

UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER ACADEMIQUE**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par: Melle ARFA Maroua et Melle OUBBICHE Maroua

Thème

**Etude immunologique de l'hémolymph
scorpionique de l'*Androctonus australis* et de
l'*Androctonus amoreuxi* de la région de Ouargla**

Soutenu publiquement: 29/09/2020

Devant le jury

BISSATI-BOUAFIA Samia
KERBOUA Kheir Eddine
BOUDJENAH Saliha
IDDER Azzedine
CHAHMA Abd Elmadjid

Président
Promoteur
Co- Promoteur
Examineur
Membre d'Honneur

Professeur. UKM Ouargla
MAHU. UKM Ouargla
Professeur. UKM Ouargla
Professeur. UKM Ouargla
Professeur. UKM Ouargla

Année Universitaire 2019 / 2020

Dédicace

Je tiens avant tout à rendre gloire à Allah pour sa bonté infinie, pour la santé et la paix accordées.

Je tiens dédie ce modeste travail comme le fruit à mes chères parents :

*A plus chère à mon cœur ma mère « **BOUALI OUMNA** » pour son soutien et ses encouragements,*

*A mon chère père « **MOHAMED SALAHE** » pour avoir toujours cru en moi et pour ses nombreux sacrifices,*

J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leur prête bonheur et longue vie.

*A mes chères sœurs : **safa** (mon Jumeau), **warda**, A mes frères : **Abdallah**, et le petit **Khaled**. Pour leur encouragement et soutien.*

*A mon grand mère **BOUDRA FATIMA** souhaite que ALLAH vous bénisse et vous protège.*

*A toute ma grande famille **ARFA** et **BOUALI***

*A mes amies surtout ma chère amie et ma coupé **Maroua** « **M²** » qui m'accompagné tout au long de la période de réalisation de ce travail, ma chère amie : **Lina, Romaisa, Habiba**.*

A toute la promotion de 2^{ème} année Master Biochimie appliquée 2019/2020.

Arfa Maroua



Dédicace

Je tiens avant tout à rendre gloire à Allah pour sa bonté infinie, pour la santé et la paix accordées.

*Je dédie ce travail à mes très chers parents « **ABD EL-KARIM** » et « **OUANASSA** » qui sont le joyau de ma vie, la force qui supporte me toujours à la long de ma vie. Je remercie très beaucoup le dieu à cette grâce qui est mes parents et souhait de ma dieu de protège.*

Je dédie ce travail en plus :

*A ma seul chère sœur: **Kamar ezzamane.***

*A mes frères: **Yahia et Bourhan Eddine.***

*A tout ma famille **OUBBICHE et BENHAMED.***

*A mon chère amie et ma binôme « **ARFA MAROUA** » où nous nommé « **M²** » ***MAROUA ET MAROUA *** ; pour sa supporte à la longe de réalisation du ce travail.*

Et n'est pas oublie tout qui nous aiment et nous ont aidé dans ce travail.

A toute la promotion de 2^{ème} année Master Biochimie appliquée 2019/2020.

OUBBICHE

MAROUA

REMERCIEMENT

Avant tous nous remercions *Allah* le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail de fin d'étude.

Au terme de ce travail nous tiens particulièrement à exprimer nos profondes gratitudee et à remercier :

Mr. KERBOUA KHEIR EDDINE Maître Assistante hospitalière universitaire à la Faculté de Médecine de Ouargla, pour nous avoir dirigé ce travail et accepté de nous encadrer, pour son aide, ses conseils ainsi que ses remarques constructives, ses orientations tout au long de la période d'encadrement et d'enseignement.

Je remercie particulièrement le professeur **Mme .BOUDJNAH Saliha** de notre Co-encadreur professeure à l'Université K.M. Ouargla.

Mme .BISSATI-BOUAFIA Samia de nous avoir honoré pour présider notre jury.

Mr. IDDER Azzedine, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Sans oublier de nous présentons nos remerciements :

Aux personnels du laboratoire d'hôpital central d'Ouargla **MOHAMED BOUDIAFE** et du laboratoire d'Immunologie de la faculté de Médecine de l'université de Kasdi Merbah-Ouargla pour leur aide.

Tout le personnel administratif du département de Biologie et à tous nos enseignants.

Enfin à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

MAROUA & MAROUA

Table de matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Photos	
Liste des annexes	
Introduction générale	1

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: GENERALITES SUR LES SCORPIONS

I-Introduction	6
II-Historique	6
III- Systématique et classification de scorpion	7
IV-La morphologie des scorpions	8
IV-1-Le céphalothorax et ses appendices	9
IV-1-1- Face dorsale	9
IV-1-1-1-Les yeux	10
IV-1-2- Face ventrale	11
IV-1-2-1-Les chélicères	11
IV-1-2-2- Les pattes mâchoires	11
IV-1-2-3- Les pattes ambulatoires	12
IV-2- L'abdomen et ses appendices	13
IV-2-1- L'ouverture génitale	13
IV-2-2-Les peignes	15
IV-3-La queue ou métasome	16
IV-3-1-Glandes venimeuses	17
IV-3-2-Partie inoculatrice et le mécanisme de la pique	17

V- La bio-écologie des scorpions	19
V-1-Ethologie	19
V-2-Régime alimentaire.....	19
V-3-Reproduction et cycle de vie	20
V-5-Espèces existant dans la wilaya d’Ouargla	22
V-5-1-Les espèces étudiées.....	24
V-5-1-A- <i>Androctonus australis</i>	24
V-5-1-B- <i>Androctonus amoreuxi</i>	25
VI-Répartition géographique.....	26
VI-1-Répartition des scorpions dans le monde.....	26
VI-2-Répartition en Algérie.....	27
VI-3-Répartition en Ouargla.....	28

Chapitre II: GENERALITES SUR L’HEMOLYPHE SCORPIONIQUE

Introduction	31
II-1-Définition de l’hémolymphe	31
II-2-Le système circulatoire d’hémolymphe	31
II-3-Fonction d’hémolymphe	32
II-4-Composition de l’hémolymphe.....	32
II-4-1- Les constituants organiques et les ions	33
II-4-2- L’hémocyanine	33
II-4-2-1-Définition	33
II-4-2-2- Répartition biologique.....	34
II-4-2-3- Biosynthèse	34
II-4-2-4- Caractéristiques biochimiques	34
II-4-2-5- La structure d’hémocyanine.....	36
II-4-2-5-1- Hémocyanine des arthropodes	37
II-4-2-6- Les propriétés des hémocyanines	42

II-4-2-6-1- L'allostérie	42
II-4-2-6-2- L'oxydation de l'hémocyanine.....	44
II-4-2-7- Hémocyanine et l'immunité.....	45
II-4-3- Les hémocytes.....	45
II-4-3-1-Types des hémocytes de scorpion <i>Androctonus australis</i>	46
II-4-3-2 Organes hémopoïétiques des hémocytes de scorpion <i>Androctonus australis</i> L. <i>Hector</i> :	47
II-4-3-2-1 les lignes cellulaires	48
II-4-3-3 Autre classification des hémocytes.....	54
II-4-4- les agglutinines	55
II-4-4-1-Définition	56
II-4-4-2-Distribution.....	56
II-4-4-3- L'intérêt d'agglutinines.....	56

PARTIE II : PARTIE PRATIQUE

Chapitre I: MATERIELS ET METHODES

I-1-But de travail	59
I-2- Extraction de l'hémolymphe scorpionique	59
I-2-1-Matériels.....	59
I-2-2-Méthodes	60
I-2-2-1-L'extraction de l'hémolymphe	60
I-2-2-2-Conservation de l'hémolymphe.....	62
I-3-Etude du pouvoir neutralisant de l'hémolymphe scorpionique à l'égard de venin scorpionique	62
I-3-1- Test sur les souris	62
I-3-1-1-Matériels.....	62
I-3-1-2-Méthodes	64
I-3-1-2-1-Etude de l'espèce <i>Androctonus amoreuxi</i>	64

I-3-1-2-2- Etude de l'espèce <i>Androctonus australis</i>	71
I-4-Test d'hémagglutination du sérum de l'hémolymphe scorpionique	75
I-4-1-Matériels	75
I-4-2-Les produits	77
I-4-3-Méthodes	77
I-4-3-1- Préparation de l' hémolymphe scorpionique.....	77
I-4-3-1-1 - Immunisation du scorpion par la suspension de RBC humaine.....	77
I-4-3-1-2- Extraction de l'hémolymphe scorpionique après immunisation	80
I-4-3-2- Préparation de suspension d'érythrocyte humain (RBC) 1% :	81
I-4-3-3- Réalisation du test d'hémagglutination de l'hémolymphe	82
I-5 -Etude des cellules immunes de l'hémolymphe scorpionique :	83
I-5-1- Matériel	83
I-5-2 -Méthodes	83
I-5-2 -1-Examen frais (Sans coloration)	84
I-5-2-2-Avec coloration :	85

Chapitre II:RESULTATS

II-1-Résultats de l'extraction de l'hémolymphe scorpionique:.....	88
II-2 -Résultats de l'étude du pouvoir neutralisant de l'hémolymphe scorpionique à l'égard de venin scorpionique sur les souris	89
II-3- Résultats de test d'hémagglutination du sérum de l'hémolymphe scorpionique.....	98
II-4- Résultats de l'étude des cellules immunes de l'hémolymphe scorpionique	100

Chapitre III: DISCUSSION

DISCUSSION	104
Conclusion.....	111
Références bibliographiques	113
Annexes	121
Résumé.....	

Liste des abréviations

α :	Alfa.
Aa :	<i>Androctanus australis</i> .
ACs :	Anticorps.
Ala :	Alanine.
Am :	<i>Androctonus amoreuxi</i> .
Arg :	Arginine.
Asn :	Asparagine.
β :	Béta .
Ca²⁺ :	Calcium.
Cl⁻ :	Chlore.
Cu²⁺ :	Cuivre.
CuA :	Site de liaison au Cuivrer A / copper binding site A.
CuB :	Site de liaison au Cuivre B / copper binding site B.
Désoxy :	Désoxygéné.
DHC :	Differential counts of hémocytes / Nombre différentielle des hémocytes.
DL50 :	Dose Létale médiane = la dose qui tue 50% des animaux.
EM :	Electron M icroscopy/Microscope électronique.
Fe²⁺ :	Fer.
FU/ UF :	Functional u nit /Unité fonctionnelle.
Fuc :	Fucose.
Gal :	Galactose.
GalNAc :	N-Acetyl G alactosamine.
H :	Hémolymphé.
Hc :	Hémocyanine.

His :	Histidine.
HuRBC :	Human Red Blood Cell.
K⁺ :	Potassium.
KDa :	Kilodalton.
KNF :	Koshland, Nemethy et Filmer.
Leu :	Leucine.
LPS :	LipoPolySaccharide.
M :	Mole.
Man :	Mannose.
MDa :	Méga Dalton.
Mg²⁺ :	Magnésium.
Mn :	Manganèse.
M_w :	Masse wieght / poids ou masse moléculaire.
MWC :	Monod, Wyraan et Changeux.
Na⁺ :	Sodium.
Oxy :	Oxygéné.
P :	Proline.
Phe :	Phenylalanine.
RBC :	Red Blood Cell.
S :	Souris .
Ser :	Sérine.
SC :	Voie Sous Cutané.
T :	Témoin.
Thr :	Thréonine.
Tyr :	Tyrosine.
V :	Venin.
X :	Un acide aminée.
Zn :	Zinc.

Liste des figures

<i>Figure</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
1	Schéma de principales familles des scorpions.	8
2	Schéma d'un œil latéral de scorpion (figure A) (d'après DEMOLL) et d'un œil médian (figure B).	10
3	Vue dorsale de chélicère d'un scorpion.	11
4	Représentation d'une patte ambulatoire de scorpion.	12
5	Coupe transversale du peigne d'un scorpion(Euscorpium).	15
6	Coupe transversale de l'ampoule venimeuse chez <i>Bothriurus vittatus</i> (Guérin) male.	17
7	La « promenade à deux » chez une espèce d'Afghanistan : <i>Buthotus alticola</i> (Poe.) ; le mâle, au second plan, tient une femelle par ses pinces.	21
8	<i>Androctonus australis</i> .	24
9	Morphologie externe de scorpion <i>Androctonus australis</i> .	25
10	Répartition géographique mondiale des scorpions.	27
11	Répartition latitudinale des scorpions.	27
12	Répartition longitudinale des scorpions.	28
13	Répartition de différentes espèces de scorpions identifiées à travers la wilaya d'Ouargla.	29
14	L'anatomie d'un scorpion.	32

15	Les glucides de l'hémocanine.	35
16	Les sous-unités de l'hémocyanine d'arthropodes .	38
17	Modèle de structure quaternaire d' <i>Androctonus Australis</i> .	40
18	Vue schématique des constituants hypothétiques de l'hémocyanine native.	40
19	Modèle d'architecture de l'hémocyanine native de l' <i>Androctonus australis</i> .	41
20	La chaîne glucidique liée à N de l'hémocyanine d' <i>A.australis</i> .	41
21	Préparation du venin de scorpion <i>Androctonus amoreuxi</i> à la concentration de (C=2mg/ml et C= 0.2mg/ml).	64
22	Préparation de dilution de l'hémolymphe (dilution 1/10).	65
23	Préparation de dilution de l'hémolymphe (dilution 1/100).	65
24	Récapitulation des souris injectées par l'hémolymphe et le venin de l' <i>Androctonus amoreuxi</i> .	70
25	Préparation de venin de scorpion <i>Androctonus australis</i> à C=9.49mg/ml et C=0.019mg/ml.	71
26	Récapitulation des souris injectées par l'hémolymphe et le venin d' <i>Androctonus australis</i> .	74
27	Préparation de suspension cellulaire des érythrocytes (RBC) 5%.	79
28	Préparation de suspension cellulaire des érythrocytes (RBC) 1%.	81
29	Méthode de travail dans test d'hémagglutination.	82
30	Résultats d'étude de l'espèce <i>Androctonus amoreuxi</i> .	95
31	Résultats d'étude de l'espèce <i>Androctonus australis</i> .	98

Liste des Tableaux

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
1	La classification générale du scorpion.	7
2	Descriptions générales sur les espèces existant dans la wilaya d'Ouargla.	22
3	Filiation des cellules.	53
4	Les types des hemocytes de <i>Mesobathus tamulus phipsoni</i> sous microscope de contracte de phase ; (Gr x940).	54
5	Matériels nécessaires pour l'extraction de l'hémolymphé scorpionique.	59
6	Les dates et les espèces utilisées pour l'extraction de l'hémolymphé.	61
7	Matériels nécessaires pour l'étude du pouvoir neutralisant de l'hémolymphé scorpionique à l'égard de venin scorpionique.	62
8	Dates et doses d'injection de venin.	66
9	Les doses injectées chez les souris (S _{T1} , S ₂).	67
10	Les doses injectées chez la souris S _{T2} .	68
11	Les dates et les doses d'injection d'hémolymphé et de venin de scorpion <i>Androctonus amoreuxi</i> .	69
12	Les doses de venin de scorpion <i>Androctonus australis</i> injectées chez S _{T4} .	71
13	Les doses d'hémolymphé total d' <i>Androctonus australis</i> injectées chez les souris (S _{T3} , S ₉ , S ₁₀).	72
14	Les doses de plasma d'hémolymphé injectées chez les souris (S ₉ , S ₁₀).	72
15	Les doses injectées d'hémolymphé et du venin de scorpion <i>Androctonus australis</i> les souris (S _{T3} , S ₉ , S ₁₀).	73
16	Matériels nécessaires pour le test d'hémagglutination.	75
17	Dates et heures et le volume correspondant à l'injection des RBC et collecte d'hémolymphé scorpionique.	80

18	Matériels et les produits spécifiques a été utilisés pour Etude des cellules immunes d'hémolymphé scorpionique.	83
19	Les doses injectées de venin et les temps de survie pour chaque souris (S _{T1} . S ₅).	90
20	Les symptômes manifestés après l'injection de l'hémolymphé de scorpion <i>Androctonus amoreuxi</i> pour la souris témoin1(S _{T1}).	92
21	Les symptômes manifestés après l'injection de l'hémolymphé de scorpion <i>Androctonus amoreuxi</i> pour la souris 2(S ₂).	93
22	Les doses injectées du venin et les temps de survie de chaque souris après l'injection du venin après 08 jours d'injection d'hémolymphé.	94
23	Les doses injectées d'hémolymphé (total/ séparé) et venin et la survie /mortalités temps de chaque souris.	97
24	Les doses injectées d'hémolymphé et venin et les temps de survie de chaque souris après l'injection du venin après 07 jours d'injection d'hémolymphé.	97
25	Lecture des résultats de la plaque de microtitration de test d'hémagglutination.	99
26	Titre d'agglutination calculé par le test d'hémagglutination par l'hémolymphé scorpionique d' <i>Androctonus australis</i> avec les globules rouges humains de groupe « O ».	99

Liste des Photos

<i>Photo</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Fossile d'un scorpion de mer.	6
02	Vu dorsale(a)et ventrale(b) du scorpion <i>Androctonus crassicauda</i> .	9
03	Les yeux de scorpion (yeux latéraux et yeux médians).	10
04	Les chélicères de scorpion.	11
05	Les pattes mâchoires de scorpion.	12
06	Les pattes ambulatoires de scorpion d'espèce <i>Androctonus amoreuxi</i> .	12
07	Sternum, opercule génital et pectines de scorpion.	14
08	Opercule génital chez le mâle(A), et chez la femelle(B).	14
09	Deux différents peignent (deux espèces différentes).	15
10	Le métasome (queue) de scorpion.	16
11	Aiguillon et goutte de venin.	18
12	Le dernier segment portant la vésicule à venin et l'aiguillon de deux espèces différentes.	18
13	Scorpion sous les pierres.	19
14	Les terriers de scorpion.	19
15	Femelle de scorpion portant le premier stade jeune (pullus) sur le dos.	21
16	Principal prédateur du scorpion(Le Hérisson).	22
17	<i>Androctonus australis</i> .	24
18	<i>Androctonus amoreuxi</i> .	26
19	Les trois principaux types cellulaires de l'hémolymphe des scorpions.	47
20	Les stades de formation de la cellule Morulocyte.	49
21	Les stades de formation de plasmocyte.	50

22	Les deux types de cellule granulocyte.	52
23	La cellule sphérocyte.	53
24	L'extraction d'hémolymphe à partir d'un scorpion.	61
25	L'injection de souris par l'hémolymphe par voie sous cutané.	67
26	Les souris injectées par l'hémolymphe et le venin de scorpion <i>Androctonus amoreuxi</i> séparées dans des cages étiquetées.	69
27	La centrifugation du sang humain pour l'obtention des érythrocytes.	78
28	Lavage (2) fois des érythrocytes humains par l'eau physiologie NaCl 0,9%.	78
29	Les érythrocytes humains après lavage 2 fois par l'eau physiologie NaCl 0,9%.	78
30	Préparation de suspension des érythrocytes humains de 5%.	79
31	Méthode expérimentale d'immunisation de scorpions.	80
32	Extraction de sérum de l'hémolymphe scorpionique.	81
33	Le culot formé après centrifugation de l'hémolymphe total.	83
34	Solubilisation par tapotement sur le paillasse.	84
35	Dépôt des gouttes de solution solubilisée sur une lame de verre pour examination microscopique.	84
36	L'étalement de frottis sur la lame en angle de 45°.	85
37	Les lames en verre en coloration de Giemsa 10%.	86
38	Des telsons sectionnés d'un scorpion.	88
39	Hémolymphe scorpionique extraire à partir d'un scorpion.	88
40	Le culot après centrifugation de l'hémolymphe scorpionique.	88
41	La paralysie des membres postérieure de corps (pattes arrière).	89
42	La souris5(S ₅) mort après l'injection de 0.3ml (C=2mg) du venin.	90

43	Très vive démangeaison au voisinage du point d'injection.	91
44	Les autres symptômes de la toxicité d'hémolymphe.	92
45	La souris témoin(S _{T1}) avec une attitude normale.	92
46	La souris 2(S ₂) mort après 9 min : 54s l'injection de 0.1 ml d'hémolymphe.	92
47	Quelques symptômes manifestés sur la souris 3 après l'injection de venin.	94
48	La mort de souris(S _{T4}) après 7 injections de venin d' <i>Androctonus australis</i> .	96
49	Recherche des agglutinines dans le sérum de l'hémolymphe scorpionique.	98
50	Examen frais de cellules obtenues de l'hémolymphe scorpionique sans coloration sous microscope optique.	100
51	Les différences hémocytes présentes dans frottis après coloration de Giemsa sous microscope optique (Gr×100).	101

Liste des annexes

<i>N°</i>	<i>Titre</i>
1	Matériels de laboratoire utilisés dans l'étude.
2	Préparation de coloration de Giemsa.
3	Les souris au cours de l'expérience.
4	Les valeurs de DL50 de quelque scorpion.
5	Laboratoire d'immunologie de la faculté de médecine Ouargla.
6	Visite du ministre de santé d'Algérie précédent au laboratoire d'immunologie.



Introduction

Introduction

L'envenimation scorpionique (ES) est un accident relativement fréquent dans les zones tropicales et subtropicales des cinq continents. Elle représente un problème de santé publique et une vraie menace dans plusieurs pays du monde, en particulier en Amérique du Sud et centrale, en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et en Inde (**BAHLOUL et al, 2017**).

Selon les données épidémiologiques établies par le Ministère de la santé et de la population, chaque année l'Algérie enregistre plus de 50 000 cas de piqûres de scorpions et plus de 50 cas de décès depuis 2002. Les nombres de personnes piquées est plus important durant les saisons chaude (Juin, Juillet, Août) (**MOUICI et BALFER, 2019**) surtout dans le Sahara algérien (**DJABER et KHERRAZ, 2016**).

Les scorpions présentent une distribution mondiale d'environ 1500 espèces. Des neuf familles décrites, la famille des *Buthidae* compte à elle seule la majorité des espèces dangereuses pour l'homme. Les espèces les plus dangereuses se retrouvent au Maghreb, en Afrique du Sud, en Asie Mineure, en Inde, au Mexique, dans le Sud-ouest des Etats-Unis, au Brésil et en Colombie (**GOYFFON, 1990; GOYFFON, 2007**).

Malgré leur petite taille, les scorpions et grâce à des appareils performants d'inoculation de venin, peuvent être responsables d'envenimations graves chez l'homme. Elle constitue un accident à la fois fréquent et grave surtout chez l'enfant, et représente une cause importante de morbidité dans notre pays. Tous les tissus de l'organisme peuvent être touchés par le venin scorpionique (**LHARMIS et ABOUSSAD, 2009**).

Les accidents provoqués par les piqûres de scorpions sont souvent graves, la toxicité des venins de scorpions est essentiellement due à des neurotoxines de faible poids moléculaire, ayant une forte affinité pour les canaux sodium et potassium des cellules excitable (**MARTIN-EAUCLAIR et al, 1999**).

En raison de sa fréquence mondiale importante, atteignant plus d'un million d'humains piqués chaque année (**DJABER et KHERRAZ, 2016**), sa sévérité et la diffusion rapide du venin inoculé par le scorpion nécessitent un traitement spécifique en l'occurrence l'immunothérapie ; qui doit être administrée rapidement dans les trois heures après une ES ; dans l'objectif de ralentir la diffusion du venin, neutraliser les toxines et traiter les désordres cliniques observés. La plupart des chercheurs considèrent ce traitement comme étant le seul traitement étiologique après une piqûre de scorpion (**MOUICI et BELFAR, 2019**).

Cela a donné le coup d'envoi à plusieurs travaux de recherche afin de trouver un traitement qui limite l'effet de l'ES, pour nous avons centré notre recherche sur l'animal lui-même à l'origine de risque « le scorpion ». On connaît la croyance populaire erronée au suicide du scorpion qui entouré d'un cercle de feu, préfère se donner la mort en se piquant avec son aiguillon plutôt que d'éprouver les souffrances de la brûlure (**BALUZET, 1956**).

En 1955 ; A. SHULOV à son tour, réfute la croyance au suicide des scorpions mais étudiant la sensibilité de *Leiurus quinquestriatus* à son venin, il a trouvé une certaine résistance qu'il a l'attribuée au pouvoir antitoxique de l'hémolymphe (**BALUZET, 1956**). D'un autre côté, M. Bourne a prouvé que le venin de scorpion, mortel pour les grandes araignées, les insectes et les vertébrés, était inoffensif pour les individus de l'espèce qui le fournit (**METCHNIKOFF, 1901**).

A partir de là, nous avons développé notre hypothèse que l'hémolymphe de scorpion a un pouvoir anti venin, ce qui nous donne la possibilité de fabriquer un anti-venin à partir d'hémolymphe de scorpion qui coûte moins cher et qui valorise les bio-ressources sahariennes.

Dans ce contexte, que s'intègre ce travail dont l'objectif est d'étudier en premier temps le constituant principale de scorpion « **L'hémolymphe** », ses caractéristiques immunologiques et par la suite vérifier notre hypothèse.

Pour cela nous avons divisé notre mémoire en trois grandes parties essentielles qui seront précédées par une introduction et se terminent par une conclusion.

- La première partie est consacrée à une revue bibliographique qui est répartie en 2 chapitres :
 - Le 1^{ier} chapitre, où nous rappelons brièvement des connaissances sur les scorpions.
 - Le 2^{ème} chapitre, où nous présentons des généralités sur l'hémolymphe scorpionique.
- La 2^{ème} partie s'intéresse à la partie expérimentale.

Dans cette étape nous avons réalisé l'extraction de l'hémolymphe scorpionique, puis passer à l'étude de pouvoir antitoxique de l'hémolymphe scorpionique sur le modèle murin et leur pouvoir agglutinant sur les érythrocytes humains, suivie par une l'étude histologiques des cellules immunes de l'hémolymphe.

- La 3^{ème} partie illustre les résultats obtenus dans ce travail, ainsi que leurs discussions qui seront finalisées par une conclusion générale et quelques perspectives, et une liste des références bibliographiques qui ont soutenu notre travail.



**PARTIE I : RVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Chapitre I:
GENERALITES SUR LES
SCORPIONS

I-Introduction

Les mésaventures provoquées par les piqûres de scorpion (PS) sont régulièrement authentiques. Leur récurrence représente un véritable problème médical général dans de nombreuses parties du monde. Le scorpion, malgré sa petite taille, représente une source de panique et de peur pour l'homme en raison de sa toxicité et nuisibilité, bien que la lésion locale de sa pique ne dépasse pas celle de l'abeille, il y a plus de 1700 espèces de scorpions communs dans toutes les régions du monde, dont 50 espèces sont mortelles pour l'homme.

II-Historique

Les scorpions représentent un ancien groupe d'arachnides apparu pour la première fois pendant la période du Silurien dans les archives fossiles (**DAVID et MULLEN, 2019**). Ils représentent l'une des formes animales les plus anciennes (**MARIN, 1988**). C'est à l'ère primaire, époque du charbon, ou carbonifère, que l'on trouve en abondance des scorpions très variés, qui eux, remontent à près de deux cent cinquante millions d'années (époque du Silurien) (**MARIN, 1988 ; BERLAND, 1948**). Ils font leur apparition, en milieu aquatique (**Photo 1**) au Silurien (**SADINE, 2018**).

Plusieurs arguments militent en faveur de l'hypothèse selon laquelle les scorpions auraient été des animaux marins :

- ❖ A cette époque, on ne connaît pas d'animaux terrestres, les continents étant de faible étendue.
- ❖ Les scorpions fossiles sont trouvés dans des dépôts littoraux.
- ❖ La forme du bout de leurs pattes sans griffe, l'absence de stigmate et de poumons (probablement remplacés par des branchies) semblent être en rapport avec la vie des fonds marins (**MARIN, 1988**).



Photo 01 : Fossile d'un scorpion de mer (**BATTAGLIO, 2005**).

On peut donc admettre un passage progressif des scorpions de la vie aquatique à la vie terrestre au cours de l'évolution de la terre (MARIN, 1988). La transition vers le milieu terrestre s'est effectuée entre le Carbonifère et le Dévonien (entre 380 millions et 350 millions d'années) (MOUICI et BELFAR, 2019). Les fossiles de ces premiers spécimens montrent une morphologie très comparable à celle des scorpions actuels (VACHON, 1952).

Les scorpions ont survécu à des périodes d'extinction massive et occupent aujourd'hui position préminente dans les communautés d'arthropodes. Ils sont des arthropodes thermophiles qui ont franchi le cap de toutes les ères géologiques sans aucun changement de leur morphologie par leur adaptabilité et leur plasticité écologique, les scorpions résistent à tous les facteurs agressifs de l'environnement (ELFATTACH, 2011).

III- Systématique et classification de scorpion

Les scorpions forment un ordre dans la classe des Arachnides appelé scientifiquement Scorpiones. Ils font partie de l'embranchement des Arthropodes et du sous-embranchement des Chélicérates (LAURENT, 2015).

Tableau 01: La classification général du Scorpion.

Règne	Animal
Embranchement	Arthropodes
Sous Embranchement	Chélicérates
Classe	Arachnides
Ordre	Scorpiones

L'ordre des scorpions comprend un millier d'espèces, On distingue deux sous-groupes, les Buthoïdes et les Chactoïdes (GOYFFON et CHIPPAUX, 1990).

- Les Buthoïdes ne contiennent qu'une famille, celle des *Buthidés*, qui compte 40 % des espèces.
- Les Chactoïdes rassemblent les six autres familles (Scorpionidés, Diplocentridés, Chactidés, Vaejovidés, Bothriuridés, Chærilidés) (GOYFFON et CHIPPAUX, 1990).

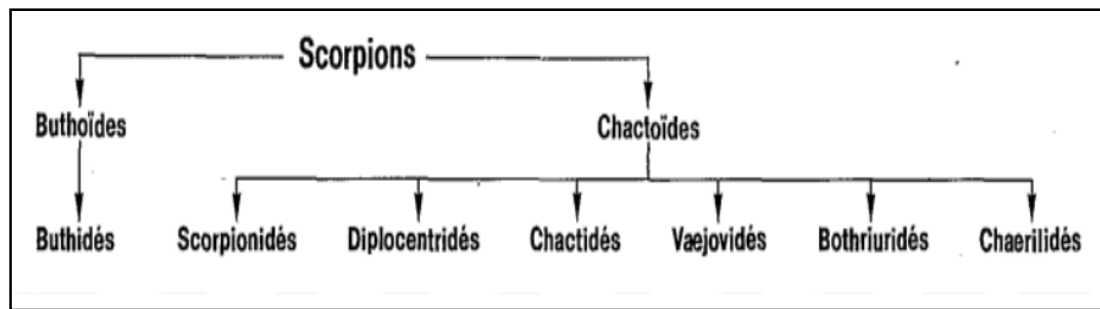


Figure 01 : Schéma des principales familles des scorpions.

(GOYFFON et CHIPPEAUX ,1990).

IV-La morphologie des scorpions

Les scorpions se distinguent facilement par leur morphologie unique (WILLIAMS, 2009). En général, le corps d'un scorpion adulte varie entre 0,85cm et 25cm, ceux de l'Afrique du Nord, variant entre 2 et 12cm (SADINE, 2018). L'aspect général d'un scorpion varie peu dans tout l'ordre: cette constance morphologique aide grandement à le reconnaître parmi tous les autres arachnides (VACHON, 1952).

Les scorpions possèdent un exosquelette chitineux segmenté. Entre les segments (ou somites), il y a des membranes inter-segmentales, qui sont mieux remarquées sur le mésosome dorsal et latéral. La cuticule est une membrane multicellulaire recouvrant les cellules épidermiques ; la couche la plus externe (l'épicuticule) contient des lipides (cires) qui limitent l'efflux d'eau. De plus, l'épicuticule contient un matériau fluorescent, ce qui provoque la fluorescence des scorpions lorsqu'ils sont exposés à une lumière quasi ultraviolette (320-400 nm) (DE MUL, 2009).

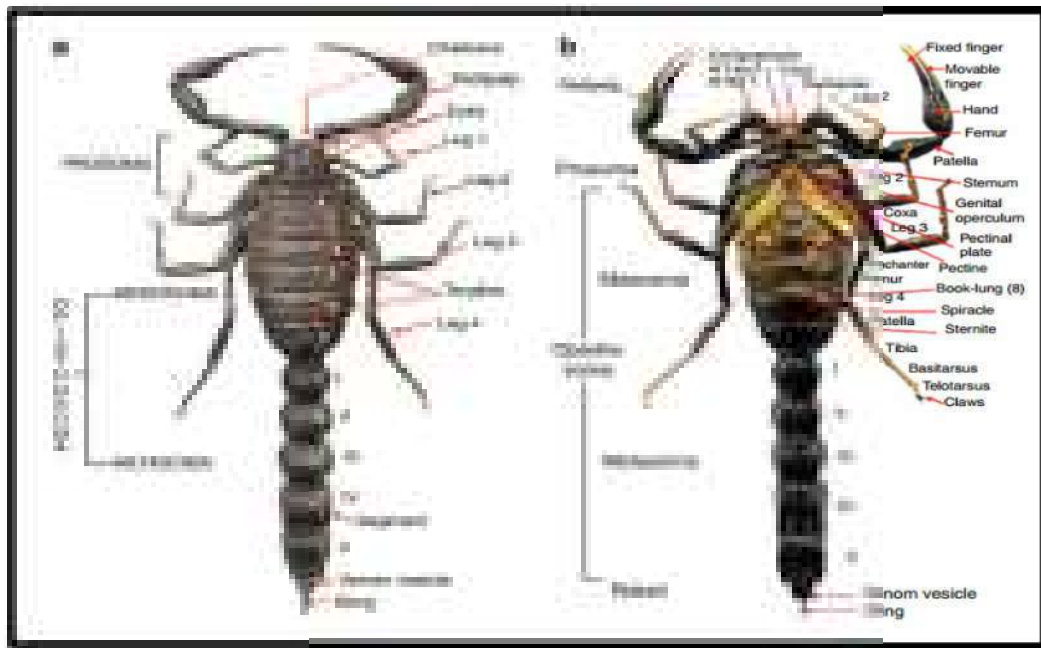


Photo02 : Vue dorsale (a) et ventrale (b) du scorpion *Androctonus crassicauda*.

(STOCKMANN, 2013).

Le corps d'un scorpion est nettement divisé en trois parties (MARIN, 1988 ; BALOZET, 1974).

- 1) **Le céphalothorax ou prosome** : pièce unique portant en avant les chélicères, une paire de pattes mâchoires dotées de grosses pinces et quatre paires de pattes ambulatoires.
- 2) **L'abdomen ou mésosome** : formé de sept anneaux dorsaux et ventraux portant peignes et organes génitaux.
- 3) **La queue ou métasome** : plus mince que l'abdomen, dépourvu d'appendices, formée de six segments. Le sixième ou telson porte la glande à venin et l'aiguillon.

IV-1-Le céphalothorax et ses appendices

IV-1-1- Face dorsale

Le céphalothorax est recouvert d'un bouclier chitineux unique, mais représentant un certain nombre lisse ou parsemé de granulations disposées en carènes. La forme de ces carènes a une

grande importance car elle est un critère de différenciation de certaines espèces (MARIN, 1988).

IV-1-1-1-Les yeux

Au voisinage du centre du scutum céphalique qui en générale est trapézoïdal, un monticule porte la paire d'yeux médians sont gros, foncés ; bien visibles, alors que les yeux latéraux situés sur les angles antérieurs du céphalothorax, rassemblent à de petites granulations noirâtres ; on compte deux, trois, quatre ou cinq (VACHON, 1952).

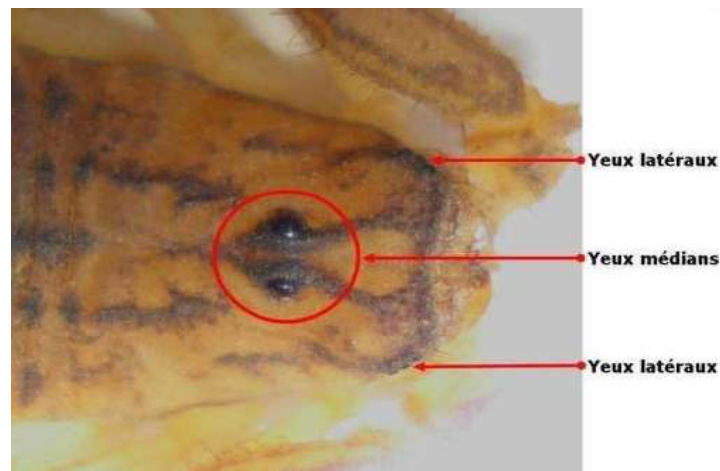


Photo 03 : Les yeux de scorpion (yeux latéraux et yeux médians).

Les axes de vue sont orientés de telle manière que le champ de vision est latéral, légèrement à la verticale, mais pas en avant, de sorte que le scorpion ne voit pas devant lui. On peut même douter de l'efficacité de sa vue car il ne réagit pas à l'approche de corps étrangers ni à celle de rayons lumineux (MARIN, 1988).

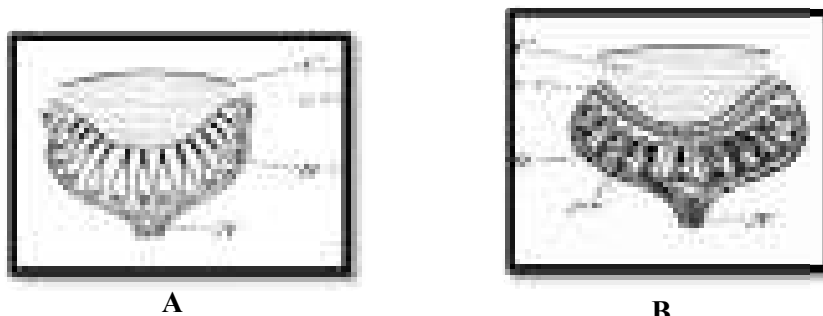


Figure 02 : Schéma d'un œil latéral de scorpion (figure A) (d'après DEMOLL) et d'un œil médian (figure B), (VACHON M, 1952).

C : cristallin ; cv : corps vitré ; N : nerf optique ; pr : poste-rétine ou tapis réflecteur

R : rétine.

IV-1-2- Face ventrale

IV-1-2-1-Les chélicères

En avant de la tête, on distingue d'en haut et dirigés vers l'avant, 2 petits appendices en forme de pinces : les chélicères (VACHON, 1951). Les chélicères sont formées de trois articles en formes de pince : un article de base logé dans le céphalothorax, visible que lorsque les chélicères sont fortement projetées vers l'avant, et deux articles distaux formant une pince horizontale (MARIN, 1988). Elles sont utilisées à la place des dents pour broyer les proies (SADINE ,2005).

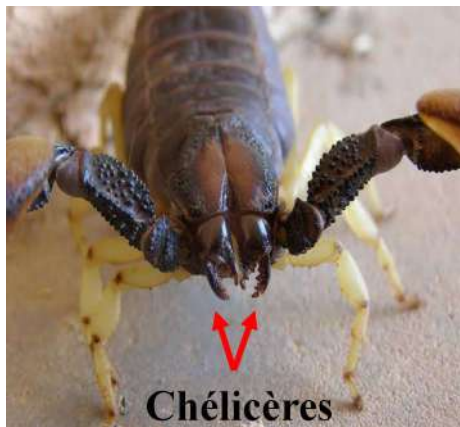


Photo04 : Les chélicères de scorpion.

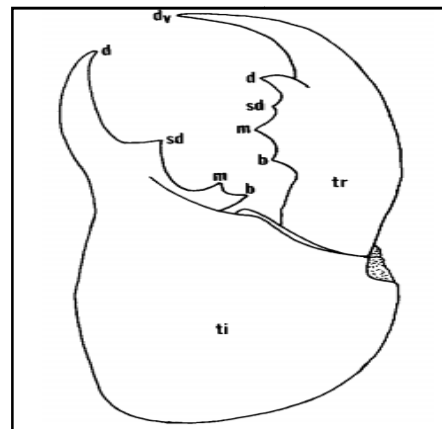


Figure 03 : Vue dorsale de chélicère d'un scorpion (POLIS, 1990).

IV-1-2-2- Les pattes mâchoires

Elles sont toujours très développées et caractéristiques (VACHON,1952). Les pattes mâchoires comprennent six articles (MARIN, 1988) : les hanches participent à la formation de la cavité buccale, elles sont libres vers l'avant et le longe de l'axe du corps ; mais restent soudées vers l'arrière avec les hanches des pattes ambulatoires 1 et 2 ; le trochanter, le pré-fémur (avant bras) ; le fémur (bras), les deux dernières articles sont transformées ou adaptés en pinces (VACHON ,1952).

Les deux dernières qui forment la pince proprement dite, peuvent avoir différentes formes, par exemple : chez le *Scorpio maurus* ou le *Pandinus imperator* .Les pinces sont plates, élargies et robustes. Chez d'autres espèces (*Centruroides*, *Leiurus* ...), les pinces sont fines

(MARIN, 1988). Les pattes mâchoires servent à la capture des proies et les mouvements permis sont importants grâce à la grande mobilité du trochanter (VACHON, 1952).



Photo05: Les pattes mâchoires de scorpion.

IV-1-2-3- Les pattes ambulatoires

Les pattes ambulatoires augmentent de taille de la 1^{ère} à la 4^{ème} paire et ont huit articles ; c'est -à- dire deux de plus que les pattes-mâchoires : hanche, trochanter, pré-fémur ; fémur, tibia, basitarse, tarse, post-tarse (VACHON, 1952). Les hanches des pattes 2 sont très développées, et présentent un long processus dirigé vers l'avant, formant la planche buccale qui sépare les hanches des pattes 1. Les hanches des pattes 3 et 4 sont obliques, nettement plus longues et plus étroites que celles des pattes antérieures. Les autres articles portent des poils ou soies, sauf le talon ou le tarse qui porte 2 griffes généralement courbées et fines, servant à l'escalade dans les endroits inclinés (GRASSE, 1949).

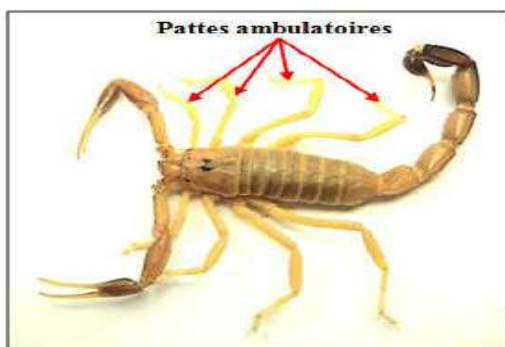


Photo06 : Les pattes ambulatoires de scorpion d'espèce *Androctonus amoreuxi*.

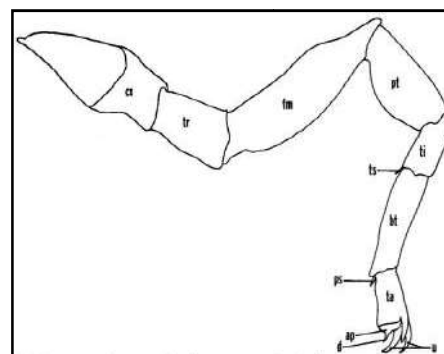


Figure 04 : Représentation d'une patte ambulatoire de scorpion (POLIS, 1990).

IV-2- L'abdomen et ses appendices

A l'encontre du prosoma, le mésosoma est segmenté, aussi bien dorsalement que ventralement. On compte sept plaques dorsales appelées tergites, les antérieures étroites, les postérieures rétrécies vers l'arrière en forme d'un trapèze isocèle. Ces plaques sont parfois lisses et parfois portant de carènes ou de granulations. Dans le côté ventral, cinq plaques appelées les sternites sont visibles, généralement lisses portant chacune une paire de fentes stigmatiques, sauf la dernière (**GRASSE, 1949**). En avant de ces cinq plaques ventrales, les deux autres segments sont reconnaissables grâce à leurs appendices ou à leurs dérivés d'appendices : les peignes et l'opercule génital (**VACHON, 1952**).

Les stigmates sont les ouvertures des poumons ; ce sont de petites poches dans lesquelles se trouvent des lames disposées comme les feuilles d'un livre. La base des feuillets s'ouvre sur une chambre respiratoire, qui, elle-même, est en relation avec l'extérieur par le stigmate (**MARIN, 1988**). Ce sont des résidus de branchies datant de l'époque où les ancêtres des scorpions étaient des animaux marins. Présentes par paires sur les 3^{ème}, 4^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} sternites, ce sont de petits clapets sous lesquels se trouvent les poches pulmonaires du scorpion. Celui-ci peut ouvrir et fermer ces stigmates à volonté afin de contrôler la quantité d'air qu'il respire, et éviter que du sable ou de la terre ne s'infilte en trop grande quantité dans ses voies respiratoires (**JAULIN et al.; 2010**). Les échanges respiratoires ne sont pas très intenses (**MARIN, 1988**).

IV-2-1- L'ouverture génitale

Occupe le premier anneau de l'abdomen ; mais elle est camouflée par une sorte de plaque plus ou moins ronde, sorte d'opercule (**MARIN, 1988**).

L'opercule génital est toujours formé de deux plaques qui sont réunies sur presque toute leur longueur et constituent un volet qu'il faut soulever pour dégager l'entrée de l'utérus. La forme de l'opercule varie selon les espèces et subit même des modifications d'ordre sexuel (**GRASSE, 1949**).

Sous cet opercule se cachent les organes reproducteurs du scorpion :

- ✚ Pour le mâle : les crochets copulateurs qui servent à déposer l'hémi-spermatophore durant la parade.
- ✚ Pour la femelle : l'orifice génital au fond duquel se trouvent les œufs à féconder, ou les larves en cours de formation. La femelle fécondée possède alors une masse chitineuse bouchant la vulve (**JAULIN et al.; 2010**).

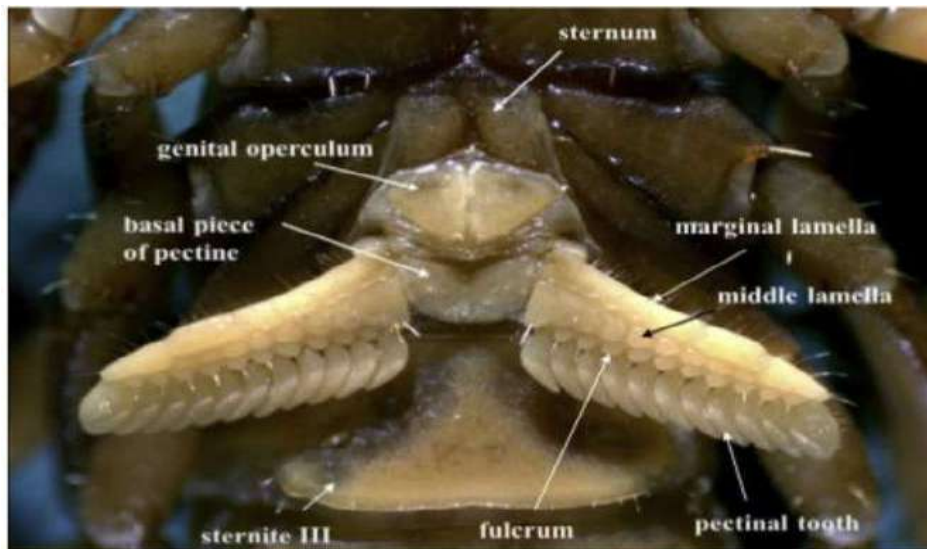


Photo 07 : Sternum, opercule génital et pectines de scorpion (DAVID et MULLEN, 2019).

Les opercules génitaux sont généralement fusionnés chez la femelle mais pas chez les mâles (DAVID et MULLEN, 2019). L'identification de sexe d'un scorpion soit mâle ou femelle n'est pas une chose facile. L'orifice génital est plus grand chez le mâle que chez la femelle, la forme triangulaire de l'orifice génital de cette dernière s'apparente à celle d'un cœur, tandis qu'elle est plutôt ovale chez son partenaire. La pointe du cœur en question est orientée vers le métasome.



A

B

Photo 08: Opercule génital chez le mâle(A), et chez la femelle(B).

IV-2-2-Les peignes

C'est la plaque pectinifère (VACHON, 1951). Ils sont disposés en une paire transversale (MARIN, 1988). Uniques aux scorpions appelés pectines (DAVID et MULLEN, 2019). Se composent d'une base formée de trois parties, de pièces intermédiaires et de lamelles allongées et imbriquées les unes dans les autres (MARIN, 1988). Ils sont, de tout le corps, la région la plus richement innervée et il ne fait aucun doute que ce sont là des organes d'une extraordinaire sensibilité (VACHON, 1951).

Les peignes dont la forme, la longueur varient avec l'espèce et le sexe (VACHON, 1952). Les mâles se distinguent dès le premier stade de leur vie, par la longueur de leurs peignes qui comptent de trente-deux à trente-huit dents, alors que chez la femelle ils sont plus courts et ne possèdent que vingt-cinq à vingt-neuf dents (MARIN, 1988). Lorsque le Scorpion se déplace, il donne à ses peignes une position bien particulière (VACHON, 1951). Car ces structures fonctionnent principalement comme des chimiorécepteurs qui permettent aux mâles de localiser les femelles en suivant ses phéromones. Ils servent également de mécanorécepteurs qui peuvent détecter la nature du substrat et aider apparemment à détecter les vibrations du substrat (DAVID et MULLEN, 2019).

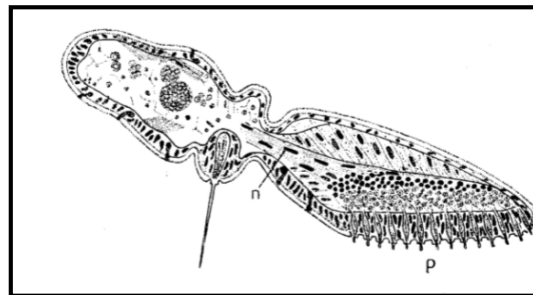


Figure 05 : Coupe transversale du peigne d'un scorpion(*Euscorpis*) (VACHON, 1952).

n : nerfs ; **p** : plage sensorielle avec ses tube.

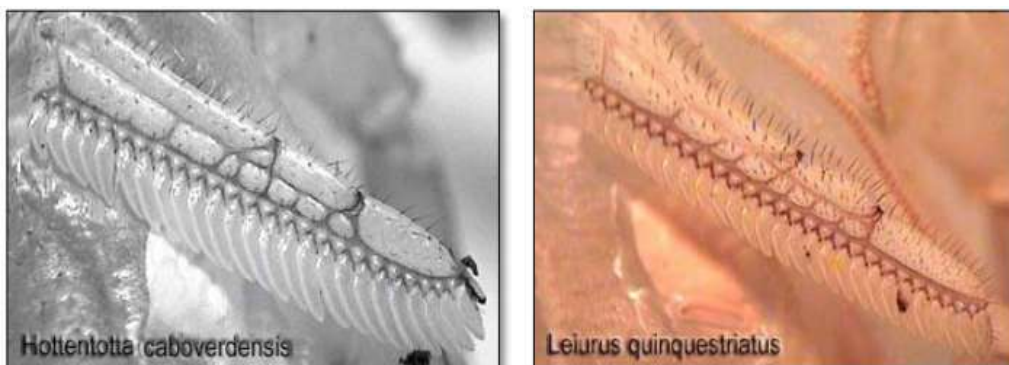


Photo 09 : Deux différents peignes de deux différentes espèces (SITE 01).

IV-3-La queue ou métasome

Elle est généralement plus longue que le tronc, on y compte six segments indépendants. Chaque segment est indéformable par suite de l'absence de chitine pleurale (**GRASSE, 1949**). Le dernier segment de forme hémisphérique ou telson, renferme une double glande venimeuse et se termine par un aiguillon effilé, recourbé, en forme de crochet concave en avant, que le scorpion peut aisément ramener au-dessus de sa tête (c'est alors qu'il peut piquer), mais qu'il porte normalement enroulé au-dessus de son dos (**MARIN, 1988**).

L'anus débouche ventralement entre plusieurs papilles blanchâtres à travers la chitine, reliant le cinquième anneau et la vésicule (**VACHON, 1952**). La forme, l'épaisseur et la longueur des divers anneaux varient beaucoup suivant les genres et même les espèces. Dans quelques cas, l'un des anneaux est nettement différent des autres (**GRASSE, 1949**).



Photo10: Le métasome (queue) de scorpion.

Le telson se compose d'une base bulbeuse, appelée vésicule ou ampoule, et d'une colonne incurvée et fortement pointue, l'aculeus. Juste en dessous de l'aculeus, le telson peut aussi porter un petit tubercule sous-auriculaire médian ou épine accessoire (**DAVID et MULLEN, 2019**).

La vésicule contient une paire de glandes à venin et la musculature associée. Les glandes à venin peuvent être simples et ressemblant à un sac ou plus complexes à des extensions en forme de poche qui augmentent considérablement la surface de l'épithélium sécréteur. Le venin est libéré par la contraction des muscles entourant les glandes, qui compriment les glandes contre la paroi de la vésicule. Le venin est expulsé par la paire de canaux à venin qui s'ouvrent près de la pointe de l'aculeus (**DAVID et MULLEN, 2019**).

IV-3-1-Glandes venimeuses

Au nombre d'une paire, ces glandes sont disposées dans la vésicule le long de l'axe longitudinal du corps, symétriquement par rapport à lui; elles sont piriformes et légèrement aplaties et se poursuivent, chacune, par un canal pénétrant dans l'aiguillon. Chaque glande est, aux deux tiers, enveloppée par une épaisse couche musculaire qui s'insère dans la cuticule, dans les régions dorsale et latéroventrale (**VACHON, 1968**).

La couche glandulaire de soutien est enveloppée d'une puissante assise musculaire dont les fortes contractions peuvent expulser violemment le venin à l'extérieur de l'aiguillon (**VACHON, 1952**). Les canaux évacuateurs de chaque glande, intérieurement chitines, débouchent près de l'extrémité de l'aiguillon, latéralement, de part et d'autre de son apex (**VACHON, 1968**).

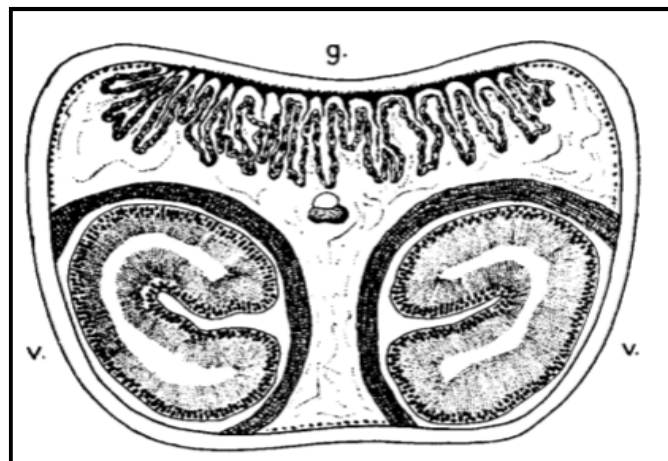


Figure 06: Coupe transversale de l'ampoule venimeuse chez *Bothriurus vittatus* (Guérin) male (**VACHON, 1952**).

V: les deux glandes à venin, g: glande dorsale plissée.

IV-3-2-Partie inoculatrice et le mécanisme de la pique

L'appareil venimeux des scorpions est situé à l'extrémité postérieure du corps. Dans le telson sous forme d'ampoule à injecter le venin (**GRASSE, 1949**). Il consiste en un aiguillon porté par le dernier article post-anal (telson), du post-abdomen ou queue en forme de vésicule renflée. Lorsque le scorpion est complètement allongé, l'aiguillon est dirigé vers l'arrière et vers le bas (**VACHON, 1968**).

L'aiguillon présente deux orifices termino-latéraux, avec près de sa base sur la face interne, deux soies dites "aiguillonnaires", constantes, semblant renseigner le scorpion sur la profondeur de pénétration de son arme. L'aiguillon peut exécuter quelques mouvements latéraux très limités et se meut principalement dans le sens. La longueur de l'aiguillon varie avec le genre et l'espèce (MARIN, 1988).



Photo 11 : Aiguillon et goutte de venin (MARIN, 1988).

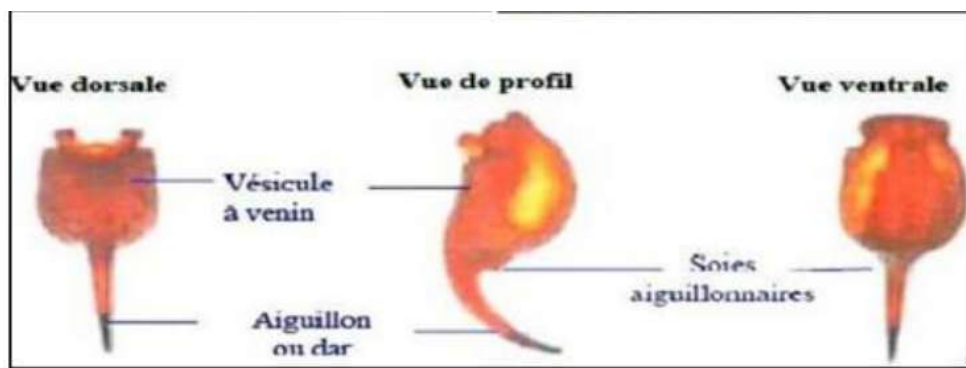


Photo 12 : Le dernier segment portant la vésicule à venin et l'aiguillon de deux espèces différents (ANONYME, 2004).

Un scorpion pique toujours vers l'avant, jamais vers l'arrière (malgré dans notre laboratoire nous avons trouvé ; il pique vers l'arrière (Donnés du laboratoire)). Quand il veut se défendre, il relève son abdomen en arc, le détend d'un mouvement brusque et reprend sa position initiale. Mais quand il chasse, il se sert de ses pinces à la manière d'un étau pour maintenir sa proie, il relève l'abdomen et par un mouvement de bascule, fait pénétrer l'aiguillon dans le corps de l'animal captif. La partie musculaire placée autour de la glande, permet alors l'expulsion du venin. Il est important de noter que les scorpions contrôlent l'éjaculation de leur venin, si bien que toute piqûre, même répétée, ne signifie pas injections répétées de venin (MARIN, 1988).

V- La bio-écologie des scorpions

V-1-Ethologie

En général, les scorpions vivent en groupe (VACHON, 1952). On les trouve dans des habitats divers : sous les pierres (Photo 13), les rochers, les écorces d'arbres et les vieilles constructions. Ils cherchent les coins obscurs où ils creusent des terriers (Photo 14), par contre certains scorpions affectent le voisinage des habitations, se placent entre les draps, dans les chaussures, dans les cuisines et les salles de bains (SADINE, 2018).



Photo 13 : Scorpion sous les pierres.



Photo 14 : Les terriers de scorpion.

Ils sont nocturnes, de nature craintive, peu agressive et lucifuge, actifs au printemps et en été, ils entrent en hibernation dès le début de l'automne. Mais certaines espèces peuvent conserver leur potentiel d'activité durant la saison froide. Chez les scorpions, on parle encore de semi-hibernation, car ils ne sortent pas de leur refuge. Néanmoins, ils conservent la plénitude de leurs moyens et, s'ils sont dérangés, le prouvent en se mettant sur leur gardes (SADINE, 2018). Ils peuvent rester presque deux années sans nourriture et sans eau (PINKSTON et WRIGHT, 2001).

V-2-Régime alimentaire

Le Scorpion se nourrit de proies vivantes, il détecte les proies qui viennent à lui grâce à ses soies sensorielles. Sa position de chasse ou de recherche des proies : la queue est relevée alors que, normalement au repos, elle reste à plat sur le sol. Les proies dont se nourrit le Scorpion sont fort diverses mais toujours vivantes : Insectes divers, Mouches, Coléoptères adultes ou larves, Blattes, Sauterelles, Criquets, Mantres, Papillons, Fourmis, Opilions, Araignées, Mille-pattes et même des petites souris venant de naître (VACHON, 1951).

La prédation en embuscade est le principal moyen de capture des proies. Par exemple, certaines espèces fouisseuses telles que l'*Anuroctonus phaiodactylus* attendent tranquillement à l'intérieur de leur entrée de terrier et prennent en embuscade une proie qui entre ou passe par leur terrier. De nombreuses espèces de scorpions, quand ils ont faim, quittent leur abri protecteur pendant les heures nocturnes et prennent une position stationnaire dans leur environnement, qui peut être sur la surface du substrat ou dans la végétation (WILLAIME, 2009).

Ici, ils resteront immobiles jusqu'à ce qu'une proie sans méfiance s'aventure près, moment où elle est saisie par les forts pédipalpes, et même la piquer par le telson si nécessaire (WILLAIME, 2009). Et si la proie se débat trop vivement le venin peut être utilisé, surtout pour des grandes proies comme les grosses sauterelles. Les dépenses énergétiques de ces petits animaux sont relativement faibles, c'est pourquoi ils sont capables de jeûner parfois durant une longue période (LAURENT, 2015).

V-3-Reproduction et cycle de vie

Le scorpion est un animal à un dimorphisme sexuel. La femelle, généralement est plus grande que le mâle. La période d'accouplement se situe dans la saison froide, avant la période d'hibernation (BAHIDA, 2001). Les scorpions sont ovovivipares, à gestation prolongée de 7 à 12 mois. On distingue deux types de reproductions :

- ✚ **Sexuée** : où l'accouplement est précédé par une danse appelée " courtship ". Cette danse change selon les espèces et dure de 24 à 36 heures (SADINE, 2012). A la fin de cette danse, le mâle émet un spermatophore sclérotisé sur le substrat et attire la femelle dessus, à ce moment elle prend le paquet de sperme dans son gonopore. Les deux se séparent alors, et la femelle revient normalement à son abri (WILLAIME 2009). Une fois la femelle fécondée, il peut lui arriver de dévorer le mâle, c'est pourquoi la fuite de ce dernier est prompte (LAURENT, 2015).
- ✚ **Asexuée ou parthénogénétique** : où la reproduction produit un nombre d'individus sans la présence du mâle. Dans ce cas, la population de scorpions est composée uniquement de femelles et chacune peut produire des œufs qui éclosent pour donner un nouvel individu (SADINE, 2012).

Deux Scorpions sont en face l'un de l'autre, les pinces tendues et les doigts saisis. Ce sont d'amicales poignées de main et non des préludes de bataille, car les deux associés se comportent de la façon la plus pacifique à l'égard l'un de l'autre. Il y a là les deux sexes, l'un est pansu et rembruni, c'est la femelle ; l'autre est relativement fluët et de teinte pâle, c'est le mâle. La queue joliment spiralée, le couple à pas mesurés, déambule. Le mâle est en tête et marche à reculons, sans secousses, sans résistance vaincue. La femelle suit, obéissante, saisie par le bout des doigts et face à son entraîneur (VACHON, 1951).

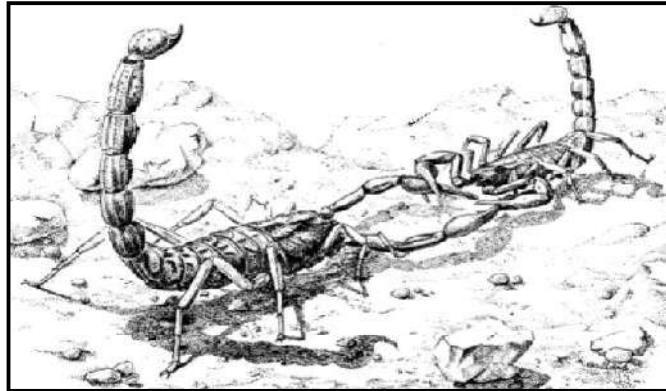


Figure 07 : La « promenade à deux » chez une espèce d'Afghanistan : *Buthotus alticola* (Poe.) ; le mâle, au second plan, tient une femelle par ses pinces (VACHON, 1951)

Une femelle peut produire de 14 à 100 jeunes scorpions appelés « pullus », Ce nombre varie selon l'espèce, Ces jeunes sont de couleur blanche, ils gardent cette couleur jusqu'à la première mue. Une fois libérés de leur sac, ils s'élèvent sur le dos de la mère (photo 15) et y restent sans nourriture pendant plusieurs jours. A cet endroit, ils subissent leur première mue et en quelques jours, ils quittent leur mère et commencent à se défendre eux même, Ils deviennent adultes un an après leur naissance (SADINE, 2012).



Photo15 : Femelle de scorpion portant le premier stade jeune (pullus) sur le dos (DAVID et MULLEN, 2019).

V-4-Prédateurs des scorpions

Dans le milieu naturel les prédateurs des scorpions sont principalement les rapaces nocturnes, les lézards, les vipères et l'hérisson. En milieu rural, les gallinacés (poule, dindon...) peuvent avoir un impact important sur la densité des populations de scorpions (HAMOUDA et BEN SALAH, 2010).










Photo 16 : Principal prédateur du scorpion (Le Hérisson).

V-5-Espèces existant dans la wilaya d'Ouargla

Selon VACHON, (1952) et SADINE, (2005), il existe jusqu'à maintenant dans la wilaya d'Ouargla les espèces scorpioniques suivantes:

Tableau 02 : Descriptions générales sur les espèces existant dans la wilaya d'Ouargla.

Espèces	Caractéristiques	Morphologie
<i>1-Androctonus australis</i> (LSINNAEU, 1758)	Grande espèce pouvant atteindre chez l'adulte 10 cm, de teinte brune ou jaune paille avec, des parties du corps (pinces et dernier anneau de la queue) plus ou moins assombries.	
<i>2-Androctonus amoreuxi</i> (AUDOUIN ET SAVIGNY, 1812 et 1826)	C'est une espèce ressemble beaucoup à <i>A. australis</i> (même couleur, même dimension, même coloration des derniers anneaux de la queue). Mais la queue est beaucoup plus fine à partir du 3ème anneau.	

<p>3-<i>Buthacus arenicola</i> (E.SIMON, 1885)</p>	<p>Scorpion avec taille de 5 à 6 cm, de couleur jaune paille à jaune fluorescent, leur queue plus longue et très fine, leur identification est très facile grâce à leurs appendices très fins.</p>	
<p>4-<i>Buthus occitanus tunetanus</i> (HERBST, 1800)</p>	<p>C'est une espèce dont la taille peut atteindre 7,5 cm, de teinture également jaune pâle, avec un abdomen plus sombre et parfois même des bandes, plus sombre reconnaissable grâce à leurs telsons différents de ceux des <i>Buthacus</i> (VACHON, 1952).</p>	
<p>5-<i>Orthochirus innesi</i> (E.SIMON, 1910)</p>	<p>Est un scorpion de petite taille de 3.5 cm, et de teinte sombre allant du fauve rougeâtre au noir, pattes-mâchoires et pattes ambulatoire uniforme.</p>	
<p>6-<i>Buthiscus bicalcaratus</i> (BIRULA, 1905)</p>	<p>Scorpion de taille pouvant atteindre 6,5 cm, de couleur jaune claire, avec des pinces cependant un peu plus foncées (VACHON, 1952).</p>	
<p>7-<i>Scorpio punicus</i> (fet, 2000)</p>	<p>Scorpion de taille variable entre 5 à 7 cm, sa couleur de brun clair au jaunâtre (hautement polymorphe) reconnaissable à partir de ses pédipalpes robustes et son céphalothorax à front bilobé (VACHON, 1952). Il est très agressif mais moyennement dangereux (SADINE, 2012).</p>	

V-5-1-Les espèces étudiées

V-5-1-A- *Androctonus australis*

V-5-1-A -1- Description

Le scorpion *Androctonus australis* (LINNAEUS, 1758).

Une grande espèce, pouvant mesurer plus de 10 cm, facile à reconnaître par sa queue la plus épaisse, de teinte jaune paille, avec des parties du corps (pinces et derniers anneaux de la queue) plus ou moins assombries (SADINE et al., 2014).



Photo17: *Androctonus australis* (IDDER et al., 2011).

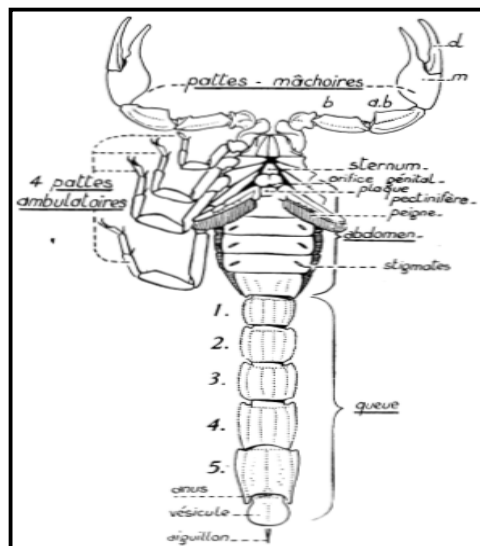


Figure 08: *Androctonus australis* (L.J. Schéma d'une femelle, vue par la face ventrale et dont les pattes ambulatoires ont été, pour la clarté du dessin, supprimées à gauche ; les 5 anneaux de la queue ont été numérotés en chiffres arabes ; abréviations : **a.b** : avant -bras ; **b**, bras ; **d**, doigt mobile, **m** : main. tous ces articles appartiennent à la patte-mâchoire) (VACHON, 1951).

V-5-1-A-2-Morphologie

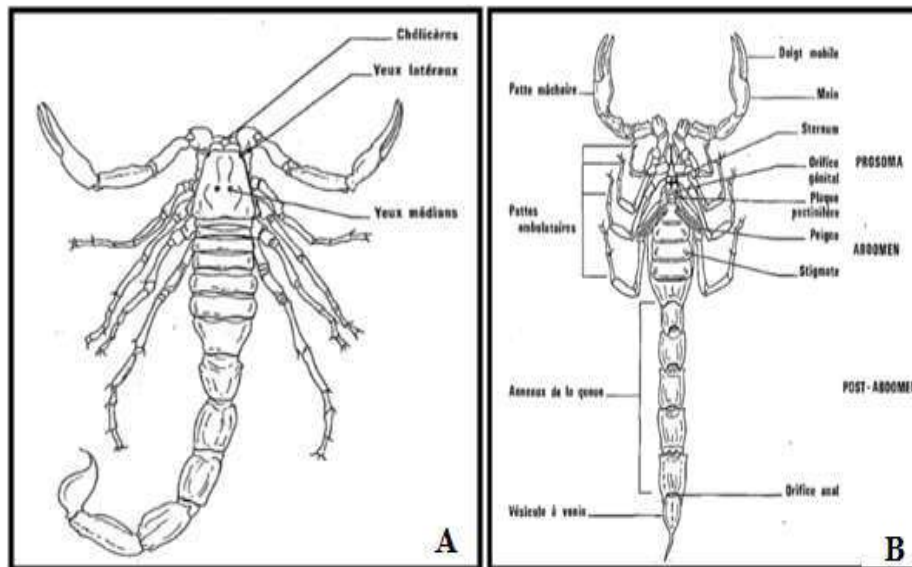


Figure 09 : Morphologie externe de scorpions *Androctonus australis*.

A : *Androctonus australis* : face dorsale, **B** : *Androctonus australis* : face ventrale.

(GOYFFON et CHIPPEAUX ,1990).

V-5-1-A-3-Distribution

Androctonus australis est un scorpion de distribution saharo-sindienne. En Afrique du Nord, *Androctonus australis* occupe le Sahara septentrional algérien et tunisien et s'étend à l'Est jusqu'à la Lybie. Au Maroc, cette espèce n'a jamais été signalée. Ce n'est qu'en 2009 que Geniez a signalé sa présence dans le Sud marocain. Dans la région de Ouargla et El-Oued, *Androctonus australis* est l'espèce la plus répandue, ayant une large répartition et particulièrement les habitations (SADINE et al., 2014).

V-5-1-B- *Androctonus amoreuxi*

V-5-1-B-1-Description

Le scorpion *Androctonus amoreuxi* (AUDOUIN et SAVIGNY, 1812 ET 1826).

Scorpion de grande taille, pouvant atteindre 12 cm de longueur. La queue est beaucoup plus fine à partir du 3ème anneau (SADINE et al., 2014).



Photo 18 : *Androctonus amoreuxi* (IDDER et al., 2011).

V-5-1-B-2- Distribution

L'*Androctonus amoreuxi* présente une répartition très vaste, allant de l'Egypte, Soudan, Sénégal et la Libye à l'Est, au Tchad vers le Sud. Même en Algérie, *Androctonus amoreuxi* à une large répartition. A Ouargla, elle se trouve généralement dans les endroits sableux et parfois certains terrains à fond caillouteux. (SADINE et al., 2014).

VI-Répartition géographique

VI-1-Répartition des scorpions dans le monde

Les scorpions sont de vieux habitants de notre globe, Ils possèdent de grandes répartitions. Ce sont des animaux lents, à déplacements réduits, attachés à leurs biotopes. A cette raison ils ont de grande répartition horizontale (longitudes et latitudes) et verticale (altitudes) (SADINE ,2012). Tant vers le Nord que vers le Sud, aucune espèce ne dépasse, le 50° de latitude Nord et 55° de latitude Sud ou les conditions de vie de ces animaux thermophiles expliquent aisément cette répartition (POLIS ,1996) (figure 10).

Les scorpions peuvent occuper même des biotopes en hautes altitudes comme les montagnes jusqu'à plus de 4000m d'altitude (les chaînes de l'Himalaya et des Andes). Ils vivent tout aussi bien en savane (Afrique tropicale) qu'en forêt. On les rencontre principalement dans les zones intertropicales ou dans les zones tempérées chaudes (Afrique du Nord) (SADINE, 2018).

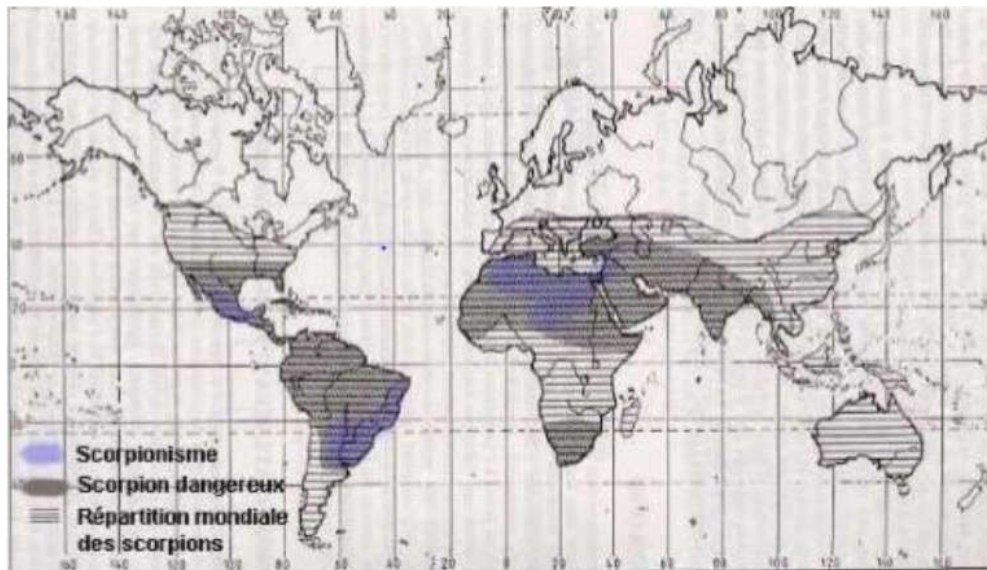


Figure 10: Répartition géographique mondiale des scorpions (GOYFFON et HEURTAULT ,1995).

VI-2-Répartition en Algérie

La répartition des scorpions sur le territoire national est plus vaste et diversifiée (BNEDER ,1992). Pour étudier leur cartographie complète, cela nécessite la connaissance de la répartition latitudinale et longitudinale. La répartition des scorpions en latitude (figure 11) indique l'existence ou l'absence de certains genres dans le Nord et dans le Sud (SADINE, 2012).

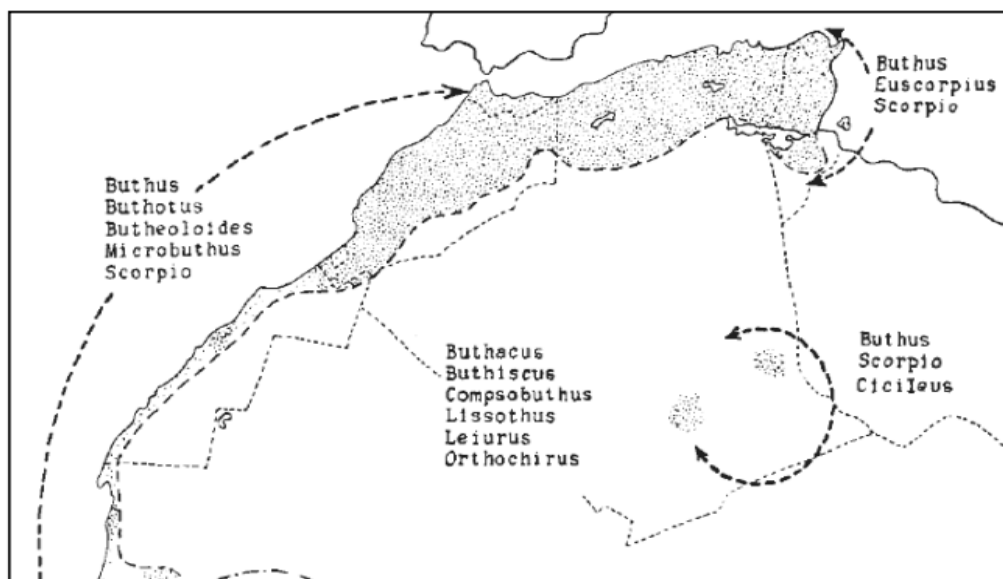


Figure 11 : Répartition latitudinale des scorpions (VACHON, 1952).

La répartition des scorpions suivant la longitude (**figure 12**), permet de mieux résumer les caractéristiques de la répartition des genres dans la direction Est-Ouest (VACHON, 1952).

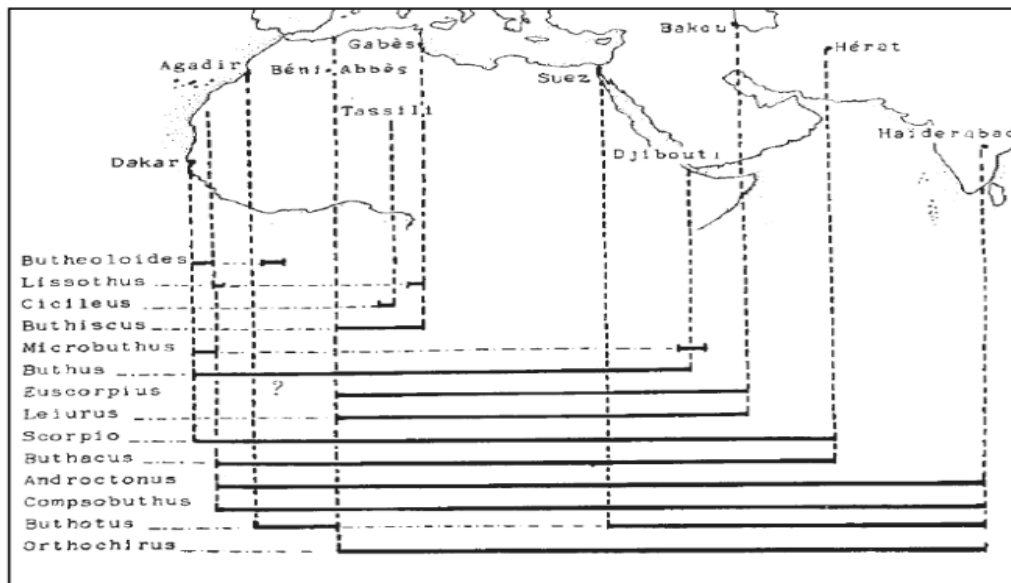


Figure 12 : Répartition longitudinale des scorpions (VACHON, 1952).

VI-3-Répartition en Ouargla

A la lecture de la (**figure 13**), il apparait nettement que l'espèce *Androctonus australis* occupe tous les territoires. L'ensemble des biotopes (habitation, palmeraies, ergs et regs) sont colonisés par cette espèce, sans doute, la plus dangereuse pour l'Homme : *Buthacus arenicola* et *Othochgirus innesi* sont également des espèces inféodées aux habitations et aux palmeraies. Elles ont plus tendance à se cacher et à rechercher des endroits surs et humides. Après l'*Androctonus australis*, elles se positionnent en seconde position au niveau des piqures provoquées. Par contre, les 2 dernières espèces *Androctonus amoreuxi* et *Buthus tunetanus* restent éloignées des habitations et des palmeraies. Elles préféreraient les ergs et les regs. Ce sont des espèces plus adaptées aux conditions naturelles et seraient de nature plutôt sauvage, voire agressive (IDDER, 2011).

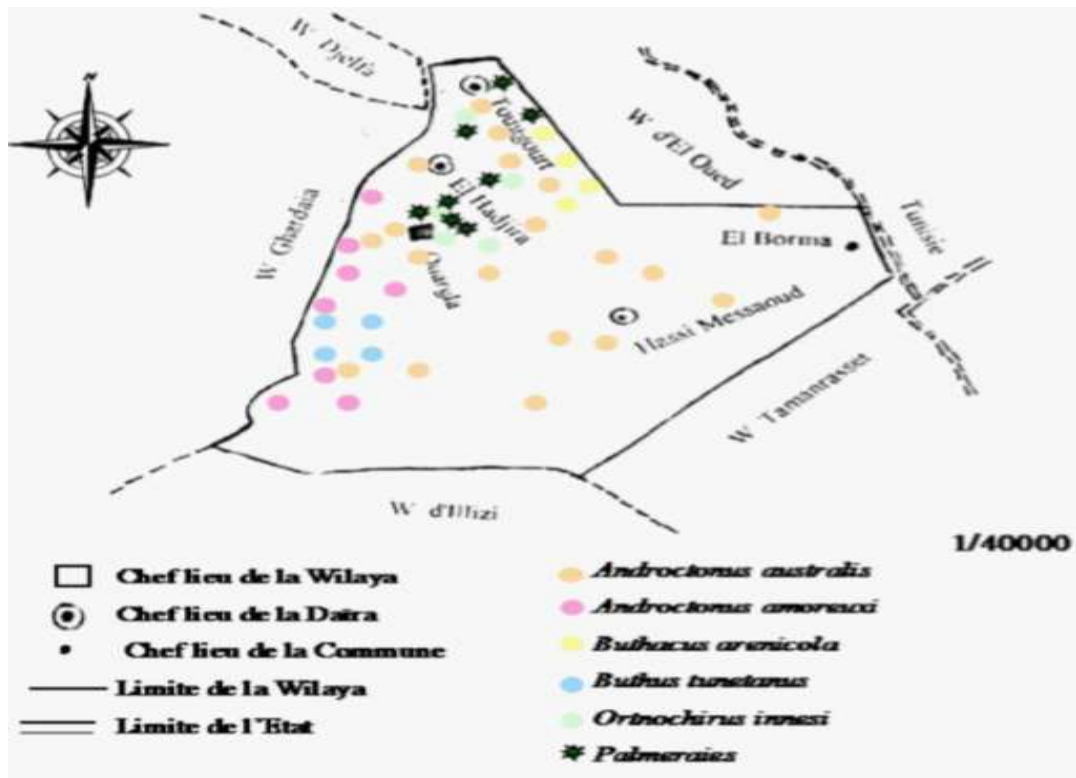


Figure 13: Répartition de différentes espèces de scorpions identifiées à travers la wilaya d'Ouargla (IDDER, 2011).

Chapitre II:
GENERALITES SUR
L'HEMOLYPHE
SCORPIONIQUE

Introduction

L'hémolymphe des invertébrés est comparable au sang des vertébrés. De nombreux invertébrés ont un système circulatoire ouvert dans lequel l'hémolymphe s'écoule vers les organes par les artères, passe dans la cavité hémocoélomique et se draine vers le cœur et les organes respiratoires par des canaux veineux de plus en plus grands. Dans la plupart des cas, l'hémolymphe est composée d'hémocyanine (pigmentaire respiratoire), de molécules de défense solubles (c.-à-d. lectines, protéines C-réactives, α_2 -macroglobulines) et d'hémocytes circulants, qui peuvent être considérés comme l'équivalent des globules blancs chez les vertébrés avec fonction supplémentaire dans la coagulation, sont impliqués dans la phagocytose et l'encapsulation de matières étrangères, la coagulation et au moins chez les crustacés, le durcissement de la cuticule (VAN WETTERE et LEWBART, 2007).

II-1-Définition de l'hémolymphe

L'hémolymphe désigne le liquide interne circulant des animaux à système circulatoire ouvert, et est essentiellement l'équivalent du sang et de la lymphe (CHAUSSON, 2001). L'hémolymphe représente 34% du poids corporel du scorpion et ne coagule pas à l'extérieur de son corps (MOGHADAM et al., 2013). Le pH de l'hémolymphe est d'environ 7,3 (MOGHADAM et al., 2013).

II-2-Le système circulatoire d'hémolymphe

Le Scorpion a le cœur grand ; c'est un long tube qui, de la tête, va jusqu'à l'extrémité de l'abdomen et se prolonge tant vers l'avant que vers l'arrière par de grosses aortes tandis que du cœur même partent des artères, munies de valvules; le sang va ainsi dans tout le corps et spécialement dans le voisinage des poumons et par 7 paires de veines revient au cœur (VACHON, 1951).

Les contractions cardiaques sont fortes au rythme de 60 à 150 par minute. Le sang qui contient des petits leucocytes hyalins, de grands leucocytes, des leucocytes granuleux, et des cellules granuleuses, est dirigé dans le corps par diverses aortes (antérieures, latérales, postérieures). Deux sinus veineux ventraux baignant les poumons permettent le retour au péricarde par les diverses paires de veines. Le sang des scorpions a des propriétés toxiques (VACHON, 1952).

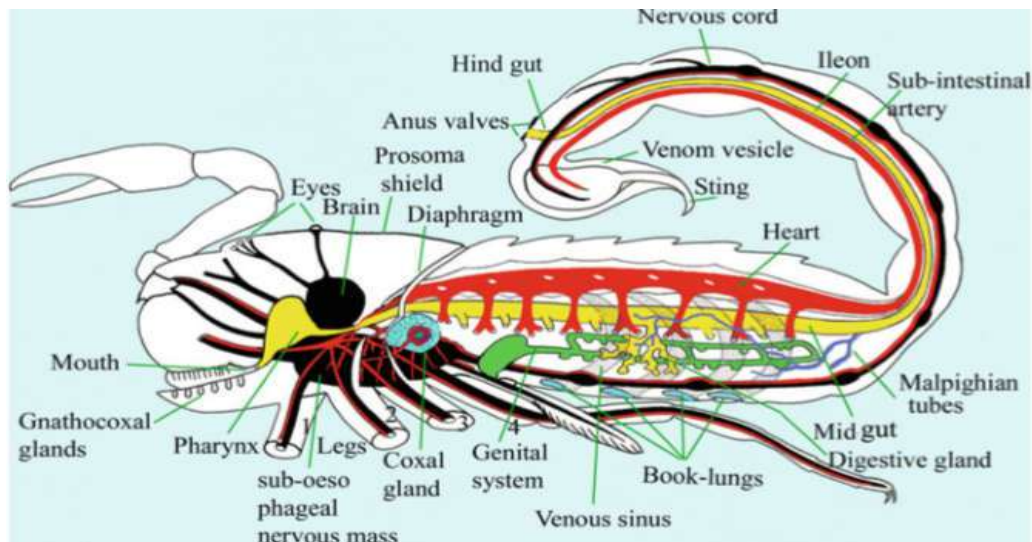


Figure 14 : L'Anatomie d'un scorpion (après P. Gervais 1935, modifiée).
(STOCKMANN, 2013).

II-3-Fonction d'hémolymphe

Elle a comme principale fonction le transport de substances telles que les gaz respiratoires (O₂ et CO₂), les substances nutritives, les produits métaboliques et les électrolytes. Elle a également un rôle dans la transmission des signaux (hormones), le pouvoir tampon et la défense contre les substances étrangères (CHAUSSON, 2001). L'hémolymphe agit donc comme transporteur de gaz, de métabolites et de déchets. Il a des fonctions hémostatiques et facilite l'extension hydrostatique aux extrémités (DE MUL, 2009).

II-4-Composition de l'hémolymphe

L'hémolymphe constitue un mélange complexe dont la composition reflète l'état physiologique de l'animal (CHAUSSON, 2001). Chez les scorpions, l'activité biologique ou métabolique est directement liée à l'hémolymphe, et le venin produit dans la glande à venin est en relation directe avec la composition de l'hémolymphe chez les scorpions (MOGHADAM *et al*, 2013).

L'hémolymphe du scorpion est composée d'hémocytes et de plasma. Le plasma comprend divers ions inorganiques, glucides, acides aminés, lipides et protéines (BANDYOPADHYAY, 1989). L'hémolymphe contient en outre des composants organiques (par exemple des lipides et des protéines) et anorganiques (par exemple des électrolytes, du cuivre et du zinc) (DE MUL, 2009).

La majeure partie des protéines de l'hémolymphe du scorpion est composée des protéines respiratoires, l'hémocyanine, qui donne une couleur bleue à l'hémolymphe lorsqu'il est exposé à l'air. L'hémocyanine constitue environ 85 à 96% des protéines totales d'hémolymphe (BANDYOPADHYAY, 1989).

II-4-1- Les constituants organiques et les ions

Les constituants organiques tels que les protéines, les acides aminés libres (Ala, Leu, Tyr, Arg, His, Phe), les glucides et les lipides ont été analysés dans l'hémolymphe. L'hémolymphe contient des ions comme Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn, Zn (MOGHADAM et al., 2013). Burton(1984) a rapporté que la concentration de Ca^{2+} représentative de chaque espèce d'araignées et de scorpions dépendait de Na^+ , K^+ et Mg^{2+} (JALAL et al., 2010).

II-4-2- L'hémocyanine

L'hémolymphe du scorpion frais apparaît de couleur bleuâtre en raison de la présence de cuivre contenant dans un pigment respiratoire : l'hémocyanine ; une grande protéine similaire à l'hémoglobine, mais au lieu du fer, il y a deux atomes de cuivre au centre de la molécule qui se lient à l'oxygène pendant la respiration (MOGHADAM et al., 2013).

II-4-2-1-Définition

Les hémocyanines sont des complexes de protéines de transport d'oxygène géants dans l'hémolymphe des invertébrés avec des masses moléculaires jusqu'à 8 MDa (JAENICKE et al., 2012). Les hémocyanines sont des glycoprotéines bleues, de masse moléculaire élevée, extracellulaires, contenant du cuivre qui remplissent la fonction importante de transport d'oxygène dans de nombreux mollusques et arthropodes (ALI et al, 2007).

Les hémocyanines sont présentes dans certaines classes d'animaux appartenant aux mollusques et aux arthropodes. Au sein de l'Arthropodes, nous trouvons de l'hémocyanine dans les Crustacés (crabes et homards), les Arachnides (araignées et scorpions) et les Merostomata (VAN BRUGGEN, 1980).

II-4-2-2- Répartition biologique

L'hémocyanine ne se trouve pas dans les cellules sanguines, mais se trouve dissoute librement dans l'hémolymphe. Il constitue le principal constituant protéique (90-98%) de ce fluide à des concentrations allant jusqu'à 120 mg / ml ,selon l'espèce, l'âge et la saison (KAMERLING et VLIEGENTHART, 1997).

II-4-2-3- Biosynthèse

Le site de biosynthèse des hémocyanines (Hcs) n'est connu que chez très peu d'espèces. De plus, il semble varier d'une espèce à l'autre. Chez le scorpion *Androctonus australis* et chez la tarentule *Eurypelma californicum*, les ARNm codant pour les Hcs ont été extraits respectivement de l'endocuticule, sous la chitine de la carapace, et à partir du cœur (CHAUSSON, 2001).

II-4-2-4- Caractéristiques biochimiques

➤ La stabilité thermique et pH

Plusieurs études utilisant la calorimétrie à balayage différentiel ont montré que les hémocyanines présentent une stabilité thermique considérable (température de fusion dans la plage de 83 à 90 ° C). De plus, les techniques biophysiques suggèrent que les hémocyanines sont stables dans une longue gamme de pH, ce qui est probablement une conséquence des interactions entre les sous-unités et du haut degré d'oligomérisation qui stabilisent la structure quaternaire (SALAZAR, 2019).

➤ Teneur élevée en glucides

L'hémocyanine est connue pour posséder de oligosaccharides. La composition du monosaccharide diffère d'un organisme à l'autre. Certains Unités Fonctionnelles (UF) ont des séquences consensus pour la glycosylation liée à l'azote (Asn – X – Ser or Thr, X ≠ P), et la structure des glucides est différente entre les UF. La structure cristalline a identifié la glycosylation respective pour certains d'entre eux. Les données biochimiques montrent que l'élimination des glucides induit la dissociation des molécules décāmériques (KATO et al., 2018).

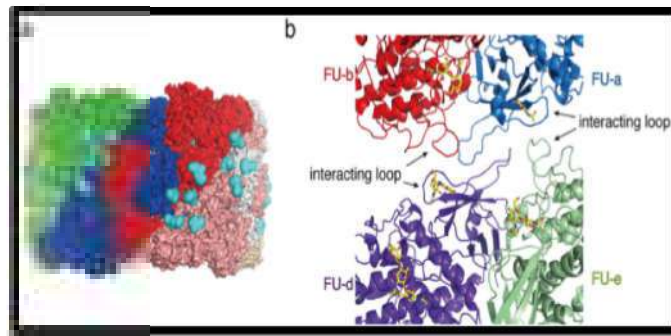


Figure 15 : Les glucides de l'hémocanine (**KATO et al., 2018**).

- (a) Groupes des glucides :Les glucides sont représentés par des bleus sphères ,chaque protomère est illustré sous forme de couleurs individuelles.
- (b) Vue rapprochée du groupe des glucides :Les Unités Fonctionnelles(UF) et les glucides sont indiqués respectivement sous forme de rubans et de bâtons,les UF sont représentées sous forme de codes de couleur.

➤ **L'affinité pour l'oxygène**

Le comportement de liaison aux oxygènes des hémocyanines est généralement caractérisé par une affinité faible à modérée pour l'oxygène qui peut être modulée par divers facteurs, en tant qu'adaptation à l'écophysiologie spécifique à l'espèce (**DECKER et al., 2007**). Le pH, la température et la concentration ionique modulent l'affinité pour l'oxygène de l'hémocanine (**ANUPAM et al.,1997**).

➤ **L'agrégation**

Les sous-unités de l'hémocanine ont tendance à s'agréger. La principale raison de cette agrégation dans l'hémocanine des arthropodes est que les molécules ne sont pas encapsulées dans les cellules sanguines. Cette agrégation permet une concentration élevée sans augmentation correspondante de l'osmolarité (**ANUPAM et al.,1997**).

II-4-2-5- La structure d'hémocyanine

Les structures protéiques de hémocyanines (Hcs) ont été étudiées selon différentes voies, y compris l'analyse de structure primaire et l'analyse tridimensionnelle par microscopie électronique et cristallographie aux rayons X. En termes de structure quaternaire, le Hc natif est constitué d'un certain nombre de sous-unités structurellement liées, et la liaison à l'oxygène est régulée par le comportement allostérique du Hc, basé sur des interactions complexes entre les sous-unités (**KAMERLING et VLIEGENTHART, 1997**).

Les hémocyanines sont des transporteurs d'oxygène de haut poids moléculaire trouvés dans les arthropodes et les mollusques. Leur couleur bleue est une conséquence de la présence de deux atomes de cuivre par molécule d'oxygène transportée sur leur site actif. Dans l'embranchement des arthropodes, l'hétérogénéité des sous-unités est élevée et l'architecture de la molécule est complexe.

La molécule native est généralement considérée comme étant composée de 6, 12, 24 ou 48 sous-unités avec $M_r = 65000-95000$ (**SIZARET et al., 1982**). En tant que telles, elles comptent en masse moléculaire parmi les plus grands complexes de protéines solubles tels que les organites cellulaires (par exemple les ribosomes) ou même petits virus. En raison de l'énorme taille des complexes d'hémocyanine, jusqu'à 160 centres de liaison à l'oxygène peuvent interagir avec la coopérativité de liaison à l'oxygène la plus élevée ($n_H \geq 7$) observée dans la nature (**JAENICKE et al., 2012**).

Comme les protéines fixant le cuivre de type 3 et leurs sites actifs sont intégrés dans un faisceau de quatre hélices α avec six résidus d'histidine, qui coordonnent deux atomes de cuivre entre eux, une molécule d'oxygène est liée de manière réversible en coordination latérale (**JAENICKE et al., 2011**).

Chaque paire d'atomes de cuivre peut se lier à une molécule d'oxygène. Pendant l'oxygénation, l'apparence du sang passe de l'incolore au bleu. La désoxyhémocyanine contient du cuivre (I) et dans l'oxyhémocyanine, un ion O_2^{2-} est lié à deux ions cuivre (II). Le cuivre peut être éliminé avec du cyanure de potassium. Ce procédé est réversible, à condition d'utiliser un composé de cuivre monovalent (**VAN BRUGGEN, 1980**).

La teneur en cuivre est de 0,17% pour l'Arthropodes et de 0,25% pour l'hémocyanine de Mollusques. Les changements de pH, de concentration en cations divalents, de force ionique, etc. ; dissocient de manière réversible les molécules *in vitro* dans des états d'agrégation plus petits mais distincts. Bien que les hémocyanines d'Arthropoda et de Mollusca partagent de nombreuses propriétés fonctionnelles, leur architecture moléculaire est très différente (VAN BRUGGEN, 1980).

Les motifs de N-glycosylation de l'hémocyanine sont conservés près des sites actifs et entre les sites de liaison de leurs sous-unités. Ces N-glycanes participent à l'assemblage et à la stabilité des structures quaternaires. En effet, les glycosylations augmentent la solubilité des protéines et empêchent leur dénaturation ou agrégation. Ainsi, les glycanes ont été décrits comme une modification post-traductionnelle essentielle en termes de stabilité des protéines (SALAZAR, 2019).

En outre, les glycanes des hémocyanines sont très hétérogènes et principalement composées de N-glycanes riches en mannose, ainsi que des glucides mixtes N avec du fucose, du galactose, de la N-acétylglucosamine et des branches de glycosylation que l'on ne trouve pas chez les mammifères (SALAZAR, 2019). De plus, les hémocyanines contiennent des profils de glycane hautement immunogènes, tels que Fuc (α 1-3) GalNAc (β 1-4) [Fuc (α 1-3)] GlcNAc, également observé chez le parasite humain *Schistosoma mansoni*, et Gal (β 1-6) qui ont été trouvés dans certaines chaînes latérales O-spécifiques de Salmonella lipopolysaccharides et capsulaires polysaccharides de *Klebsiella pneumoniae* (SALAZAR, 2019).

II-4-2-5-1- Hémocyanine des arthropodes

II-4-2-5-1-1- La structure générale

Les hémocyanines des arthropodes se présentent sous forme d'hexamères ($M_w \approx 450$ kDa) ou selon les espèces, sous forme d'oligo hexamères assemblés à partir de plusieurs types de sous-unités paralogues d'une masse moléculaire de 75 kDa. Les oligo-hexamères de l'hémocyanine des arthropodes se trouvent dans des états d'agrégation distincts, à savoir deux hexamères ($M_w \approx 900$ kDa), quatre hexamères ($M_w \approx 1,8$ MDa), six hexamères ($M_w \approx 2,7$ MDa) et huit hexamères ($M_w \approx 3,6$ MDa) (JAENICKE *et al.*, 2012).

Chaque sous-unité hémocyanine d'arthropode se replie en trois domaines caractérisés par des motifs de pliage différents : domaine I avec cinq ou six hélices α ; domaine II avec un faisceau de quatre hélices α et le site actif contenant deux ions cuivre ; et domaine III avec un feuillet β antiparallèle à sept brins (**DECKER et al.,2007**).

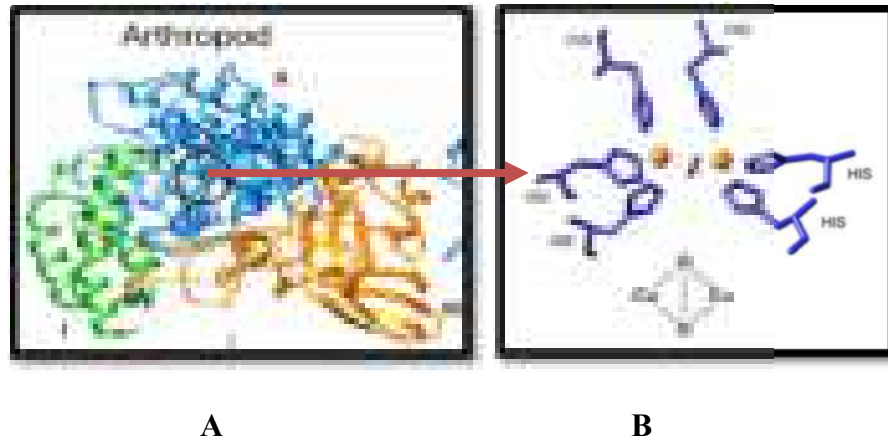


Figure 16: Les sous-unités de l'hémocyanine d'arthropodes .

(**A**) Les sous unités d'hémocyanine , (**B**) Le site actif d'hémocyanine.

L'hémocyanine d'arthropodes se compose de trois domaines (vert, bleu, orange). Les domaines bleus possèdent deux atomes de cuivre, chacun étant coordonné par trois résidus d'histidine hautement conservés. O₂ est lié dans une formation de pontage entre CuA et CuB (**COATES ET DECKER, 2017**).

II-4-2-5-1-2- Hémocyanine des scorpions

II-4-2-5-1-2-A-Généralités

L'hémolymphe du scorpion (les plus anciens arthropodes terrestres) contient de l'hémocyanine comme vecteur d'oxygène à une concentration d'environ 120 mg / ml. La molécule d'hémocyanine native du scorpion a un coefficient de sédimentation de 34S contenant 24 sous-unités, disposées en quatre hexamères (4x6-mers) ou deux ensembles identiques de dodécamères (2x6-mers) disposés de manière anti-parallèle (**ALI et al.,2007**).

À pH alcalin et en l'absence de cations divalents, la molécule d'hémocyanine native se dissocie en huit polypeptides immunologiquement distincts parmi lesquels deux sont obtenus ensemble sous forme d'hétérodimère lié de manière non covalente. Il est également montré que cette sous-unité hétérodimérique joue un rôle central dans la formation de structures plus grandes que 16S (1x6-mers) dans différents arthropodes tels que les scorpions (*Androctonus*

australis; 34S 4x6-mers), la tarentule (*Eurypelma californicum*; 34S 4x6-mers) et le crabe à cheval (*Limulus polyphemus*; 60S 8x6-mers) hémocyanines (ALI et al., 2007).

Ces sous-unités sont très hétérogènes non seulement en ce qui concerne leurs séquences N-terminales, mais également en termes de mobilité électrophorétique, de comportement chromatographique, de spécificité antigénique ainsi que dans leurs propriétés de liaison à l'oxygène. De plus, des expériences de réassemblage avec des sous-unités isolées et leurs combinaisons indiquent également que chaque type de sous-unité joue un rôle spécifique dans l'architecture globale de la molécule native (ALI et al., 2007).

Outre l'intégrité structurale qui est maintenue par l'hétérogénéité des sous-unités, la liaison de l'oxygène allostérique dans les hémocyanines est également dirigée par des interactions spécifiques entre les différentes sous-unités et sous-unités individuelles, ainsi que le dimère fractionné ne présente aucune coopérativité par rapport à l'assemblage natif, comme le révèle le coefficient de Hill très élevé (par exemple > 7 dans la tarentule et 9,25) à pH 7,5 dans les hémocyanines de scorpion (ALI et al., 2007).

II-4-2-5-1-2-B- Hémocyanine de scorpion *Androctonus australis*

II-4-2-5-1-2-B-1- La Structure

L'hémocyanine du scorpion *Androctonus australis* est composée de huit chaînes de peptides différentes, appelées Aa 2, 3A, 3B, 3C, 4, 5A 5B et 6, caractérisées par leurs séquences N-terminales, leurs propriétés immunologiques, leur comportement chromatographique et électrophorétique et leur affinité pour l'oxygène (ALLLEL et al., 1983).

Les huit sous-unités d'hémocyanine de l'*A. Australis* diffèrent par leurs points isoélectriques et, à un degré inférieur, par leur poids moléculaire. De plus, les diverses chaînes polypeptidiques ont des emplacements intramoléculaires spécifiques dans l'architecture (4 x 6) –mer (ALLLEL et al., 1983). La molécule 34-S native est constituée de deux moitiés identiques contenant chacune une copie des sous-unités Aa 3A, Aa 3B, Aa 3C et Aa 5B et deux copies des sous-unités Aa 2, Aa 4, Aa 5A et Aa 6 (SIZARET et al., 1982).

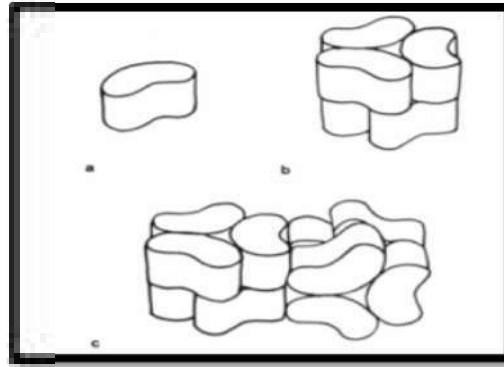


Figure 17 : Modèle de structure quaternaire d'*Androctonus Australis*.
(SIZARET et al., 1982).

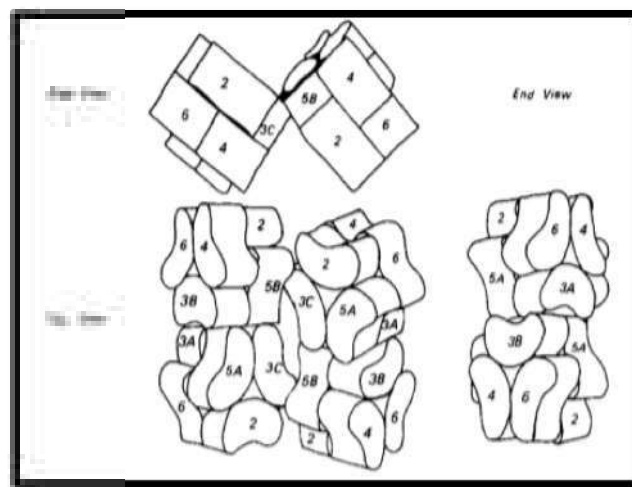


Figure 18 : Vue schématique des constituants hypothétiques de l'hémocyanine native.
(a) Sous-unité, (b) hexamère (1 × 6) - mers, (c) (2 × 6) – mers (LAMY et al., 1981).

En utilisant une méthode d'analyse d'image basée sur l'analyse des correspondances, Bijholt et al. ont déterminé que la molécule entière d'hémocyanine de l'*A. australis* est similaire à la demi-molécule d'hémocyanine de *Limulus polyphernus*. En effet, un mouvement de bascule résulte du fait que les deux (2 x 6) mères dont est composé le (4 x 6) mères ne sont pas parfaitement parallèles. De plus, l'un des deux (2x 6) mers est légèrement décalé par rapport à l'autre, ce qui conduit à la projection vers un parallélogramme plutôt que vers un carré (SIZARET et al, 1982).

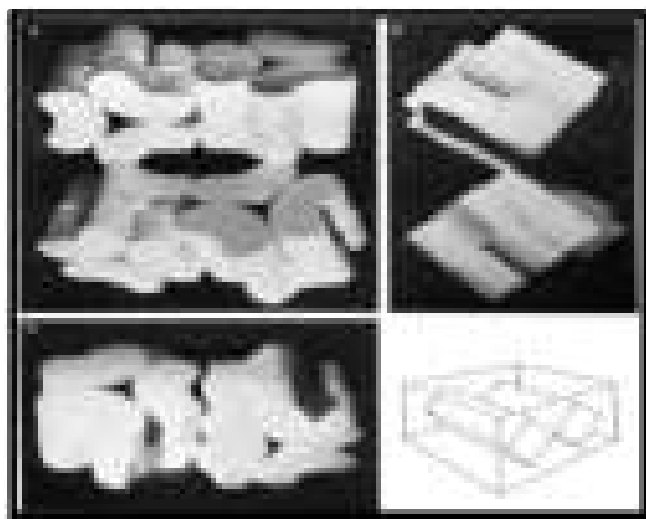


Figure 19: Modèle d'architecture de l'hémocyanine native de l'*Androctonus australis*.
 (a) vue de dessus, (b) vue latérale, (c) vue latérale jamais observée en EM
 (LAMY et al., 1981).

II-4-2-5-1-2-B-2-Les glucides de l'hémocyanine de l'*Androctonus australis*

Le Hc du scorpion *A. australis* est une glycoprotéine 4x6-mer constituée de huit types de sous-unités différentes (a-h) de chaînes polypeptidiques, chacune ayant une masse moléculaire d'environ 75 kDa. Les positions des différents types de sous-unités ont été déterminées dans la structure quaternaire Hc par microscopie électronique (KAMERLING et VLIEGENTHART, 1997).

Une analyse détaillée de la fraction glucidique de Hc, isolée via la procédure d'hydrazinolyse, c'est-à-dire un traitement à l'hydrazine anhydre et une nouvelle N-acétylation, et convertie en l'oligosaccharide-alditol correspondant, a démontré la présence de $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ uniquement. Avec une teneur en glucides de 0,8%, le nombre de chaînes par molécule Hc s'élève à 8 (KAMERLING et VLIEGENTHART, 1997).

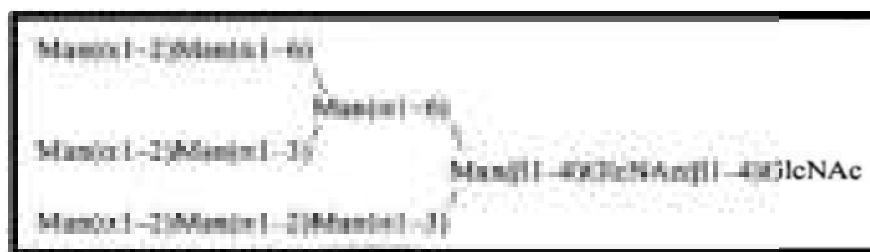


Figure 20: La chaîne glucidique liée à N de l'hémocyanine d' *A.australis*.
 (KAMERLING et VLIEGENTHART, 1997).

II-4-2-6- Les propriétés des hymocyanines

II-4-2-6-1- L'allostérie

Il y a eu un cadre théorique majeur qui a aidé à guider les chercheurs travaillant sur les relations structure-fonction dans les protéines respiratoires ainsi que dans d'autres systèmes protéiques. Ce cadre est la théorie des interactions allostériques et des fonctions liées. La plupart des tentatives pour relier les données expérimentales à ce modèle ont porté sur l'hémoglobine des vertébrés. C'est, en fait, le travail avec l'hémoglobine qui a fourni une grande partie du contexte expérimental de cette théorie (**BONAVENTURA et BONAVENTURA , 1980**).

Il existe généralement deux types de phénomènes qui servent à réguler l'activité enzymatique, comme ceux-ci n'impliquent pas de compétition pour le site actif, ils sont appelés mécanismes de contrôle "allostériques": un type de contrôle allostérique appelé homotrope ;concerne l'effet de la liaison du ligand à un site actif sur la réactivité des sites actifs dans d'autres sous-unités de l'oligomère. Dans la littérature, ce type d'interaction est souvent appelé interaction "site-site", "hème-hème" ou "coopérative"(**BONAVENTURA et BONAVENTURA , 1980**).

La deuxième classe d'interactions allostériques est celle appelée effets hétérotropes, qui se manifeste lorsque la liaison d'une molécule effectrice à un site autre que le site actif modifie la réactivité au site actif de la protéine. Les effets hétérotropes familiers sont l'effet Bohr (l'effet des protons sur l'affinité de l'oxygène), l'effet du dioxyde de carbone et des effets ioniques spécifiques. Les anions phosphate se révèlent souvent être des effecteurs hétérotropes de la fonction enzymatique (**BONAVENTURA et BONAVENTURA , 1980**).

La théorie la plus simple, la plus réussie et la plus unificatrice des interactions allostériques est celle proposée par Monod, Wyraan et Changeux, ce modèle est connu sous le nom de « MWC » ou « le modèle concerté à 2 états ». Un autre modèle, proposé par Koshland, Nemethy et Filmer peut également être utilisé pour expliquer une grande partie des données expérimentales ;ce modèle est connu sous le nom de « KNF » ou « modèle d'ajustement induit » (**BONAVENTURA et BONAVENTURA , 1980**).

Dans le modèle MWC, la protéine est supposée exister dans deux (et seulement deux) états, un état R à haute affinité et un état T à faible affinité. Dans le modèle, R représente une conformation d'affinité élevée pour le ligand «détendu» et T pour une conformation de faible affinité «tendue». La molécule désoxy est à l'état T (**BONAVENTURA et BONAVENTURA , 1980**).

La première étape de la liaison à l'oxygène reflète les propriétés des molécules de la conformation T qui ont une faible affinité pour l'oxygène ; parce que les molécules d'oxygène se lient à un seul conformère, la liaison n'est pas coopérative. L'extrapolation de "l'asymptote inférieure" jusqu'à une saturation de 50% conduit à une estimation de l'affinité en oxygène de l'état T. Après la liaison d'un certain nombre de molécules d'oxygène, une transition conformationnelle se produit et la pente du tracé de Hill augmente. Dans cette partie de la courbe de liaison, la coopérativité dans la liaison à l'oxygène est manifeste et les valeurs du coefficient de Hill sont supérieures à un. Lorsque la transition conformationnelle est "terminée", la liaison à l'oxygène est à nouveau non coopérative mais reflète les propriétés de la configuration R qui a une affinité élevée pour l'oxygène(**BONAVENTURA et BONAVENTURA , 1980**).

L'extrapolation de "l'asymptote supérieure" à 50% donne une estimation de l'affinité pour l'oxygène de l'état R, les interactions homotropes entre sous-unités se produisent en raison de la transition conformationnelle entre l'état T et l'état R. Le passage entre les états T et R dans la voie d'oxygénation peut être grandement influencé par les interactions hétérotropes avec les effecteurs. La base des interactions hétérotropes est une liaison préférentielle des molécules effectrices à un état conformationnel donné. Ainsi, l'influence des effecteurs peut être d'activer ou d'inhiber un système protéique (**BONAVENTURA et BONAVENTURA , 1980**).

II-4-2-6-2- L'oxydation de l'hémocyanine

L'hémocyanine est une protéine contenant du cuivre qui se trouve dans le sang d'un certain nombre d'espèces d'arthropodes et de mollusques. L'étendue de la combinaison réversible avec l'oxygène moléculaire est en fonction de la pression partielle d'oxygène et, comme la formation d'oxyhémoglobine, elle est affectée par les changements d'acidité et de concentration en sel (CONANT *et al.*, 1933).

Le rapport de l'oxygène moléculaire combiné au cuivre est de $O_2: 2Cu$ dans toutes les hémocyanines étudiées à partir d'une variété de sang différents. La protéine désoxygénée est incolore, tandis que le composé oxygéné (oxyhémocyanine) a une couleur bleu intense. Les agents oxydants habituels qui oxydent les composés ferreux, l'hémoglobine et l'oxyhémoglobine, en composé ferrique « la méthémoglobine » semblent être sans effet sur l'hémocyanine ou l'oxyhémocyanine (CONANT *et al.*, 1933).

En utilisant les deux agents oxydants très puissants, le molybdicyanide de potassium ou le permanganate de potassium, il est possible d'oxyder l'hémocyanine (ou oxyhémocyanine) de *Limulus polyphemus*. De cette façon, deux nouvelles protéines se forment dans lesquelles le cuivre est à l'état cuivrique. L'une d'elles, préparée à partir d'hémocyanine en l'absence d'oxygène, est incolore « méthémocyanine ». L'autre, l'oxyméthémocyanine, est formée lorsqu'une solution de méthémocyanine est secouée avec de l'air ou de l'oxygène; la désoxygénation de la méthémocyanine comme celle de l'hémocyanine peut être provoquée en diminuant la pression partielle de l'oxygène au-dessus de la solution. Il est évident que, contrairement à la méthémoglobine, la méthémocyanine se combine de façon réversible avec l'oxygène (CONANT *et al.*, 1933).

Les composés cuivriques, la méthémocyanine et l'oxyméthémocyanine sont réduits par l'action d'une variété d'agents réducteurs, mais deux réactifs particuliers se sont révélés d'une valeur spéciale ;il s'agit du ferrocyanure de potassium et de la 1,4-naphtohydroquinone, qui ne sont oxydés que très lentement par l'oxygène atmosphérique à un pH de 7. De ce fait, ils peuvent être utilisés pour titrer des agents oxydants en présence d'air (CONANT *et al.*, 1933).

Le point final peut être déterminé par électrométrie dans le type habituel de cellule d'oxydoréduction ou dans le cas du naphtohydroquinone, le phénolindophénol peut être utilisé comme indicateur. Dans un tampon phosphate de pH 7, cet indophénol est réduit par le

naphte, la hohydroquinone et réoxydé par la méthémocyanine (ou oxyméthémocyanine) mais seulement lentement par l'air. Le titrage du composé cuprique est donc terminé lorsque la couleur indophénol (rose) a disparu (CONANT *et al.*, 1933).

Dans l'utilisation du ferrocyanure de potassium, un excès de l'agent réducteur est ajouté, puis la solution est titrée rapidement avec du molybdicyanide, le point final étant déterminé par électrométrie. La réoxydation du composé cuivreux est suffisamment lente par rapport à celle du ferrocyanure pour qu'un point final satisfaisant puisse être obtenu (CONANT *et al.*, 1933).

II-4-2-7- Hémocyanine et l'immunité

La biodiversité des hémocyanines a incité à développer de nouveaux candidats avec de meilleures propriétés biochimiques et immunologiques car l'approvisionnement dépend des ressources naturelles. Les hémocyanines seules sont capables d'activer puissamment le système immunitaire des mammifères. Ils ont été utilisées comme outil biotechnologique dans le développement d'anticorps (ACs) et de vaccins, ainsi que comme immunomodulateurs tels que les immunostimulants non spécifiques dans le cancer superficiel de la vessie (ZHONG *et al.*, 2016).

Les hémocyanines sont utilisées comme supports, adjuvants dans les vaccins thérapeutiques contre le cancer à base de cellules dendritiques et immunostimulants non spécifiques dans le traitement du cancer de la vessie superficielle, entre autres applications. En plus des effets pro-inflammatoires bénéfiques des hémocyanines en tant qu'adjuvants dans les premiers stades des réponses immunitaires, ces glycoprotéines se sont révélées induire une puissante réponse immunitaire humorale et cellulaire, ainsi qu'un effet antitumoral chez les mammifères par eux-mêmes. En outre, les épitopes de glycane partagés entre les hémocyanines et les cellules tumorales induisent des anticorps à réaction croisée, qui favorisent la cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps contre les tumeurs (SALAZAR, 2019).

II-4-3- Les hémocytes

L'hémolymphe est l'équivalent du scorpion du sang vertébré et a une couleur bleuâtre, en raison de l'hémocyanine pigmentaire respiratoire contenant du cuivre (c'est-à-dire une métalloprotéine contenant deux atomes de cuivre qui se lient à une seule molécule d'oxygène (O₂)). Les invertébrés n'ont pas de globules rouges ou blancs, mais des hémocytes à la place.

Les hémocytes participent à la phagocytose et à l'encapsulation de matières étrangères et jouent un rôle clé dans la coagulation (DE MUL, 2009).

II-4-3-1-Types des hémocytes de scorpion *Androctonus australis*

Le nombre total moyen d'éléments cellulaires circulants est de 6.100 (± 300) par millimètre cube d'hémolymphe, L'examen direct, à l'état frais, en contraste de phase interférentiel, d'un sang de scorpion fraîchement prélevé permet déjà d'observer trois principaux types de cellules nettement distincts (GYSIN et al., 1969).

1/ Les Morulocytes : sont des cellules communes du sang circulant, représenté par des cellules curieuses, muriformes et mammelonnées, soit sur toute leur surface, soit selon un anneau plus ou moins large et plus ou moins fermé. Le noyau, très granuleux, n'est presque jamais visible (Photo 19.1) (GYSIN et al., 1969).

2/ Les Plasmocytes : sont composés de cellules peu épaisses, au cytoplasme uniformément plat, de structure assez homogène (exception faite parfois de quelques vacuoles) et hyaline; le noyau, légèrement en relief par rapport au cytoplasme, mais également plat, est bien visible, mais de structure plus dense et plus hétérogène que le cytoplasme. Ces cellules sont le plus souvent en forme de raquette ou de fuseau, traduisant leur mobilité (Photo 19.2) (GYSIN et al., 1969).

3/ Les Granulocytes : correspondent assez bien aux granulocytes des mammifères et c'est ce même nom qu'on leur a donné. Ce sont des cellules rondes à l'arrêt, mis se déformant sensiblement, lors de leurs remarquables mouvements amiboïdes, et pouvant, notamment, s'étirer considérablement. Sur un cytoplasme moins homogène que celui des plasmocytes, se détachent nettement les granules ronds, nombreux et de taille uniforme. Le noyau, souvent masqué par les granules, est bien délimité et plus dense que le cytoplasme (Photo 19.3) (GYSIN et al., 1969).

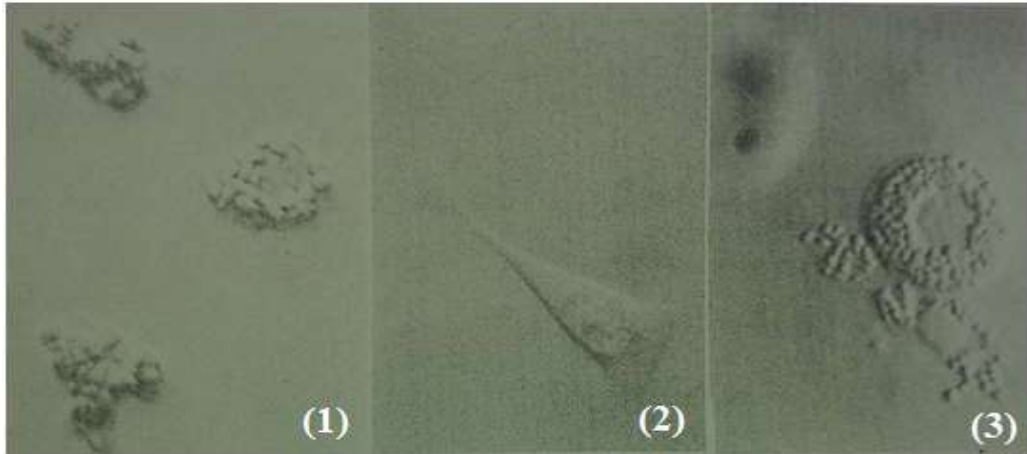


Photo19 : Les trois principaux types cellulaires de l'hémolymph des scorpions.

1) : Morulocyte (2) : Plasmocyte, (3) : Granulocyte éosinophile (en mouvement) en contraste de phase interférentiel (GYSIN *et al.*, 1969).

Les sphérocytes

Outre ces trois types cellulaires fondamentaux, il existe beaucoup plus rare et difficile à rattacher aux trois types précédents. Ces cellules ont un aspect sacciforme caractéristique (GYSIN *et al.*, 1969).

*La formule sanguine présente la physionomie suivante (GYSIN *et al.*, 1969):

1-Morulocytes (+ rares cellules immatures de la même lignée).....	60%
2-Plasmocytes (+ rares cellules immatures de la même lignée).....	23%
3-Granulocytes.....	16%
4-Sphérocytes.....	1 %

II-4-3-2 Organes hémopoïétiques des hémocytes de scorpion *Androctonus australis L. Hector* :

a- La « glande » de Blanchard : est située dorsalement par rapport à la chaîne nerveuse ventrale et tout le long de l'abdomen (GYSIN *et al.*, 1969).

b- Les cellules péricardiales : sont situées autour du cœur et sur toute sa longueur (GYSIN *et al.*, 1969).

Le tissu hémopoïétiques proprement dit est constitué d'îlots syncytiaux dans le tissu général des organes précités. Ces îlots peuvent être considérés comme des, agglomérats de cellules souches. Ces cellules s'individualisent et deviennent alors ce qui est appelé conventionnellement des « **hémocytoblastes** » (GYSIN *et al.*, 1969).

L'hémocytoblaste est une grande cellule de 30 à 40 μ au cytoplasme gris-lilas parfois parsemée de rares granulations basophiles, son noyau, très volumineux, présente un ou deux gros nucléoles ronds, bleu clair ou foncé (cet aspect est commun aux éléments syncytiaux et aux cellules souches libres). Cette cellule présente une macrophagie et une granulopexie positives (GYSIN *et al.*, 1969).

II-4-3-2-1 les lignes cellulaires

L'hémocytoblaste ou cellule souche, uniquement présent dans les organes hémopoïétiques, est à l'origine de quatre lignées cellulaires : une lignée uniquement tissulaire, la lignée macrophage, et trois lignées, sanguines, la lignée morulocytaire, la lignée Plasmocytaire et la lignée granulocytaire (GYSIN *et al.*, 1969).

1. La lignée macrophage

Le macrophage, dérive directement de l'hémocytoblaste sans forme intermédiaire caractéristique. C'est un hémocytoblaste mûri ayant perdu toute faculté évolutive. On le trouve exclusivement dans les organes hémopoïétiques et dans les tissus, jamais dans le sang circulant (GYSIN *et al.*, 1969).

C'est une grande cellule de 30 à 60 μ , au cytoplasme gris clair à gris bleu, à tendance basophile, contenant des inclusions basophiles et des débris cellulaires de taille variable. Le noyau, relativement petit, est rond, généralement central, et présente fréquemment un nucléole, Cette cellule présente une mobilité faible et une macrophagie évidemment positive, l'excès de celle-ci entraînant la lyse de la cellule, après picnose nucléaire et vacuolisation du cytoplasme (GYSIN *et al.*, 1969).

2. La lignée morulocytaire

La plus importante des lignées sanguines issues de l'hémocytoblaste, la lignée morulocytaire, est la plus originale, sous l'angle de l'hématologie comparée et passe par trois stades : l'annulocyte, le pro morulocyte et le morulocyte (GYSIN *et al.*, 1969).

2.1. L'annulocyte : surtout présent dans les organes hémopoïétiques, mais pouvant être rencontré dans le sang circulant, mesure de 10 à 20 μm . Son cytoplasme est faiblement basophile (teinte de fond à laquelle se superpose souvent une légère acidophilie) et présente une curieuse formation annelée, faite de mottes denses contiguës et fortement basophiles, auréolant le noyau. Celui-ci, central de taille moyenne, a une chromatine très fine et est assez peu visible (Photo 20.1) (GYSIN *et al.*, 1969).

2.2. Le Pro-morulocyte : uniquement rencontré dans le sang circulant mesure de 10 à 20 μm . Dans son cytoplasme, plus nettement basophile, la formation annelée se fragmente en grosses granulations fortement basophile qui se répartissent dans la cellule. Le noyau, légèrement plus petit, est moins constamment central que dans l'annulocyte. Et sa chromatine est sensiblement épaissie; il est souvent masqué par les granulations (Photo 20. 2) (GYSIN *et al.*, 1969).

2.3. Le morulocyte : uniquement trouvé dans le sang circulant, mesure de 10 à 20 μm . Son cytoplasme est maintenant rempli de gros grains fortement basophiles, provenant de la fragmentation complète de l'anneau primitif. Le noyau est petit, souvent masqué par les granules et présente une chromatine dense mais encore relativement claire; il est parfois picnotique (Photo 20. 3) (GYSIN *et al.*, 1969).



Photo20 : Stades de formation de la cellule Morulocyte.

(1) : Annulocyte, **(2) :** Pro morulocyte, **(3) :** Morulocyte ; après la coloration de May Grünwald-Giemsa (GYSIN *et al.*, 1969).

3. La lignée plasmocytaire

Deuxième lignée cellulaire sanguine issue de l'hémocytoblaste, elle comporte les stades de plasmoblaste, de proplasmocyte et enfin de plasmocyte. On a donné ces noms à ces cellules en raison d'analogies certaines avec les cellules homonymes des mammifères : morphologie voisine, chez les cellules mûres, y compris le halo cytoplasmique clair, en croissant, au contact du noyau surteinte acidophile du cytoplasme, sur un fond basophile (notamment dans le plasmoblaste); présence de vacuoles lipidiques fréquentes dans le cytoplasme de la cellule mûre (GYSIN *et al.*, 1969).

3.1. Le Plasmoblaste : uniquement trouvé dans les organes hémopoïétiques, est une cellule de 20 à 40 μ m, au cytoplasme légèrement basophile, sans granulations. Le noyau, assez grand, a une chromatine finement ouvragée et plusieurs nucléoles en général (GYSIN *et al.*, 1969).

3.2. Le Proplasmocyte : trouvé essentiellement dans les organes hémopoïétiques, mais parfois dans le sang circulant, mesure de 15 à 25 μ m, le cytoplasme, toujours légèrement basophile, est souvent vacuolisé, en « dentelle » et présente des granulations marginales très fines, à tendance azurophile; le noyau, plus petit, a une chromatine plus dense et un seul nucléole le plus souvent (photo 21.1) (GYSIN *et al.*, 1969).

3.3. Plasmocyte : uniquement présent dans le sang circulant, semble exister sous deux types, ne différant que par la taille : 15 à 20 μ m (grand plasmocyte) et 7 à 12 μ m (petit plasmocyte).

Le cytoplasme est basophile, toujours vacuolisé et présente de nombreuses et fines granulations azurophiles sur toute sa surface. Le noyau relativement petit chez le grand plasmocyte et évidemment très grand dans le petit, a une chromatine restée relativement fine et ne comporte pas de nucléole, en général (photo21.2) (GYSIN *et al.*, 1969).

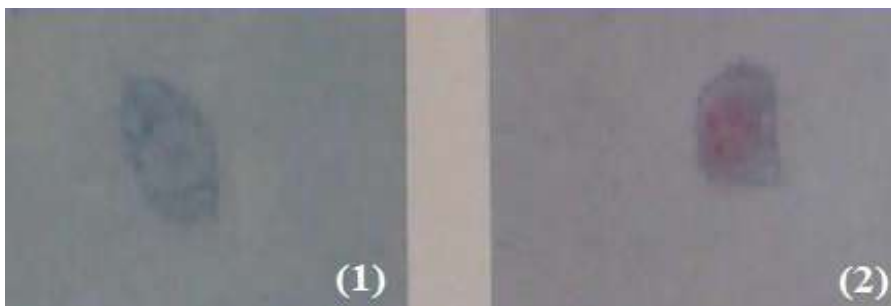


Photo 21 : Stades de formation de plasmocyte.
(1) : Proplasmocyte, (2) : Plasmocyte ; après coloration de May Grünwald-Giemsa (GYSIN *et al.*, 1969).

3.3.1. Mobilités des Plasmocytes

Les plasmocytes ont un très grand pouvoir d'étalement sur verre mais une mobilité moindre que les granulocytes. Leurs déformations notamment, sont beaucoup moins importantes et se limitent à des aspects en « raquette » ou en « fuseau » (GYSIN *et al.*, 1969).

4- La lignée granulocytaire

La troisième lignée cellulaire sanguine passe par les stades de leucoblaste, de Proleucocyte et de leucocyte, ces dénominations s'inspirant du nom de l'organe hémopoïétique majeur chez le scorpion, la glande de Blanchard, et la cellule mûre de la lignée, le granulocyte, paraissant effectivement très proche des leucocytes granuleux des mammifères (GYSIN *et al.*, 1969).

4.1. Le leucoblaste : uniquement trouvé dans les organes hémopoïétiques, mesure de 20 à 25µm. Le cytoplasme, basophile, contient des granulations généralement acidophiles (quelquefois basophiles), peu nombreuses, mais augmentant progressivement en nombre. Le noyau est assez grand, rond ou légèrement ovale, à chromatine finement ouvragée et présente un nucléole (GYSIN *et al.*, 1969).

4.2. Le Proleucocyte : uniquement rencontré dans les organes hémopoïétiques, mesure de 15 à 20µm. Le cytoplasme, à tendance éosinophile, contient des granulations neutrophiles polymorphes. Le noyau, assez grand, à chromatine plus épaisse, n'a plus de nucléole, mais en conserve parfois la trace (GYSIN *et al.*, 1969).

4.3. Le leucocyte : uniquement présent dans les organes hémopoïétiques, mesure environ 15 µm. Le cytoplasme est légèrement éosinophile et contient des granulations neutrophiles. Le noyau, un peu plus petit que dans le proleucocyte, a une chromatine compacte et ne présente plus trace de (GYSIN *et al.*, 1969).

4.4. Le granulocyte éosinophile : uniquement trouvé dans le sang circulant, mesure environ 15 µm. Le cytoplasme est toujours éosinophile et contient des granulations polymorphes franchement éosinophiles, occupant en général toute la cellule. Le noyau, relativement petit, a une chromatine dense (GYSIN *et al.*, 1969).

4.5. Le granulocyte basophile : uniquement rencontré dans le sang circulant, mesure de 15 à 20µm. Le cytoplasme est légèrement basophile et contient des granulations en bâtonnets, franchement basophiles, remplissant la cellule. Le noyau, souvent masqué par les granulations, est relativement petit et a une chromatine compacte (GYSIN *et al.*, 1969).



Photo22 : Les deux types de cellule granulocyte.

(1) : granulocyte éosinophile, (2) : granulocyte basophile ; après coloration de May Grünwald-Giemsa (GYSIN *et al.*, 1969).

4 .5.1.Mobilité des granulocytes

Le pouvoir d'étalement des granulocytes, s'il est moins important que celui des plasmocytes, n'en est pas moins remarquable et prouve la grande plasticité de leur cytoplasme. Cet étalement se fait selon tous les axes de la cellule qui reste ronde, le noyau restant central et les granulations cytoplasmiques s'étalant en une seule couche mais respectant une frange hyaloplasmique..

Dans un second temps, la cellule s'allonge, prend une forme ovoïde, comme son noyau, et les granulations suivent le mouvement, toujours en respectant une frange hyaloplasmique. C'est l'amorce du mouvement amiboïde. Celui-ci est assez rapide (20 μm /minute), le noyau étant généralement postérieur par rapport au sens du déplacement, comme traîné par le cytoplasme, les granulations présentant des mouvements déphasés par rapport au reste de la cellule, Signalons enfin la photophobie très marquée de ces cellules (GYSIN *et al.*, 1969).

5- Sphérocyte

Le sphérocyte, normalement très rare dans le sang circulant, mesure de 20 à 30 μm . Le cytoplasme est basophile, mais souvent avec une sur teinte acidophile, et présente des mottes d'aspect spongieux et une formation annelée, franchement basophiles, la formation annelée limitant une zone claire où se retrouvent des mottes spongieuses basophiles et où l'on devine un petit noyau flou à tendance curieusement basophile. La cellule donne l'impression d'être sacciforme et appendue à sa formation annelée (**Photo 23**) (GYSIN *et al.*, 1969).

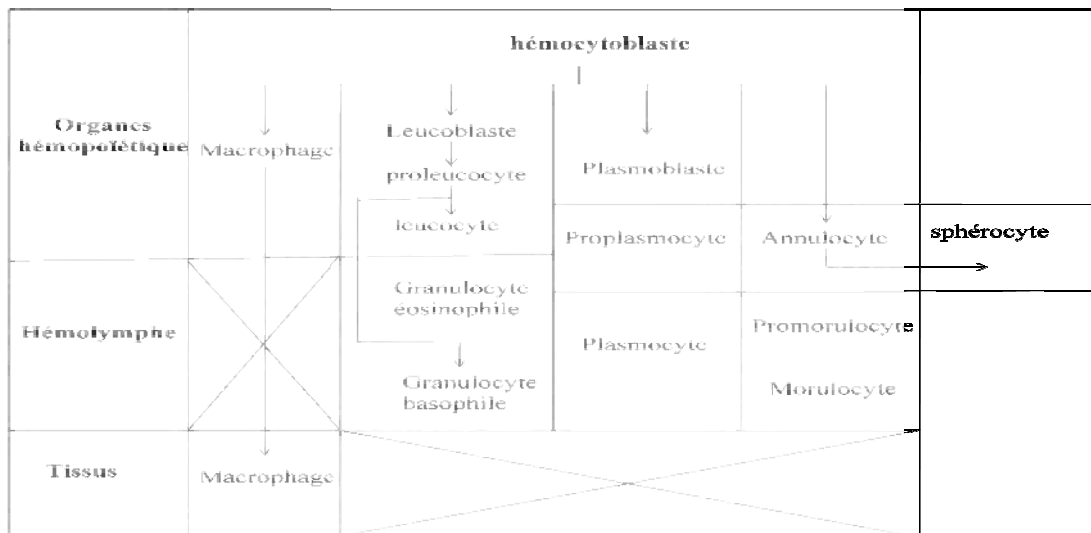


Photo 23 : La cellule sphérocyte.

(1) : Sphérocyte après coloration de May Grünwald-Giemsa, (2) : sphérocyte (par MGG sur hémolymph après injection d'acridine orange à animal (GYSIN et al., 1969).

Cette cellule très originale peut difficilement être rattachée à une lignée sanguine déterminée. Cependant, elle présente des affinités certaines avec les annulocytes et une déviation pathologique de ces cellules a été considérée. A l'appui de cette hypothèse, les modifications cytologiques sanguines, après une captivité prolongée ou après action de certains agents physiques, comme les alternances thermiques, se traduisent par une augmentation considérable des sphérocytes (jusqu'à 60 %) aux dépends des morulocytes (GYSIN et al., 1969).

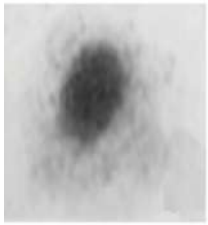

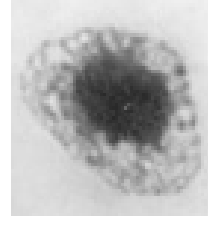

Tableau 03: Filiation des cellules.

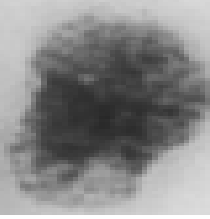
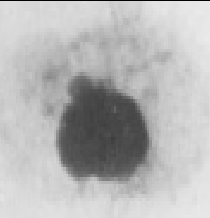
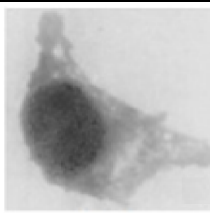


II-4-3-3 Autre classification des hemocytes

Les observation microscopique en contraste de lumière et de phase ont aide à l'identification et à la quantification des hémocytes population. Sept types d'hémocytes été ont identifiés dans le hémolymphe de scorpion *HETEROMETRUS PHIPSONI* (PATIL et SHAH, 2013).

Tableau 04 : Les types des hemocytes de *Mesobathus tamulus phipsoni* sous microscope de contraste de phase ; (Gr x940) (PATIL et SHAH, 2013).

Les types	Les cellules	Caractéristique des cellules
Prohemocyte (PR)		Les PRs sont légèrement plus grands et ronds mesurant environ 5- 13µm de diamètre. Une très petite quantité de cytoplasme avec des granules. Le noyau est grand, compact et placé au centre avec 3- 10 µm de diamètre. Le noyau a chromatine compacte et basophile dans la nature. La valeur du DHC était de 2 à 5 %.
Plasmocyte (PL)		Les PLs représentent une classe unique d'hémocytes en scorpion en raison de leur nature hautement polymorphe. Il est en forme de fuseau. La longueur mesure environ 10- 35µm et la largeur 6- 12µm. Le cytoplasme est abondant et légèrement granulaire. Le noyau était situé au centre et de forme elliptique. La taille du noyau variait entre 3 et 10µm de diamètre. PLs a constitué une grande partie de la population d'hémocytes - 79 %.
Granulocyte (GR)		Les GRs sont caractérisés par la présence de granules cytoplasmiques tachées en eux. Il s'agit de cellules de taille moyenne; la taille varie de 6 à 15µm. Le noyau est plus petit, rond, excentrique en position et mesurant environ 3- 8 µm. La chromatine était dense et compacte. DHC a montré que les GR représentent 11% de la population totale d'hémocytes.
Sphérulocyte (SP)		La présence de sphérules non réfringentes dans le cytoplasme était la caractéristique du sphérulocyte. Ceux-ci étaient ronds ou ovales dans la forme et les mesures environ 7- 26µm. Le noyau est au centre et complètement obscurci par les sphérules. La taille nucléaire variait entre 3-10µm avec la chromatine dense et compacte. Les sphérulocytes représentaient environ 4% de la population totale d'hémocytes.

Adipohémocyte (AD)		Ceux-ci étaient de nature sphérique ou ovale. Leur taille variait entre 8 et 40µm. Les granules dans les AD étaient de nature réfringente. Certaines vacuoles sont présentes dans le cytoplasme. Le noyau était excentrique en position ayant 3- 11µm de diamètre. Ces hémocytes ne représentent que 1% de la population totale d'hémocytes.
Oenocytoid (OE)		Les OE étaient très fragiles et difficiles à localiser au microscope ordinaire, d'où étudiés au microscope à contraste de phase. Ceux-ci sont polymorphes et ont un diamètre de 9 à 40µm. De petits granules sont présents dans le cytoplasme. Le noyau est petit, excentrique et 3-9µm de diamètre. La valeur du DHC est de 2%.
Coagulocyte (CO)		Ceux-ci sont également fragiles et également étudiés sous microscope de contraste de phase. La taille et la forme sont irrégulières avec un diamètre de 13 à 35µm. Les hémocytes sont avec le cytoplasme granulaire. Le noyau est au centre, ayant un diamètre de 3 à 8 µm. La valeur du DHC est de 1%.

DHC: Differential Hemocytes Count (Nombre différentiel des hémocytes).

II-4-4- les agglutinines

Chez les invertébrés, la phagocytose est considérée comme le principal mécanisme de défense innée contre les envahisseurs étrangers . Dans ce processus, une interaction intime de substances humorales, notamment comme facteurs de reconnaissance, a été impliquée . Divers facteurs humoraux, d'origine naturelle et / ou formés après stimulation antigénique, ont été détectés dans le sérum d'invertébrés et comprennent les agglutinines, les lysines, les antibactériens et les protéines antifongiques, système de phénoloxydase, protéine de liaison au LPS et protéine de liaison au β -1, 3 glucane (MEENA, 2011).

Les fluides corporels de nombreux invertébrés contiennent des facteurs humoraux capables d'agglutiner les bactéries, les protozoaires, les érythrocytes vertébrés et d'autres cellules (RATCLIFFE, 1985). En raison des similitudes fonctionnelles probables entre les agglutinines et les anticorps des vertébrés et des indications que les agglutinines ont une fonction défensive , les agglutinines des invertébrées ont été largement étudiées (MEENA, 2011).

II-4-4-1-Définition

Les agglutinines (= lectines) sont des protéines de liaison aux glucides di- ou multivalentes ayant la capacité d'agglutiner les cellules avec des glucides complémentaires à leur surface . Ils sont connus pour reconnaître spécifiquement le sucre entier , un site spécifique dans un sucre , une séquence de sucres ou leurs liaisons glycosidiques (**MEENA, 2011**).

Ils se lient souvent aux glucides tels que l'acide sialique, la N-acétyl galactosamine et la glucosamine et le galactose ou des composés apparentés. Elles sont cependant assez distinctes des immunoglobulines en termes de structure, de spécificités de liaison, de propriétés physico-chimiques et d'inductibilité (**RATCLIFFE, 1985**).

La synthèse d'agglutinines a été rapportée dans le corps adipeux chez les insectes, et dans les cellules sanguines ou leurs équivalents chez les invertébrés inférieurs. En général, les hémagglutinines sont des protéines ou des glycoprotéines, et nécessitent souvent du Ca^{2+} ou d'autres cations divalents pour leur activité. Plusieurs hémagglutinines peuvent être présentes dans tout échantillon de sérum (**RATCLIFFE, 1985**).

II-4-4-2-Distribution

Les molécules d'agglutination sont largement distribuées dans les micro-organismes , les plantes et les animaux. Le fluide corporel ou l'hémolymphe de presque toutes les espèces d'invertébrés testées contiennent des agglutinines. La présence d'agglutinines a également été détectée dans le mucus ainsi que dans certains tissus d'invertébrés (**MEENA, 2011**).

II-4-4-3- L'intérêt d'agglutinines

L'intérêt pour les agglutinines des invertébrées provient du fait que les fluides corporels entiers contenant des agglutinines (et de nombreux autres facteurs) ont souvent des propriétés opsoniques, et ces substances ont été considérées comme des molécules de reconnaissance probables (**RATCLIFFE, 1985**).



**PARTIE II : PARTIE
PRATIQUE**

Chapitre I:

MATERIELS ET

METHODES

I-1-But de travail

Les buts de notre étude sont :

- L'extraction de l'hémolymphe scorpionique
- L'étude immunologique humorale et cellulaire de l'hémolymphe scorpionique




Notre travail a été effectué au laboratoire d'Immunologie de la faculté de la médecine, de l'université Kasdi Merbah Ouargla.




I-2- Extraction de l'hémolymphe scorpionique

I-2-1-Matériels

I-2-1-1- Petits matériels et Appareillages utilisé

Tableau 05 : Matériels nécessaires pour l'extraction de l'hémolymphe scorpionique.

Type de matérielles	Matériels	Objectif
Petits matériels	 <p>Arfa et oubbiche 2020</p>	<p>Les pinces</p> <p>Elles sont très importantes pour bien fixer le scorpion lors de l'extraction de l'hémolymphe.</p>
	 <p>Arfa et oubbiche 2020</p>	<p>Les ciseaux</p> <p>Aident à couper le telson et les pattes mâchoires de scorpion pour extraire l'hémolymphe scorpionique.</p>
	 <p>Arfa et oubbiche 2020</p>	<p>Tube Eppendorf</p> <p>Micro tube pour conserver l'hémolymphe obtenu par l'extraction. Il peut contenir une quantité de 2 ml.</p>

Appareillages		La Centrifugeuse réfrigéré Assurer une séparation des composés d'un mélange en fonction de leur différence de vitesse de sédimentation.
		L'agitateur rotatoire Les agitateurs rotatoires, sont des appareils puissants basés sur le mouvement de rotation. Ils permettent une homogénéisation et dissolution commode et rapide des échantillons.
Matériels biologiques		Deux espèces de scorpions utilisées : <i>Androctonus amoreuxi (Am)</i> et <i>Androctonus australis (Aa)</i> .

I-2-1-2- les produit et réactifs utilisés

-L'eau physiologique.

-L'anticoagulant : Citrate de sodium (Na_2 -citrate).

I-2-2-Méthodes

I-2-2-1-L'extraction de l'hémolymphe

Dans notre travail, on extrait l'hémolymphe par la méthode suivant :

- 1) Fixation de scorpion par les pinces (l'une fixée sur l'abdomen, et l'autre au niveau du dernier anneau du métasome (le telson).
- 2) Sectionner le telson et le scorpion amputé est introduit tête en bas dans un tube à essaie.
- 3) Recueille de l'hémolymphe dans tube Eppendrof sous anticoagulant (le Na_2 -citrate) ou non. Pour augmenter la quantité extraite de l'hémolymphe on sectionne aussi les pattes-mâchoires.

- 4) Centrifugation immédiate à l'aide d'une centrifugeuse « pro-analytique » à 150 rpm pendant 10 min.
- 5) Congélation immédiate dans le réfrigérateur à 4C° pendant leur utilisation. Tandis que le culot solubilisé dans l'eau physiologique et mis dans l'agitateur rotatoire pendant 24h pour augmenter la solubilité et faciliter l'observation microscopique.
- 6) Une goutte de solution obtenue après solubilisation est mise sur une lame en verre et couvrir par une lamelle puis examiné sous microscope optique à état frais (sans coloration) et avec coloration de Giemsa (après l'addition de quelques gouttes d'huile d'immersion pour améliorer l'observation des cellules sous microscope optique au grossissement de (Gr x 10), (Gr x 40), (Gr x 100).

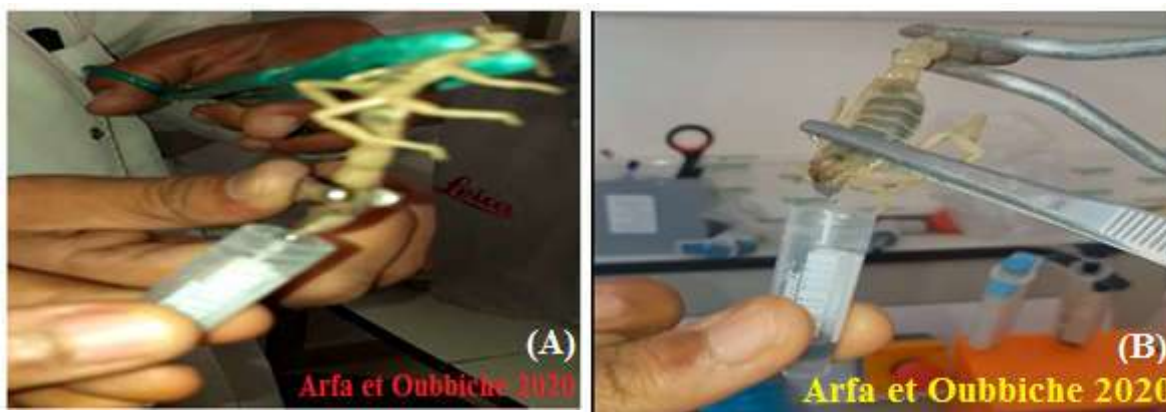


Photo 24 : Extraction de l'hémolymphe à partir d'un scorpion.

(A) : A partir de leur queue, (B) : A partir de leur pattes mâchoires.

Tableau 06 : Les dates et les espèces utilisées pour l'extraction de l'hémolymphe.

Date d'extraction	L'espèce	Nombre des individus sacrifiées	Hémolymphe/Anticoagulant
09/11/2019	<i>Androctonus amoreuxi</i>	01	Hémolymphe sans Na ₂ -citrate
23/11/2019	<i>Androctonus amoreuxi</i>	04(un individu vieux)	½ V hémolymphe+½V Na ₂ -citrate
	<i>Androctonus australis</i>	02(un individu plus jeune)	
25/11/2019	<i>Androctonus amoreuxi</i>	03	Hémolymphe avec Na ₂ -citrate
08/12/2019	<i>Androctonus australis</i>	01	Hémolymphe avec 30 µl de Na ₂ -citrate

I-2-2-2-Conservation de l'hémolymphe

L'hémolymphe est recueillie dans un tube Eppendrof sur le citrate sous forme de plasma ou hémolymphe total ; puis il est conservé dans le réfrigérateur à 4C° jusqu'à son utilisation.




I-3-Etude du pouvoir neutralisant de l'hémolymphe scorpionique à l'égard de venin scorpionique





I-3-1- Test sur les souris

I-3-1-1-Matériels

I-3-1-1-1 Petits matériels et Matériels biologiques utilisé

Tableau07 : Matériels nécessaires pour l'étude du pouvoir neutralisant de l'hémolymphe scorpionique à l'égard de venin scorpionique.

Les Types	Matériels	Objectifs
Petite matériels		<p>Les micropipettes Il y a plusieurs types de micropipette 50µl, 100µl-1000µl, standard 100µl, standard 200µl...etc.). C'est un instrument important utilisé pour mesurer précisément des petits volumes de liquide.</p>
		<p>La seringue d'insuline Instrument médical employée pour administrer le liquide par injection à l'intérieur de souris. Il peut rempli une quantité de 1ml de solution.</p>
		<p>Tube à essais C'est un récipient utilisé en laboratoire comme conteneurs pour stocker des solutions et les produits.</p>

		<p>Cages en plastique Utilisée pour la séparation de souris lors de l'expérimentation avec des étiquettes qui facilite la distinction entre elles.</p>
<p>Matériels biologiques</p>		<p>Des souris blanches De type BALBO/C ; mâles de poids 20g, sont fournies par l'animalerie de l'institut Pasteur d'Algérie, comme modèles particulièrement adaptés à la recherche axée sur l'homme, aussi ils sont petits et très doux et donc très faciles à manipuler et gérer.</p>
		<p>L'hémolymphe de deux scorpions <i>Androctonus amoreuxi</i> et <i>Androctonus australis</i> (♀ et ♂).</p>
		<p>Le venin de deux scorpions <i>Androctonus amoreuxi</i> et <i>Androctonus australis</i>.</p>

I-3-1-1-2- Les produits

Les produits utilisés dans ce test sont les suivants:

- Eau physiologie NaCl 0.9%.

I-3-1-2-Méthodes

I-3-1-2-1-Etude de l'espèce *Androctonus amoreuxi*A- Préparation de venin de scorpion *Androctonus amoreuxi* de concentration $C=2\text{mg/ml}$ et $C=0.2\text{mg/ml}$:

1-Mesure de la masse de venin totale sur le balance $m=7.3\text{mg}$.

2- Solubiliser masse de venin dans un 1 ml d'eau physiologique pour l'obtention d'une solution mère de venin de concentration $C=7.3\text{mg/ml}$.

3- La solution mère mis dans un bain marie à 37C° pendant une heure.

4 -A partir de solution mère on fait séries de dilution :

a) Préparation d'une solution de $C=2\text{mg/ml}$: on prendre un volume $V=273\ \mu\text{l}$ de solution mère de venin et on complète jusqu'à 1ml pour obtient une solution de $C=2\text{mg/ml}$.

b) Préparation d'une solution de $C=0.2\text{mg/ml}$: on prendre $100\ \mu\text{l}$ à partir de solution de venin $C=2\text{mg/ml}$ et on complète jusqu'à 1ml pour obtient une solution de $C=0.2\text{mg/ml}$.

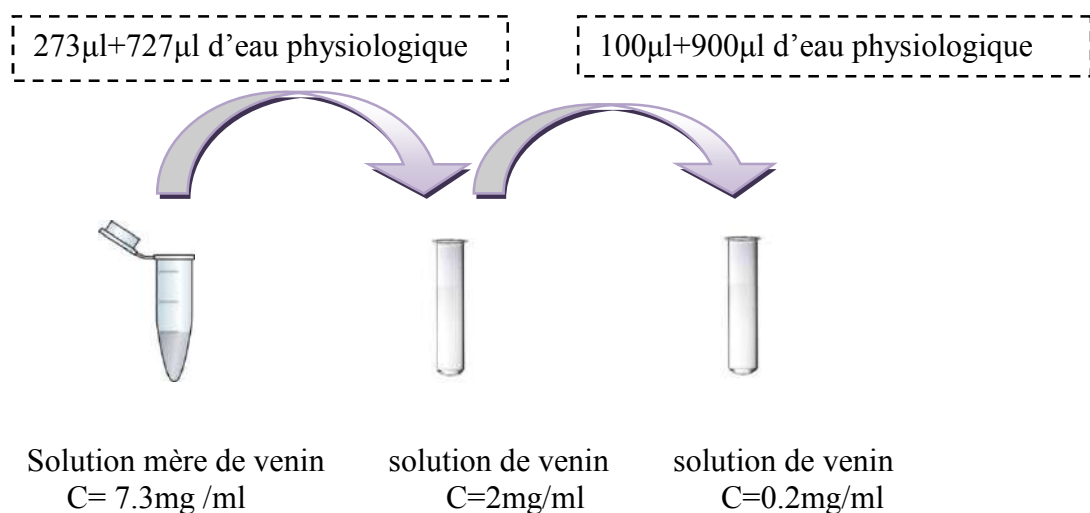


Figure 21: Préparation du venin de scorpion *Androctonus amoreuxi* à la concentration de ($C=2\text{mg/ml}$ et $C=0.2\text{mg/ml}$).

B - Préparation des dilutions de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* :

On prépare deux dilutions de l'hémolymphe scorpionique à partir de l'hémolymphe total de scorpion adulte *Androctonus amoreuxi*, où l'hémolymphe utilisé a été citrate et centrifugé préalablement. L'hémolymphe utilisée a été conservée à 4°C+.

✚ La 1^{ère} dilution : Dilution 1/10

On prend 50µl de l'hémolymphe total, et on ajoute 450µl d'eau physiologique, à la fin on obtient un volume de 500µl de l'hémolymphe diluée à 1/10.

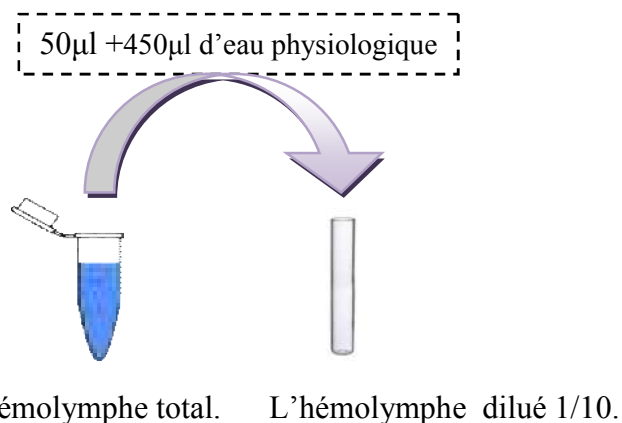


Figure 22 : Préparation de dilution de l'hémolymphe (dilution 1/10).

✚ La 2^{ème} dilution : Dilution 1/100

On prend un volume de 100 µl à partir de la dilution 1/10 et complète par l'eau physiologique jusqu'à 1ml.

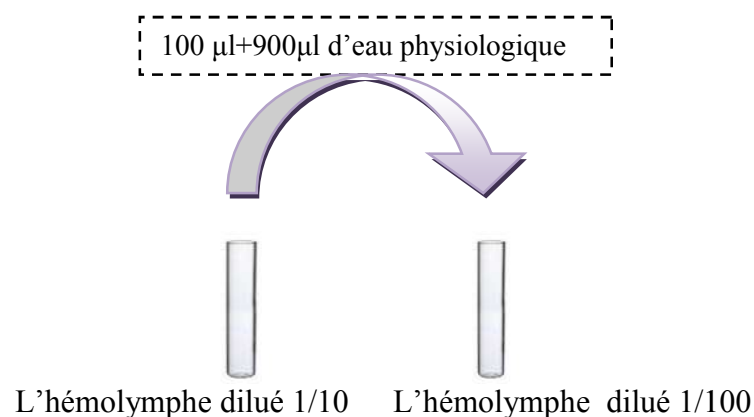


Figure 23 : Préparation de dilution de l'hémolymphe (dilution 1/100).

C- Détermination de la dose létale de venin de scorpion *Androctonus amoreuxi* :

La littérature nous enseigne que la dose létale 50(DL 50) est 0.75mg/kg par voie sous cutané et pour une souris de 20 g est 0.015mg.

Pour déterminer la dose létale de venin de scorpion *Androctonus amoreuxi* on injecte la souris S_{T1} par voie sous cutanée par une dose sub létale de DL50 égale à 0.020 mg ; les heures, dates et les doses d'injection sont notés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Dates et doses d'injection de venin.

La souris	La voie d'injection	La date d'injection	La dose de venin injectée/ jour			La somme des doses/jour
			La concentration	Le volume	Nombre d'injection / jour	
S _{T1}	SC	25/02/2020	C=0.2mg /ml.	0.1ml (C=0.02mg)	01	0.2mg/ 0.1ml de venin
		26/02/2020	-1 ^{ère} Inj : C=0.2mg /ml	0.2ml (C=0.04mg)	03	0.24mg/ 0.3 ml de venin.
			-2 ^{ème} Inj : C=0.2mg /ml			
			-3 ^{ème} Inj : C=2mg /ml.	0.1ml (C=0.2mg)		
	27/02/2020	-venin de C=2mg /ml.	0.2ml (C=0.4mg).	01	0.4mg/ 0.2ml de venin.	
S ₅	SC	01/03/2020	-venin de C=2mg /ml.	0.2ml (C=0.4mg).	01	0.4mg/ 0.2ml de venin.
		02/03/2020	-venin de C=2mg /ml.	0.3ml (C=0.6mg).	01	0.6mg/ 0.3ml de venin.

Inj : injection.

D- Méthode d'injection de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi*

➤ Avant l'injection de l'animal, il doit être :

-La seringue doit être remplie avec le volume approprié et les bulles d'air présentes doivent être éliminées.

- L'animal doit être pesé afin qu'une dose adéquate puisse être calculée avant l'injection. Ainsi, chaque animal reçoit une dose identique (mg/kg) afin de faciliter l'analyse des résultats et de s'assurer de ne pas administrer une surdose ou une sous-dose.

L'injection de l'hémolymphe a été faite par le voie sous cutanée en respectant les étapes suivantes :

- 1) Pincer et soulever la peau du site visé pour former une tente avec la peau.
- 2) Insérer une aiguille biseau vers le haut, à la base de la tente, parallèlement à l'animal.
- 3) Soutirer et vérifier l'absence de sang (si du sang apparaît, retirer l'aiguille et recommencer).
- 4) Injecter le volume requis.
- 5) Relâcher le piston puis retirer l'aiguille.
- 6) Une rotation des sites peut être faite lorsque plusieurs injections sous-cutanées doivent être régulièrement effectuées.

E- L'étude de toxicité de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* :

- a) On injecte par voie sous cutané deux souris blanches ; mâles, de poids 20 g l'un par 0.1ml d'eau physiologique (comme témoin) et l'autre par 0.1ml de l'hémolymphe total de scorpion *Androctonus amoreuxi* (Tableau 9).



Photo 25 : L'injection de souris par l'hémolymphe par voie sous cutané.

Après l'injection, chaque souris est mise dans une boîte séparée et étiquetée pour noter les symptômes manifestés par les deux souris.

Tableau09 : Les doses injectées chez les souris (S_{T1} , S_2).

La souris	La souris Témoin 1(S_{T1})	La souris 2(S_2)
La dose injectée par voie sous cutané	Injection sous cutanée de 0.1 ml d'eau physiologique.	Injection sous cutanée de 0.1ml de l'hémolymphe total.

b) On injecte la souris S_{T2} par 0.06ml de l'hémolymphe totale de scorpion *Androctonus amoreuxi* » (50 μ l), mélangé avec l'eau physiologique (50 μ l) (v/v) ; le tableau suivant montre l'expérience qui faisons.

Tableau 10: Les doses injectées chez la souris S_{T2} .

La date et l'heure d'injection	La souris	La dose d'injection
17 /03 /2020	S_{T2}	0.06ml de l'hémolymphe total

F -L'étude de pouvoir anti-venin de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* :

Les souris sont divisées en 03 lots, et injectées par voie sous cutanée chacun par :

***Le 1^{ère} Lot :** la souris témoin injectée par l'eau physiologique.

***Le 2^{ème} Lot :** les souris injectées par l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* diluée (1/10).

***Le 3^{ème} Lot :** les souris injectée par l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* diluée (1/100).

Après l'injection chaque souris est mise dans boîte séparée et étiquetée des autres souris.

L'injection de venin se fait après huit jours de l'injection d'hémolymphe, une durée nécessaire pour une éventuelle immunisation chez les vertébrés. Le tableau 11 résume les dates et les doses d'injection de l'hémolymphe et de venin.

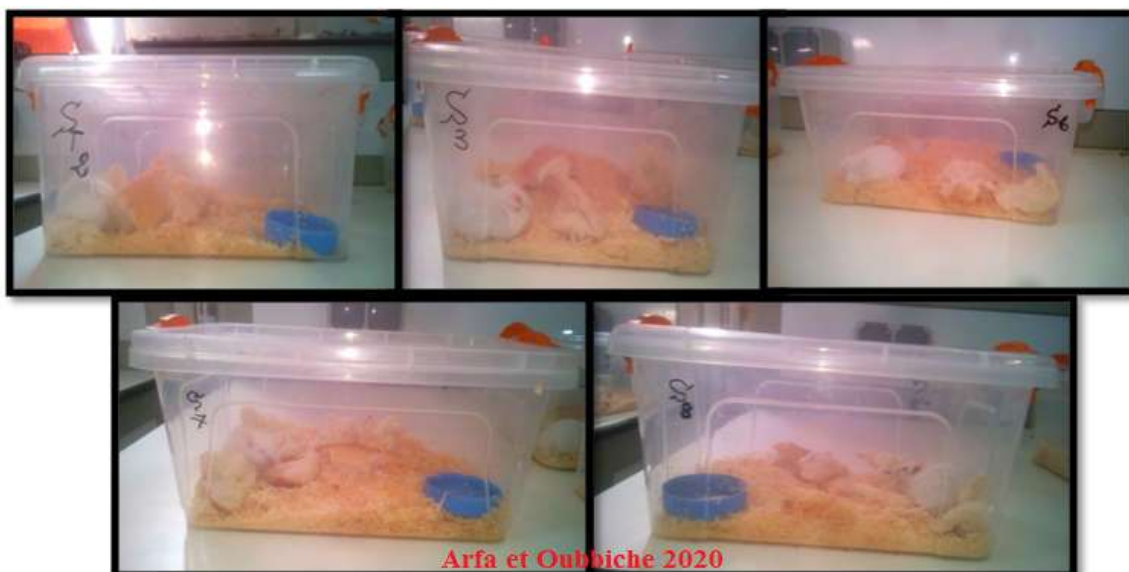


Photo 26 : Les souris injectées par l'hémolymphe et le venin de scorpion *Androctonus amoreuxi* séparées dans des cages étiquetées.

Tableau 11 : Les dates et les doses d'injection de l'hémolymphe et de venin de scorpion *Androctonus amoreuxi*.

Les lots	La souris	La dose injectée de l'hémolymphe par une souris		La dose injectée de venin par une souris	
		La date d'injection	Le volume Injecté	La date d'injection	Le volume Injecté
Souris Témoin	S _{T2}	01/03/2020	0.1 ml d'eau physiologique	08/03/2020	0.2ml de venin (C=2mg/ml).
Souris H ₁ (dilution 1/10)	S ₄	23/02/2020	0.1 ml de l'hémolymphe diluée (1/10).	01/03/2020	0.2ml de venin (C=2mg/ml).
	S ₇	02/03/2020	0.1 ml de l'hémolymphe diluée (1/10).	08/03/2020	0.3ml de venin (C=2mg/ml).
	S ₈	02/03/2020	0.1 ml de l'hémolymphe diluée (1/10).	08/03/2020	0.2ml de venin (C=2mg/ml).
Souris H ₂ (dilution 1/100)	S ₃	23/02/2020	0.1 ml de l'hémolymphe diluée (1/100).	01/03/2020	0.2ml de venin (C=2mg/ml).
	S ₆	01/03/2020	0.1 ml de l'hémolymphe diluée (1/100).	08/03/2020	0.3ml de venin (C=2mg/ml).

*H : hémolymphe.

*S : souris.

❖ La récapitulation des différentes injections de souris est schématisée comme suit:

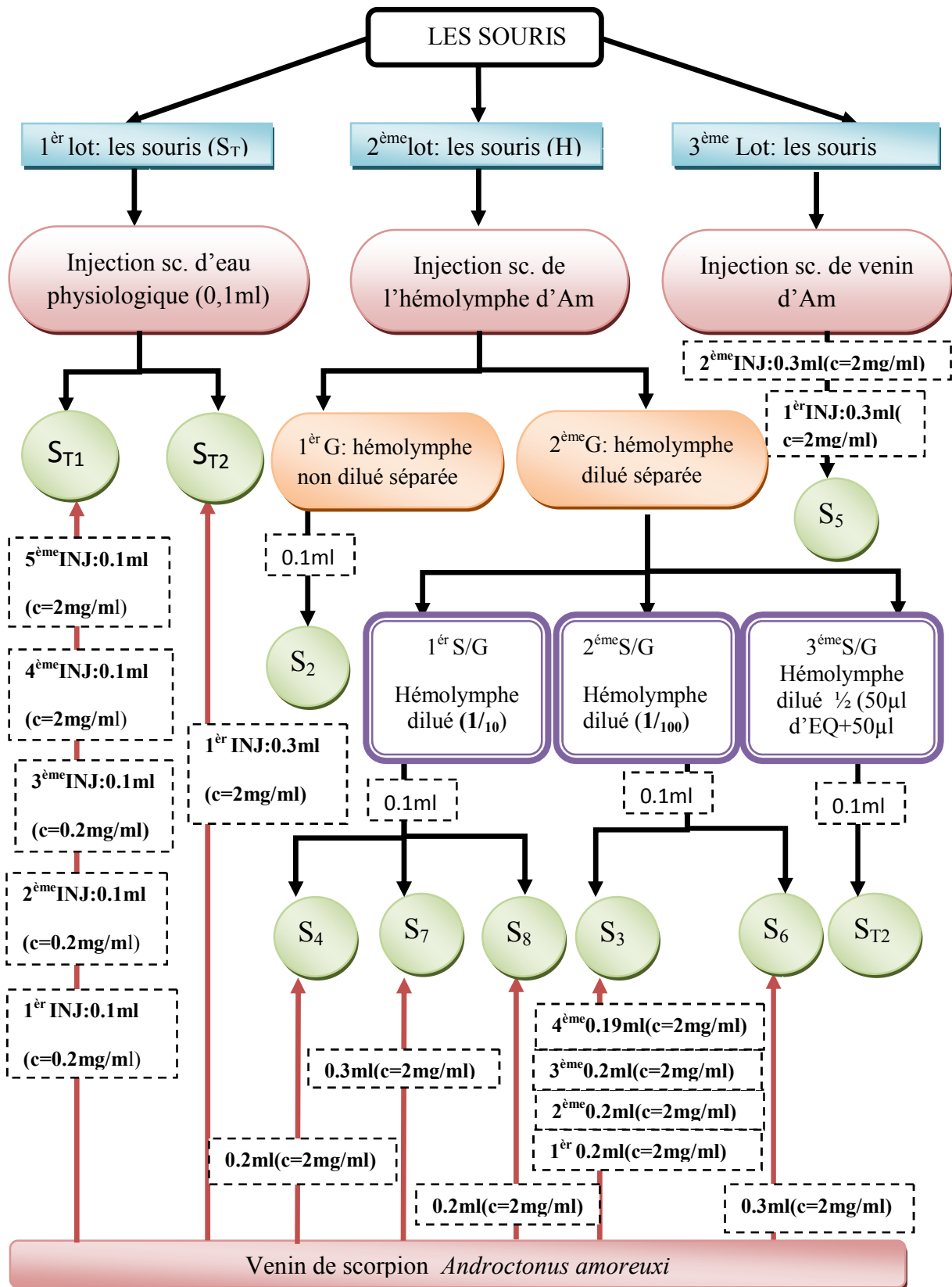


Figure 24 : Récapitulation des souris injectées par l'hémolymphe et le venin de l'*Androctonus amoreuxi*.

I-3-1-2-2- Etude de l'espèce *Androctonus australis*

En se basant sur la littérature, la dose létale (DL 50) de venin d'Aa est 0.32mg/kg par voie sous cutané ; pour un souris mais pour une souris de 20 g est 0.0064mg.

A- Préparation du venin de scorpion *Androctonus australis* de

C= 9.49 mg/ml et C=0.019mg/ml

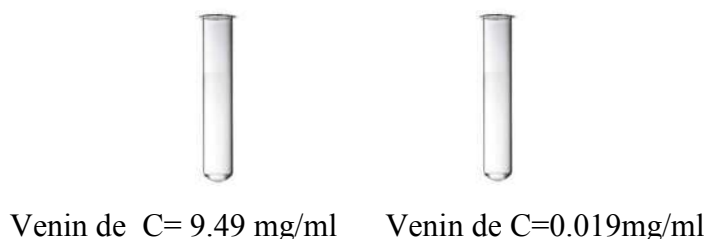


Figure 25 : Préparation du venin de scorpion *Androctonus australis* à C= 9.49 mg/ml et C=0.019mg/ml.

B-Détermination de la dose mortelle de venin de scorpion *Androctonus australis* :

On injecte de façon successive la souris S_{T4} par voie sous cutanée par une dose de venin de deux concentrations C= 9.49 mg/ml et C=0.019mg/ml où la deuxième concentration est préparé à partir de première ; les doses d'injection sont notés dans le tableau suivant.

Tableau 12 : Les doses de venin de scorpion *Androctonus australis* injectées chez S_{T4}.

la souris	S _{T4}
La date d'injection	14/03/2020
La dose d'injection	1 ^{er} Inj : 0.0019 mg /0.1ml (valeur très faible et négligée)
	2 ^{eme} Inj : 0.949 mg /0.1 ml
	3 ^{eme} Inj : 0.949 mg /0.1ml
	4 ^{eme} Inj : 0.949 mg /0.1ml
	5 ^{eme} Inj : 0.949 mg /0.1ml
	6 ^{eme} Inj : 0.949 mg /0.1ml
	7 ^{eme} Inj : 0.949 mg /0.1ml

* Inj : injection

*La dose létale déterminée par collecte de doses répétées, qui provoqué la mort de souris S_{T4}.

C- Etude de toxicité de l'hémolymphe du scorpion *Androctonus australis*

C-1- L'hémolymphe total

On injecte par voie sous cutané trois souris blanches ; mâles ; de type BALBO/C, de poids 20 g par l'hémolymphe total, la 1^{er} souris est injectée par 0.1ml de l'hémolymphe totale de scorpion adulte *Androctonus australis* tandis que le deuxième souris injectés par 0.12ml de l'hémolymphe totale de scorpion adulte *Androctonus australis*. Ensuite les deux souris mis dans des boites séparées et étiquetés et les symptômes observés sont notés pour les deux souris. Le tableau 13 résume notre expérience.

Tableau 13: Les doses de l'hémolymphe total d'*Androctonus australis* injectées chez les souris (S_{T3}, S₉, S₁₀).

La souris	La souris S _{T3}	La souris S ₉	La souris S ₁₀
La dose injectée	0.1ml d'eau physiologique	0.1ml de l'hémolymphe total	0.12ml de l'hémolymphe total

C-2- Le sérum de l'hémolymphe

On injecte par voie sous cutané, les deux souris précédents S₉ et S₁₀ par le sérum de l'hémolymphe de scorpion adulte *Androctonus australis*. La souris S₉ est injectée par 0.1ml de sérum de l'hémolymphe de scorpion adulte mâle (♂) *Androctonus australis* tandis que la souris S₁₀ injectée par 0.1ml de plasma de l'hémolymphe de scorpion adulte femelle (♀) *Androctonus australis*. Ensuite les deux souris sont mises dans des cages séparées et étiquetées et les symptômes observés sont notés. Le tableau 14 résume cette expérience.

Tableau 14 : Les doses de plasma de l'hémolymphe injectées chez les souris (S₉, S₁₀).

La souris	La souris S ₉	La souris S ₁₀
La dose injectée	0.1ml de sérum de l'hémolymphe (♂)	0.1ml de sérum de l'hémolymphe (♀)

D- Etude de pouvoir anti-venin de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus australis*

Après l'injection de l'hémolymphe totale d'Aa aux souris (S₉, S₁₀), suivi par une injection d'une dose mortelle (v=0.6ml) de leur venin de C = 9.49 mg/ml après 7 jours d'injection de l'hémolymphe. Le tableau suivant résume l'expérience.

Tableau 15 : Les doses injectées de l'hémolymphe et du venin de scorpion *Androctonus australis* les souris (S_{T3}, S₉, S₁₀).

La souris	La voie d'injection	La dose de l'hémolymphe / d'eau physiologique injectée	La dose de venin injectée après 7jours
S _{T3}	SC	0.1ml d'eau physiologique	0.6ml de venin (C = 9.49 mg/ml)
S ₉	SC	0.1ml de l'hémolymphe totale	0.6ml de venin (C = 9.49 mg/ml)
S ₁₀	SC	0.12ml de l'hémolymphe totale	0.6ml de venin (C = 9.49 mg/ml)

❖ La récapitulation des différentes injections de souris est schématisée comme suit:

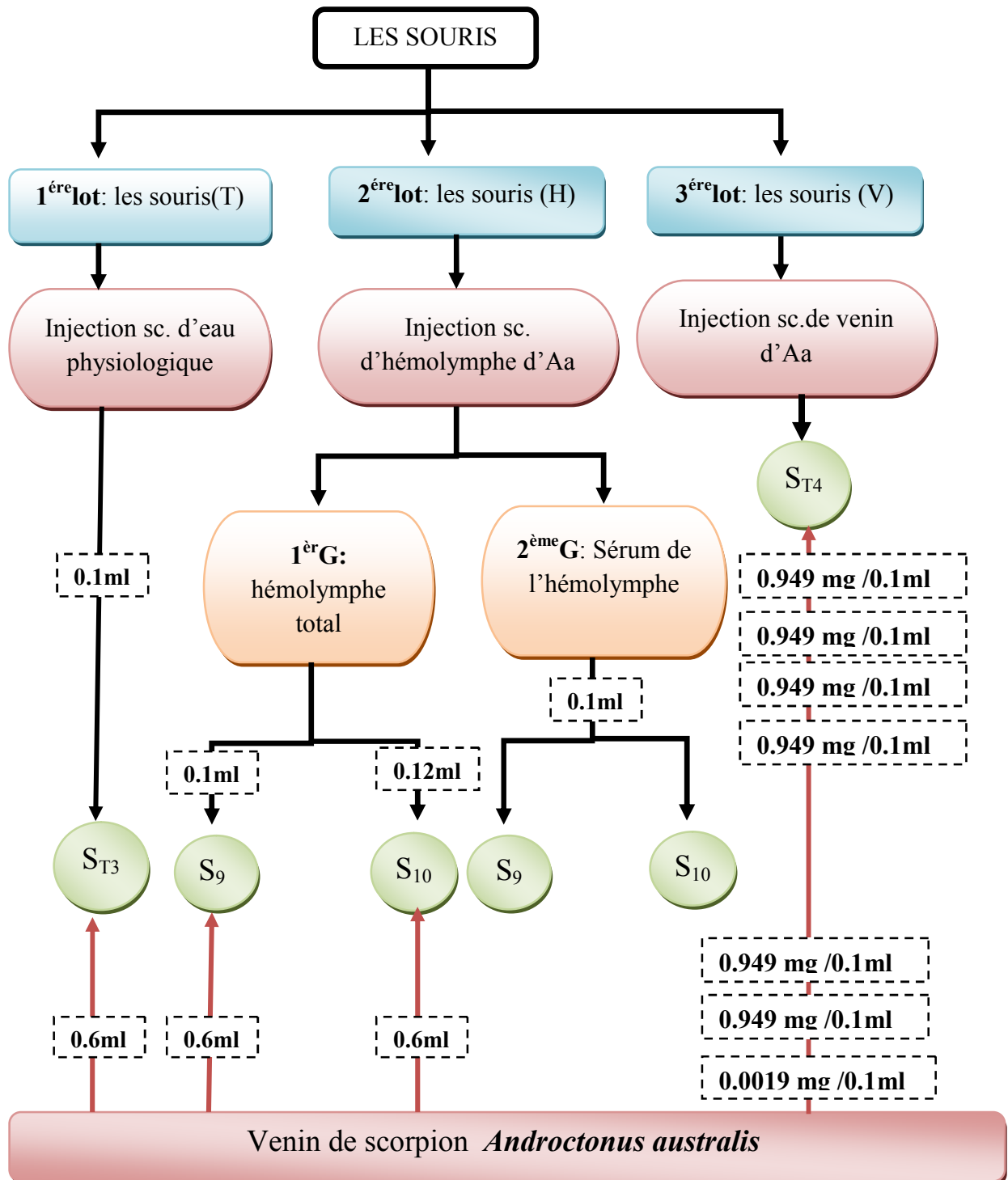







Figure 26: Récapitulation des souris injectées par l'hémolymphe et le venin de l'*Androctonus australis*.


*T : Témoin, V : venin, G : Groupe, SC : sous cutané.

I-4-Test d'hémagglutination du sérum de l'hémolymphe scorpionique

I-4-1-Matériels

Tableau 16 : Matériels nécessaires pour le test d'hémagglutination.

Les types	Matériels	Objectifs
Petits matériels	Tube Eppendorf 	C'est le matériel qui fait conserver l'hémolymphe obtenu de l'extraction. Il peut conserver une quantité de 2 ml de solution.
	Tube à essai 	C'est un récipient utilisé au laboratoire comme conteneurs pour stocker des solutions et les produits.
	Pincettes 	Elles sont très importantes pour bien fixer le scorpion lors de l'extraction de l'hémolymphe
	Ciseaux 	Aide couper le telson et les pattes mâchoires de scorpion pour extraire l'hémolymphe scorpionique.
	Micropipette 	Il y a plusieurs types de micropipette (50µl, De 100µl-1000µl, standard 100µl, standard 200µl...etc.). C'est un instrument important utilisé pour mesurer précisément des petits volumes de liquide.

	<p>Seringue d'insuline</p>  <p>Arfa et Oubbiche 2020</p>	<p>Instrument médical employée pour administrer le liquide par injection à l'intérieur de scorpion. Il peut rempli une quantité de 1ml de solution.</p>
	<p>Plaque des puits en forme U</p>  <p>Arfa et Oubbiche 2020</p>	<p>Ce sont des plaques de 96puits. Elle est fabriquée généralement en plastique à cause de sa capacité de fixer les biomolécules.</p>
	<p>Pipettes graduées</p> 	<p>Outil possède plusieurs graduation (1à 25ml), Il utilisé pour transporter un volume de liquide. Et Aide à la séparation du surnageant au culot après centrifugation.</p>
<p>Appareillages</p>	<p>Centrifugeuse réfrigérée</p>  <p>Arfa et Oubbiche 2020</p>	<p>Assurer une séparation des composées d'un mélange en fonction de leur différence de la vitesse de sédimentation (tel que le sang).</p>
<p>Matérielle biologique</p>	<p>Matériel animal</p> 	<p>L'espèce de scorpion : l'<i>Androctonus australis</i> (Aa).</p>
	<p>Le sang humain</p>  <p>Arfa et Oubbiche 2020</p>	<p>Tube contenant du sang avec un anticoagulant (EDTA ou citrate) prélevé d'un donneur sain. utilisé comme un Source des érythrocytes (RBC) à un groupe sanguin bien déterminé.</p>

I-4-2-Les produits

Les produits utilisés dans le test d'héماغglutination sont les suivants:

- Eau physiologie NaCl 0.9%.

I-4-3-Méthodes

- ❖ Avant la réalisation du test d'héماغglutination par l'hémolymphe scorpionique on a passé par :

I-4-3-1- Préparation de l' hémolymphe scorpionique

- Avant l'extraction de l'hémolymphe nous avons préparé les scorpions d'*Androctonus australis* (Aa) et On a suivi les étapes suivantes:

I-4-3-1-1 - Immunisation du scorpion par la suspension de RBC humaine

Renfermant deux étapes, citées ci-dessous :

- **A / Préparation de suspension de 5 % des érythrocytes humains (RBC) pour l'immunisation de scorpion :**

Les érythrocytes humains (les hématies) tests ont été débarrassés de toute trace de sérum ou plasma. Pour cela elles ont été soumises à un lavage puis à une dilution. Puis, elles ont été mises en suspension à 5 % pour l'emploi.

- **Lavage :** Cette étape permet d'obtenir les érythrocytes humains à partir du sang. Avec une micropipette prendre 500 µl du sang et la mettre au fond d'un tube stérile, 2,5 ml d'eau physiologique NaCl (0,9%) a été ajouté. Après agitation, le mélange a été centrifugé à 2500trs /min pendant 10min. Le surnageant formé a été versé et le culot d'hématies obtenu a été de nouveau mis en suspension sous agitation avec de l'eau physiologique. Cette opération a été reprise une fois de suite dans les mêmes conditions.



Photo 27 : La centrifugation du sang humain pour l'obtention des érythrocytes.

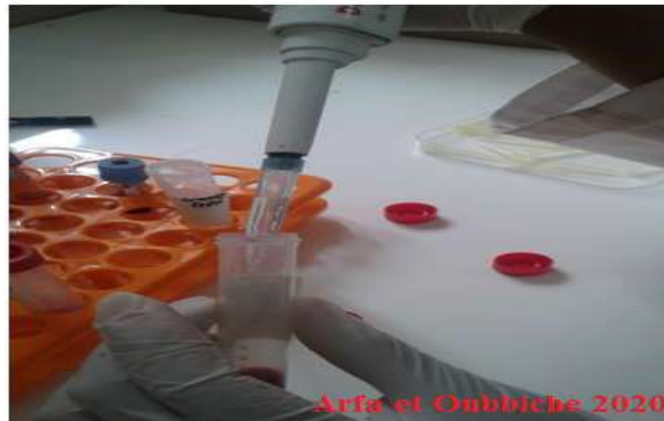


Photo 28: Lavage (2) fois des érythrocytes humain par l'eau physiologie NaCl 0,9%.



Photo 29 : L'érythrocyte humain après lavage 2 fois par l'eau physiologie NaCl 0,9%.

- **Dilution** : Après lavage, on fait une dilution des érythrocytes , on rejette le surnageant à l'aide de pipette graduée délicatement et récupéré le culot , puis avec une micropipette prendre 50µl du sang (le culot) et la mettre au fond d'un nouveau tube essai stérile et complété avec l'eau physiologie jusque à volume de 1ml (ajouté 950 µl l'eau physiologie) pour obtenu un suspension cellulaire de 5% .

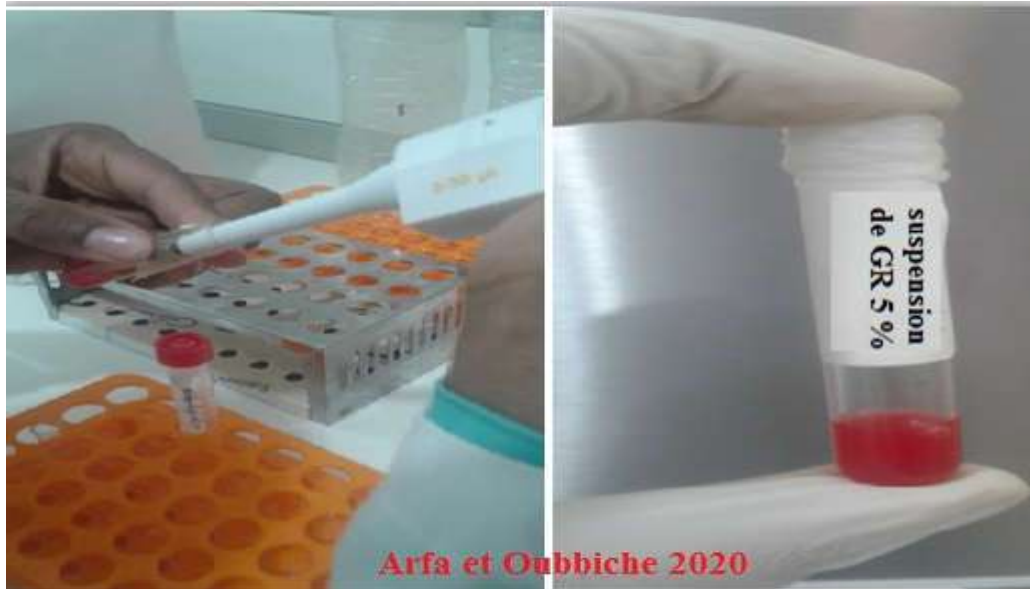


Photo 30 : Préparation de la suspension des érythrocytes humains à 5%.

Cette préparation est schématisée comme suit:

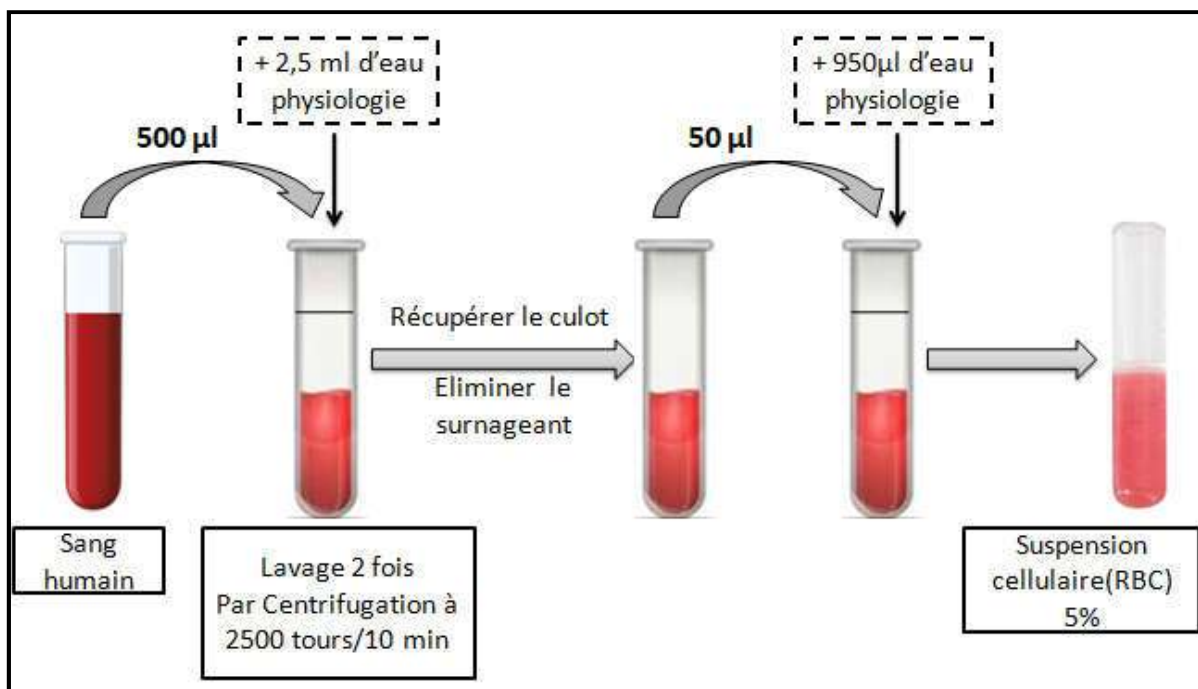


Figure 27 : Préparation de suspension cellulaire des érythrocytes (RBC) 5%.

- **B / Immunisation expérimentales des scorpions**

Après le bien fixation de scorpion avec les pinces ,Nous avons injecté le scorpion par 0,02 ml de suspension d'érythrocyte (RBC) de 5% réalisées en position entre le segment de mésosome et métasome à l'aide d'une seringue inclinée à 15° pour cibler directement le cœur de scorpion.



Photo 31 : Méthode expérimentale d'immunisation de scorpions.

I-4-3-1-2- Extraction de l'hémolymphe scorpionique après immunisation

Nous avons extrait l'hémolymphe des scorpions de la même manière décrite précédemment dans le parti I-2-2-1, après 24 h d'immunisation, puis Centrifugation à 1500 tours / pendant 10 min, et conservation dans des microtubes Eppendorf au réfrigérateur à 4°C pour la réalisation ultérieure du test d'hémagglutination.

Tableau 17 : Dates et heures et le volume correspondant à l'injection des RBC et collecte de l'hémolymphe scorpionique.

Espèce	Date d'injection de RBC	Heur d'injection de RBC	Volume de RBC injecté	Date de sécrétion de l'hémolymphe	Heur de sécrétion de l'hémolymphe
2 scorpions d'Aa	16-03-2020	16 :50 h	0,02 ml de suspension RBC 5%	17-03-2020	17 :50 h

*RBC = Red Blood Cell.



Photo 32 : Extraction de sérum de l'hémolymphe scorpionique.

I-4-3-2- Préparation de suspension d'érythrocyte humain (RBC) 1% :

Nous avons suivi la méthode suivant :

- **Lavage** : Nous avons suivi la même méthode décrite précédemment de lavage d'érythrocyte humain (RBC) 5%.
- **Dilution** : Après lavage on fait une dilution d'érythrocyte humain (RBC) , on rejette le surnageant à l'aide de pipette graduée délicatement et récupéré le culot , puis avec une micropipette prendre 10 μ l du sang (le culot) et la mettre au fond d'un nouveau tube essai stérile et compléter avec l'eau physiologie jusque à volume de 1ml (ajouté 990 μ l l'eau physiologie) pour obtenu un suspension d'érythrocyte humain (RBC) de 1% .

Cette préparation est schématisée comme suit:

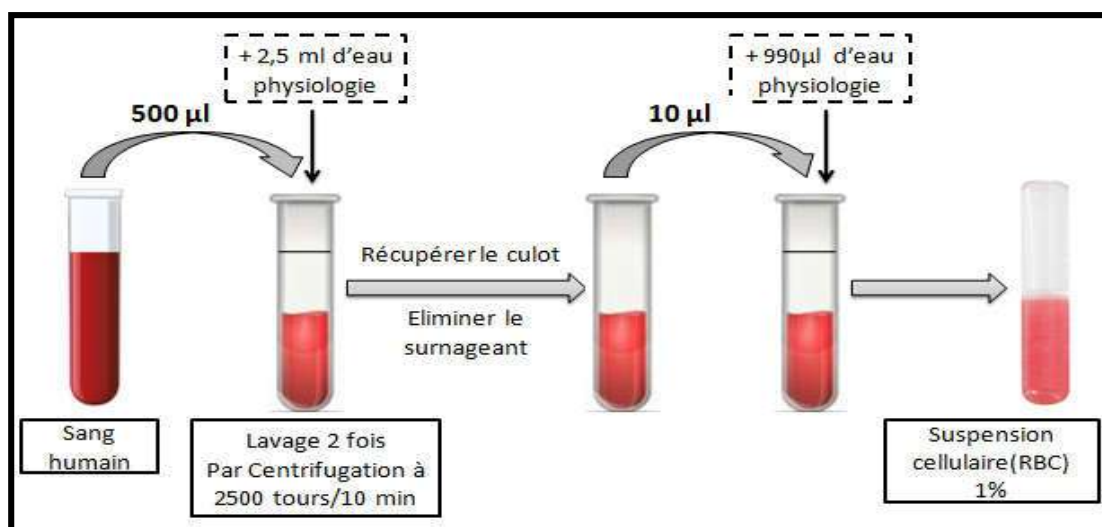


Figure 28: Préparation de suspension cellulaire d'érythrocyte (RBC) 1%.

I-4-3-3 - Réalisation du test d'hémagglutination de l'hémolymphe scorpionique

❖ Protocole de travail :

- Ces tests sont réalisés en microplaques 96 puits, et on a suivi la méthode suivant :
- ✓ Après la préparation de l'hémolymphe scorpionique et la suspension d'érythrocyte humain 1%, on a suivi les étapes suivantes :
- A l'aide de microplaque de titrage à fond en U, on fait une série de dilution de 100 μ l de sérum scorpionique dans 100 μ l d'eau physiologie. On fait 1/2 en 1/2. C'est-à-dire on place avec une micropipette 100 μ l sérum scorpionique dans le 1^{ère} puits des rangées (A) et ajoutez 100 μ l d'eau physiologie au premier puits, mélangez et transférez 100 μ l au puits suivant de la rangé (A) et ainsi de suite jusqu'à ce qu'on atteigne la 10^{ème} puits de rangé C. Donc au fur et à mesure la concentration de sérum va être divisée à moitié.
- Mettez 100 μ l d'eau physiologie dans les 2 dernières puits au toutes les rangés (11^{ème} et 12^{ème} puits) considérées comme témoin négative.
- Ajouter un volume égal (100 μ l) de suspension cellulaire d'érythrocyte humain (RBC) 1% pour tous les puits.
- Dilution de sérum cellulaire a été mélangée immédiatement par des pensions horizontales (agitation plan).
- Puis incubation à température ambiante (22-25 °C) pendant 60 minutes.

- La méthode de travail suivi dans le test d'hémagglutination est expliquée dans la figure au-dessous.

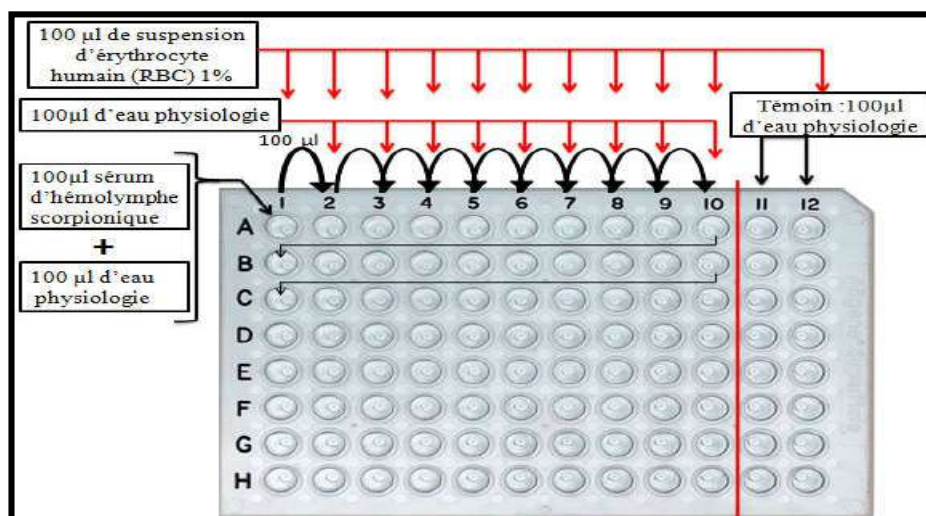


Figure 29 : Méthode de travail dans test d'hémagglutination.

I-5 -Etude des cellules immunes de l'hémolymphe scorpionique

I-5-1- Matériel

Tableau 18 : Matériels et les produits spécifiques a été utilisé pour étudier les cellules immunes de l'hémolymphe scorpionique.

Appareillages et petits matériels	Produits chimiques, réactifs et matériel biologique
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Centrifugeuse réfrigérée. ▪ Microscope optique. ▪ Ultrason. ▪ Micropipettes. ▪ Tubes d'Eppendorf. ▪ Pipete pasteur. ▪ Lame et lamelle en verre. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ L'hémolymphe scorpionique de deux espèces <i>Androctonus amoreuxi</i> (Am) et <i>Androctonus australis</i> (Aa). ▪ Eau physiologie NaCl (0.9%). ▪ Anticoagulant « Na₂-citrate ». ▪ Méthanol. ▪ Coloration de Giemsa.

I-5-2 -Méthodes

Après l'extraction de l'hémolymphe de la même manière décrite précédemment dans le parti I-2-2-1 pour la réalisation de l'étude des cellules immunes, nous avons suivi les étapes selon le protocole suivant :

- Ajouter à l'aide d'une micropipette ($v=30\mu\text{l}$), l'anticoagulant « Na₂-citrate » à l'hémolymphe dans tube d'Eppendorf stérile.
- Centrifugée la solution obtenue à 150 rpm pendant 10 min.
- Séparée le surnageant et congelé immédiatement pour utilisation ultérieure, le culot cellulaire est récupéré sous forme d'agrégats de colore blanche.



Photo 33: Le culot formé après centrifugation de l'hémolymphe total.

➤ notre étude est effectuée par 2 façons :

I-5-2 -1-Examen frais (Sans coloration)

Nous avons étudié le culot cellulaire obtenu sans ajout aucune colorant cytologique, suivi la méthode suivant :

- Ajoutée un 0,5 ml d'eau physiologie au culot cellulaire obtenu après la centrifugation de l'hémolymphe.
- Solubilisation de la solution obtenue par tapotement sur le paillasse pour faciliter la dispersion du culot.



Photo 34: Solubilisation par tapotement sur le paillasse.

- Prend quelque gouttes à l'aide d'une pipette pasteur, et mettez sur lame de verre propres couverte par une lamelle, ensuite observée à l'aide d'un microscope optique.



Photo 35 : Dépôt des gouttes de solution solubilisée sur une lame de verre pour examination microscopique.

I-5-2-2-Avec coloration

On effectuée une coloration cytologique spécifique du culot obtenu appelé (**Coloration de Giemsa**) qui a été réalisée au sein de laboratoire de l'hôpital « MOHAMMED BOUDIAF-OUARGLA », avant la réalisation de cette coloration nous avons effectué les étapes suivant :

- Ajoutée 200 ml d'eau physiologie au culot cellulaire obtenu.
 - Solubilisée la solution avec tapotement pendant 30 min.
 - Puis mette le culot cellulaire sous ultrason pendant 10 min.
 - Ensuit appliquée la coloration de « **Giemsa** » qui utilisé la méthode rapide selon le protocole suivant :
- ✓ Déposer une goutte très petite de la solution qui contient le culot cellulaire à 1 cm de l'extrémité de lame en verre propres à l'aide un pipete pasteur.
 - ✓ Formé un frottis mince ; à l'aide d'une 2^{ème} lame propre, faire glisser la seconde lame à étalement inclinée de 45° vers la goutte de solution cellulaire jusqu'à la toucher, laisser s'étaler la goutte de solution cellulaire le long de la lame ,puis glisser la lame en tirant ou en poussant .
 - ✓ Toute la solution cellulaire doit être étalée avant d'atteindre l'autre extrémité de la lame. Le mouvement doit être rapide, régulier, sans trop appuyer, en maintenant la même inclinaison, et lissé sécher pendant quelque minute.
 - ✓ Marqué le frottis par le crayon(le nom, la date, le numéro).

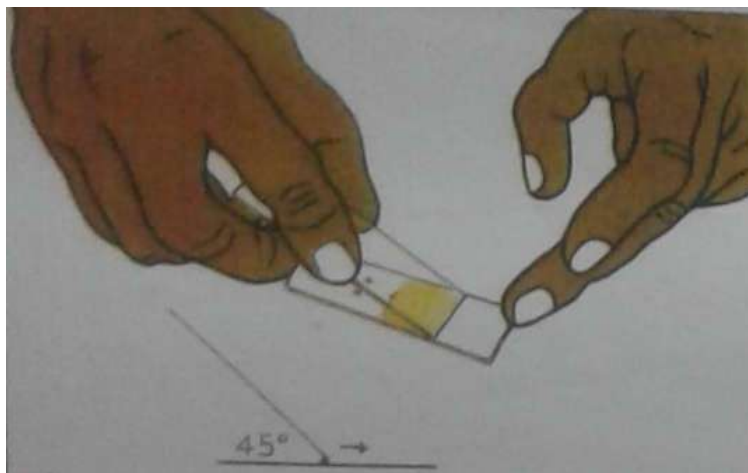


Photo 36: L'étalement de frottis sur la lame en angle de 45°.

- ✓ Fixez le frottis en déposant avec précaution du méthanol sur la lame en verre à l'aide d'une pipette de Pasteur et lissé pendant 30 seconds.
- ✓ Laissez les lames sécher à l'air sur le râtelier ou l'égouttoir.
- ✓ Verser doucement le colorant de Giemsa 10 % sur la lame, on peut le faire à l'aide d'une pipette, jusqu'à ce que chaque lame soit recouverte, et la face portant le frottis vers le bas. Laisser pendant 15 min pour que les étalements restent en contact avec le colorant.

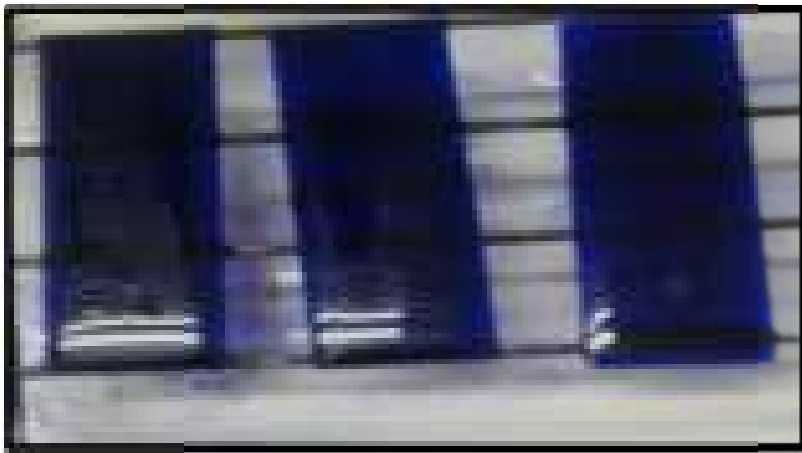


Photo 37 : Les lames en verre en coloration de Giemsa 10 %.

- ✓ À la fin du temps de coloration, éliminer délicatement le colorant de la lame en ajoutant de l'eau propre (Eau tamponnée de PH=7,2) goutte à goutte, jusqu'à ce qu'il ne reste plus de colorant.
- ✓ Une fois le colorant éliminé, déposer la lame dans le râtelier, la face portant le frottis tournée vers le bas, pour la laisser égoutter et sécher, en s'assurant que le frottis ne touche pas le râtelier.
- ✓ Pour accélérer les séchages mettez la lame à l'étuve à 30°C.

Puis le frottis est examiné au microscope sous huile d'immersion en début par le (Gr x 10), (Grx40) enfin (Grx100).

Chapitre II

RESULTATS

II-1-Résultats de l'extraction de l'hémolymphe scorpionique:

➤ Après l'extraction de l'hémolymphe on obtenir :



Photo 38 : Des telsons sectionnés d'un scorpion.



Photo 39 : Hémolymphe scorpionique extraire à partir d'un scorpion.

Remarque :

La quantité de l' hémolymphe obtenu après l'extraction, était faible car les scorpions étaient sans nourriture.



Photo 40 : Le culot après centrifugation de l'hémolymphe scorpionique.

(a): Le culot après centrifugation de l'hémolymphe, **(b):** Le culot après l'ajout d'eau physiologique, **(c):** Le culot après solubilisation par tapotement.

II-2 -Résultats de l'étude du pouvoir neutralisant de l'hémolymphe scorpionique à l'égard de venin scorpionique sur les souris

II-2 -1- Etude de l'espèce *Androctonus amoreuxi*

II-2 -1-1- Détermination de la dose létale de venin de scorpion *Androctonus amoreuxi*

L'injection de 0.1ml du venin à une concentration de $C=0.2\text{mg/ml}$ par voie sous cutanée dans le souris S_{T1} ne montre aucun effet et le souris survit. Le deuxième jour l'injection de même dose (0.1ml de venin à une concentration de $C=0.2\text{mg/ml}$) mais espacées dans le temps 02 fois suivi par 3^{ème} injection de venin à une concentration différent de $C=2\text{mg/ml}$ ne montre aussi aucun effet et le souris survit. Tandis que au troisième jour l'injection de 0.2ml de venin du $C=2\text{mg/ml}$ a causé la mort de la souris après un temps de 45 min:17s.

Les symptômes manifestés après l'injection de chaque dose du venin pour chaque souris sont communs entre les deux souris et similaires à l'intoxication par l'hémolymphe :

Très vive démangeaisons au voisinage du point d'injection ; reflexe à la pression par les doigts ; immobilisation en un seul endroit dans la cage (ne bouge pas) ; pas de tentatives d'échappement, raideur des membres , activité augmentée, difficultés de mouvement ; sécrétion lacrymale de couleur blanchâtre dans un seul œil et parfois les deux, le calme, spasmes musculaires de corps ; tourne auteur de lui selon mouvement rotatoire , perte de l'équilibre ; la paralysie de partie postérieure de corps (**Photo 40**), altération des mouvements respiratoires(tachypnée ; difficulté de respirer ; augmentation de rythme cardiaque). Ces symptômes ne sont pas atténués en comparaison à celle de l'intoxication de l'hémolymphe et peuvent se terminer par la mort.



Photo 41 : La paralysie des membres postérieurs (pattes arrières).

Pour la souris S_5 , l'injection de 0.2ml ($C=2\text{mg/ml}$) par voie sous cutanée ne montre aucun effet et le souris survie tandis que au deuxième jour l'injection de 0.3ml($C=2\text{mg/ml}$) a causé la mort de la souris après un temps de 57min :38s (**Photo 41**). Les doses injectées de venin et les durés de survie pour chaque souris sont montrés dans le tableau 19.



Photo 42 : La souris 5(S_5) morte après l'injection de 0.3ml($C=2\text{mg}$) du venin.

Tableau 19 : Les doses injectées de venin et les temps de survie pour chaque souris (S_{T1} , S_5).

La souris	La voie d'injection	La dose injectée	Survie /mortalité	Temps de survie
S_{T1}	SC	0.1ml ($C=0.2\text{mg/ml}$)	Survie	
		0.3 ml séparés 2 injection (0.1ml) ($C=0.2\text{mg}$) et une injection ($C=2\text{mg/ml}$)	Survie	
		0.2ml ($C=2\text{mg/ml}$)	Mort	Après 45 min : 17s.
S_5	SC	0.2ml($C=2\text{mg/ml}$)	Survie	
		0.3ml($C=2\text{mg/ml}$)	Mort	après 57 min :38 s

II-2-1-2- L'étude de toxicité de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi*

a) La souris témoin1(S_{T1}) montre une attitude normale avec déplacement aussi normale, après l'injection de 0.1 ml d'eau physiologique par voie sous cutanée ; tandis que la souris 2, après l'injection de 0.1 ml de l'hémolymphe total, montre des symptômes d'intoxication analogues avec l'intoxication par le venin ; ils sont cependant en comparaison retardés dans leur apparition, atténués dans leur manifestations (BALOZET, 1956).

Après l'injection de l'hémolymphe les souris paraissent normales pendant dix à quinze minutes, puis apparaisse une très vive démangeaison au voisinage du point d'injection accompagnée d'une activité augmentée, d'une exagération des réflexes (le test de la pression des doigts sur le dos de la souris déclenche un saut, comme si un ressort était libéré), puis le calme revient un moment ;troublé de nouveau après cinq à dix minutes par une nouvelle périodes d'agitation (BALOZET, 1956).

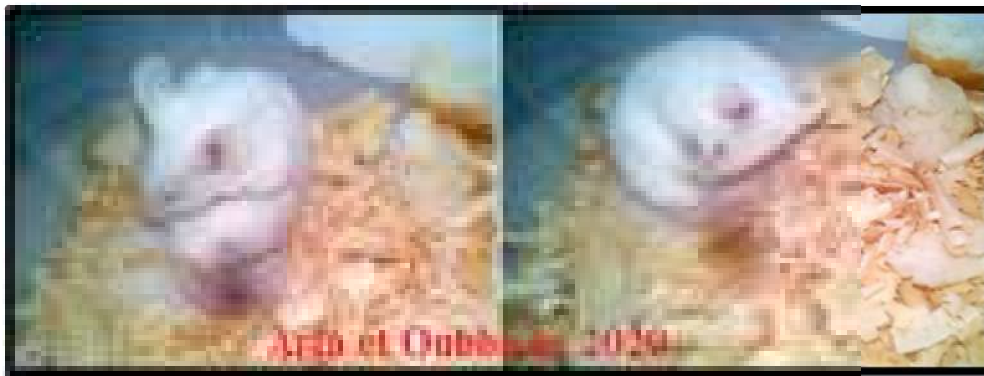


Photo 43 : Très vive démangeaison au voisinage du point d'injection.

Il a été noté aussi une hypersécrétion légère et inconstante et chez les gravement envenimés ; une altération des mouvements respiratoires qui se montrent moins nombreux mais plus amples et paraissent effectués avec peine, ils donnent l'impression d'une paralysie diaphragmatique compensée avec difficulté par les mouvements des côtes. On observe aussi des périodes de tétanisation : les souris gardent leur attitude ; membres qui sont raidis ; les yeux sont révulsés et les mâchoires contractées, la mort survient au cours d'une période de tétanisation (BALOZET, 1956).

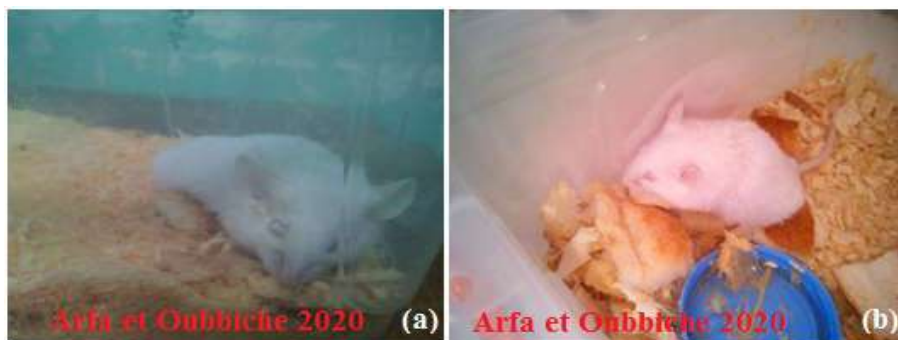


Photo 44 : Les autres symptômes de la toxicité de l’hémolymph.
 (a) : sécrétion lacrymale(S₇), (b) : raideurs des membres.

La souris témoin 1 reste en survie encore ; tandis que la souris 2 mourrait après 9min :54s de l’injection de l’hémolymph. Tous les symptômes manifestés par les deux souris (S_{T1}, S₂) sont enregistrés dans les deux tableaux, le tableau 20 et 21 respectivement.



Photo 45 : La souris témoin(S_{T1}) avec Une attitude normale.



Photo 46: La souris 2(S₂) morte après 9min :54s l’injection de 0.1ml de l’hémolymph.

Tableau 20 : Les symptômes manifestés après l’injection de l’hémolymph de scorpion *Androctonus amoreuxi* pour la souris témoin1.

Souris N° : la souris témoin1(S _{T1})				
Le degré de la toxicité	Les symptômes observés	Oui	Non	
Intoxication légère	Démangeaison au point d’injection		✓	
	Augmentation de l’activité		✓	
	Reflexes de la pression aux doigts		✓	
	Le calme		✓	
	Troublé après 5-10 min		✓	
	Hyper-sécrétion léger et inconstante (nasale / lacrymale)		✓	
Intoxication Grave	Altération des mouvements respiratoires		✓	
	Période de tétanisation	Garde leur attitude		✓
		Membres raides		✓
		Révulsion des yeux		✓
La mort			✓	

Tableau 21: Les symptômes manifestés après l'injection de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* pour la souris 2(S₂).

Souris N° : la souris 2(S₂)				
Le degré de la toxicité	Les symptômes observés	Oui	Non	
Intoxication légère	Démangeaison au point d'injection	✓		
	Augmentation de l'activité	✓		
	Reflexes à la pression aux doigts	✓		
	Le calme	✓		
	Troublée après 5-10 min	✓		
	Hyper-sécrétion léger et inconstante (nasale / lacrymale)	✓		
Intoxication Grave	Altération des mouvements respiratoires	✓		
	Période de tétanisation	Garde leur attitude	✓	
		Membres raides	✓	
		Révulsion des yeux	✓	
La mort		✓		
La mort de souris après 9min :54s				

b) Pour la souris S_{T2} injectée par 0.06ml de l'hémolymphe totale de scorpion *Androctonus amoreuxi* (50µl), mélangé avec l'eau physiologique (50µl) (v/v) survit après l'injection de l'hémolymphe total, avec l'appariation de même symptômes observé précédemment de la toxicité de l'hémolymphe.

II-2-1-3- l'étude du pouvoir antitoxique de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi*

Pour chaque lot, l'injection de l'hémolymphe, est suivie d'une injection d'une dose de venin 8 jours après l'injection de l'hémolymphe dans le but de montrer l'efficacité de l'hémolymphe dans l'immunisation des souris.

La durée de survie des souris sont observées du moment d'injection de venin jusqu'à 02h ou plus ; et les symptômes d'intoxication par l'hémolymphe apparaissent sur les souris (S₃, S₆, S₄, S₇, S₈) similaires à celui observés chez la souris S₂. Après l'injection de venin les souris montrent des symptômes analogues à celui observé précédemment après chaque injection de venin, montrent au départ :

*Très vive démangeaisons au voisinage du point d'injection, tourne autour de lui selon mouvement rotatoire, reflexe aux doigts, perte de l'équilibre ; la paralysie de partie inférieure de corps. Aussi une exagération des sécrétions (congestion oculonasale, larmolement,

rhinorrhée), puis des convulsions apparaissent et l'animal meurt par paralysie respiratoire dans des temps variant de deux minutes à trois heures, suivant la dose de toxine et la voie d'inoculation utilisée (MARIE, 1988).

Les symptômes d'intoxication par l'hémolymph (S_{T1} et S₂) et ainsi les symptômes qui apparaissent après l'injection de venin sont listés ci-dessous.



Photo 47 : Quelques symptômes manifestés par la souris 3 après l'injection de venin.
(a) manger ; **(b)** : boire ; **(c)** : Tentatives d'échappement de la cage.

Tableau 22 : Les doses injectées du venin et les temps de survie de chaque souris après l'injection du venin après 08 jours d'injection de l'hémolymph.

❖ La récapitulation des résultats d'étude de l'espèce *Androctonus amoreuxi* sur les souris

Les lots	La souris	La dose injectée (hémolymph/eau) avant 08 j	La dose injectée de venin après 08 j	Le temps de survie après l'injection de venin
Souris témoin	S _{T2}	0.1ml d'eau physiologique	0.2ml de venin (C=2mg/ml)	Survie 4h et reste vivante.
Souris H (dilution 1/10)	S ₄	0.1 ml d'hémolymph dilué (1/10)	0.2ml de venin (C=2mg/ml)	La morte après 47min :31s.
	S ₇	0.1 ml d'hémolymph dilué (1/10)	0.3ml de venin (C=2mg/ml)	Survie 43h après l'injection de venin et reste vivante.
	S ₈	0.1 ml de l'hémolymph dilué (1/10)	0.2ml de venin (C=2mg/ml)	La mort après 1h : 04min.
Souris H (dilution 1/100)	S ₃	0.1 ml d'hémolymph dilué (1/100)	0.2ml de venin (C=2mg/ml)	Survie 4h : 38min après l'injection de venin et reste vivante.
	S ₆	0.1 ml d'hémolymph dilué (1/100)	0.3ml de venin (C=2mg/ml)	La mort après 49min.

est schématisée comme suit:

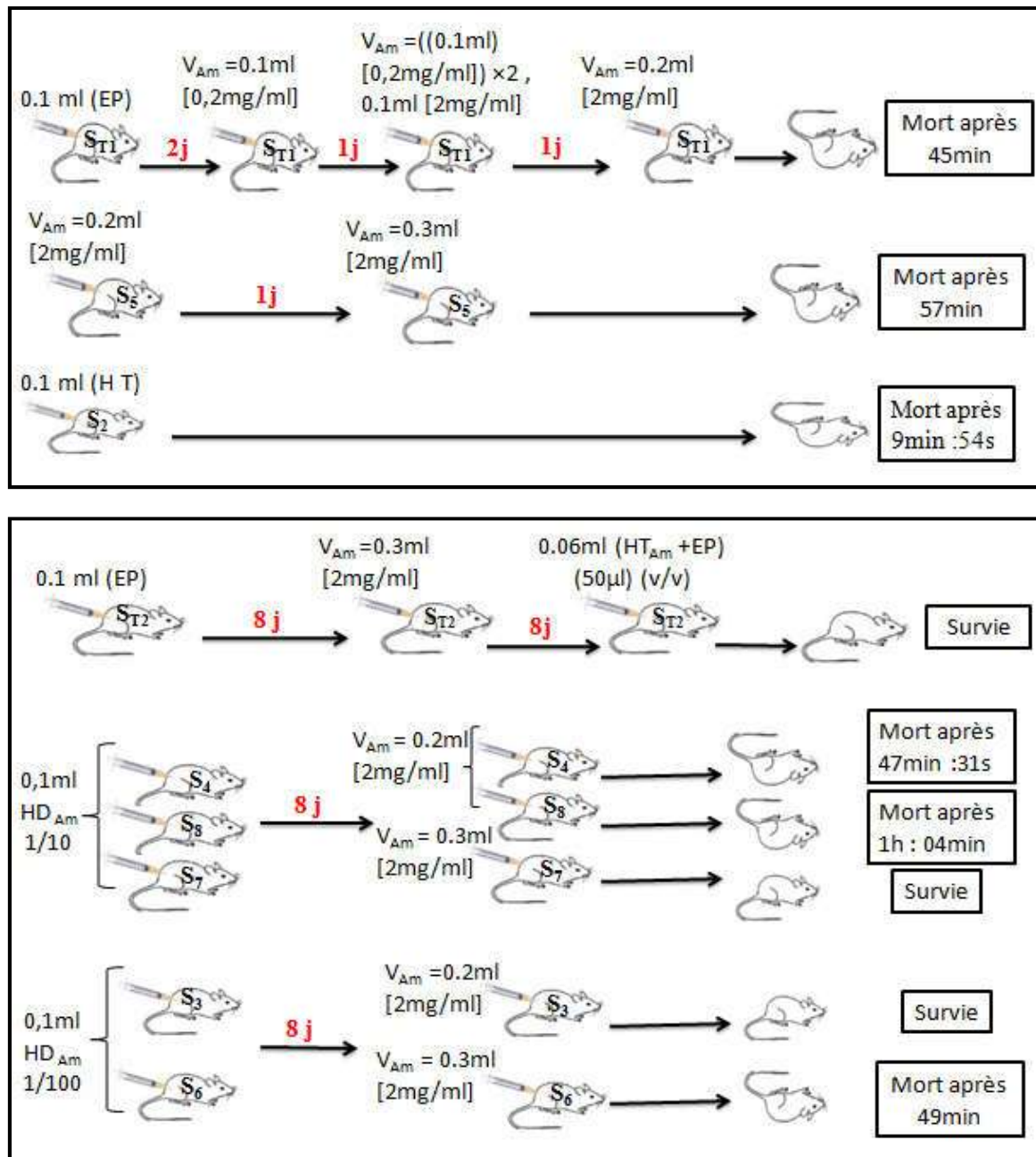


Figure 30: Résultats d'étude de l'espèce *Androctonus amoreuxi*.

EP : Eau physiologie.

V_{Am} : Venin d'*Androctonus amoreuxi*.

HT_{Am} : Hémolymphe total.

HD_{Am} : Hémolymphe dilué.

II-2-2-Etude de l'espèce *Androctonus australis*

II-2-2-1-Détermination de la dose létale de venin de scorpion *Androctonus australis* :

L'injection de souris S_{T4} par voie sous cutanée par une dose 0.1ml de venin de l'*Androctonus australis* de concentration du 0.019mg/ml ne montre aucun effet sur la souris ; donc on injecte autre fois de même dose 0.1ml, mais à différent concentration (C= 9.49 mg/ml) successivement et on observe la mort de la souris témoin après 07 injections de venin correspondant au C= 0.949 mg/ 0.1 ml avec un total de venin de C=5,694mg/0,6 ml.



Photo 48 : La mort de souris S_{T4} après 7injection de venin d'*Androctonus australis*.

II-2-2-2-L'étude de toxicité de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus australis*

Après l'injection de l'hémolymphe total (non séparée par centrifugation), les deux souris S_9 et S_{10} montrent des symptômes d'intoxication par l'hémolymphe similaires à celui observés chez la souris S_2 lorsque on injectée par l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi*, en comparaison avec le souris S_{T3} (qui injecté par 0,1ml d'eau physiologie) qui montre une attitude normale comme celle si montre chez la souris témoin1(S_{T1}), et les deux souris S_9 et S_{10} restent survie après l'injection de l'hémolymphe.

Alors, Après l'injection du plasma de l'hémolymphe (hémolymphe centrifugé), les deux souris S_9 et S_{10} montrent aussi les même symptômes d'intoxication par l'hémolymphe total, observés précédemment avec l'injection de l'hémolymphe totale, mais la seul différence est que la souris S_9 (injecté par plasma d'hémolymphe (♂)) reste vivante tandis que la S_{10} injecté par plasma d'hémolymphe (♀) mortes après une heure de l'injection du plasma de l'hémolymphe. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 23 : Les doses injectées de l'hémolymphe (total / séparé) et la (Survie /mortalité) de chaque souris.

Les lots		La souris	La dose injectée (hémolymphe/eau)	Survie /mortalité
Souris témoin		S _{T3}	0.1ml d'eau physiologique	Survie
Souris H	Hémolymphe non dilué total	S ₉	0.1ml d'hémolymphe total	Survie
		S ₁₀	0.12ml d'hémolymphe total	Survie
	Hémolymphe non dilué séparée	S ₉	0.1ml de plasma d'hémolymphe(♂)	Survie
		S ₁₀	0.1ml de plasma d'hémolymphe (♀)	Mort après 1h

II-2-2-3- Etude du pouvoir anti-venin de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus australis*

Après l'injection de dose létale (dose mortelle) de venin d'*Androctonus australis*, on observe des symptômes d'envenimation chez les 3 souris (S_{T3}, S₉, S₁₀), suivi par la mort de souris S_{T3} (témoin) après 33min de l'injection, tandis que les deux souris (S₉, S₁₀) survivent. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 24 : Les doses injectées de venin et les temps de survie de chaque souris après l'injection du venin après 07 jours d'injection de l'hémolymphe.

Les lots		La souris	La dose injectée (hémolymphe/eau)	La dose injectée de venin après 07 j	Survie /mortalité
Souris témoin		S _{T3}	0.1ml d'eau physiologique	0.6ml de venin (C = 9.49 mg/ml)	Mort après 33min
Souris H	Hémolymphe non dilué totale	S ₉	0.1ml de l'hémolymphe totale	0.6ml de venin (C = 9.49 mg/ml)	Survie après l'injection de venin et reste vivante.
		S ₁₀	0.12ml de l'hémolymphe totale	0.6ml de venin (C = 9.49 mg/ml)	Survie après l'injection de venin et reste vivante.

- ❖ La récapitulation des résultats d'étude de l'espèce *Androctonus australis* sur les souris est schématisée comme suit:

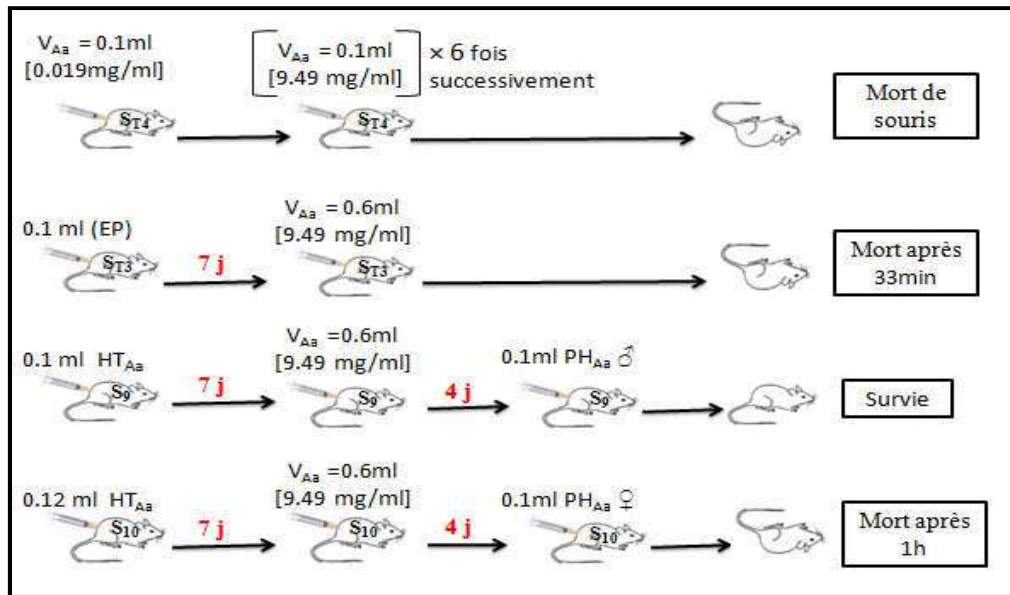


Figure 31: Résultats d'étude de l'espèce *Androctonus australis*.

EP : Eau physiologie, V_{Aa} : venin d'*Androctonus australis*, HT_{Aa} : Hémolymphe total,
 PH_{Aa} : Plasma de l'hémolymphe.

II-3- Résultats de test d'hémagglutination du sérum de l'hémolymphe scorpionique

La recherche des hémagglutinines dans le sérum de l'hémolymphe a montré les résultats suivants.

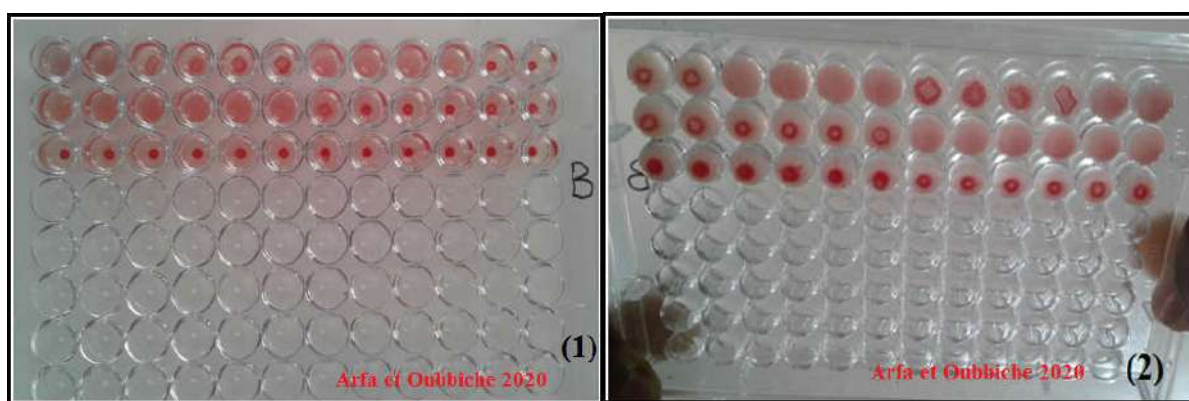


Photo 49 : Recherche des agglutinines dans le sérum de l'hémolymphe scorpionique.

(1): en haut, (2):en bas.

- Après ce résultat, on fait la lecture de plaque de microtitration en mettant « + » devant chaque puits montrant une réaction d'agglutination avec la suspension cellulaire et « - » dans les résultats négatifs.

Tableau 25: Lecture des résultats de la plaque de microtitration de test d'hémagglutination.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	T	T
A	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
B	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- **Hémagglutination positive (+):** présenté par la formation de tapis au fond du puits.
- **Hémagglutination négative (-) :** présenté par la formation d'un culot rouge ou « bouton » au fond du puits.
- Sur la base de ces résultats on détermine le titre d'agglutination qui correspond à l'inverse de dernière dilution montrant une agglutination microscopique.

Tableau 26 : Titre d'agglutination calculé par le test d'hémagglutination par l'hémolymphe scorpionique d'*Androctonus australis* avec les globules rouges humains de groupe « O ».

Les espèces	Le titre d'agglutination
Scorpion d' <i>Androctonus australis</i>	65536

II-4- Résultats de l'étude des cellules immunes de l'hémolymphe scorpionique

L'hémolymphe est analogue au sang de vertébrés et montre une variété de cellules en circulation appelées hémocytes (SOARES *et al.*, 2015). Qui précipitent sous forme de culot cellulaire (agrégat blanche) après centrifugation de l'hémolymphe .

L'observation microscopique de frottis cellulaire, permis de mettre en évidence la présence des populations d'hémocytes, qui semblent très hétérogènes, les cellules présentent des tailles différentes mais également des formes très variées, dans le deux cas :

II-4- 1- Examen frais (sans coloration)

A partir de l'examen microscopique appliqué sur le frottis cellulaire, nous avons observé différents types de cellule (hémocytes) montrés dans les photos ci-dessous.



Photo 50 : Examen frais des cellules obtenues de l'hémolymphe scorpionique sans coloration sous microscope optique.

On observe les cellules d'hémocytes de type apparaissent effectivement comme un type unique à contours irréguliers entouré d'un centre vide de colore transparent, ils présentent des projections cytoplasmiques pour former une rosette, Ils sont dispersé dans toute la surface, avec d'autre type des cellules ronde à contours sombre avec un centre rouge et taille différente.

II-4- 2- Examen cytologique avec coloration

Après l'observation sous microscope optique (Gr x100) de frottis cellulaires colorés avec la coloration de Giemsa, nous confirmons la présence des cellules d'hémocytes, présenté dans les photos ci-dessous.

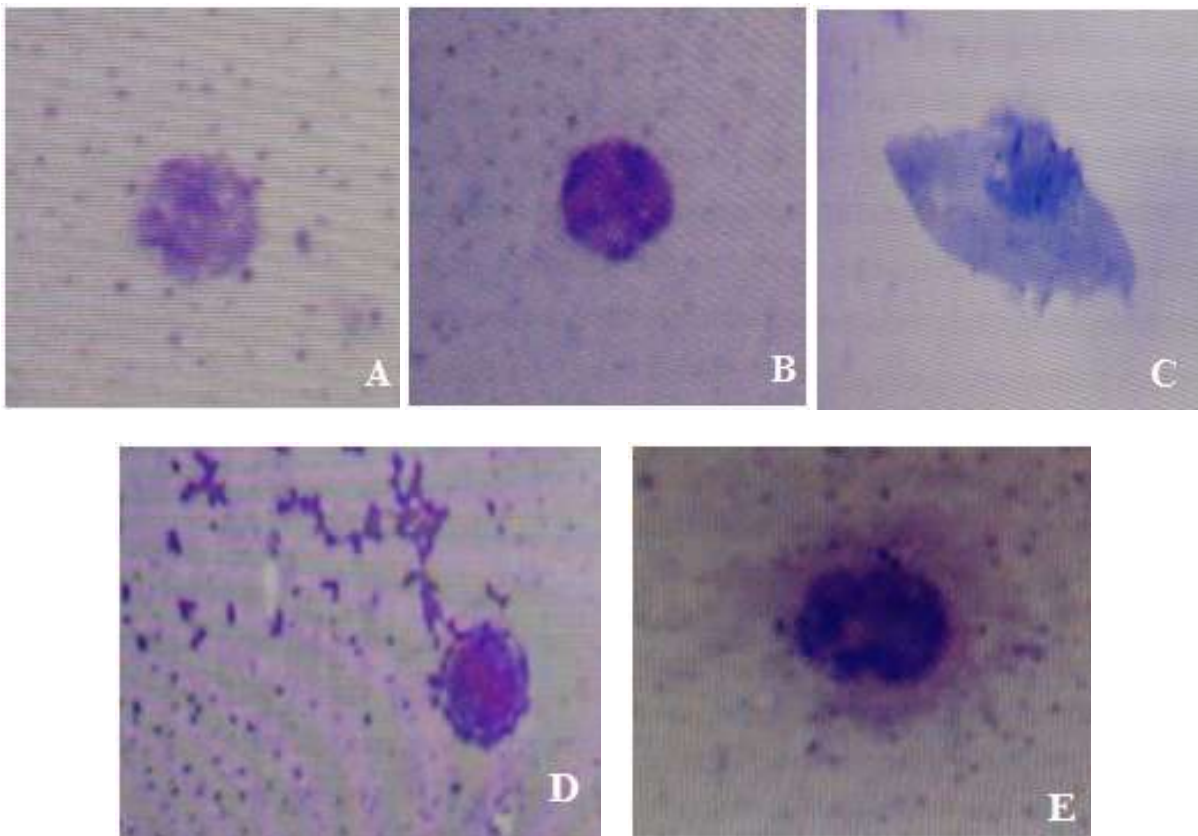


Photo 51 : Les différentes hémocytes présentes dans frottis après coloration de Giemsa sous microscope optique (Gr x100).

L'observation sous microscope optique de frottis coloré avec coloration de Giemsa montre la présence de plusieurs types des cellules de forme et taille variable.

En se basant sur les aspects obtenus par la coloration Giemsa, nous suspectons la présence de cellule Pro morulocyte (Photo 50-A), cellule morulocyte (Photo 50-B), cellule plasmocyte (Photo 50-C), cellule granulocyte (Photo 50-D), cellule granulocyte éosinophile (Photo 50-E).

Remarque :

Nous avons préparé les frottis obtenu avec coloration de Giemsa, examiné sous microscopie électronique à balayage (MEB), au niveau de laboratoire de recherche de université de Kasdi Merbah, pour une bonne visualisation et détermination leur morphologique et donc préciser leur types, mais malheureusement à cause de pandémie « covide 19 » nos recherches ont été suspendues.

Chapitre III
DISCUSSION

Les piqûres de scorpion sont dans un certain nombre de pays, un accident fréquemment rencontré, et un risque grave (BIBICHE et *al.*, 2015). En Algérie, l'envenimation scorpionique est un véritable problème de santé publique; pour cela plusieurs actions ont été menées pour prendre en charge ce problème (BENGUEDDA, 2002).

Cette étude a pour but de traiter ce problème par une étude immunologique de l'hémolymphe scorpionique son pouvoir anti venin à l'égard des venins scorpionique, et son pouvoir agglutinant les érythrocytes humains (HuRBC).

D'après les résultats obtenus, l'administration d'une dose létale du venin de scorpion *Androctonus amoreuxi* (Am) chez les souris, provoque la mort de souris S_{T1} qui survient après un temps de 45 min : 17s, avec une dose de venin (C=2mg/ml) totale égale à la 0.66 mg/0.6ml. Cette dose est environ ≈ 44 fois de la dose létale médiane (DL_{50}) de venin (0.015 mg/20g de souris). Alors que la souris S_5 ; sa mort survient après un temps de 57min :38 s, avec une dose de venin(C=2mg/ml) totale égale à 1mg/0.5ml (2mg/ml), cette dose est environ ≈ 66.66 fois de la DL_{50} de venin (0.015 mg/20g).

Tandis que l'administration d'une dose létale du venin de scorpion *Androctonus australis* (Aa) chez la souris S_{T4} , provoque sa mort, avec une dose de venin totale égale à 5.69mg/0.6ml.

Les symptômes observés après l'injection du venin sont communs et similaires à l'intoxication par l'hémolymphe, mais plus forte en comparaison de l'intoxication par l'hémolymphe qui sont représentés par :Très vive démangeaisons au voisinage du point d'injection ; reflexe à la pression par les doigts ; immobilisation en un seul endroit dans la cage (ne bouge pas) ; pas de tentative d'échappement, Raideur des membres, activité augmentée, difficultés de mouvement ; sécrétion lacrymale de couleur blanchâtre dans un seul œil et parfois les deux, le calme, spasmes musculaires de corps ; tourne autour de lui selon mouvement rotatoire, perte d'équilibre ; la paralysie de partie postérieure de corps , altération des mouvements respiratoires(tachypnée ; difficulté de respirer ; augmentation de rythme cardiaque) comme déjà décrit par BALOZET, 1956.

- **Etude de la toxicité de l'hémolymphe scorpionique**

D'après nos résultats obtenues après l'injection d'un dose de 0,1ml de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* (Am), où on à observé des symptômes d'intoxication de

l'hémolymphe analogues avec l'intoxication par le venin ; ils sont cependant retardés dans leur apparition, atténués dans leur manifestation.

Après l'injection de l'hémolymphe les souris paraissent normales pendant dix à quinze minutes, puis apparaît une très vive démangeaison au voisinage du point d'injection accompagnée d'une activité augmentée, d'une exagération des réflexes (le test de la pression des doigts sur le dos de la souris déclenche un sursaut, comme si un ressort était libéré), puis le calme revient un moment ;troublé de nouveau après cinq à dix minutes par une nouvelle périodes d'agitation comme l'études de **BALUZET, 1956** a signalé .

Il a été noté aussi une hypersécrétion légère et inconstante et chez les plus gravement intoxiquées ; une altération des mouvements respiratoires qui se montrent moins nombreux mais plus amples et paraissent effectués avec peine, ils donnent l'impression d'une paralysie diaphragmatique compensée avec difficulté par les mouvements des côtes. On a observé aussi des périodes de tétanisation : les souris gardent leur attitude ; membres qui sont raidis ; les yeux sont révulsés et les mâchoires contractées, la mort survient au cours d'une période de tétanisation (**BALUZET, 1956**).

La mort de la souris (S₂) par l'injection de l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* (Am) montre que l'hémolymphe (le sang) d'*Androctonus amoreuxi* est toxique (de propriétés toxique) (**VACHON, 1952 ; BALUZET, 1956 ; VACHON, 1968**) de façon comparable à celle de venin et cause la mort à un dose de 0.1ml de l'hémolymphe.

Les résultats obtenus sont en accord avec de étude sur le scorpion *Mesobuthus martensii* que les deux l'hémolymphe et le venin ont une fonction similaire où à été montrée que l'hémolymphe de cette espèce est capable d'inhiber fortement les canaux potassiques qui sont des récepteurs de venin et les neurotoxiques de scorpion, où l'hémolymphe diluée (1:10) inhibe le transit du courant du voltage des canaux potassiques (**MENG et al., 2020**), ce qui supporte l'hypothèse que l'hémolymphe renforce l'effet de venin ce qui causé la mort des souris par l'inhibition de flux nerveuse des canaux ionique.

Alors , l'injection de l'hémolymphe total (non séparé par centrifugation), ou le plasma de l'hémolymphe (hémolymphe centrifugé) de scorpion *Androctonus australis* (Aa), provoque un toxicité léger pour la souris (S₉ et S₁₀) de façon comparable à celle de venin (**BALUZET, 1956**) avec les même symptômes d'intoxication de l'hémolymphe enregistrés précédemment

avec l'hémolymphe d'*Androctonus amoreuxi* (Am) mais ne cause la mort à un dose de 0.1ml de l'hémolymphe en comparaison avec l'hémolymphe d'*Androctonus amoreuxi*.

L'injection de l'hémolymphe total, de scorpion *Androctonus australis* à les souris (S₉ et S₁₀) à un dose de 0.1ml et 0.12ml respectivement ; ne provoque pas à la mort des souris malgré que nous observons les même symptômes d'intoxication causés par le même dose de l'hémolymphe à celle d'Am en comparaison avec la souris S₂ qui a reçue un dose de 0.1ml d'hémolymphe total, ce qui montre que l'hémolymphe d'Aa, il est légèrement toxique par rapport de l'hémolymphe d'*Androctonus amoreuxi* (Am) (BALOZET, 1956). Tandis que l'injection du sérum de l'hémolymphe mâle (hémolymphe centrifugé) à un dose de (0.1ml) ne provoque pas à la mort de souris S₉, mais le même dose du sérum de l'hémolymphe femelle causé la mort de souris S₁₀, ce qui montre que l sérum de l'hémolymphe femelle est plus toxique que l'hémolymphe mâle.

Donc on dit que la dose mortelle de l'hémolymphe total pour les souris est 0.1ml pour l'espèce *Androctonus amoreuxi* (Am), en comparaison avec l'espèce *Androctonus australis* (Aa) qui est à la même dose provoque des troubles légers, en plus de notre étude les autres auteurs sont rapportent que 0,5ml ou 1 ml de l'hémolymphe d'Aa survient à la mort des souris après des séries des symptômes d'intoxication par l'hémolymphe (BALOZET, 1956).

- **Étude de pouvoir neutralisant de l'hémolymphe scorpionique (pouvoir anti venin) à l'égard de venin scorpionique**

D'après les résultats obtenus, on trouve que les trois souris injectées par l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* diluée (1/10) seulement un seul souris qui survit dans une proportion de 1 sur 3 (1/3) tandis que parmi deux souris injectées par l'hémolymphe diluée (1/100) un seul souris qui survie dans une proportion de 1 sur 2 (1/2).

Le temps de survie est enregistrée à partir de moment d'injection de l'hémolymphe jusqu'à deux heure après l'injection de l'hémolymphe, en comparaison avec le temps de survie des souris après l'injection de venin comme décrire par MARIE, 1988. Que les souris montrent au départ une exagération des sécrétions (congestion oculonasale, larmoiement, rhinorrhée), puis des convulsions apparaissent et l'animal meurt par paralysie respiratoire dans des temps variant de deux minutes à trois heures, suivant la dose de toxine et la voie d'inoculation utilisée (MARIE, 1988).

Selon nos résultats on trouvé que les souris survivants pendant un période plus de quatre heure (S₃) jusqu'à 43heure (S₇). Tandis que les souris mortes pendant une période de temps moins d'une heure (S₄: 47min :31s et S₆: 49min) jusqu'à un 1h : 04min (S₈).

La survie de souris (S₇) après l'immunisation par l'injection de l'hémolymphe d'Am (dilué 1/10) d'un dose (0.1 ml) avant 8 jours d'injection de dose de venin d'Am (0. 3ml) montre que l'hémolymphe stimule l'immunisation des souris et empêche leurs mort et donc en peut dit que l'hémolymphe de scorpion *Androctonus amoreuxi* a non seulement une partie des toxines comparable avec le venin mais a un pouvoir ou propriété antitoxique à l'égard de venin(propriété anti-venin) qui immunise la souris à la façon d'un venin atténué comme montre chez le cobaye de l'expérience de C. PHISALIX, qui résiste une dose de venin mortelle injecté quatre jours plus tarde d'injection de 1.5 ml de l'hémolymphe de scorpion (**BALUZET, 1956**). Les résultats obtenus aussi avec la souris (S₃) injectée par une dose (0.1ml) l'hémolymphe d'Am mais à dilution différente (dilué 1/100) (**BALUZET, 1956 ; VACHON, 1968 ; METCHNIKOFF, 1901**).

Le même résultat a été attient avec l'espèce *Androctonus australis* où injecté les souris (S₉, S₁₀) par 0.1 ml et 0.12 ml respectivement de l'hémolymphe total suivi après 7 jours par une dose mortelle de leur venin, montre que l'hémolymphe de Aa neutralise une dose mortelle de venin et survient à l'immunisation de souris et empêche sa mort. **METCHNIKOF** en 1901 a rapporté que 0,1 cm³ d'hémolymphe, ajouté à une dose de venin mortelle pour la souris en 30 minutes neutralisait l'effet toxique. « Cet exemple de propriété antitoxique » (**BALUZET, 1956**).

Tandis que les autres souris (S₄, S₈) mortes après l'injection d'un dose de (0.2ml) de venin d'*Androctonus amoreuxi* malgré qui ont été préalablement immunisés avec leur hémolymphe (dilué 1/10). La mort des souris est probablement causée par un état d'hypersensibilité de souris contre le venin car l'hémolymphe a une partie des toxines vraisemblablement communes avec celle de venin (**BALUZET, 1956**) et l'injection de venin après l'injection de l'hémolymphe probablement causerait cet état d'hypersensibilité à au deuxième contact avec la même toxine au corps de la souris .

- **Etude du pouvoir agglutinant du sérum de l'hémolymphe scorpionique**

L'hémolymphe de la plupart des invertébrés contient des hémagglutinines d'origine naturelle avec des spécificités comparables aux iso hémagglutinines présentes dans les sérums

des vertébrés (**BRAHMI et COOPER, 1974**).Généralement appelés lectins (**YEATON, 1981**).

En relation avec nos résultats obtenus par le test d'hémagglutination, on trouve que l'hémolymphe scorpionique à une capacité d'agglutiner la plupart des érythrocytes humains de groupe ABO avec un titre plus élevé après l'immunisation de scorpion par 0,02 ml à 5% d'érythrocyte humain (HuRBC).

Les résultats obtenus sont en accord avec des études antérieures sur la caractéristique agglutinantes d'hémolymphe scorpionique citant comme exemple celle réalisée par **Brahmi et Cooper. (1974)**, sur le scorpion algérien *Androctonus australis* qui montre que l'hémolymphe des scorpions fraîchement capturés est évidemment capable d'agglutiner les érythrocytes humains (**BRAHMI et COOPER, 1974**).

Le même résultat a été atteint par Cohen et *al* 1979 qui étudié la même espèce scorpionique, et trouvé que le sérum d'*Androctonus australis* agglutine les érythrocytes humains aux titres supérieurs ; de 512 pour les spécimens testés de chacun des quatre groupes sanguins humains ABO ; et sans différences significatives notées dans les types d'ABO (**COHEN et al 1979**).

Selon Cohen et *al.*, 1979, les lectines ont été trouvés chez nombreuses espèces d'invertébrés. Ces lectines définissent une classe de protéines ou glycoprotéines ; montrent la spécificité pour les acides sialiques et les sialoglyconjugates (**AHMED et al., 1986**). Qui comporté sur les glycoprotéines de surface d'érythrocyte humain (RBC).et prouvé par Vasta et Cohen, 1984, où ils ont signalé que les acides sialiques des RBCs humains sont principalement la glycoprotéine liée. Cela signifie que les sites récepteurs sur les érythrocytes humains sont accessibles aux molécules d'*Androctonus australis* « les agglutinines » (**COHEN et al., 1979**). Donc, les agglutinines d'*Androctonus australis* manifestent un comportement typique des lectins spécifique à l'acide sialique (**VASTA ET COHEN, 1984**).

Des résultats similaires été obtenus avec ceux enregistrés chez le scorpion *Centruroides sculpturatus* (Buthidae) (**VASTA et COHEN, 1982**),même les scorpion inclus dans un autre famille : *Hadrurus arizonensis* (Vaejoidea) (**VASTA et COHEN, 1984**),et *Vaejovis confincius* (Vaejoidea) (**VASTA et COHEN, 1984**), *Vaejovis spinigerus* (Vaejoidea) (**VASTA et COHEN, 1984**), *Heterometrus granulomanus* (scorpionidae) (**AHMED et al.,1986**) , qui ont démontré l'agglutination des érythrocytes humains (RBC) des groupes sanguins ABO , mais à différents titres. Ils sont également prouvé par **Olafsen, 1986**, où ils

ont signalé que, plusieurs lectines ont été détectées dans le scorpion *Vaejovis confuscus* et *Vaejovis spinigerus*, et aussi dans le scorpion *Hadrurus arizonensis* ; étaient apparemment spécifiques pour les acides sialiques, et les sialoconjugates (OLAFSEN, 1986) et confirmé les résultats précédents.

- **L'étude des cellules immunes de l'hémolymphe scorpionique**

L'observation microscopique de frottis cellulaire de l'hémolymphe scorpionique a montré la présence des trois types de cellules des hémocytes circulants dans l'hémolymphe. Qui sont cellules morulocyte, cellules plasmocyte, cellules granulocyte. Le même résultat a été atteint par GYSIN et al., 1969 où observer trois principaux types des cellules sanguines après la coloration de May Grünwald-Giemsa, la lignée morulocytaire, la lignée Plasmocytaire et la lignée granulocytaire (GYSIN et al., 1969).

Alors PATIL et SHAH, 2013 où les observations microscopiques en contraste de lumière et de phase ont aidé à l'identification de sept types des hémocytes dans l'hémolymphe de scorpion *H. Phipsoni* : Prohemocyte (PR), Plasmocyte (PL), Granulocyte (GR), Sphérulocyte (SP), Adipohemocyte (AD), Oenocytoid (OE), Coagulocyte (CO) (PATIL et SHAH, 2013).



Conclusion

Le Sahara d'Algérie est connue par beaucoup des espèces des scorpions dangereuses, ce qui cause beaucoup d'accidents d'envenimation lors de l'exposition d'homme et ses espèces.

L'envenimation scorpionique(ES) par sa gravité et sa fréquence pose un sérieux problème car n'est pas un traitement spécifique et en addition beaucoup des patients n'atteint pas l'hôpital, ce qui cause la mort des plusieurs patients. Cela donné la chance à plusieurs chercheur pour trouve une solution à cette problème.

Notre travail s'intéresse à une étude immunologique sur l'hémolymphe scorpionique pour but :

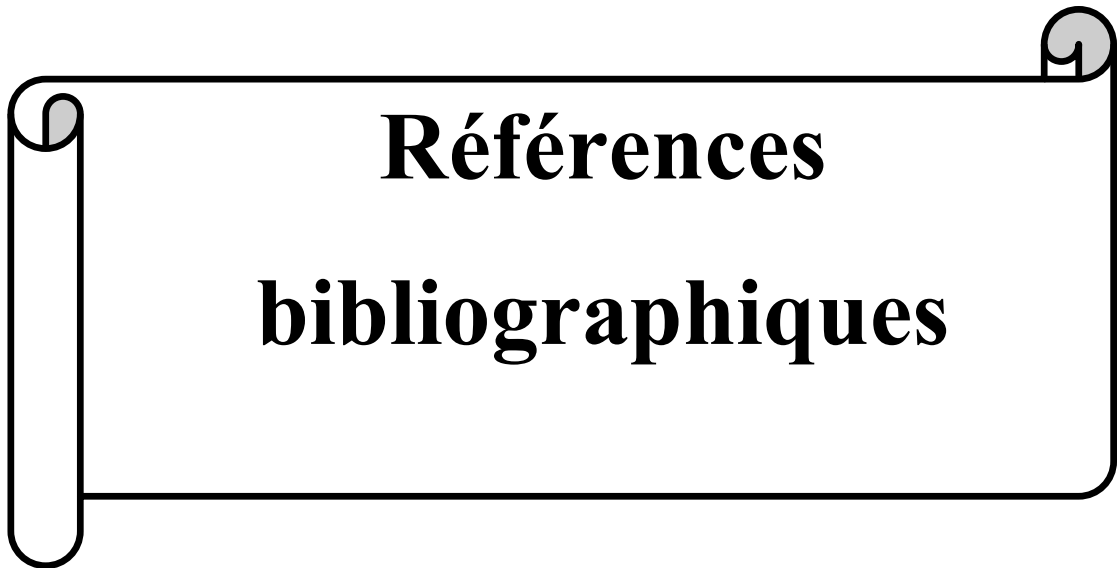
- ✚ Premièrement : d'étudie l'hémolymphe scorpionique et vérifie son pouvoir antitoxique à l'égard du venin scorpionique.
- ✚ À la deuxième point : chercherons un anti-venin obtenu à partir d'hémolymphe moins couteuse, avec moindre des produits et d'efficacité élevée.

Après les résultats de l'étude sur l'hémolymphe scorpionique, son pouvoir neutralisant sur le venin, son pouvoir agglutinant, il ressort de notre travail que:

- ✓ L'hémolymphe scorpionique est toxique pour les vertébrés, avec une toxicité élevée chez l'espèce *Androctonus amoreuxi* (Am) à une dose de 0.1ml d'hémolymphe total, par rapport à celui d'*Androctonus australis* (Aa).
- ✓ L'hémolymphe scorpionique possède un pouvoir anti-venin et la capacité immunisant contre le venin de scorpion.
- ✓ L'hémolymphe scorpionique a un pouvoir agglutinant sur les érythrocytes humains de groupe O.

Perspectives

- Nous avons participé à partir de notre travail de prouve que l'hémolymphe a un pouvoir anti-venin qui aide les chercheurs de synthétiser un anti-venin capable de neutralise une dose mortelle de venin scorpionique ; ce qui donne un peu des solutions pour ce problème qui touche tout le monde et tous les catégories. Mais malheureusement à cause de pandémie « covide 19 » nos recherches ont été suspendues.
- Et donc dans le cadre d'élargir les horizons de recherche scientifique, nous suggérons autres recherches sur l'hémolymphe scorpionique, son capacité d'immunise contre les venins des scorpions et on souhaite des études par d'autres techniques plus spécifiques, nous citons par exemple : test d'Ouchterlony dans le contexte d'enrichir notre étude.



Références
bibliographiques

A

AHMED H, ANJANEYULU G, CHATTERJEE B P. , (1986). Serological characterization of humoral lectin from *Heterometrus granulomanus* scorpion hemolymph . *Developmental & Comparative Immunology*, 10(3), 295-304.

ANONYME . , (2004) .<http://perso.wanadoo.fr/evcb/scorpions/gomacro.htm>.

B

BALAZET L., (1956).L'hémolymph de scorpions n'a pas de pouvoir antitoxique a l'égard de venin de ces arachnides. *Arch.Institut Pasteur d'Algérie, Algérie, N°3* : 360-369.

BAHIDA B., (2001).L'envenimation scorpionique dans la wilaya d'Adrar. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention de diplôme d'êta, Institut Technologique de la santé publique D'Oran.

BAHLOUL M , REGAIEG K , CHABCHOUB I , KAMMOUN M , CHTARA K , BOUAZIZ M., (2017). Les envenimations scorpioniques graves: physiopathologie et rôle de l'inflammation dans la défaillance multi viscérale. *Médecine et Santé Tropicales*, 27(2), 214-221.

BANDYOPADHYAY A., (1989). Studies on the non respiratory proteins especially acetylcholinesterase and protease inhibitor in the hemolymph of the scorpion *Heterometrus Bengalensis* (chapitre I). University of calcutta. Department of process biochemistry. Indian institute of chemical biology,4 RAJA SC MU LUCK ROAD .CALCUTTA - 700 032 .INDIA.

BATTAGLIO V., (2005). Analyse de la situation épidémiologique des piqûres et des envenimations scorpioniques dans la province de Beni Mellal.Thèse de Doctorat National. Université Ibn Tofail. Maroc.p 213.

BELFAR H, MOUICI F, BOUDJENAH S ., (2019). Etude de la réactivité immunologique du sérum anti-scorpionique algérien contre les venins scorpioniques (Doctoral dissertation).

BENGUEDDA A C, LARABA-DJÉBARI F, OUAHDI M, HELLAL H, GRIENE L, GUERENIK M, LAID Y., (2002). Expérience de quinze années de lutte contre l'envenimation scorpionique en Algérie. *Bull Soc Pathol Exot*, 95(3), 205-8.

BEN LASFER Z., (1998). Étude taxonomique du genre *Androctonus* des oasis de Chabbat et de chémsa, mémoire de fin d'étude, Tunis, p 95.

BIBICHE Y, BERDAI A, LABIB S, HARANDOU M., (2015). Envenimation scorpionique compliqué d'un accident vasculaire cérébral ischémique. *The Pan African Medical Journal*, 20.

BONAVENTURA J , BONAVENTURA C., (1980). Hemocyanins relationships in their structure, function and assembly. *American Zoologist*, 20(1), 7-17.

BNEDER, (1992). Directeur de développement et la mise en valeur dans la wilaya de Ouargla. Etude du schéma. Hydrogéologique Tipaza.

BRAHMI Z , COOPER E L., (1974). Characteristics of the agglutinin in the scorpion, *Androctonus australis*. In *Contemporary topics in immunobiology* (pp. 261-270).

C

CHAUSSON F., (2001). Adaptation au milieu hydrothermal profond: Etude comparative de l'écophysiole respiratoire des crustacés décapodes des dorsales Pacifique et Atlantique (Doctoral dissertation, Paris 6).

COATES C J , DECKER H., (2017). Immunological properties of oxygen-transport proteins: hemoglobin, hemocyanin and hemerythrin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(2), 293-317.

COHEN E , ILODI G H , BRAHMI Z , MINOWADA J., (1979). The nature of cellular agglutinins of *Androctonus australis* (Saharan scorpion) serum. *Developmental & Comparative Immunology*, 3, 429-440

CONANT J B , CHOW B F , SCHOENBACH E., (1933). The oxidation of hemocyanin. *Journal of Biological Chemistry*, 101(2), 463-473.

D

DAVID S, MULLEN W, GARY R .,(2019). Scorpions (Scorpiones). Department of Entomology and Plant Pathology, Auburn University, Auburn, AL, United States; Department of Life, Earth and Environmental Sciences, West Texas A&M University, Canyon, TX, United States. 489-504.

DECKER H , HELLMANN N , JAENICKE E , LIEB B , MEISSNER U , MARKL J., (2007). Minireview: recent progress in hemocyanin research. *Integrative and Comparative Biology*, 47(4), 631-644.

DE MUL M., (2009). The hemolymph composition of the african emperor scorpion (*pandinus imperator*) & suggestions for the use of parenteral fluids in dehydrated african emperor scorpions. Thèse de maîtrise .Université de médecine vétérinaire de Vienne .40p.

DJABER H, KHERRAZ M ., (2016). Effet de la phytothérapie sur les modifications métaboliques et histologiques des certaines plantes médicinales sur l'envenimation scorpionique. Mémoire de master en sciences biologiques. Université El OUED.

E

ELFATTACHH ., (2011). Les envenimations scorpioniques graves chez l'enfant. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE SIDIMOHAMMED BENABDELLAH . FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE FES. Maroc.

G

GOYFFON M , CHIPPAUX J P., (1990). Animaux venimeux terrestres. Techniques EMC Intoxications, Pathologie du travail, 16078(A10), 14.

GOYFFON M, BILLIALD P., (2007). Envenomations VI. Scorpionism in Africa. *Médecine tropicale: revue du Corps de sante colonial*, 67(5), 439.

GOYFFON M, HEURTAULT J.,(1995). La fonction venimeuse. Edition Masson, 284p.

GRASSE PP.,(1949).Traité zoologie ,Ordre des Scorpions ,Edit Muséum National D'historique Naturelle ,Paris . 6 :386 -436.

GYSIN J, LE CORROLLER Y , IRUNBERRY J., (1969). La cytologie sanguine et l'hémopoïese chez le scorpion . Archives de l'institut pasteur d'Algérie .t :47- 1969.p72-87.

H

HAMOUDA C., BNE SALAH N B., (2010). Envenimations scorpioniques en Tunisie. *Med Emergency*, 5, 24-32.

I

IDDER M A , SADINE S E , CHELOUFI H, IDDER-IGHILI H., (2011). Quelques aspects sur la biologie et l'éthologie des scorpions de la région d'Ouargla (sud-est algérien). *Arachnides*, 63: 2-12

J

JAENICKE E , BÜCHLER K , DECKER H , MARKL J , & SCHRÖDER G F., (2011). The refined structure of functional unit h of keyhole limpet hemocyanin (KLH1□h) reveals disulfide bridges. *IUBMB life*, 63(3) : 183-187.

JAENICKE E , PAIRET B , HARTMANN H , DECKER H., (2012). Crystallization and preliminary analysis of crystals of the 24-meric hemocyanin of the emperor scorpion (*Pandinus imperator*). *PLoS One*, 7(3) : e32548.

JAULIN S., QUELENNEC C., LARGIER J. & GAYMARD M., 2010. – *Belisarius xambeui* – Le Bélisaire de Xambeu, le scorpion endémique de Catalogne. Inventaire et

cartographie de l'espèce dans les Pyrénées-Orientales. Rapport d'étude de l'Opie et de la FRNC, Perpignan, 50 p.

JALAL F , MUSHTAQ S , PARVEZ S , RANA S A , SUHAIL A., (2010). Partial characterization of hemolymph of different spider species of citrus orchards . *Int. J. Agric. Biol.*, 12: 447–450 .

K

KAMERLING J P , Vliegenthart J F ., (1997). Hemocyanins.in *Glycoproteins II*.123-142.

KATO S , MATSUI T , GATSOGIANNIS C , TANAKA Y., (2018). Molluscan hemocyanin: structure, evolution, and physiology. *Biophysical Reviews*, 10(2), 191-202.

L

LAMY J , BIJLHOLT M , SIZARET P Y , LAMY J , VAN BRUGGEN E F., (1981). Quaternary structure of scorpion (*Androctonus australis*) hemocyanin. Localization of subunits with immunological methods and electron microscopy. *Biochemistry*, 20(7), 1849-1856.

LAURENT R.,(2015). Clé de détermination simplifiée des scorpions .p :5

M

MARIN C., (1988). Le scorpionisme : prévention et traitements. Thèse de Doctrotat en Pharmacie. UNIVERSITE JOSEPH FOURIERGRENABLEI – Sciences Technologie Médecine.114p.

MARTIN M ., LEGROS C., BOUGIS E ., ROCHAT H., (1999).Les toxines des venins de scorpion. *Ann Instit Pasteur.* 10, p :207-222.)

MEENA B., (2011). Microbial and Haemagglutinins from the Serum of Estuarine Crab *Portunus sanguinolentus*. *Recent Research in Science and Technology.* 3(2): 87-94.

MENG L , ZHAO Y , QU D , XIE Z , GUO X , ZHU Z , CHEN Z , ZHANG L , LI W , CAO Z , TIAN C , WU Y., (2020). Ion channel modulation by scorpion hemolymph and its defensin ingredients highlights origin of neurotoxins in telson formed in Paleozoic scorpions, *International Journal of Biological Macromolecules . 148*, 351-363.

METCHNIKOFF E.,(1901). L'immunité dans les maladies infectieuses. Masson. Chapitre XI .Source gallica.bnf.fr / Bibliothèque nationale de France.

MOGHADAM A T , AKBARI A , KAVOSH F , MOHAMMADIAN A , SOLEIMANI P., (2013). Evaluation of the differences in protein profile, osmolarity and electrolyte

composition of hemolymph of five species of scorpion in khuzestan province (south-western iran). J. Exp. Zool, 16(2), 615-617.

O

OLAFSEN, JA., (1986). Invertebrate lectins: biochemical heterogeneity as a possible key to their biological function. In Immunity in invertebrates (pp. 94-111).

P

PATIL A E ET SHAH U H., (2013). Types of hemocytes in *Mesobuthus tamulus tamulus*. The Bioscan. 8(1): 00-00.

PINKSTON et WRIGHT., (2001).Scorpions. OSU Extension Facts, 7303.

PISANI D, POLING L, LYONS-WEILER M, BLAIR S.,(2004).The colonization of land by animals: molecular phylogeny and divergence times among arthropods. Bio Med Central Biology. 2 (1):1-10.

POLIS G A., (1990). Biology of scorpions. 233p.

R

RATCLIFFE N A ., (1985). Invertebrate immunity- a primer for the non-specialist. Immunology letters, 10(5), 253-270.

S

SADINE S E , ALIOUA Y , KEMASSI A , MEBARKI M T , HOUTIA A , BISSATI S., (2014). Aperçu sur les scorpions de Ghardaïa (Algérie). Journal of Advanced Research in Science and Technology, 1(1), 12-17.

SADINE S E .,(2005). Contribution à l'étude bioécologique de quelques espèces des scorpions dans la wilaya d'Ouargla. Mémoire d'ingénieur d'Etat en biologie Université de Ouargla. P 6-14.

SADINE S E .,(2012). Contribution à l'étude de la faune scorpionique du Sahara septentrional Est algérien (Ouargla et El Oued).Mémoire de Magister En Sciences Agronomiques de Ouargla.

SADINE S E., (2018). La faune scorpionique du Sahara septentrional algérien: Diversité et Ecologie. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE KASDI MERBEH-OUARGLA, Algérie.

SALAZAR M L, JIMENEZ J M, VILLAR J, RIVERA M, BAEZ M, MANUBENS A, BECKER M I., (2019). N-Glycosylation of mollusk hemocyanins contributes to their structural stability and immunomodulatory properties in mammals. Journal of Biological Chemistry, 294(51), 19546-19564.

SITE 01: <http://eycb.pagesperso-orange.fr/scorpions/Gmacro.htm> (photo de opercule génitale de deux espèce différentes).

SIZARET P Y , FRANK J , LAMY J , WEILL J , LAMY J N., (1982). A refined quaternary structure of *Androctonus australis* hemocyanin. European journal of biochemistry, 127(3), 501-506.

STOCKMANN R., (2013) .Introduction to Scorpion Biology and Ecology. In: Gopalakrishnakone P., Ferroni Schwartz E., Possani L., Rodríguez de la Vega R. (eds) Scorpion Venoms. P 3.

V

VACHON, M. (1951). Les scorpions, leur morphologie, leur histoire et leurs légendes. La Terre et la vie. Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris.

VACHON M., (1952). Etudes sur les scorpions. Institut Pasteur d'Algérie, ALGER.

VACHON M., (1968). Les arachnides venimeux et leurs venins-Etat actuel des recherches- . Académie royale des Sciences d ' Outre - Mer. Classe des Sciences naturelles et médicales, N.S., XVII-5, Bruxelles, 1968.Muséum national d'Histoire naturelle (Paris).

VAN BRUGGEN E F., (1980). Hemocyanin: The mystery of blue blood. Trends in Biochemical Sciences, 5(7), 185-188.

VAN WETTERE A., LEWBART G A., (2007). Cytologic diagnosis of diseases of invertebrates. Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice, 10(1), 235-254.

VASTA G R , COHEN E., (1982). The specificity of *Centruroides sculpturatus* Ewing (Arizona lethal scorpion) hemolymph agglutinins. Dev comp. Immunol. 6, 219 230.

VASTA GR, COHEN E., (1984). Humoral lectins in the scorpion *Vaejovis confuscius*: A serological characterization. Journal of invertebrate pathology 43: 226-233 .

VASTA GR, COHEN E., (1984). Serum lectins from the scorpion *Vaejovis spinigerus* Wood bind sialic acids. Experientia (Basel) 40: 485-487.

VASTA GR, COHEN E., (1984). Characterization of the carbohydrate specificity of serum lectins from the scorpion *Hadrurus arizonensis* Stahnke. Comparative Biochemistry and physiology parte B: comparative biochemistry; 77(4), (721-727).

W

WILLIAMS S C., (2009). "Scorpions". In Vincent H. Resh & Ring T. Cardé (ed.). Encyclopedia of Insects (2nd ed.). Academic Press. pp. 904–909.

Y

YEATON R W., (1981). Invertebrate lectins: I. occurrence. *Developmental & Comparative Immunology*, 5(3), 391-402.

Z

ZHONG T Y , ARANCIBIA S, BORN R, TAMPE R, VILLAR J, DEL CAMPO M, MANUBENS A, BECKER M I., (2016). Hemocyanins stimulate innate immunity by inducing different temporal patterns of proinflammatory cytokine expression in macrophages. *The Journal of Immunology*, 196(11), 4650-4662.

A decorative scroll-like frame with a black outline and a light gray shadow. The frame is horizontal and has a vertical strip on the left side, suggesting a scroll. The word "Annexes" is centered within the frame in a bold, black, serif font.

Annexes

Annexe 1 : Matériels de laboratoire utilisés dans l'étude.



1. Le bain marie



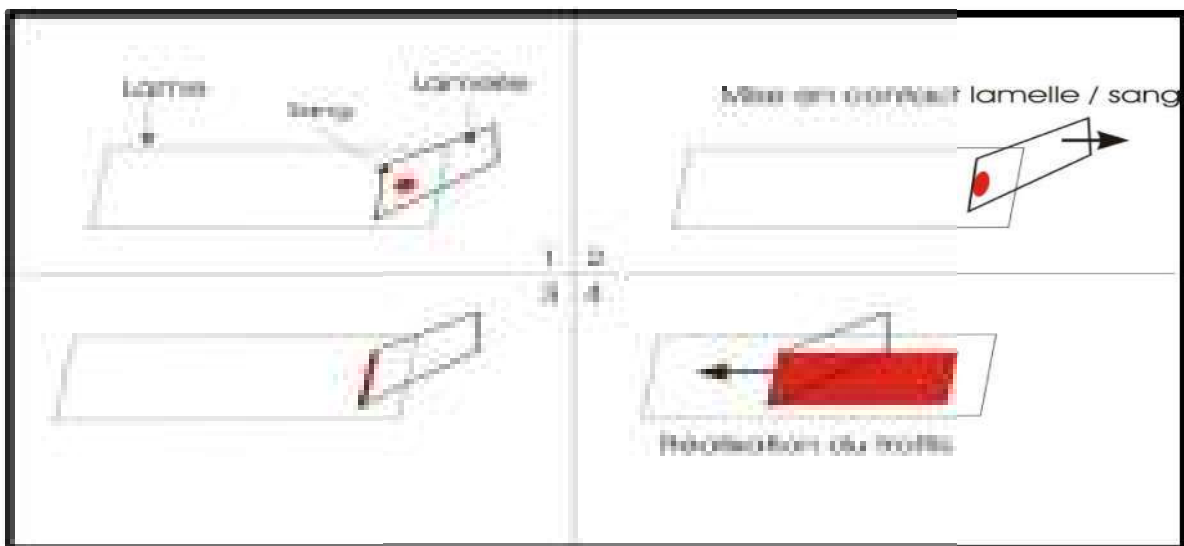
2. La balance de précision

Annexe 2 : Préparation de coloration de Giemsa.

❖ Préparation une solution de Giemsa à 10% :

- L'eau tamponnée à PH = 7,2 9 ml
- Colorant de Giemsa (solution mère).....10 ml

❖ Méthode de réalisation de frottis :



Annexe 3 : Les souris au cours de l'expérience.



Photo : Les souris dehors l'expérience.

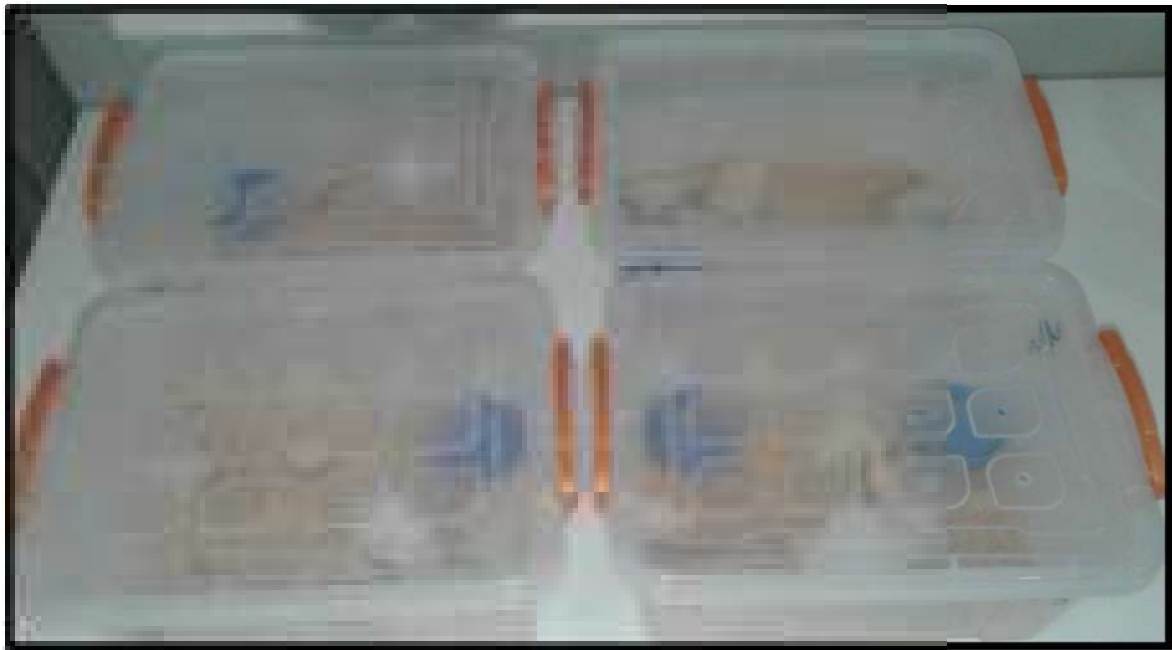








Photo : Les souris dans des cages séparé et étiqueté lors d'expérience.

Annexe 4 : Les valeurs de DL50 de quelque scorpion.

Scorpion	Nom scientifique	Valeur de DL 50 SC (sous cutané)/kg de souris
	<i>Androctonus australis</i>	0,32mg
	<i>Androctonus amoreuxi</i>	0.75mg
	<i>Scorpion maurus</i>	141.6mg
	<i>Buthacus arenicola</i>	3.5mg
	<i>Leiurus quinquestriatus</i>	0.42-0.46mg
	<i>Androctonus aeneas</i>	0.31mg

Annexe 5 : Laboratoire d'immunologie de la faculté de médecine Ouargla (lieu de réalisation notre mémoire).



Annexe 6 : Visite du ministre de santé d'Algérie précédant au laboratoire d'immunologie.



Résumé: L'envenimation scorpionique (ES) est un accident relativement fréquent dans les zones tropicales et subtropicales des cinq continents. Chaque année l'Algérie enregistre plus de 50 000 cas de piqûres de scorpions, et plus de 50 cas de décès depuis 2002. L'Algérie comme les autres pays essaie de trouver des solutions efficaces de ce problème par la recherche scientifique. Notre travail s'inscrit dans le même but de lutte contre l'envenimation scorpionique, Il consiste à une étude immunologique sur l'hémolymphe scorpionique (leur sang), en essayant de prouver la toxicité de l'hémolymphe scorpionique, son pouvoir antitoxique à l'égard de venin et son pouvoir d'agglutiner sur les érythrocytes humains.

Pour atteindre notre objectif, nous avons utilisé dans cette étude un modèle murin pour montrer la toxicité et la capacité anti-venin de l'hémolymphe scorpionique, aussi effectué un test d'hémagglutination par du plasma de l'hémolymphe scorpionique afin de montrer leur pouvoir agglutinant. Il ressort de cette étude que l'hémolymphe scorpionique à fortes doses est toxique pour les vertébrés (les souris), avec une toxicité élevée chez l'espèce *Androctonus amoreuxi* par rapport à celui d'*Androctonus australis*. Aussi il a un pouvoir anti-venin, avec une capacité d'immuniser contre le venin de scorpion et un pouvoir agglutinant sur les érythrocytes humains de groupe ABO.

Les mots clés : scorpion (*Androctonus australis*, *Androctonus amoreuxi*), envenimations scorpionique, l'hémolymphe scorpionique, la toxicité, pouvoir anti-venin, Agglutination.

Abstract: Scorpion envenomation (ES) is a relatively frequent pathology in the tropics and subtropics of all five continents. Each year Algeria records more than 50,000 cases of scorpion stings, and more than 50 cases of death since 2002. Algeria like other countries tries to find effective solutions to this problem based on scientific research. Our work is part of the same goal of fighting against scorpion envenomation, It consists of an immunological study on scorpion hemolymph (their blood), trying to evaluate the toxicity of scorpion hemolymph, its antitoxic capacity to neutralize venom and its power to agglutinate human erythrocytes. To achieve our goal, we used in this study a mouse model to show anti-venom capacity of scorpion hemolymph, also performed a hemagglutination test by scorpion hemolymph plasma. This study showed that high quantities scorpion hemolymph is toxic to vertebrates (mice), with high toxicity in the species *Androctonus amoreuxi* compared to that of *Androctonus australis*. Also it has some anti-venom power, an ability to immunize against scorpion venom and an agglutination power on human erythrocytes of the ABO group.

The key words: Scorpion (*Androctonus australis*, *Androctonus amoreuxi*), Scorpion envenomation, Scorpion hemolymph, Toxicity, Anti venom power, Agglutination.

المخلص: يعتبر التسمم العقربي من أكثر الحوادث الموجودة في المناطق الاستوائية وشبه استوائية للقارات الخمسة تسجل الجزائر كل عام ما يقارب أكثر من 50000 حالة تسمم عقربي و أكثر من 50 حالة وفاة منذ عام 2002. الجزائر مثل الدول الأخرى تسعى لإيجاد حلول فعالة لهذه المشكلة من خلال البحث العلمي . وكذلك عملنا يندرج ضمن نفس الهدف وهو محاربة التسمم العقربي. والذي يتضمن دراسة مناعية للدم العقربي في محاولة لإثبات قدرته ضد السم العقربي وقدرته على ارتصاص الكريات الدموية الحمراء للإنسان. ومن أجل الوصول إلى هدفنا استعملنا في هذه الدراسة نموذج حي وهو فئران المخبر المعدة للتجارب العلمية من أجل إثبات سمية الدم العقربي وقدرته ضد السم العقربي وكذلك استخدمنا اختبار الارتصاص لبلازما الدم العقربي كوسيلة لإثبات قدرته على ارتصاص الكريات الدموية الحمراء للإنسان حيث وجدنا انطلاقاً من هذه الدراسة أن الدم العقربي الخام سام للفقاريات (الفئران) مع تفاوت في نسبة التسمم ; حيث أن نسبة التسمم عالية لدى العقرب اندروكتونيس اموريكسي مقارنة مع العقرب اندروكتونيس اوسترليس. وكما أن الدم العقربي لديه قدرة ضد السم العقرب ومنح مناعة ضده وكذلك قدرة السم العقربي على رص الكريات الدموية الحمراء للإنسان ذات الزمر ABO .

الكلمات المفتاحية : العقارب (أندروكتونيس أموريكسي ; أندروكتونيس أوسترليس); التسمم العقربي ; الدم العقربي ; السمية ; قدرة ضد السم العقربي , ارتصاص .