématuré de Phisalix ont empêché un aboutissement complet de leur recherche. Telle qu'elle a été, elle a fourni le premier sérum antivenimeux : les sérums antivenimeux sont certainement le médicament d'origine biologique le plus ancien encore en usage et qui restent encore irremplaçables dans un certain nombre d'envenimations ophidiennes graves, plus d'un siècle après leur découverte.

L'œuvre scientifique de Phisalix n'est pas close pour autant. Deux rubriques peuvent encore être ouvertes.

3.3 Antidotes contre les venins

Phisalix testera divers produits ou divers procédés comme antidotes possibles des venins. Sans doute sous le coup de la querelle de priorité avec Calmette (Phisalix & Bertrand 1894h, 1894i), Phisalix et Bertrand vont vérifier eux-mêmes certains travaux de leur adversaire. Calmette en effet dénaturait le venin non pas par la chaleur, mais par un traitement chimique du venin à l'hypochlorite de chaux (Calmette 1894b), et il affirmait en outre l'intérêt de l'hypochlorite de chaux comme antidote du venin (Bon 1996, Calmette 1894a). Qu'il s'agisse d'hypochlorite ou de chlorure de chaux, Phisalix et Bertrand affirment que leurs expériences, concordantes, démontrent que les solutions salines préconisées par Calmette n'ont qu'une action locale. Ces solutions détruisent le venin, modifient les tissus et font ainsi obstacle à l'absorption du venin. D'un point de vue pratique, les injections de chlorure de chaux faites en d'autres points que celui de la morsure et n'ayant aucune action immunisante doivent être évitées, et si l'on veut essayer cet antidote, il faut alors l'injecter en profondeur plutôt que sous la peau, à l'endroit même où les crochets ont pénétré (Phisalix & Bertrand 1895e). Ce débat aura surtout été l'occasion pour Phisalix et Bertrand de rappeler leur antériorité dans la découverte du sérum antivenimeux (Phisalix & Bertrand 1894i, 1894j). Il sera l'occasion aussi d'une mise au point définitive sur la valeur de l'atténuation thermique du venin pour en permettre l'utilisation comme vaccin chez l'animal : une trentaine d'années s'écoulera avant qu'une méthode chimique de dénaturation par formolisation se substitue à la technique de Phisalix et Bertrand. La querelle s'éteindra vite, mais en pratique les nombreux articles sur la sérothérapie médicale qui seront publiés par Calmette dans les années suivantes et encore bien après la mort de Phisalix éteindront quelque peu le nom de celui-ci.

Phisalix testera d'autres méthodes d'atténuation, courants de haute fréquence (Phisalix 1896e) ou plus tard "émanations" du radium (Phisalix 1904b, 1905c). Les courants à haute fréquence lui paraissent intéressants. Il s'appuie toujours sur l'analogie entre venins et toxines bactériennes et reprend un travail récent de collègues bactériologistes : *"en raison de la similitude qui existe entre les toxines microbiennes et les venins, similitude fondée sur un certain nombre de propriétés physiques et physiologiques, il était intéressant de rechercher si le parallélisme se poursuivait sur ce nouveau terrain"*. Et il constate que *"la haute fré -*

quence atténué le venin de vipère et que le venin ainsi atténué possède des propriétés vacci- nantes très accentuées” (Phisalix 1896e). Les travaux utilisant “*l’émanation du radium*”, plus tardifs, sont plus complexes. Dans un premier temps, Phisalix (1904b) irradie à des temps croissants des tubes contenant une même solution aqueuse de venin de vipère et vérifie que l’atténuation du venin est proportionnelle à la durée d’exposition. Seule la durée d’exposition maximale utilisée (58 heures) neutralise complètement le venin. Dans un second temps Phisalix (1905c) irradie plusieurs venins : vipère, salamandre, crapaud. Il constate à nouveau que le venin de vipère est inactivé, mais aussi stérile, contrairement au venin témoin non irradié. Cette action microbicide avait été déjà observée par Pierre Curie qui a fourni à Phisalix le sel de radium. Il note encore que la glycérine ajoutée à l’eau distillée de la solution joue un rôle radio-protecteur. Enfin, les venins de salamandre et de crapaud sont parfaitement résistants à l’irradiation qui n’atténue en rien leur toxicité. Phisalix commente ainsi ces résultats : “*comme les principes actifs de ces deux venins ne sont pas de nature albuminoïde [contrairement au venin de vipère], on peut en induire que l’action chimique du radium s’exerce seulement sur les substances albuminoïdes*” (Phisalix 1905c).

Poursuivant ses recherches sur la présence d’antagonistes du venin dans l’organisme, et évoquant ses travaux antérieurs avec G. Bertrand, Phisalix va tester les effets des acides biliaires et de la cholestérine (= cholestérol) extraite de la bile de serpent ou de mammifère. La neutralisation du venin de vipère par la bile avait déjà été décrite par d’autres chercheurs. Aussi Phisalix a-t-il cherché dans la bile les agents responsables de cette activité. Il isole les sels biliaires, d’une part, la cholestérine d’autre part. Les sels biliaires ne sont pas dépourvus de toxicité, et peuvent tuer les animaux d’expérience à dose suffisamment élevée. Néanmoins ils neutralisent la toxicité du venin, et comme la bile, cette propriété disparaît après un chauffage à 120° C. Par ailleurs, les sels biliaires exercent un effet protecteur vis-à-vis du venin s’ils sont injectés préalablement au venin à dose infra-létale. La cholestérine possède des effets comparables aux sels biliaires. Phisalix parle à ce propos de “*pouvoir antitoxique*” de la cholestérine (neutralisation des effets du venin) et de “*pouvoir vaccinant*” ce que nous appellerions aujourd’hui effet protecteur. Car l’injection simultanée ou immédiatement successive de sels biliaires ou de cholestérine n’empêche pas le venin d’exercer ses effets toxiques. Phisalix ne parvient pas à expliquer les effets de la cholestérine qui, “*malgré son peu de solubilité et ses faibles affinités chimiques immunise contre le venin de vipère*” (Phisalix 1897i). L’immunologie n’en est encore qu’à ses tout débuts...

Mais Phisalix cherchera aussi de véritables antidotes, notamment chez les végétaux. C'est notamment la tyrosine, extraite des tubercules de *Dahlia* sp. ou de champignons (rusule noircissante, agaric) par G. Bertrand, alors à l'Institut Pasteur de Paris et qui fournira les échantillons à Phisalix. La tyrosine, peu soluble en milieu aqueux, est injectée sous la forme d'une fine suspension aqueuse relativement bien tolérée par les cobayes. Elle n'a pas de pouvoir antitoxique, elle ne neutralise pas le venin et ne protège pas l'animal si elle est injectée en même temps que le venin, mais en un point différent du corps. Si la tyrosine est injectée 24 ou 48 heures avant le venin, elle protège l'animal. Phisalix considère que l'animal est vacciné et qu'il dispose d'un vaccin chimique contre le venin. Le suc des tubercules de dahlia, d'où la tyrosine est extraite, possède des propriétés antivenimeuses encore plus puissantes, sans doute dues à la présence d'autres substances actives qui s'ajoutent à la tyrosine. Et Phisalix de conclure : *“il était intéressant de signaler ce fait comme le premier exemple connu d'un végétal dont le suc cellulaire est doué de propriétés immunisantes contre un venin”* (Phisalix 1898a). Il obtiendra des résultats similaires avec des broyats d'agaric (*Agaricus edulis*, le champignon de couche) qui contient aussi de la tyrosine, mais les résultats sont plus délicats à interpréter en raison d'un fort pouvoir nécrosant des broyats, insuffisamment atténués par un chauffage à 120°. Là encore, Phisalix parle de “pouvoir vaccinant” des sucres de champignon (Phisalix 1898b). Sans doute déçu par des résultats insuffisants avec l'agaric, Phisalix va explorer le “pouvoir vaccinant” de quelques autres espèces de champignons : des amanites (*Amanita muscaria*, *A. mappa*), des lactaires (*Lactarius theiogalus*, *L. torminosus*) et la truffe. Certaines de ces espèces sont toxiques, et les doses tolérables doivent être préalablement déterminées. Les “propriétés vaccinales” contre le venin de vipère sont retrouvées avec les extraits de toutes les espèces éprouvées. Mais, écrit Phisalix, *“en présence des différences considérables au point de vue chimique et physiologique qui séparent les espèces étudiées dans cette note, on doit se demander si la vaccination contre le venin est produite par une même substance commune à toutes ces espèces ou au contraire par des substances différentes. Cette dernière hypothèse paraît plus vraisemblable ; il sera d'autant plus intéressant de chercher à la vérifier qu'elle peut conduire à la découverte des espèces possédant le maximum de propriétés vaccinales soit contre les venins, soit contre les toxines microbiennes”* (Phisalix 1898d). Phisalix ne semble pas entièrement convaincu par l'effet “vaccinant” des extraits de champignon contre les venins, ou tout au moins par leur avenir en thérapeutique, il accorde plus d'intérêt *a priori* à leurs propriétés antimicrobiennes, nous dirions

aujourd'hui "antibactériennes". En réalité, la dernière phrase de Phisalix est tout à fait extraordinaire, elle est celle d'un véritable chercheur, à la fois rigoureux et imaginaire : sans que le concept en soit né, il annonçait à sa manière, comme s'il en avait l'inconsciente prescience, la découverte des antibiotiques à partir de champignons... Aurait-il eu connaissance, lui, ancien médecin militaire, de la thèse de doctorat en médecine soutenue près de deux ans auparavant à Lyon par Duchesne (1897), autre médecin militaire, qui avait découvert *de facto* les antibiotiques sans les reconnaître ? C'est peu probable...

Les recherches sur les antidotes sont des recherches personnelles de Phisalix seul, à en juger par la signature de ses publications. Dans les huit dernières années de sa vie, son travail ne présente plus la même homogénéité. Certes, il justifie toujours longuement le travail qu'il entreprend et qu'il rattache à ses résultats antérieurs, il n'en reste pas moins que ses tests de "vaccins antivenimeux" se font à l'aide de substances nouvellement découvertes, et singulièrement par son ancien collaborateur G. Bertrand auquel l'unira jusqu'à la fin une réelle et profonde amitié. Il y a dans sa recherche une nuance de pragmatisme qui n'apparaissait pas antérieurement. On peut dès lors se poser la question du rôle qu'a joué Bertrand dans la période faste du travail de Phisalix, celle des années 1892-1896, qui est précisément celle de la collaboration de Bertrand, dont on sait la carrière brillantissime qu'il accomplit par la suite. Dans un article polémique sur un mémoire publié par Lewin (Phisalix & Bertrand 1899), Phisalix obtiendra la cosignature de Bertrand alors que celui-ci a quitté déjà le Muséum depuis un certain temps, ce qui est un signe de la confiance réciproque qu'ils s'accordent. Mais d'autre part, Phisalix, couronné à deux reprises par l'Académie des sciences, reconnu dans les milieux scientifiques parisiens comme un chercheur de premier plan, n'avait aucun mal à se procurer des échantillons de substances nouvelles. En 1903, Pierre Curie lui remettra sans difficulté des échantillons de radium pour des tests sur les venins : on ignore si ce travail (Phisalix 1904b, 1905c) s'est fait à l'initiative de Phisalix ou à l'instigation du prix Nobel 1903. Enfin, à partir de 1895, Phisalix consacra une part importante de son temps à l'enseignement. L'aspect plus diversifié de son travail dans ses dernières années tient sans doute à ces facteurs, mais tout autant à son état de santé qui semble s'être dégradé progressivement jusqu'à son décès.

3.4 Venins et glandes venimeuses, serpents exceptés

Aux travaux déjà présentés, s'ajoutent quelques études variées de Phisalix sur d'autres vertébrés venimeux (amphibiens, poissons) mais aussi sur des arthropodes venimeux (arachnides, hyménoptères piqueurs). Phisalix a toujours eu la volonté d'élargir son horizon, de vérifier jusqu'à quel point il pouvait généraliser l'interprétation de ses résultats.

Amphibiens et poissons : peu de temps après leur note sur le sérum antivenimeux, Phisalix, avec Coutejean, confirme que le sang de salamandre contient un antagoniste du curare, assez efficace pour protéger non seulement la salamandre elle-même, mais aussi la grenouille contre la toxicité de cet alcaloïde (Phisalix & Coutejean 1894). Le venin de la grande salamandre du Japon (*Andrias japonicus*, ex-*Sieboldia maxima*) est toxique. Il possède des effets paralysants, et entraîne chez les mammifères des effets locaux importants. Ce venin, même desséché, perd rapidement sa toxicité. Chauffé, il n'a plus aucune toxicité mais possède alors un pouvoir vaccinant vis-à-vis du venin de vipère. Phisalix en conclut que le venin de la salamandre du Japon présente des caractéristiques qui l'éloignent des autres venins d'Urodèles et le rapprochent de certains albuminoïdes toxiques, comme celui du sérum d'anguille (Phisalix 1897f). C'est là un résultat que la dissemblance de caractères ne permettait pas de prévoir (Phisalix 1897h). Dans un travail antérieur en effet, Phisalix avait déjà relevé l'analogie entre le sérum d'anguille et le sérum de vipère, non seulement pour ses propriétés toxiques mais encore pour ses propriétés immunisantes vis-à-vis du venin de vipère (Phisalix 1896c).

En 1902, Phisalix retrouve la collaboration de Bertrand pour approfondir une étude sur le venin de crapaud qu'ils avaient amorcée une dizaine d'années plus tôt. Ils avaient alors noté dans le venin de crapaud l'existence de produits alcaloïdiques qu'ils n'avaient pas pu identifier. Un travail récent d'auteurs allemands les incite à reprendre de nouvelles analyses. Ils confirment la présence d'une bufotaline, déjà décrite, et découvrent un nouvel alcaloïde toxique, la bufoténine aux effets paralysants dont est dépourvue la bufotaline, uniquement cardiotoxique (Phisalix & Bertrand 1902). Il étudie ensuite sur cet animal les corrélations fonctionnelles entre les glandes à venin et les gonades au cours du développement embryonnaire, thématique qui va tenir une grande place dans les trois années à peine qu'il lui reste à vivre. Il note que "*les poisons contenus dans l'œuf disparaissent pendant les premières phases embryonnaires. La réapparition de ces substances toxiques dans l'organisme est cor-*

relative du développement des glandes à venin. Les poisons fabriqués par ces glandes rentrent dans le sang par le mécanisme de la sécrétion interne, et, à l'époque où l'ovaire entre en activité, ils se fixent sur les cellules germinatives pour contribuer à la formation et au développement de l'œuf" (Phisalix 1903a). Il reprend ces remarques dans un article de revue générale qu'il publie à la même époque (Phisalix 1903c).

En dehors de l'anguille, les vives sont les seuls poissons que Phisalix étudiera, mais ce travail ne donnera lieu qu'à une seule publication, dans laquelle il écrit : "*Le venin [Trachinus draco, T. vipera] inoculé sous la peau exerce une action phlogogène plus ou moins intense qui n'entraîne pas d'accidents généraux graves si la piqûre est aseptique. [...]. Si, au contraire, des microbes ont été introduits en même temps que le venin, ils trouvent un terrain d'autant plus propice à leur pullulation, que les tissus sont rapidement mortifiés ; [...]. C'est généralement ce qui arrive pour les piqûres accidentelles chez l'homme*". Il en termine en concluant que "*le venin de vives inoculé sous la peau détermine une douleur et une action locale plus ou moins intense suivant la dose et la virulence, mais il n'occasionne pas d'accidents généraux graves. Ceux-ci doivent être attribués à une infection secondaire, d'autant mieux que la nécrose des tissus favorise l'évolution des microbes presque inévitablement inoculés dans la plaie*" (Phisalix 1899a). L'affaire est entendue : aux yeux de Phisalix, le venin des vives est peu toxique, il n'insistera pas davantage.

Arthropodes : Phisalix s'est peu intéressé aux arthropodes venimeux. Toutefois, ses dernières publications leur sont consacrées.

Il commence par un court travail sur le venin du scorpion nord-africain *Buthus* (= *Androctonus*) *australis*. Les travaux antérieurs de Paul Bert en particulier avaient bien établi la neurotoxicité des venins de scorpions (Bert 1865, 1885). En collaboration avec Varigny, Phisalix a décrit les symptômes de l'envenimation scorpionique chez le cobaye et chez le chien. Sa méthode de traite électrique du venin est encore celle qui est utilisée de nos jours. Il a noté aussi que le premier venin obtenu, limpide, est très toxique, que les dernières fractions collectées, qui contiennent une fraction insoluble, le sont beaucoup moins. Enfin, il a pu vérifier que la toxicité des venins de scorpion pour les mammifères peut varier considérablement d'une espèce de scorpion à l'autre (Phisalix & Varigny 1896). Il n'aura plus ensuite l'occasion de développer son étude des venins de scorpions.

Phisalix va aussi s'intéresser au "venin volatil" des iules (*Iulus terrestris*). Ceux-ci ne disposent pas d'appareil inoculateur du venin, cependant ils produisent une "sécrétion cutanée" répugnatoire, peu toxique par voie sous-cutanée ou intraveineuse, mais mortelle pour le cobaye si l'injection a lieu par voie intra-péritonéale. Le chauffage de cette sécrétion à l'air libre, mais non en tube clos, diminue fortement ses propriétés toxiques. Le principe actif de la sécrétion du iule n'est pas un albuminoïde, et il est volatil (Phisalix 1900). Une série d'analyses chimiques précises et des contrôles toxicologiques conduisent Phisalix et Béhal à conclure que la substance active de la sécrétion cutanée du iule est la quinone. C'est le premier signalement de la quinone dans une sécrétion d'invertébré. La quinone ayant été identifiée chez un champignon saprophyte des racines de certains arbres, Béhal et Phisalix (1900) émettent l'hypothèse d'une origine alimentaire de sa présence chez le iule.

Sur la base d'un travail expérimental qui décrit comme semblable à celle de la vipère l'envenimation par les piqûres d'abeilles, Phisalix va comparer "*des rapports qui peuvent exister entre le venin de Frelon et celui de Vipère*" : plus précisément, il veut voir "*si le premier ne posséderait pas de propriétés immunisantes vis-à-vis du second*". La conclusion est nette : "*il existe dans le venin de frelon une substance qui a la propriété d'immuniser les animaux contre le venin de vipère*". Cette substance est thermostable, ce n'est ni un albuminoïde ni un alcaloïde. Phisalix n'aura pas, là encore, l'occasion d'entreprendre les nouvelles recherches qu'il juge nécessaires (Phisalix 1897g). Quelques années plus tard, Phisalix étudie la composition du venin d'abeille. Il distingue trois principes actifs dans le venin natif, tel qu'il est inoculé : une substance phlogogène thermolabile, une substance convulsivante qui ne résiste pas à l'ébullition prolongée et une substance stupéfiante thermostable. L'existence dans le venin d'abeille de deux substances toxiques à effets opposés est un fait nouveau que Phisalix rapproche des résultats obtenus dans l'étude des poisons de l'urine par un autre chercheur. La substance phlogogène et la substance stupéfiante sont sécrétées par la glande acide, la substance convulsivante provient vraisemblablement de la glande alcaline (Phisalix 1904d). Puis, comme pour les crapauds (Phisalix 1903a) et les vipères (Phisalix 1905a), Phisalix recherche la présence du venin dans les œufs d'abeille, et constate que cette présence, relativement importante, ne suffit pas à induire la formation de l'appareil venimeux, puisque les mâles en sont dépourvus. Il est ainsi amené à considérer que les glandes accessoires mâles annexées aux canaux déférents sont l'équivalent des glandes venimeuses qui sont chez

les abeilles des annexes de l'appareil génital femelle (Phisalix 1905b). Cet article sera le dernier travail publié par Phisalix.

CONCLUSION

L'œuvre de Césaire Phisalix, abondante et variée, est pour sa plus grande part consacrée à l'herpétologie. Presque tout le travail accompli au Muséum national d'Histoire naturelle a été exposé dans cet article. On connaît sa découverte du sérum antivenimeux, on ignore le plus souvent la première description précise des glandes cutanées de la salamandre, la découverte de la bufoténine dans le venin de crapaud (le mot a été créé par Phisalix) ou encore de la quinone dans les sécrétions cuticulaires des iules. À l'origine médecin et physiologiste, Phisalix a été également un chimiste de qualité, dans sa collaboration avec Bertrand surtout, ou avec des collaborateurs occasionnels comme Béhal. Lui-même se qualifiait de naturaliste. En réalité, il n'était guère un naturaliste de terrain comme on le conçoit aujourd'hui, il apparaîtrait plutôt comme un biologiste à la vaste culture scientifique. Au Muséum national d'Histoire naturelle, qu'il rejoint en 1888, dans le laboratoire dirigé par Chauveau, il est d'abord attiré par les venins, leurs effets, les moyens de les neutraliser. Il était médecin, Bertrand pharmacien, et leur collaboration, d'une grande efficacité, les poussa vers la thérapeutique. Bertrand parti à l'Institut Pasteur de Paris, engagé dans de nouvelles recherches, l'amitié les aida à maintenir leur collaboration en quelques occasions. Cependant, après le départ de Bertrand, on voit Phisalix, attiré par des problèmes de biologie générale, et en particulier vers la fin de sa vie par les relations entre la biosynthèse du venin au cours du développement embryonnaire et son action éventuelle sur l'embryon, passant des vertébrés aux invertébrés. La thérapeutique expérimentale n'apparaît plus que dans la recherche de nouveaux antidotes pouvant être extraits soit de l'animal, venimeux ou non, soit du monde végétal. Les publications prennent alors un aspect plus disparate qu'à l'époque de sa collaboration avec Bertrand. Pour autant, Phisalix n'en perd pas ses puissantes qualités d'analyste, les nouvelles découvertes ne manquent pas, et sa clairvoyance l'a conduit parfois à une étonnante prescience. Mais qui donc signale encore que la bufoténine a été en réalité trouvée, identifiée, reconnue chimiquement et pharmacologiquement par Phisalix et non par d'autres chercheurs, au demeurant bien plus tard alors que, nous l'avons dit, le nom même de la substance a été créé par Phisalix ? ...

Mort à 54 ans, Phisalix n'avait évidemment pas achevé son travail. L'un de ses projets lui tenait particulièrement à cœur, la rédaction d'un ouvrage sur l'ensemble des animaux venimeux. Marie, fidèle à la mémoire de son mari, s'en chargera. Elle reprendra ce projet et le mènera à bien en 1922. Aurait-elle partagé la signature avec Césaire si celui-ci s'était engagé à temps dans cet ouvrage ? Aucun des travaux cités ne compte Marie Phisalix dans les co-auteurs : s'est-elle toujours considérée comme la disciple de Césaire qu'elle fut initialement, au point de préparer et d'obtenir à 39 ans son diplôme de docteur en médecine ?

La méconnaissance de l'œuvre de Césaire Phisalix dépasse de loin l'oubli relatif de sa découverte du sérum antivenimeux. Cet aspect mériterait sans aucun doute d'être approfondi, au-delà même de la personnalité de Phisalix. Retenons encore les qualités de modestie et de cœur que laisse transparaître ce que nous connaissons de sa biographie ou encore tirées des quelques lettres qui nous sont parvenues. Césaire Phisalix est assurément une haute personnalité scientifique.

Nota : cet article est tiré de la thèse de doctorat (PhD) de l'un de nous, Rosany Bochner (2003)

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Avertissement au lecteur : il est arrivé que Césaire Phisalix publie dans deux ou trois revues différentes le même travail sous le même titre et le même texte. En ce cas, la référence regroupe les références bibliographiques de chacune des revues sous le même intitulé dans le même alinéa.

Béhal A. & Phisalix C. 1900 - La quinone, principe actif du venin de *Iulus terrestris*. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 6 : 388-390 ; *C. R. Soc. Biol.*, 52 : 1036-1038 ; *C. R. Acad. Sci.*, 131 : 1004-1007 ; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 25 : 88-91.

Bert P. 1865 - Contribution à l'étude des venins (venins de scorpions). *C. R. Soc. Biol.*, 17 : 136-137.

Bert P. 1885 - Venin du scorpion. *C. R. Soc. Biol.*, 27 : 574-575.

Bochner R. 2003 - Acidentes por Animais Peçonhentos : aspectos históricos, epidemiológicos, ambientais e sócio-econômicos [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro : Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). http://teses.cict.fiocruz.br/pdf/Acidentes_por_animais_Peconhentos-Rosany_Bochner.pdf.

Bon C. 1996 - Serum therapy was discovered 100 years ago. *In* : Envenomings and their treatments (C. Bon & M. Goyffon) 1 vol., Fondation Marcel Mérieux, Lyon : 3-9.

Brygoo E. - 1985 La découverte de la sérothérapie antivenimeuse en 1894. Phisalix & Bertrand ou Calmette ? *Bull. Ass. Anc. Élèves Inst. Pasteur*, 106 : 10-22.

Calmette A. 1894a - L'immunisation artificielle des animaux contre le venin des serpents, et la thérapeutique expérimentale des morsures venimeuses. *C. R. Soc. Biol.*, 46 - 120-124.

Calmette A. 1894b - Contribution à l'étude du venin des serpents. Immunisation des animaux et exposé d'une méthode de neutralisation de ce venin dans l'organisme. *Ann. Inst. Pasteur*, 8 : 275-291.

Chippaux J.-P. & Goyffon M. 1991 - Production and use of snake antivenin. *In* : Reptile venoms and toxins, 1 vol., Handbook of Natural Toxins (A. T. Tu), 5, Marcel Dekker, New York : 529-555.

Duchesne E. 1897 - Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes ; antagonisme entre les moisissures et les microbes. Thèse Doctorat en Médecine, Lyon.

Faure G. 2000 - Natural inhibitors of toxic phospholipases A2. *Biochimie*, 82 : 833-840.

Goyffon M. 2000 - Venins et défensines des scorpions. *In* : Annales de l'Institut Pasteur/Actualités, Les venins (C. Bon), 1 vol., Elsevier, Paris : 129-147.

Phisalix C. 1889a - Expériences sur le venin de la Salamandre terrestre et son alcaloïde. *Ass. Fr. Avanc. Sci.*, 18^e session : 311-312.

Phisalix C. 1889b - Nouvelles expériences sur le venin de la Salamandre terrestre. *C. R. Acad. Sci.*, 109 : 405-407.

Phisalix C. 1890 - Sur quelques points de la physiologie des glandes cutanées de la salamandre terrestre. *C. R. Soc. Biol.*, 42 : 225-227.

Phisalix C. 1893 - Toxicité du sang de la salamandre terrestre. *Ass. Fr. Avanc. Sci.*, 22^e session : 257-258

Phisalix C. 1894 - Vaccination et accoutumance du cobaye contre le venin de vipère. X^e Congr. Int. de Médecine de Rome, 1 vol., section II (Patologia generale e anatomia patologica), Masson éd., Paris : 274-277.

Phisalix C. 1896a - Démonstration directe de l'existence, dans le venin de vipère, de principes vaccinnants indépendants des substances toxiques. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 197-199.

Phisalix C. 1896b - Antagonisme physiologique des glandes labiales supérieures et des glandes venimeuses chez la vipère et la couleuvre : la sécrétion des premières vaccine contre le venin des secondes. Corollaires relatifs à la classification des ophidiens. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 354-357 ; *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 963-965.

Phisalix C. 1896c- Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 386-388 ; *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 1128-1130 ; *C. R. Acad. Sci.*, 123 : 1305-1308 ; *Semaine Méd.*, 30 décembre, 522-523

Phisalix C. 1896d - Action du filtre de porcelaine sur le venin de vipère : séparation des substances toxiques et substances vaccinnantes. *C. R. Acad. Sci.*, 122, 1439-1442 ; *C. R. Soc. Biol.*, 48, 656-658 ; *Semaine Méd.*, 24 juin, p. 253 ; *Tribune Méd.*, 28, 795-796.

Phisalix C. 1896e - Atténuation du venin de vipère par les courants à haute fréquence ; nouvelle méthode de vaccination contre ce venin. *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 233-234 ; *Semaine Méd.*, 4 mars, p. 91.

Phisalix C. 1896f - État actuel de nos connaissances sur les venins. Production de l'immunité contre les venins inoculés par morsure. *Rev. Gén. Sci. Pures Appl.*, 7 : 185-191.

Phisalix C. 1897a - Venins et animaux venimeux dans la série animale. Part. I et II. *Rev. Sci.* (Revue rose), 8 : 97-104.

Phisalix C. 1897b - Venins et animaux venimeux dans la série animale. Part. III, IV et V. *Rev. Sci.* (Revue rose), 8 : 195-201.

Phisalix C. 1897c - Venins et animaux venimeux dans la série animale. Part. VI, VII et VIII. *Rev. Sci.* (Revue rose), 8 : 329-335.

Phisalix C. 1897d - Sur les propriétés antitoxiques du sérum de vipère, comparées à celles du sérum antivenimeux obtenu artificiellement. XII^e Congr. Int. de Médecine de Moscou, Section III, 157-159.

Phisalix C. 1897e - Nouveaux procédés de séparation de l'échidno-vaccin et de l'échidnase du venin de vipère. XII^e Congr. Int. de Médecine de Moscou, Section III, 159-161.

Phisalix C. 1897f - Action physiologique du venin de la salamandre du Japon (*Sieboldia maxima*). Atténuation par la chaleur et vaccination de la Grenouille contre ce venin. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 3 : 242-244 ; *C. R. Acad. Sci.*, 125 : 121-123 ; *C. R. Soc. Biol.*, 49 : 723-725.

Phisalix C. 1897g - Antagonisme entre le venin des Vespidae et celui de la vipère : le premier vaccin contre le second. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 3 : 318-320 ; *C. R. Soc. Biol.*, 49 : 1031-1033 ; *C. R. Acad. Sci.*, 125 : 977-979.

Phisalix C. 1897h - Propriétés immunisantes du venin de salamandre du Japon vis-à-vis du venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 49 : 822-823.

Phisalix C. 1897i - La cholestérine et les sels biliaires vaccins chimiques du venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 49 : 1057-1060 ; *C. R. Acad. Sci.*, 125 : 1053-1055.

Phisalix C. 1897-1898a - L'immunité du hérisson à l'égard du venin de vipère. *Interm. Biol.*, nov. 97-oct. 98, p. 323-325.

Phisalix C. 1897-1898b - Mort par la morsure de vipère de France. *Interm. Biol.*, nov. 97-oct. 98, p. 325.

Phisalix C. 1898a - La tyrosine, vaccin chimique du venin de vipère. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 4 : 41-43 ; *C. R. Acad. Sci.*, 126 : 431-433 ; *C. R. Soc. Biol.*, 50 : 153-155.

75 - Phisalix C. 1898b - Les sucres de champignons vaccinent contre le venin de vipère. *C. R. Acad. Sci.*, 127 : 1036-1038 ; *C. R. Soc. Biol.*, 50 : 1151-1153.

Phisalix C. 1898c - La propriété préventive du sérum antivenimeux résulte d'une réaction de l'organisme : c'est donc en réalité une propriété vaccinante. *C. R. Soc. Biol.*, 50, 253-256.

Phisalix C. 1898d - Sur quelques espèces de champignons étudiés au point de vue de leurs propriétés vaccinales contre le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 50 : 1179-1181 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 4 : 390-392.

Phisalix C. 1899a - Expériences sur le venin des Vives (*Trachinus vipera* et *Tr. draco*). *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 5 : 256-258.

Phisalix C. 1899b - Nouvelles observations sur l'échidnase. *C. R. Acad. Sci.*, 129 : 115-117 ; *C. R. Soc. Biol.*, 51 : 658-660

Phisalix C. 1899c - Propriétés physiologiques du venin de *Celopeltis insignitus*. Corollaires relatifs à la classification des opisthogyphes. Cinquantenaire de la Société de Biologie. *Volume jubilaire de la Société de Biologie* : 240-245 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.* (1900) 6 : 33-39.

Phisalix C. 1899d - Venins et coagulabilité du sang. Remarques à propos de la communication de M. Delezenne. *C. R. Soc. Biol.*, 51 : 834-835.

Phisalix C. 1899e - Relations entre le venin de vipère, la peptone et l'extrait de sangsue, au point de vue de leur influence sur la coagulabilité du sang. *C. R. Soc. Biol.*, 51 : 865-867.

Phisalix C. 1899f - Sur la coagulation du sang chez la vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 51 : 881-882.

Phisalix C. 1899g - Essai sur les mécanismes des phénomènes en sérothérapie. *Rev. Gén. Sci. Pures Appl.*, 10 : 806-818.

Phisalix C. 1900 - Un venin volatil : sécrétion cutanée du *Iulus terrestris*. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 6, 385-388 ; *C. R. Acad. Sci.*, 131 : 955-957 ; *C. R. Soc. Biol.*, 52 : 1033-1036.

Phisalix C. 1902a - Relations de parenté entre nos deux espèces indigènes de vipères (*Vipera aspis* et *Vipera berus*). Utilité des caractères physiologiques dans la classification. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 8 : 102-106.

Phisalix C. 1902b - Action du venin de vipère sur le sang de chien et de lapin. *C. R. Soc. Biol.*, 54 : 1067-1070.

Phisalix C. 1902c - Étude comparée de l'hémolyse par les venins chez le Chien et le Lapin. *C. R. Soc. Biol.*, 54 : 1070-1071 ; *C. R. Acad. Sci.*, 135 : 257-259.

Phisalix C. 1902d - Sur la présence du venin en nature dans le sang du cobra. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 8 : 204-207.

Phisalix C. 1903a - Corrélations fonctionnelles entre les glandes à venin et l'ovaire chez le crapaud commun. *C. R. Acad. Sci.*, 137 : 1082-1084 ; *C. R. Soc. Biol.*, 55 : 1645-1646 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 9 : 401-403.

Phisalix C. 1903b - Recherches sur l'immunité naturelle des vipères et des couleuvres. *C. R. Soc. Biol.*, 55, 1082-1085 ; *C. R. Acad. Sci.*, 137 : 270-272.

Phisalix C. 1903c - Les venins considérés dans leurs rapports avec la biologie générale et la pathologie comparée. *Rev. Gén. Sci. Pures Appl.*, 14 : 1250-1258.

Phisalix C. 1904a - Sur un nouveau caractère distinctif entre le venin de vipéridés et celui des cobridés. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 10 : 491-493 ; *C. R. Soc. Biol.*, 56 : 486-488.

Phisalix C. 1904b - Influence des radiations du radium sur la toxicité du venin de vipère. *C. R. Acad. Sci.*, 138, p.526 ; *C. R. Soc. Biol.*, 56 : 327-328.

Phisalix C. 1904c - Recherches sur les causes de l'immunité naturelle des vipères et des couleuvres. *C. R. Acad. Sci.*, 138 : p. 1459-1461 ; *C. R. Soc. Biol.*, 56 : p. 976-978 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 10 : 380-382.

Phisalix C. 1904d - Recherches sur le venin d'abeilles. *C. R. Soc. Biol.*, 56 : 198-201 ; *C. R. Acad. Sci.*, 139 : 326-329 ; *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, 27 juillet, 218-221.

Phisalix C. 1905a - Sur la présence du venin dans les œufs de Vipère. *C. R. Acad. Sci.*, 140, 1719-1721 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 11 : 335-337 ; *C. R. Soc. Biol.*, 57 : 15-18.

Phisalix C. 1905b - Sur la présence de venin dans les œufs d'abeilles. *C. R. Acad. Sci.*, 141 : 275-278 ; *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, 26 juillet, 201-203.

Phisalix C. 1905c - Influence de l'émanation du radium sur la toxicité des venins. *C. R. Soc. Biol.*, 57 : 366-368 ; *C. R. Acad. Sci.*, 140 : 600-602 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 11 : p.117-118.

Phisalix C. & Bertrand G. 1893a - Recherches sur la toxicité du sang de crapaud commun. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 5 : 511-517.

Phisalix C. & Bertrand G. 1893b - Toxicité comparée du sang et du venin de crapaud commun (*Bufo vulgaris*) considérée du point de vue de la sécrétion interne des glandes cutanées de cet animal. *C. R. Soc. Biol.*, : 477-479 ; *C. R. Acad. Sci.*, 116 : 1080-1082 ; *Semaine Méd.*, 10 mai, p. 229.

Phisalix C. & Bertrand G. 1893c - Sur la toxicité du sang de la vipère (*Vipera aspis* L.). *C. R. Soc. Biol.*, 45 : 997-999 ; *C. R. Acad. Sci.*, 117 : 1099-1102 ; *Semaine Méd.*, 13 décembre, p. 556-557.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894a - Toxicité comparée du sang et du venin de la vipère. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 6 : 147-157.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894b - Recherches sur les causes de l'immunité naturelle des couleuvres contre le venin de vipère. Toxicité du sang et glandes venimeuses. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 6 : 423-432.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894c - Recherches expérimentales sur le venin de vipère. Atténuation par la chaleur et vaccination contre ce venin. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 6 : 567-582.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894d - Propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. Contribution à l'étude du mécanisme de la vaccination contre ce venin. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 6 : 611-619.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894e - Sur la présence de glandes venimeuses chez les Couleuvres, et la toxicité du sang de ces animaux. *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 76-79 ; *C. R. Soc. Biol.*, 46 : 8-11.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894f - Atténuation du venin de vipère par la chaleur et vaccination du cobaye contre ce venin. *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 288-291 ; *Semaine Méd.*, 7 février, p. 60.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894g - Sur les effets de l'ablation des glandes à venin chez la vipère (*Vipera aspis* Linn.). *C. R. Acad. Sci.*, 119 : 919-921 ; *Semaine Méd.*, 28 nov., p. 545 ; *C. R. Soc. Biol.*, 46 : 747-749.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894h - Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 46 : 111-113 ; *C. R. Acad. Sci.*, 118 : 356-358 ; *Semaine Méd.*, 14 février, p. 77.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894i - Réponse à M. Calmette. *C. R. Soc. Biol.*, 46 : 124-126.

Phisalix C. & Bertrand G. 1894j - Observations à propos de la Note de M. Calmette relative au venin de serpents. *C. R. Acad. Sci.* 118 : 935-936 ; *Semaine Méd.*, 2 mai, p. 210.

Phisalix C. & Bertrand G. 1895a - Sur les effets de l'ablation des glandes venimeuses chez la vipère au point de vue de la sécrétion interne. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 7 : 100-106.

Phisalix C. & Bertrand G. 1895b - Variations de virulence du venin de vipère. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 7 : 260-265.

Phisalix C. & Bertrand G. 1895c - Influence de la saison sur la virulence du venin de vipère. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1 : 66-67.

Phisalix C. & Bertrand G. 1895d - Sur quelques particularités relatives aux venins de vipère et de cobra. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1 : 129-131.

Phisalix C. & Bertrand G. 1895e - Sur l'emploi et le mode d'action du chlorure de chaux contre la morsure des Serpents. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1 : 221-224 ; *C. R. Soc. Biol.*, 47 : 443-445 ; *C. R. Acad. Sci.*, 120 : 1296-1298 ; *Arch. Physiol. Norm. Pathol.*, 7 : 523-531.

Phisalix C. & Bertrand G. 1895f - Comment le hérisson résiste aux morsures de la vipère ? *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1 : 294-296.

Phisalix C. & Bertrand G. 1895g - Sur l'emploi du sang de vipère et de couleuvre comme substance antivenimeuse. *C. R. Acad. Sci.*, 121 : 745-747 ; *C. R. Soc. Biol.*, 47 : 751-753.

Phisalix C. & Bertrand G. 1895h - Recherches sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 47 : 639-641.

Phisalix C. & Bertrand G. 1896a - Sur les relations qui existent entre les deux procédés d'immunisation contre les venins : l'accoutumance et la vaccination. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 36-39.

Phisalix C. & Bertrand G. 1896b - Sur l'existence, à l'état normal, de substances antivenimeuses dans le sang de quelques mammifères sensibles au venin de vipère. *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 100-104 ; *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 396-398 ; *Semaine Méd.*, 22 avril, p.163.

Phisalix C. & Bertrand G. 1896c - Remarques sur la toxicité du sang de cobra capello. *C. R. Soc. Biol.*, 48 : 858-859 ; *Semaine Méd.*, 29 juillet, p. 294.

Phisalix C. & Bertrand G. 1899 - Sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 51 : p.77.

Phisalix C. & Bertrand G. 1902 - Sur les principes actifs du venin de crapaud commun (*Bufo vulgaris* L.). *C. R. Acad. Sci.*, 135 : 46-48 ; *C. R. Soc. Biol.*, 54 : 932-934 ; *Bull. Sci. Pharmacol.*, 5 : 211-214.

Phisalix C. & Charrin R. 1898 - Action du venin de vipère sur le névraxe. Paraplégie spasmodique. *C. R. Soc. Biol.*, 50, 96-98.

Phisalix C., Charrin R & Claude H. 1898 - Lésions du système nerveux dans un cas d'intoxication expérimentale par le venin de vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 50, 317-320.

Phisalix C. & Coutejean C. 1891 - Nouvelles recherches physiologiques sur les glandes à venin de la salamandre terrestre. *C. R. Soc. Biol.*, 43 : 33-38 ; *Bull. Soc. Philomath.*, 3 : 76-81.

Phisalix C. & Coutejean C. 1894 - Sur les propriétés antitoxiques du sang de salamandre terrestre (*Salamandra maculosa*) vis-à-vis du curare. *C. R. Acad. Sci.*, 119 : 434-436 ; *Semaine Méd.*, 29 août, p. 394.

Phisalix C. & Langlois P. 1889 - Action physiologique du venin de la Salamandre terrestre. *C. R. Acad. Sci.*, 109 : 482-485.

Phisalix C. & Varigny H. de 1896 - Recherches expérimentales sur le venin du scorpion (*Buthus australis*). *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 2 : 67-73.

Rekow M.A., Civello D.J. & Geren C.R. 1983 - Enzymatic and hemolytic properties of brown recluse spider (*Loxosceles reclusa*) toxin and extracts of venom apparatus, cephalothorax and abdomen. *Toxicol.*, 21 : 441-444.

Manuscrit accepté le 20 septembre 2007