

République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Kasdi Merbah – Ouargla  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département Des Sciences Biologiques



Mémoire de Master Académique  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Biochimie Appliquée

### Thème

# Étude du stress oxydant dans l'envenimation scorpionique

Présenté par

Tarfaoui Nesrin

Soutenu publiquement Le : 29/09/2020

Devant le jury :

<b>Mme. BISSATI S</b>	<b>Président</b>	Professeur	UKM Ouargla
<b>Mr. IDDER M A</b>	<b>Examineur</b>	Professeur	UKM Ouargla
<b>Mr. KERBOUA Kh</b>	<b>Promoteur</b>	MAHU	UKM Ouargla
<b>Mme. BOUDJENAH S</b>	<b>Co- Promoteur</b>	Professeur	UKM Ouargla
<b>Mr.Chahma A M</b>	<b>Invité d'honneur</b>	Professeur	UKM Ouargla

Année universitaire 2019-2020

## Remerciements

*Je remercie tout d'abord Allah, le tout puissant de m'avoir accordé la santé et le courage afin de réaliser ce modeste travail.*

*je remercie sincèrement Dr. KARBOUA K E. Maître Assistante hôpitalo Universitaire à la Faculté de Médecine de Ouargla, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'encadrer ce travail et pour la confiance qu'il m'a accordée et son accueil au laboratoire d'immunologie de l'université KASDI MERBAH, Ouargla.*

*J'exprime toute ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Madame le professeur BOUDJNAH S. pour le co-encadrement de ce travail.*

*Je remercie également le professeur IDDER A.E d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Mes remerciements s'adressent également à Madame BISSATI-BOUAFIA S. Professeur et doyenne de notre faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Profonde gratitude va à Mademoiselle BELDI N. et Mademoiselle HAMMOUDI R. pour leur soutien moral.*

*Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à mes camarades : Iman, Samah, et Hamida.*

*Mes remerciements vont aussi à mes sœurs, mes très chers parents sans qui tout cela n'aurait été possible. Merci de m'avoir permis d'aller aussi loin dans mes études et de m'avoir soutenu et supporté tout au long de ces années.*

*Enfin, que toutes les personnes qui y ont contribué de près ou de loin trouvent ici ma sincère reconnaissance et mes remerciements.*

# Dédicace

*Je tiens à dédier ce modeste travail aux plus chers à mon cœur :  
Mama et Papa qui m'a donné beaucoup de courage, de patience  
durant toutes mes études, et je demande à Dieu de les bénir à  
surveillance sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.  
Malgré tous les mots parlés, aucune dédicace ne pourrait exprimer mes  
respects à eux,*



## Liste des tableaux

Tableau 1. Classification générale du scorpion .....	14
Tableau 1. Les principaux symptômes cliniques et gradation des envenimations Scorpioniques au Maghreb. ....	36
Tableau 3. Principales espèces réactives de l'oxygène. ....	60
Tableau 4. Les sources endogènes et exogènes des espèces réactives de l'oxygène . ....	66
Tableau 5. Les grandes familles de polyphénols.....	77
Tableau 6. Les réactifs utilisés pour l'étude <i>in vitro</i> de l'activité oxydative du venin scorpionique avec le volume de chacune.....	94
Tableau 7. Les réactifs utilisés pour l'étude <i>in vitro</i> de l'effet d'antivenin (IT) sur l'activité oxydative du venin scorpionique avec le volume de chacune. ....	95
Tableau 8. Les valeurs de densité optique (DO) des milieux réactionnels 1, 2 et 3 à $\lambda=546$ nm....	101
Tableau 9. Les concentrations des MDA dans les milieux réactionnels 1, 2 et 3. ....	102
Tableau 10. Les indicateurs des pouvoirs pro-oxydants nets des venins scorpioniques (MDAb/MDA3). ....	104
Tableau 11. Les indicateurs des pouvoirs pro-oxydants des venins scorpioniques.....	106
Tableau 12. Combinaison des différents pouvoirs pro-oxydants des venins sur le plasma seul, sur les globules rouges seuls et sur le mélange du plasma et des globules rouges.....	107
Tableau 13. Les valeurs de densité optique (DO) des milieux réactionnels 1', 2' et 3' à $\lambda=546$ nm. ....	109
Tableau 14. Les concentrations des MDA dans les milieux réactionnels 1', 2' et 3'. ....	110
Tableau 15. Le pouvoir pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin (MDAb'/MDA3'). ....	112
Tableau 16. Les indicateurs des pouvoirs neutralisants d'antivenin. ....	117

## Liste des figures

Figure 1. Fossile d'un scorpion de mer .....	5
Figure 2 .Les différentes parties du scorpion .....	6
Figure 3. Des chélicères et les yeux médians et les yeux latéraux d' <i>Androctonus australis hector</i> , quoique les scorpions soient pratiquement aveugle. ....	7
Figure 4 . Les différents articles des pattes mâchoires du scorpion. ....	8
Figure 5. Les différents articles de patte ambulatoire. ....	8
Figure 6. Vue ventrale et dorsale de scorpion .....	8
Figure 7. Le tarse avec les griffes pour se déplacer et s'accrocher .....	9
Figure 8. Sternum, stigmates et opercule génital du scorpion. ....	9
Figure 9. Les peignes du scorpion .....	10
Figure 10. Opercules génitaux de mâle et femelle du scorpion.....	11
Figure 11. Les sternites et les poumons de scorpion .....	11
Figure 12. L'anus et vésicules de venin du scorpion.....	12
Figure 13. Vésicule a venin et aiguillon pour piquer les proies qu'il bloque avec les mains .....	12
Figure 14. Le dernier segment portant la vésicule à venin (telson) et l'aiguillon .....	13
Figure 15. Coupe transversal de l'ampoule venimeuse. ....	13
Figure 16. Un terrier de scorpion.....	14
Figure 17. <i>Androctonus australis</i> .....	15
Figure 18. <i>Androctonus amoreuxi</i> .....	16
Figure 19. <i>Androctonus aeneas</i> . ....	16
Figure 20. <i>Orthochirus innesi</i> .....	17
Figure 21. <i>Scorpio punicus</i> .....	18
Figure 22 . <i>Androctonus australis</i> s'alimentant d'une souris.....	18
Figure 23. Un chat essaie de tuer un scorpion. ....	19
Figure 24. Les œufs incubent et éclosent dans le ventre de la mère.....	20
Figure 25. Mâle saisit les chélicères de la femelle avec ses propres chélicères .....	20
Figure 26. Pullus réfugiés sur le dos d'une mère scorpion.....	21
Figure 27. Mue d'un scorpion adulte.....	21
Figure 28. Localisation géographique du scorpion dans le monde .....	22
Figure 29. Répartition latitudinale des scorpions .....	23
Figure 30. Répartition des différentes espèces du scorpion dans la wilaya de Ouargla.....	24
Figure 31. Extraction de venin par l'excitation électrique d'un scorpion. ....	28

Figure 32. Excitation manuelle du scorpion.....	29
Figure 33. Structure d'une toxine de scorpion. ....	30
Figure 34. Structure tridimensionnelle des toxines spécifiques des canaux sodiques et leurs sites de fixation.....	32
Figure 35. L'agitoxine 1 de <i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i> qui est une toxine $\alpha$ -KTx. ..	33
Figure 36. Quelques Effets physiopathologiques provoqués par le venin de scorpion.....	38
Figure 37. Insuffisance respiratoire aigüe après envenimation scorpionique . ....	42
Figure 38. La nature non-cardiogénique de l'installation de l'œdème pulmonaire.....	43
Figure 39. L'implication du processus inflammatoire dans l'installation de l'œdème pulmonaire.....	47
Figure 40. Rôle des cytokines dans l'orchestration du processus inflammatoire .....	50
Figure 41. Origine, régulation et effets des ERO .....	59
Figure 42. Principaux dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène et provoqués sur les lipides, les protéines et l'ADN.....	64
Figure 43. Production du monoxyde d'azote.....	64
Figure 44. Formation du peroxyde d'azote .....	65
Figure 45. Production des espèces réactives de l'oxygène par l'action des radiations ionisantes et de la lumière .....	66
Figure 46. Réactivité des Espèces De l'Oxygène et de l'Azote .....	67
Figure 47. Action de la catalase .....	70
Figure 48. L'activité de l'hème oxygénase dans la dégradation de l'hème . ....	71
Figure 49. Schéma récapitulatif des modes d'actions des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques .....	72
Figure 50. Structure de la vitamine C .....	73
Figure 51. Complémentarité entre systèmes de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques (cas de la séquence vitamine E-vitamine C-glutathion).....	74
Figure 52. Recyclage de l' $\alpha$ -tocophérol par la vitamine C .....	74
Figure 53 .Réaction de l'urate avec le radical peroxyde.....	76
Figure 54. Réaction d'urate avec le dioxyde d'azote .....	76
Figure 55 .Régénération de l'urate par l'ascorbate.....	76
Figure 56. La réaction de MDA avec TBA qui donne un produit chromogène.....	82
Figure 57. Deux tubes citratés, chacune contient 5 mL du sang O+.....	82
Figure 58. Tube sec contient 5 mL du plasma humain normal. ....	83
Figure 59. Sérum anti-scorpionique fabriqué par IPA. ....	84

Figure 60. Les venins scorpioniques des espèces : <i>A.australis</i> , <i>A.amoreuxi</i> , <i>A.aeneas</i> , <i>B.arenicola</i> , <i>O.innesi</i> , <i>B.occitanus</i> et <i>S.punicus</i> , à concentration 100 µg/mL. ....	84
Figure 61. Flacon d'acide thiobarbiturique fabriquée par les laboratoires SIGMA-ALDRICH. ....	85
Figure 62. Solution du chlorure de sodium (0.9%). ....	86
Figure 63. Une solution de TBA (0,67 %). ....	87
Figure 64. Une solution de TCA (10 %). ....	87
Figure 65. Lavage des globules rouges. ....	88
Figure 66. Les différents milieux réactionnels utilisés pour l'étude <i>in vitro</i> des pouvoirs pro-oxydants des venins scorpioniques en absence de l'immunothérapie. ....	89
Figure 67. Les différents milieux réactionnels utilisés pour l'étude <i>in vitro</i> de des pouvoirs pro-oxydants des venins scorpioniques, en présence de l'IT. ....	90
Figure 68. Incubation des différents milieu réactionnels dans le bain marie. ....	91
Figure 69. Le plan expérimental.....	93
Figure 70. Le premier chauffage dans le test des TBARS. ....	96
Figure 71. Les concentrations des MDA dans les milieux réactionnels 1, 2 et 3.....	103
Figure 72. L'exploitation des donnés. ....	104
Figure 73. Les indicateurs des pouvoirs pro-oxydants nets des venins scorpioniques (MDAb/MDA3).....	105
Figure 74. Les concentrations des MDA dans les milieux réactionnels 1', 2' et 3'.....	111
Figure 75. L'exploitation des donnés. ....	112
Figure 76. Le pouvoir pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin (MDAb'/MDA3'). .....	113
Figure 77. Comparaison entre les concentrations des MDA1 du milieu réactionnel 1 et celles du milieu réactionnel 1'. ....	114
Figure 78. Comparaison entre les concentrations des MDA2 du milieu réactionnel 2 et celles du milieu réactionnel 2'. ....	115
Figure 79. Comparaison entre les concentrations des MDA3 du milieu réactionnel 3 et celles du milieu réactionnel 3'. ....	116
Figure 80. Les indicateurs du pouvoir neutralisant d'antivenin. ....	118



## Liste des abréviations

**102** : Oxygène singulet

**A.aeneas** : *Androctonus aeneas*

**A.amoreuxi** : *Androctonus amoreuxi*

**A.australis** : *Androctonus australis*

**Aah II** : Toxine II du venin d'*Androctonus australis hector*

**Aah**: *Androctonus australis hector*.

**Aah-FG50** : Fraction toxique majoritaire

**Ac** : anticorps

**ADN** : Acide désoxyribonucléotidique

**AL** : Acide lipoïque

**AM** : *Androctonus amoreuxi*.

**ANP** : atrial natrium peptid

**Asc-H<sup>-</sup>** : Anion ascorbate ou vitamine C

**B.arenicola** : *Buthacus arenicola*

**B.occitanus** : *Buthus occitanus*

**C3** : Fraction 3 du complément

**C3a** : Anaphylatoxine 3

**C5b** : Anaphylatoxine 5

**Ca<sup>++</sup>**: Canaux potassium.

**CAT** : Catalase

**CI**: Complexe Immun.

**Cl<sup>-</sup>** : Ion chlorure

**CN**: tube controle négative

**Cn2** : Toxine 2 de *Centruroides noxius*

**CO** : Monoxyde de carbone



**COX** : Cyclo-oxygénase

**CPK** : Créatine Phosphate Kinase

**CRM** : Chaîne respiratoire mitochondriale

**CRP** : C Reactiv Protein

**Cu/Zn-SOD** : Superoxyde dismutae à cuivre et à zinc

**DHAL**: Acide dihydrolipoïque

**DL50** : Dose létale de 50% de la population.

**ELISA**: Enzym Linked Immunosorbant Assay.

**ERN** : Espèces réactives de l'azote

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**ES** : Envenimations Scorpioniques.

**F (ab')<sub>2</sub>** : Fragment Antigen Binding.

**FAC** : facteur artériale

**Fc** : Fragment Constant.

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Fer ferrique

**FNA** : un facteur natriurétique atrial

**GPx** : Glutathion peroxydase

**GR** : Glutathion réductase

**GSH** : Glutathion réduit

**GSSG** : Glutathion oxydé ou bisulfure de glutathion

**GST** : Glutathion S transférase

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène, dioxyde de dihydrogène ou eau oxygénée

**HDL** : Lipoprotéine de haute densité

**His** : Histidine

**HO-1** : Hème oxygénase-1

**HO<sub>2</sub><sup>·</sup>** : Hydroperoxyde

**i.p** : injection intra-péritonéal

**IFN** : Interféron

**IgG** : Immunoglobuline de type G.

**IL** : Interleukine

**IL** : Interleukin

**IT** : immunothérapie antiscorpionique

**K<sup>+</sup>** : Potassium

**kDa** : Kilo Dalton

**KTX** : Fragment Antigen Binding.

**LDH** : Lactate Déshydrogénase

**LDL** : Lipoprotéine de densité légère ou lipoprotéine de basse densité

**LTB 4** : Leucotriènes B4

**LTD4** : Leucotriènes D4

**MDA** : Malondialdéhyde

**Mn-SOD** : Superoxyde dismutase à manganèse

**NO<sup>·</sup>** : Monoxyde d'azote

**NOS** : Monoxyde d'azote synthase

***O.innesi*** : *Orthochirus innesi*

**O<sub>2</sub>** : Oxygène moléculaire

**O<sub>2</sub><sup>·-</sup>** : Anion superoxyde

**O<sub>3</sub>** : Ozone

**OAP**: Oedème Aigu Pulmonair

**OH<sup>·</sup>** : Hydroxyle

**ONOO<sup>-</sup>** : Peroxinitrite

**OSI** : indice du stress oxidative

**PAF:** Plaquet Activated Factor

**PAL:** Phosphatase Alcaline

**PC3 :** cellules cancéreuses de prostate

**PGD2:** Prostaglandines D2

**PHN :** plasma humain normal

**pmol :** pico mol

**PNN:** Poly Nucléaire Neutrophiles.

**Prx :** Peroxyrédoxine Prx/Trx : Système peroxyrédoxine / thiorédoxine

**RIA :** Radio Immuno Assay.

**RL :** Radical libre ou radicaux libres

**RO<sup>·</sup> :** Alkoxyde

**RO<sub>2</sub><sup>·</sup> :** Peroxyle

**ROOH :** Peroxyde organiques ou hydroperoxyde

*S.punicus : Scorpion punicus*

**SC.FV:** Single Chain Fragment Variable

**Se :** Sélénium

**SOD :** super oxyde dismutase

**TAS :** statut antioxydant total

**TBA :** acide thiobarbiturique

**TBARS :** substances réagissant avec l'acide Thio barbiturique

**TCA :** acide trichloracétique

**TNF:** Tumor Necrosis Factor.

**TOS :** statut oxydant total

*Tsg : Tityus serrulatus*

**VBS :** tampon véronal

# Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : généralité sur les scorpions .....</b>	<b>5</b>
I.1. Histoire.....	5
2. Morphologie du scorpion .....	6
I.2.1. Le corps.....	6
I.2. 1. 1. Prosoma ou céphalothorax .....	6
I.2.1.2. Mésosoma .....	9
I.2. 1. 3. Métasoma.....	11
I.3. Systématique.....	14
I.4. Éthologie.....	14
I.5. Espèces existant dans la wilaya d’Ouargla .....	15
I.5.1. <i>Androctonus australis</i> .....	15
I.5.2. <i>Androctonus amoreuxi</i> .....	15
I.5. 3. <i>Androctonus aeneas</i> .....	16
I.5. 4. <i>Buthacus arenicola</i> .....	16
I.5. 5. <i>Orthochirus innesi</i> .....	17
I.5. 6. <i>Buthus occitanus tunetanus</i> .....	17
I. 5. 7. <i>Buthacus samiae</i> .....	17
I.5. 8. <i>Scorpio punicus</i> .....	17
I.6. Régime alimentaire .....	18
I.7. Parasitisme .....	18
I.8. Les prédateurs .....	19
I.9. Reproduction.....	19
I. 10. Répartition géographique.....	22
I. 10. 1. Dans le monde.....	22
I.10 .2. Dans l’Algérie.....	23
I.10. 3. Répartition du scorpion en Ouargla .....	23

## **Chapitre II : Généralité sur les venins scorpioniques ..... 26**

II.1. Introduction .....	26
II. 2. Propriétés .....	26
II. 3. Méthode de collection du venin.....	27
II. 4. Composition de venin.....	29
II. 5. Les toxines du scorpion et leur mode d'action.....	30
II.5.1. Structure.....	30
II. 5.2. Classification .....	30
II. 5. 2. 1. Toxines actives sur les canaux sodium.....	31
II. 5. 2. 2. Toxines actives sur les canaux potassium.....	32
II.5.2.3.Toxines actives sur les canaux Chlore Cl.....	33
II. 5. 2. 4. Toxines actives sur les canaux calcium .....	33

## **Chapitre III. Physiopathologie de l'envenimation scorpionique..... 35**

III .1 .Toxicocénitique du venin de scorpion.....	35
III. 2. Manifestations clinique de l'envenimation scorpionique .....	35
III. 3. Physiopathologie de l'envenimation scorpionique.....	37
III. 3. 1. Troubles neuro-hormonaux.....	38
III .3 .2. Perturbation hémodynamique (cardiovasculaire).....	39
III. 3. 3. Trouble respiratoire .....	40
III. 3.4. Atteinte digestive.....	44
III. 3. 5. Variations métabolique .....	44
III. 3 .6. Perturbation de l'équilibre électrolytique.....	45
III. 3. 7. Processus inflammatoire induit par le venin .....	45
III.3.8.Implication des cytokines dans l'envenimation scorpionique.....	49
III . 4. Traitements anti-scorpioniques .....	52
III. 4. 1. Les traitements symptomatiques .....	52
III. 4. 2. L'immunothérapie .....	53

## **Chapitre IV. Généralité sur le stress oxydant ..... 59**

IV. 1. Les pro-oxydants.....	59
VI. 1. 1. Les différentes espèces réactives de l'oxygène (ERO) .....	59
IV. 1. 1. 1. Anion superoxide .....	60
VI. 1 .1 .2. Le radical hydroxyle .....	61

IV. 1. 1. 3. Le peroxyde d'hydrogène .....	62
IV. 1. 1. 4. Les radicaux peroxytes.....	62
VI. 1. 1. 5. Les alkoxytes.....	63
VI. 1. 2. Les espèces réactives de l'azote (ERN) .....	64
VI. 1. 2. 1. Le monoxyde d'azote.....	64
IV. 1. 2. 2. Le peroxytnitrite.....	65
IV. 1. 3. Les sources endogènes et exogènes des espèces réactives de l'oxygène .....	65
IV. 2. Les systèmes de défenses antioxydants.....	67
IV. 2. 1. Systèmes de défenses antioxydants enzymatiques.....	68
IV. 2. 1. 1 Les superoxydes dismutases (SOD).....	68
IV. 2. 1. 2. Les glutathion peroxydases (GPx) .....	69
IV. 2. 1. 3. Le système peroxyrédoxine / thiorédoxine (Prx/Trx) .....	69
IV. 2. 1. 4. Les catalases (CAT) .....	70
IV. 2. 1. 5. L'hème oxygénase .....	71
IV. 2. 1. 6. Les glutathion réductases (GR).....	71
IV. 2. 2. Système de défenses antioxydants non enzymatiques .....	72
II. 2. 2. 1. Le glutathion.....	72
IV. 2. 2. 2. La vitamine C.....	73
IV. 2. 2. 3. La vitamine E .....	74
IV. 2. 2. 4. Les caroténoïdes .....	74
IV. 2. 2. 5. Les oligo-éléments (métaux de transition) .....	75
IV. 2. 2. 5. 1. Le sélénium .....	75
IV. 2. 2. 5. 2. Le cuivre .....	75
IV. 2. 2. 5. 3. Le zinc.....	75
IV. 2. 2. 6. Hormones sexuelles (Oestrogènes).....	75
IV. 2. 2. 7. Mélanine.....	76
IV. 2. 2. 8. Mélatonine .....	76
IV. 2. 2. 9. Acide Urique .....	76
IV. 2. 2. 10. Les protéines de stockage des métaux de transition.....	77
IV. 2. 2. 11. Polyphénols.....	77

## **Chapitre I : Matériels et méthodes..... 81**

I.1. Lieu du travail.....	81
I.2. Matériel.....	82
I. 2. 1. Matériels biologiques.....	82
I.2.2. Matériels non biologique .....	84

I.2.2.1. Réactifs et produits chimiques .....	84
I.2. 2. 2. Appareillage et équipement .....	85
I.2.2.3. Instrument .....	85
I.2.2.4. Solvants et tampon.....	85
I.3. Méthode .....	86
I.3.1. Préparation des réactifs du test des TBARS .....	86
I.3.2. Lavage des globules rouges .....	88
I.3.3. Incubation du venin de chaque espèce du scorpion avec les différentes matrices.....	88
I.3. 4. Mesure du MDA .....	96
<b>Chapitre II :Résultats .....</b>	<b>100</b>
II.1. Résultats de l'étude du pouvoir pro-oxydant des venins scorpioniques.....	101
II. 2. Résultats de l'étude du pouvoir pro-oxydants des venins scorpioniques en présence d'antivenin (IT) .....	108
<b>Chapitre III : Discussion .....</b>	<b>119</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>126</b>
<b>References bibliographiques .....</b>	<b>129</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>154</b>



# *Introduction*

L'envenimation scorpionique (ES) constitue un accident à la fois fréquent et grave, il pose un réel problème de santé publique dans les zones tropicales et subtropicales des cinq continents, (GOYFFON *et al.* , 1982 ; CHIPPAUX et GOYFFON ,2008 ; ISBISTER et BAWASKAR ,2014).

En effet, en l'Algérie la piqûre du scorpion constitue une vraie menace. Les venins du scorpion consistent en un complexe de plusieurs toxines qui présentent plusieurs propriétés et actions biologiques, aussi des caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (EREL ,2004 ; YILMAZ et BOSNAK ,2007).

La gravité de l'ES dépend de plusieurs facteurs, tels que l'espèce et la taille du scorpion, la quantité de venin inoculé, la masse corporelle de la victime et la sensibilité du patient à venin (COELHO *et al.* , 2016).

Bien que, le mécanisme par lequel les venins scorpioniques provoquent la défaillance multi-viscérale constatée dans les formes graves d'envenimation scorpionique soit pas bien élucidé, il y a des études montrent que la symptomatologie, la morbidité et la mortalité dans l'ES sont dues à la libération accrue de neuromédiateur, ce qui suit la liaison des neurotoxines du venin scorpionique aux canaux sodiques voltage-dépendant (BAHLOUL , 2016).

Tandis que, d'autres études ont montré que les signes et symptômes observés chez l'homme et les animaux de laboratoire sont liés à une réponse inflammatoire systémique excessive de l'hôte aux piqûres (PETRUSEVICH, 2010).

Plusieurs modèles théoriques ont été proposé pour expliquer l'origine du stress oxydatif lors ES, parmi lesquels le modèle toxinique qui parle sur l'action directe du venin scorpionique sur les cellules via le stress oxydatif (MOUHOUB, 2007 ; BÉCHOHRA *et al.*, 2016).

Ainsi que, la théorie inflammatoire qui propose que l'action du système nerveux qui potentialise la réponse immunitaire déclenchée par le venin et la libération des neurotransmetteurs, stimule la synthèse des médiateurs inflammatoires, les molécules vasodilatatrices, les cytokines et les radicaux libres par les cellules immunitaires (FIALHO *et al.*, 2011 ; ZOCCAL *et al.*, 2011; BORGES *et al.*,2011).

Dans les conditions normales, les cellules hôtes sont protégées contre les effets toxiques des espèces réactives de l'oxygène par les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. L'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène pendant les perturbations physiopathologiques et inflammation chronique, peut activer les mécanismes

de défense du corps et conduisent à un stress oxydatif qui généralement provoque des lésions cellulaire et tissulaire (TEIXEIRA *et al.* , 2011).

Le terme «stress oxydatif» est adopté pour décrire toute condition qui peut entraîner une accumulation des radicaux libres, ces derniers désactivés par des molécules appelées antioxydants (MORGAN *et al.* , 2002).

L'immunothérapie est le seul traitement spécifique préconisé pour neutraliser les effets délétères, causés par les venins chez les victimes envenimées (KRIFI *et al.*, 1999 ; DEVAUX et ROCHAT, 2002 ; HAMMOUDI-TRIKI, 2004).

L'objectif principal de cette étude est d'examiner *in vitro* les pouvoirs oxydatifs des venins des sept espèces du scorpion qui sont : *Androctonus australis*, *Androctonus amoreuxi*, *Androctonus aeneas*, *Buthacus arenicola*, *Orthochirus innesi*, *Buthus occitanus* et *Scorpio punicus*, sur le plasma seul, sur les globules rouges seuls et sur le mélange du plasma et des globules rouges, encore l'effet de l'immunothérapie sur ces pouvoirs oxydatifs.

Ceci afin d'une meilleure compréhension de stress oxydant déclenché en cas de la piqure du scorpion et si l'immunothérapie est efficace ou non de moduler ce stress.

Dans ce travail, nous avons établi un protocole qui vise à mesurer les taux de l'un des biomarqueurs de peroxydation lipidique (MDA), qui se produit lors le stress oxydatif dans 3 matrices biologiques (le plasma seul, les globules rouges seuls, le mélange du plasma et des globules rouges) en absence et en présence de l'immunothérapie.

Ceci afin d'une meilleure compréhension de stress oxydant déclenché en cas de la piqure du scorpion et si l'immunothérapie est efficace ou non de moduler ce stress.

Dans ce travail, nous avons établi un protocole qui vise à mesurer les taux de l'un des biomarqueurs de la peroxydation lipidique (MDA), qui se produit lors du stress oxydatif dans 3 matrices biologiques (le plasma seul, les globules rouges seuls, le plasma et le mélange du plasma et des globules rouges) en absence et en présence de l'immunothérapie.

# *Partie théorique*

*Chapitre I*  
*Généralités sur les*  
*scorpions*

### **I.1. Histoire**

Les scorpions sont des Arthropodes Chélicérates les plus anciennement connus, ces animaux apparus sur la terre à l'ère primaire, il y a quelques quatre cent millions d'années, les fossiles de ces premiers spécimens (figure 01) montrent une morphologie très comparable à celle des scorpions actuels (**VACHON, 1952**).

Ils font leur apparition, en milieu aquatique au Silurien, il y a 450 millions d'années (**GOYFFON, 2002 ; PISANI *et al.*, 2004**).

La transition vers le milieu terrestre s'est effectuée entre le Carbonifère et le Dévonien (entre 380 millions et 350 millions d'années) (**DUNLOP et WEBSTER, 1999**).

Actuellement, toutes les espèces sont terrestres (**BRIANNA *et al.*, 2005**).

Ces Arthropodes thermophiles 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 (**SOULAYMANI *et al.*, 1999**).

Dans le monde, plus que 1500 espèces de scorpions sont décrites par les zoologistes. Elles sont toutes venimeuses mais inégalement dangereuses pour l'homme (**OZKAN et KARAER, 2004 b**)



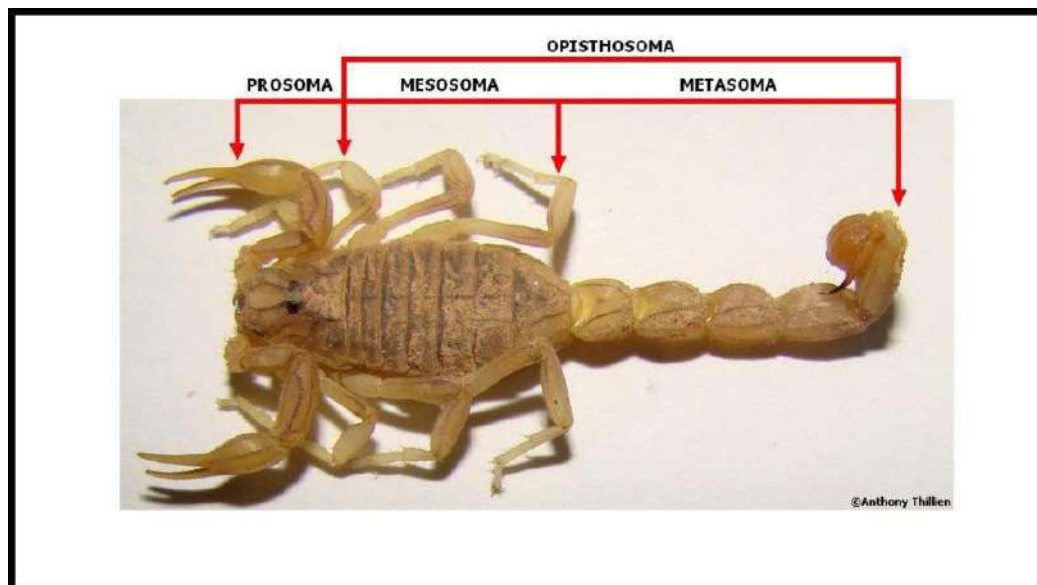
**Figure 1. Fossile d'un scorpion de mer (site 01).**

## 2. Morphologie du scorpion

En général, les scorpions adultes ne dépassent pas 25cm (STOCKMANN et YATHIER, 2010) ceux de l'Afrique du Nord, variant entre 2 et 12cm (VACHON, 1952).

### I.2.1. Le corps

Le corps d'un scorpion se divise en deux parties : le prosoma ou céphalothorax, et l'opisthosoma ou abdomen. Ce dernier est subdivisé en deux sous-parties : le mésosoma ou préabdomen et le métasoma ou postabdomen ou queue (figure 02) (MILLOT & VACHON, 1949 ; VACHON, 1952 ; POLIS, 1990 ; STOCKMANN & YTHIER, 2010).



**Figure 2 .Les différentes parties du scorpion (site 02).**

Les deux premiers tagmes forment un ensemble couramment désigné sous le nom de tronc, 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).

#### I.2. 1. 1. Prosoma ou céphalothorax

Le Prosome est dorsalement recouvert d'un bouclier céphalothoracique trapézoïdal et portant 2 yeux médians et 3 à 5 paires des yeux latéraux situés antérieurement (figure 03), à l'avant une paire de chélicères, il porte également une paire de pédipalpe, ventralement quatre paires de pattes locomotrices et les hanches de ces pattes (VACHON, 1952).

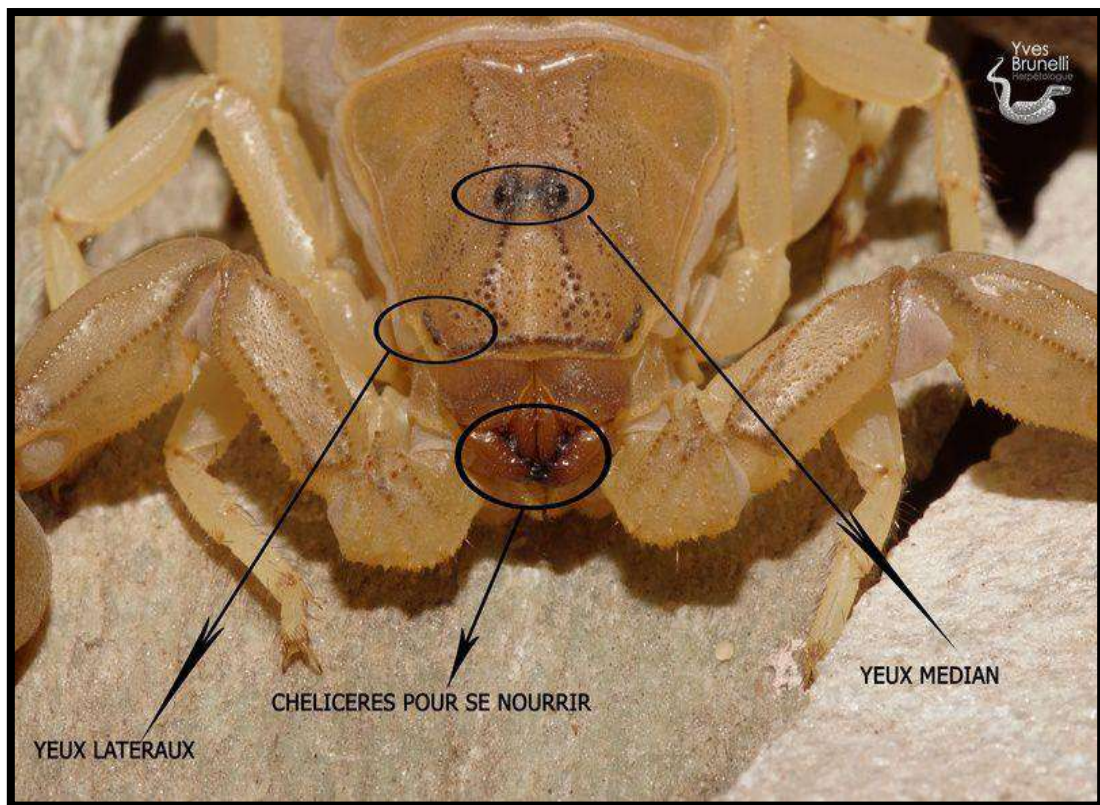
Les hanches laissent entre elles un espace occupé par une plaque impaire qui est le sternum (GRASSE, 1949).



Il comprend aussi :

**a) Chélicères**

Situées tout à l'avant du corps, elles sont petites, très mobiles et rétractées sous le céphalothorax (figure 03). Elles sont utilisées à la place des dents pour broyer les proies (GRASSE, 1949).



**Figure 3. Des chélicères et les yeux médians et les yeux latéraux d'*Androctonus australis Hector*, quoique les scorpions soient pratiquement aveugle (site 03).**

**b) Les pattes mâchoires**

Toujours très développées, elles possèdent six articles (figure 04), qui diffèrent selon les espèces. Enfin le trochanter, le fémur, du point de vue morphologique, n'offrent que peu de variations spécifiques ou sexuelles. Les pattes mâchoires servent à la capture des proies et ne portent aucun organe venimeux (GRASSE, 1949).

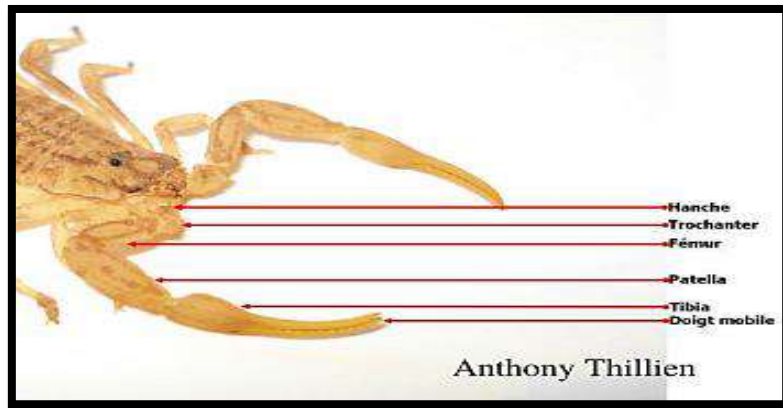


Figure 4 . Les différents articles des pattes mâchoires du scorpion (site 02).

### c) Pattes ambulatoires

Elles sont au nombre de huit, ces pattes sont composées de 7 articles chacune (figure 05). Les hanches des pattes 2 sont très développées, tandis que des pattes 3 et 4 sont obliques, nettement plus longues et plus étroites que celles des pattes antérieures (figure 06). Les autres articles portent des poils ou soies, sauf le talon ou le tarse qui porte 2 griffes généralement courbées et fines (figure 07), servant à l'escalade dans les endroits inclinés (**GRASSE, 1949**).

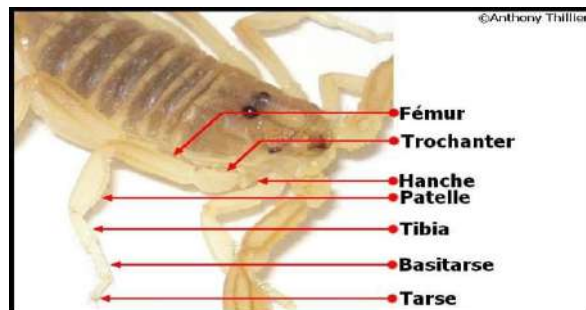


Figure 5. Les différents articles de patte ambulatoire (site 02).

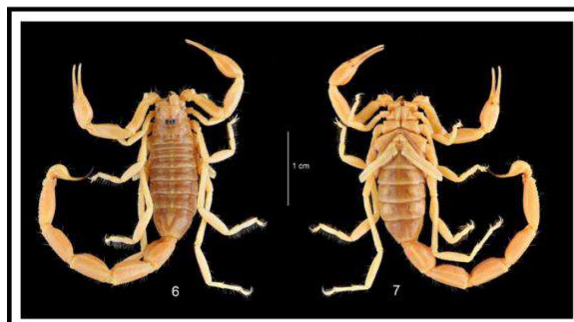


Figure 6. Vue ventrale et dorsale de scorpion (site 04).

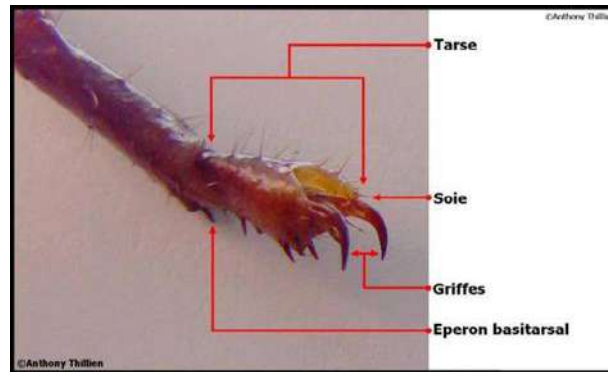


Figure 7. Le tarse avec les griffes pour se déplacer et s'accrocher (site 02).

### I.2.1.2. Mésosoma

À 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. Ventralement, cinq plaques appelées les sternites sont visibles, généralement lisses portant chacune une paire de fentes stigmatiques, sauf la dernière (GRASSE., 1949 ; GAUDREAU, 2002).

En avant de ces plaques, les segments sont ventralement reconnaissables grâce à leurs appendices : les peignes et l'opercule génital (GRASSE, 1949).

#### ➤ Opercule génital et peignes (système reproducteur)

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 (GRASSE, 1949).

La forme de l'opercule subit des modifications d'ordre sexuel (figure 08) (GRASSE, 1949).

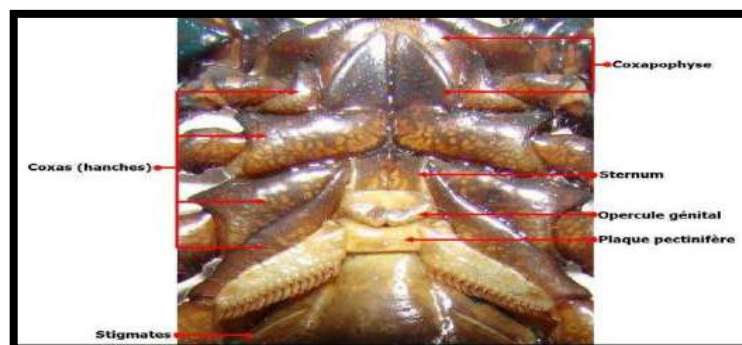
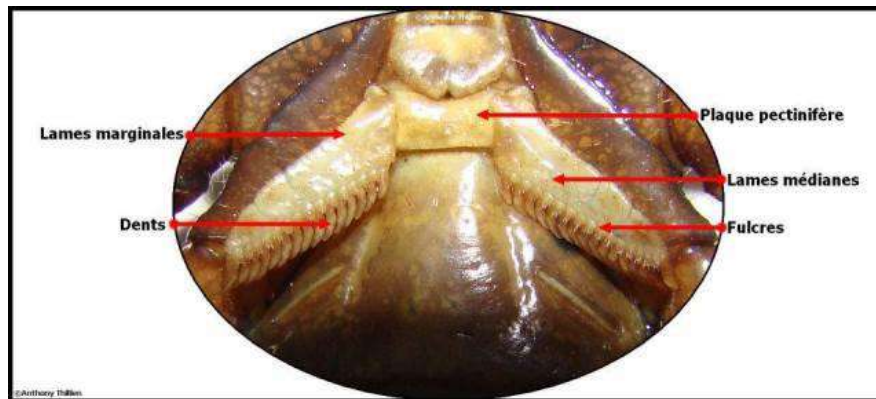


Figure 8. Sternum, stigmata et opercule génital du scorpion (site 02).

Les peignes sont formés de trois séries longitudinales de pièces juxtaposées : les pièces dorsales ou manche du peigne, les peignes médians, sur lesquels viennent s'insérer les dents ou lamelles (figure 09). A la base de chaque lamelle, de petites pièces arrondies appelées fulcres constituent la troisième série longitudinale (GRASSE, 1949).



**Figure 9. Les peignes du scorpion (site 02).**

Juste au-dessous le sternum se trouve une paire d'appendices uniques aux scorpions appelés pectines. Ces structures fonctionnent principalement comme des chimiorécepteurs qui permettent aux mâles de localiser les femelles en traçant ses phéromones (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 mal que chez la femelle, la forme triangulaire de l'orifice génital de cette dernière s'apparente à celle d'un cœur (les opercules sont fusionnés), tandis qu'elle est plutôt ovale chez son partenaire (figure 10). La pointe du cœur en question est orientée le métasome (BELFAR et MOUICI, 2019).

La femelle est plus robuste que le mâle pendant que le mâle a une plus longue queue que la femelle (voir figure 25) (CHAGRA et LATRECHE ,2008).

Dans le mésosoma, on trouve aussi les poumons qui sont au nombre de 8 dont 2 situés sous les peignes (figure 11). Ce sont les vestiges des branchies lorsque le scorpion vivait dans l'eau. Son orifice est appelé stigmat.



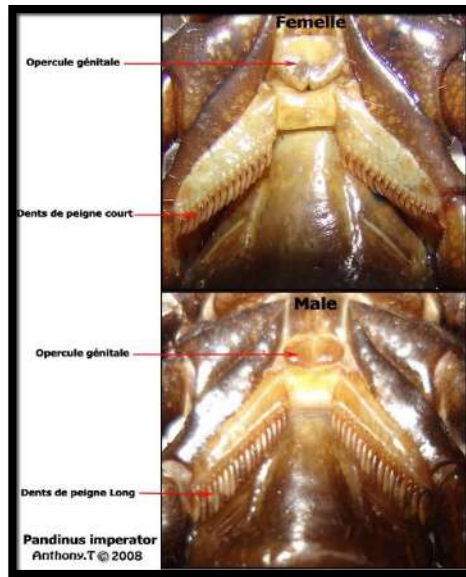


Figure 10. Opércules génitaux de mâle et femelle du scorpion (site 05).

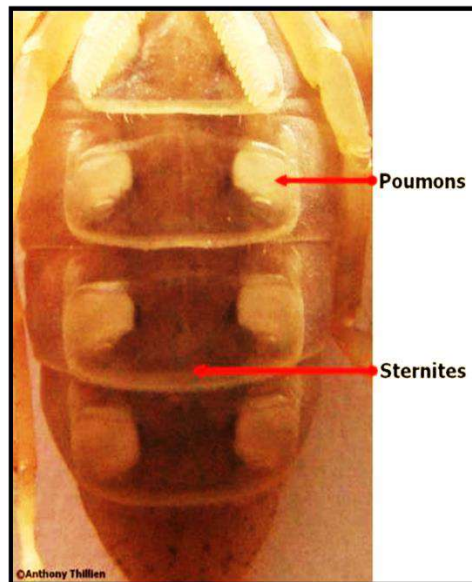


Figure 11. Les sternites et les poumons de scorpion (site 02).

### I.2. 1. 3. Métasoma

En général, la queue d'un scorpion est un peu plus longue que le tronc. On compte toujours cinq segments ou anneaux se termine par le telson (**BROGLIO ,1980**).

Chaque segment est indéformable par suite de l'absence de chitine pleurale. 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

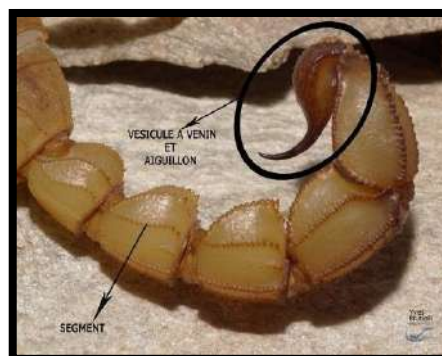
(GRASSE, 1949). L'anus débouche ventralement entre plusieurs papilles blanchâtres à travers la chitine, reliant le cinquième anneau et la vésicule à venin (figure 12) (GRASSE, 1949).



**Figure 12. L'anus et vésicules de venin du scorpion (site 03).**

➤ **L'appareil venimeux (telson)**

L'appareil venimeux des scorpions est situé à l'extrémité postérieure du corps, dans le telson sous forme d'ampoule à injecter le venin (Figure 13) (GRASSE, 1949).



**Figure 13. Vésicule a venin et aiguillon pour piquer les proies qu'il bloque avec les mains (site 03).**

Il est renflé sous forme de vésicule munie d'un aiguillon, celle-ci est revêtue d'une couche musculaire qui permet par sa contraction, l'inoculation du venin (MAANANE ET NOUBA, 2019).

On y distingue deux parties :

- **L'appareil inoculateur** : formé par un aiguillon effilé vers le haut et de deux orifices latéraux sub-terminaux, servant d'orifice de sortie aux canaux évacuateurs chitineux de chaque glande (figure 14).

- **La partie glandulaire** : le venin s'accumule dans des glandes à venin qui sont chez le scorpion des organes d'excrétion rattachables au tube digestif (figure 15) (MARTIN -EAUCLAIRE *et al.*, 1999).

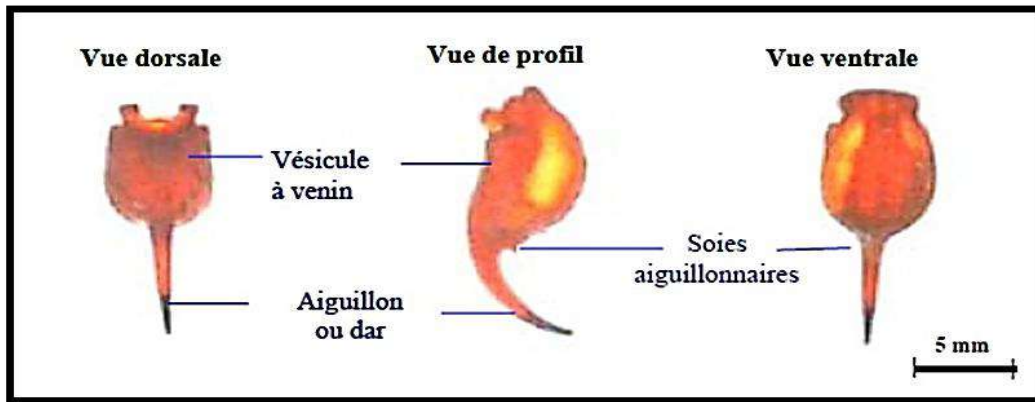


Figure 14. Le dernier segment portant la vésicule à venin (telson) et l'aiguillon (ANONYME, 2004).

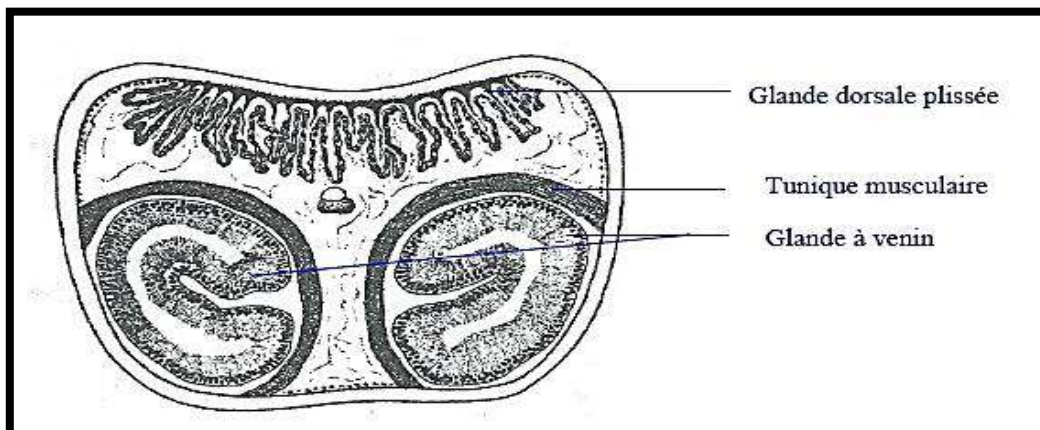


Figure 15. Coupe transversal de l'ampoule venimeuse (VACHON, 1952).



### I.3. Systématique

Tableau 1. Classification générale du scorpion (MAANANE et NOUBA, 2019).

Règne	Animal
Embranchement	Arthropodes
Sous-embranchement	Chélicérates
Classe	Arachnides
Ordre	Scorpionidés

Il existerait plus de 1500 espèces des scorpions recensés dans le monde réparties en 09 familles (MOUICI et BELFAR, 2019).

Les scorpions les plus dangereux du monde se caractérisent par des pinces fines, une queue large et triangulaire (TOUREILLES, 2002).

La famille comprenant les individus les plus dangereux est celle des Buthidae. Si tous les scorpions sont venimeux, seule une vingtaine d'espèce seraient mortelle pour l'homme (KHECHEKHOUCHE et HAMDAT, 2007).

Le scorpion est un poïkilotherme car il ne possède pas le système de régulation thermique des animaux supérieurs et sa température suit les fluctuations de la température extérieure lorsque la température extérieure est basse l'activité biologique du scorpion est considérablement ralentie (KHIATI, 1984).

### I.4. Éthologie

En général, les scorpions vivent en groupe (VACHON, 1952). On les trouve dans des habitats divers : sous les pierres, les rochers, les écorces d'arbres et les vieilles constructions. Ils cherchent les coins obscurs où ils creusent des terriers (figure 16) (ISMAIL, 2003 ; GEOFFERY *et al.*, 2003).



Figure 16. Un terrier de scorpion (site 06).

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 (**PINKSTON et WRIGHT, 2001**).

Ils sont nocturnes, de nature craintive, actifs au printemps et en été et ils entrent en hibernation dès le début de l'automne (**SADINE, 2005 ; GOYFFON et ELAYEB, 2002**).

Certaines espèces peuvent conserver leur potentiel d'activité durant la saison froide (**BROGLIO et GOYFFON, 1980**).

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 (**CHARNOT et FAUVE, 1934**).

## **I.5. Espèces existant dans la wilaya de Ouargla**

### **I.5.1. *Androctonus australis* (LSINNAEU, 1758)**

Grand espèces 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 (figure 17) (**VACHON, 1952**).



**Figure 17. *Androctonus australis* LSINNAEU, 1758 (SADINE, 2005)**

### **I.5.2. *Androctonus amoreuxi* (AUDOUIN et SAVIGNY, 1812 et 1826)**

C'est une espèce ressemble beaucoup à *A. australis* (même couleur, même dimension, même coloration des derniers anneaux de la queue). Mais la queue est beaucoup plus fine à partir du 3ème anneau (figure 18) (**VACHON, 1952**).



**Figure 18.** *Androctonus amoreuxi* AUDOUIN et SAVIGNY, 1812 et 1826  
(SADINE, 2005)

#### **I.5. 3. *Androctonus aeneas* (KOCH, 1839)**

C'est un scorpion noir de 7 à 8 cm de longueur, de couleur brun sombre à noir, avec l'extrémité des pattes ambulatoires et des pinces plus claires (figure 19) (VACHON, 1952 ; LOURENÇO, 2005).



**Figure 19.** *Androctonus aeneas* KOCH, 1839 (SADINE, 2005).

#### **I.5. 4. *Buthacus arenicola* (SIMON, 1885)**

Scorpion avec taille de 5 à 6 cm, de couleur jaune paille à jaune fluorescent, leur queue plus longue et très fine. Sa distinction est très facile grâce à leurs appendices très fins (VACHON, 1952).

**I.5. 5. *Orthochirus innesi* (SIMON, 1910)**

Est un scorpion de petite taille de 3.5 cm, et de teinte sombre allant du fauve rougeâtre au noir. Les pattes mâchoires et les pattes ambulatoires sont de teinte uniforme et claire (figure 20) (VACHON, 1952).



Figure 20. *Orthochirus innesi* SIMON, 1910 (SADINE, 2005).

**I.5. 6. *Buthus occitanus tunetanus* (HERBST, 1800)**

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 (VACHON, 1952).

**I. 5. 7. *Buthacus samiae* (LOURENÇO et SADINE, 2015)**

Scorpion de taille moyenne variant de 5 à 6 cm, de couleur jaune claire à jaune paille. Sa queue est longue et très fine. Les doigts sont fixes et mobiles avec 8-9 séries de granules de couleur sombre. Les peignes comprennent 28-32 dents chez le mâle et 24-26 chez la femelle (LOURENÇO et SADINE, 2015).

**I.5. 8. *Scorpio punicus* (FET, 2000)**

Scorpion de taille variable entre 5 à 7 cm. sa couleur de brun clair au jaunâtre, reconnaissable à partir de ses pédipalpes robustes et son céphalothorax à front bilobé (VACHON, 1952). Il est très agressif mais moyennement dangereux (figure 21) (SADINE, 2012).



Figure 21. *Scorpio punicus* FET, 2000 (SADINE, 2005).

### I.6. Régime alimentaire

Ils se nourrissent de proies vivantes ou fraîchement tuées, essentiellement d'insectes (petits coléoptères, papillons, criquets, sauterelles, fourmis...), des cloportes, d'arachnides (araignées, opilions...) et d'autres arthropodes (WILLIAMS, 1987). Ils absorbent rarement les substances végétales (OUDIDI, 1995). Les gros scorpions se nourrissent d'invertébrés, de petits lézards, de serpents et même de petites souris (figure 22) (GOUGE *et al.*, 2001).

Les scorpions sont cannibales inter/intra espèces (peuvent manger d'autres espèces scorpioniques et les plus petits de leur espèce) et même la mère peut manger ses jeunes (VACHON, 1952 ; SADINE, 2005).



Figure 22 . *Androctonus australis* s'alimentant d'une souris (SADINE, 2010).

### I.7. Parasitisme

Les scorpions sont généralement parasités par des nématodes (larves de Mermithidae) au niveau des cavités du mésosome et du métasome ; et des acariens (Acaridae,

Pterygosomidae,...) au niveau des peignes et la membrane articulaire de la chitine (**Mc CORMICK et POLIS, 1990**).

### **I.8. Les prédateurs**

Bien que venimeux, ils sont eux-mêmes la proie de d'autres arthropodes comme : la Mante religieuse, l'Araignée lycose, la grosse scolopendre, *Anthia venator* et certaines solifuges.

En plus, parmi les ennemis les plus redoutables des scorpions sont l'homme et des nombreux animaux : certaines singes d'Afrique, les chats (figure 23), certaines reptiles, les oiseaux (ex : rapaces nocturne), les volailles, les hérissons (**MANAANE et NOUBA ,2019 ; HOUTIA, 2007 ; SADINE, 2005 ; BENGUEDDA *et al.*, 2002 ; VACHON, 1952**).



**Figure 23. Un chat essaie de tuer un scorpion (site 07).**

### **I.9. Reproduction**

Les scorpions sont ovovivipares (figure 24), à gestation prolongée de 7 à 12 mois (**KARREN, 2001**). La période d'accouplement se situe dans la saison froide, avant la période d'hibernation (**BAHIDA, 2001**).





**Figure 24. Les œufs incubent et éclosent dans le ventre de femelle (site 08).**

On distingue deux types de reproductions :

-**Sexuée** : où l'accouplement est précédé par une danse appelée " courtship "(Figure 25). Cette danse dure de 24 à 36 heures selon l'espèce (**PERETTI et CARRERA, 2005 ; LOURENÇO, 2000a ; PINKSTON et WRIGHT, 2001**).



**Figure 25. Mâle saisit les chélicères de la femelle avec ses propres chélicères (Site 09).**

L'accouplement des scorpions est très complexe se fait plusieurs façons. Le scorpion mâle se place au début devant la femelle, ils relèvent tous deux la queue puis le mâle saisit la femelle par les pinces et introduits son sperme dans les voles génitales de la femelle (**GRASSE, 1949**).

- **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 (LOURENÇO et CUELLAR, 1995) et chacune peut produire des œufs qui éclosent pour donner un nouvel individu.

Les scorpions donnent plusieurs dizaines de jeunes appelés pullus qui montent sur le dos de la mère rapidement après leur naissance (Figure 26) et y restent sans nourriture pendant plusieurs jours (LAURENT, 2015 ; SADINE, 2012).



**Figure 26. Pullus réfugiés sur le dos d'une femelle scorpion (site 10).**

À cet endroit, ils subissent leur première mue et en quelques jours, ils quittent leur mère et commencent à se défendre eux même (les glandes venimeuses seront fonctionnelles) (ROGER, 2005). Ils subiront environ 6 mues avant d'atteindre l'âge adulte (acquis la maturité sexuelle), soit environ un an après ou un an et demi (GRASSE, 1965). Les scorpions vivent 2 à 8 ans (VACHON, 1952).

Les scorpions sont des animaux à métamorphose incomplète. Il est admis que les scorpions au cours de leur développement effectuent six mues au moment desquelles ils abandonnent leur ancienne cuticule (Figure 27) (VACHON, 1952).



**Figure 27. Mue d'un scorpion adulte (site 10).**



## I. 10. Répartition géographique

### I. 10. 1. Dans le monde

Les scorpions sont des animaux bien adaptés aux milieux désertiques (POLIS, 1990 ; CLOUDSLEY-THOMPSON, 1993 ; CLOUDSLEY THOMPSON et LOURENCO, 1994).

Ils sont considérés comme des représentants typiques de la faune des déserts chauds (Sahara) (figure 28). Ils vivent tout aussi bien en savane (Afrique tropicale) qu'en forêt. On les rencontre principalement dans les zones tempérées chaudes (Afrique du Nord) (GOYFFON et EL AYEB, 2002).

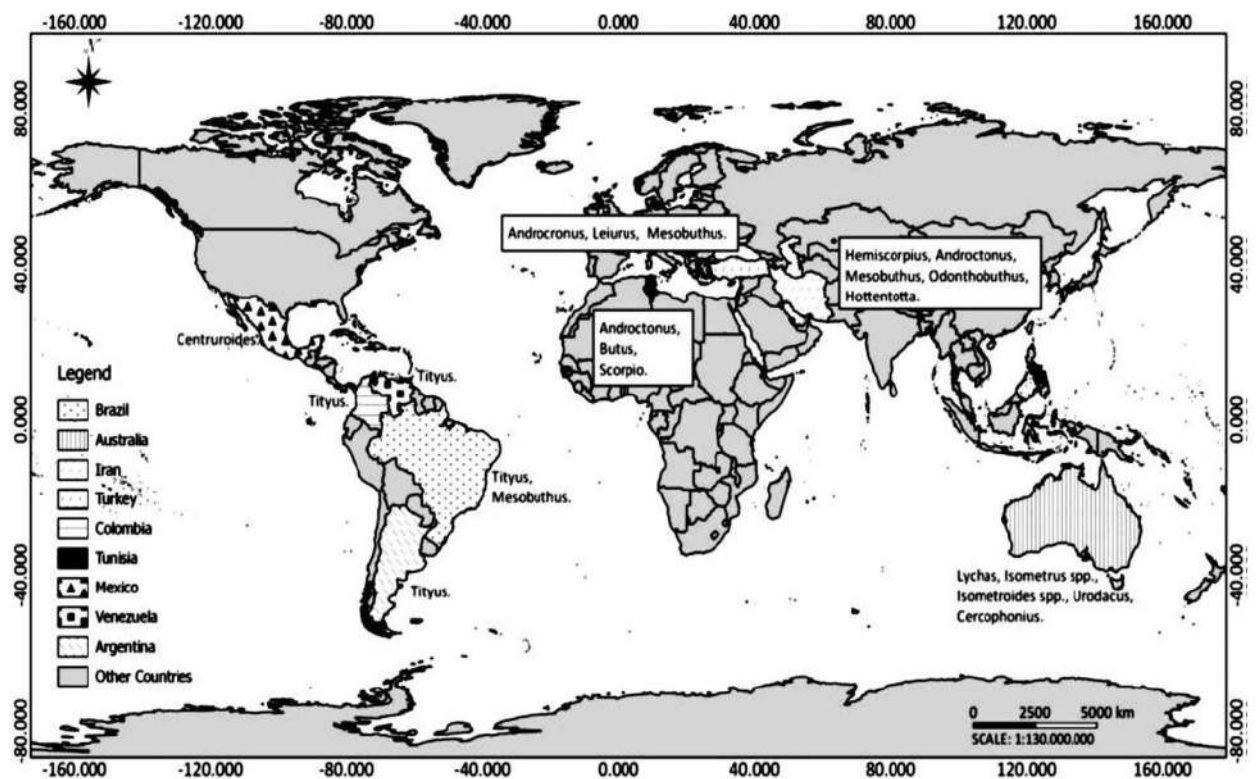


Figure 28. Localisation géographique du scorpion dans le monde (SANTOS *et al.*, 2016)

Horizontalement, aucune espèce ne dépasse, le 50° de latitude Nord et 55° de latitude Sud où les conditions de vie de ces animaux thermophiles expliquent aisément cette répartition (POLIS, 1996).

Verticalement, ils peuvent occuper des biotopes en hautes altitudes comme les montagnes jusqu'à plus de 4000 m d'altitude (les chaînes de l'Himalaya et des Andes) (SADINE, 2018).

### I.10 .2. Dans l'Algérie

La répartition des scorpions sur le territoire national est plus vaste et diversifiée. Pour étudier leur cartographie complète, cela nécessite la connaissance de la répartition latitudinale et longitudinale. La répartition des scorpions en latitude (figure 29) indique l'existence ou l'absence de certains genres dans le Nord et dans le Sud (VACHON, 1952).

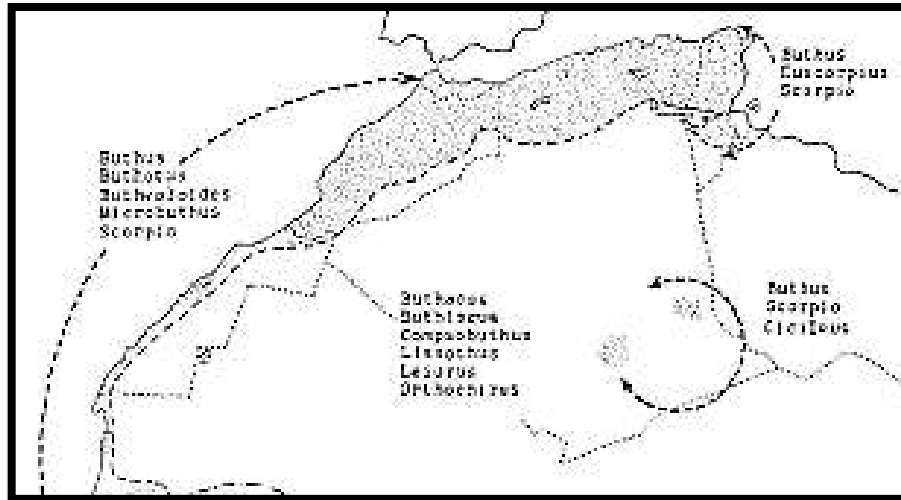


Figure 29. Répartition latitudinale des scorpions (VACHON, 1952).

### I.10. 3. Répartition du scorpion en Ouargla

À la lecture de la figure 30, il apparaît nettement que l'espèce *Androctonus australis* occupe tous les territoires. L'ensemble des biotopes (habitations, palmeraies, ergs et regs) sont colonisés par cette espèce, sans doute, la plus dangereuse pour l'Homme (IDDER, 2012).

*Buthacus arenicola* et *Orthochirus innesi* sont également des espèces inféodées aux habitations et aux palmeraies. Elles ont plus tendance à se cacher et à rechercher des endroits sûrs et humides. Après l'*Androctonus australis*, elles se positionnent en seconde position au niveau des piqûres 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, 2012).

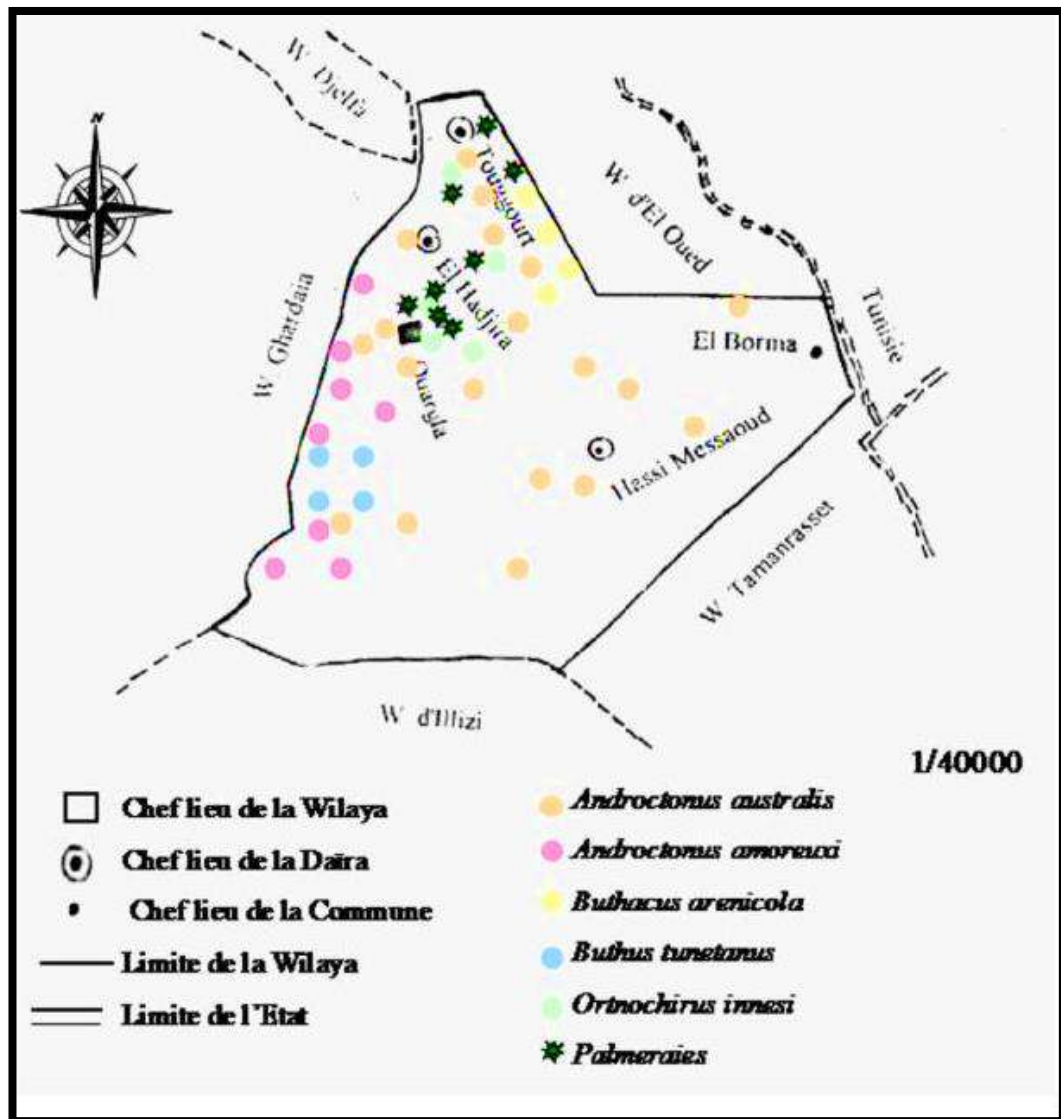


Figure 30. Répartition des différentes espèces du scorpion dans la wilaya de Ouargla (IDDER, 2012).

*Chapitre II*  
*Généralités sur les*  
*venins scorpioniques*

## II.1. Introduction

Le scorpion se sert souvent de son venin pour paralyser les grandes proies et pour se défendre (MANAANE et NOUBA, 2019). La queue de scorpion porte à son extrémité le telson qu'est un appareil venimeux constitué d'une vésicule à venin prolongé par un dard qui permet l'inoculation du venin ; cette inoculation est contrôlée par le scorpion de sorte que toute piqûre ne signifie pas obligatoirement injection de venin. Lors d'une piqure de scorpion, une très petite quantité du venin peut être inoculé qui est responsable de symptômes divers pouvant aller jusqu'à la mort de la victime (SAIDI, 2010).

Alors que, la quantité de venin injectée par un seul scorpion est de l'ordre de 0,006 mg à 2,0 mg (BALOZET ,1955).

La toxicité de venin du scorpion a été attribuée exclusivement à des peptides de faibles poids moléculaires qui sont des neurotoxines (RODRIGUEZ *et al.* ,2010 ; NARAYANAN *et al.*, 2016).

Ces polypeptides ayant comme cible biologique les canaux sodiques dépendants de potentiel des cellules excitables (nerveuses et musculaires), dont ils perturbent les fonctions physiologiques (CATTERRAL, 1988). Le venin est constitué également des ligands pour d'autres canaux ioniques (canaux potassiques, calciques et chlore) et d'autres molécules non toxiques (SAIDI, 2010).

De plus, la toxicité du venin dépend de la variété, de la taille, de l'âge et de la nutrition du scorpion. Elle dépend également des conditions climatiques où il vit (COURAUD *et al.*, 1982 ; ISMAIL 1994).

## II. 2. Propriétés

### a) Propriétés physiques

Le venin de scorpion se présente sous forme d'un liquide limpide, blanchâtre, jaunît et devient opalescent et visqueux au cour du temps. Il a une densité voisine à l'eau, avec un pH légèrement acide (Manie ,1995 ; KRIFI M. al, 2001 ; INCEOGLU *et al.*, 2003), stable à pH acide, thermorésistant, miscible à l'eau et pouvant se conserver plusieurs années (ALIANE, 2005). Sa toxicité ne disparaît qu'après un chauffage à 100°C pendant 90 min (OUDIDI, 1995).

### b) Propriétés biologiques

Le venin de scorpion contient des petits granulés insolubles, des débris cellulaires et des protéines solubles de faible poids moléculaire, peu représentées, qui sont responsables de manifestations physiopathologiques de neurotoxicité chez les envenimés (**KRIFI M. al, 2001**).

Les toxines des espèces que nous intéressent sont neurotoxiques, cardiotoxiques, et myotoxiques. Elles induisent une prolongation du potentiel d'action du nerf, du muscle et du myocarde. Ce qui explique les différentes manifestations cliniques observées lors d'une envenimation scorpionique (**OUDDI, 1995 ; ISMAIL, 1995**).

### c) Propriétés chimiques

Le venin du scorpion est composé de diverses substances telles que les protéines, les lipides, les sels, les enzymes, les amines biogènes notamment de la sérotonine (5-hydroxytryptamine), les nucléotides et les neurotoxines (**INCEOGLU et al.,2003 ; FRANK et JAN, 2007 ; FLORENCE, 2005 ; MATTHEW et al., 2002**).

La toxicité du venin des *Buthidés* est due à la présence de toxines qui sont des petites protéines basiques faiblement antigéniques, constituées par l'enchaînement d'une soixantaine de résidus d'acide aminé. Chaque venin contient plusieurs toxines en nombre variable selon l'espèce (jusqu'à 11 chez *Buthusoccitanus*) (**BROGLIO et GOYFFON, 1980**).

La technique de spectrométrie de masse se révèle être actuellement la technique analytique de choix pour l'étude de la biodiversité des toxines. Cette technique donne très rapidement les renseignements sur la nature des toxines présentes dans le venin (**AUVIN, 2002**).

Pour garder ses propriétés toxiques, le venin de scorpion est conservé au frais et à l'abri de la lumière. Toutefois, il est habituellement stocké sous forme déshydratée (**EI YASSIR et FATIMA, 2013**), car son caractère hygroscopique peut être à l'origine d'une grande perte de la toxicité (**KHECHKHOUCHE et HAMDATI, 2007**). Il résiste à la dessiccation sous vide (**LUCIEN, 1955**).

## II. 3. Méthode de collection du venin

La collecte de venin se fait par trois méthodes :

### a) Excitation électrique du scorpion :

L'excitation électrique consiste à soumettre le scorpion à un courant électrique de 12V, les 2 électrodes doivent être mouillées par une solution conductrice. L'exposition de la partie inférieure du scorpion et les premiers anneaux de sa queue à cette excitation provoque une contraction de la musculature de glande à venin (figure 31) (MIRANDA et ROCHAT, 1964).



**Figure 31. Extraction de venin par l'excitation électrique d'un scorpion.**

#### **b) Excitation manuelle du scorpion**

La collecte du venin par stimulation manuelle (méthode dangereuse) utilise des mécanismes physiques, elle consiste à tenir le scorpion entre les mains, tout en tenant sa queue dirigée vers un récipient pour récupérer le venin de scorpion (figure 32). La quantité de venin recueillie par cette méthode est faible mais ce dernier est plus pur que celui obtenu par la stimulation électrique (MIRANDA et ROCHAT, 1964).



Figure 32. Excitation manuelle du scorpion (site 11).

#### c) Extraction par broyage des telsons

Après une congélation à  $-30^{\circ}$  des queues, les telsons sont coupés puis broyés est mis dans une solution physiologique. Les telsons broyés sont parfois soumis à certains traitements dans un but analytique : fractionnement acétonique, chromatographique etc. Cette méthode donne un faible rendement de venin également en toxicité (CATTERALL, 1988).

#### II. 4. Composition de venin

Les venins de scorpions sont des mélanges d'extrême complexité contenant un grand nombre de substances bioactives. Ils sont caractérisés par une grande richesse en polypeptides de faible poids moléculaire dont la plupart sont neurotoxiques pour les mammifères, les insectes et les crustacés. Malgré qu'elles ne représentent que 5% de sa composition total, ces molécules constituent la fraction toxique du venin et lui confère la quasi-totalité de sa toxicité (RODRIGUEZ *et al.*, 2010 ; NARAYANAN *et al.*, 2016).

En plus des neurotoxines, les venins de scorpions renferment également d'autres molécules non neurotoxiques et qui représentent la fraction non toxique du venin (95% de sa composition total). Cette dernière est composée de mucopolysaccharides, d'inhibiteurs de protéase, des nucléotides, de bioamines comme (la sérotonine et l'histamine), une très faible quantité d'enzymes comme les hyaluronidases, l'acétylcholinestérase, les phospholipases et les protéinases (MASTER *et al.*, 1963 ; ZLOTKIN *et al.*, 1978; ROCHAT *et al.*, 1979; GWEE *et al.*, 2002 ; RODRIGUEZ *et al.*, 2010; HEINEN *et al.*, 2011).



## II. 5. Les toxines du scorpion et leur mode d'action

Les toxines du venin de scorpion sont des protéines basiques, de faible masse moléculaire et faiblement représentés dans les venins (4-5 %) (**CHAGRA et LATRECHE, 2008**).

### II.5.1. Structure

Les toxines du scorpion présentent un motif structural commun composé d'une hélice  $\alpha$  et d'un feuillet  $\beta$  (Figure 33). Ces structures sont reliées par trois ponts disulfures, des liaisons covalentes qui confèrent à l'ensemble du motif une stabilité remarquable. La structure reste ordonnée, même dans l'eau portée à ébullition ou après traitement par des agents dénaturants (**LOURENÇO, 1991**).

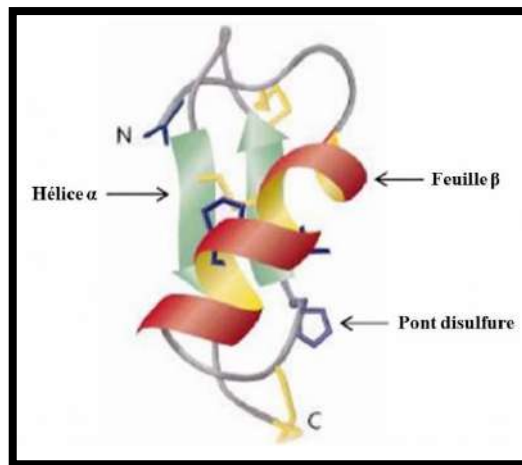


Figure 33. Structure d'une toxine de scorpion (TIAHO, 2001).

### II. 5.2. Classification

La diversité des espèces de scorpions implique l'existence de toxines différentes, qui peuvent être classées en plusieurs familles selon de nombreux critères (**MARTIN-EAUCLAIRE et al., 1999 ; POSSANI et al., 2000 ; QUINTERO-HERNANDEZ et al., 2011 ; ABOUMAAD et al., 2014**) :

- La longueur de la séquence d'acides aminés qui permet de les classés en toxines longues ou courtes.
- La cible animale : en toxines anti-mammifères, anti-insectes et anti-crustacés.
- La cible biologique ou moléculaire : elles se regroupent en toxines actives sur les canaux sodium, potassium, calcium et chlore.

Alors, on distingue quatre familles neurotoxiques qui agissent sur les membranes cellulaires des tissus excitables : cellules nerveuses et cellules musculaires et plus exactement sur les canaux à sodium (toxine longue), les plus abondantes dans le venin, celles qui agissent sur canaux à potassium (toxine courtes), celles qui agissent sur les canaux à calcium et celles qui agissent sur les canaux à chlore. Le groupe de toxines longues renferme la majorité des toxines de la fraction toxique (COURAUD *et al*, 1982).

### II. 5. 2. 1. Toxines actives sur les canaux sodium

Ces toxines sont les plus abondantes par rapport aux toxines qui agissent sur les autres canaux, elles représentent 3-4% du poids sec du venin (exceptionnellement de l'ordre de 10% chez *Centruroides limpidus limpidus*) (SAIDI, 2010).

Elles sont actives sur les cellules d'insectes et de mammifères, sont spécifiques des canaux Na<sup>+</sup> voltage dépendants des cellules excitables nerveuses ou musculaires. Ce sont des polypeptides longues et basiques monocaténaires de 7 kDa composées de 60 à 76 résidus d'acides aminés réticulés par quatre ponts disulfures (MARTIN-EAUCLAIRE *et al.*, 1999; QUINTERO-HERNANDEZ *et al.*, 2011; CHARRAB N, 2009).

Suivant leur fixation spécifique sur le canal sodique (Na<sup>+</sup>), ces toxines ont été subdivisées en toxines  $\alpha$  et  $\beta$  (figure 34), provoquant deux réponses pharmacologiques différentes :

**a) Toxines  $\alpha$  :** Ce sont des polypeptides de 58-76 acides aminés liés par 4 ponts disulfures, leur effet majeur est l'inactivation du potentiel de fermeture de canal sodique (se lie au site 3 du canal de manière voltage dépendant), induisant ainsi la prolongation du potentiel d'action qui s'exprime par une forte dépolarisation membranaire suivie d'une perte de l'excitabilité (ISBISTER et BAWASKAR, 2014; WANG *et al.*, 2011).

Par conséquence une hyperexcitabilité du système nerveux et une libération accrue des neuromédiateurs (catécholamine, acétylcholine...) (SRAIRI *et al.*, 2002).

Elles se subdivisent en trois classes (BOSMANS et TYTGAT, 2007) :

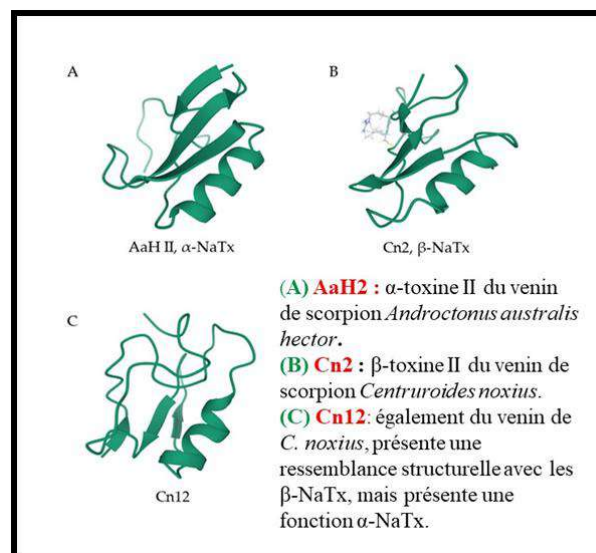
- ❖ Les toxines  $\alpha$  classiques (très toxiques pour les mammifères).
- ❖ Les  $\alpha$ 1 like ou mixtes (toxiques pour les mammifères et les insectes).
- ❖ Les  $\alpha$  anti-insectes (spécifiquement toxiques pour les insectes).

a) **Toxines  $\beta$**  : Elles agissent sur le potentiel d'activation du canal sodique (se lient au site 4 du canal de manière voltage indépendant). L'activation des canaux se fait alors à des potentiels plus négatifs il s'en suit des trains des ondes de potentiel d'action (COURAUD *et al.*, 1982).

Ces toxines sont caractéristiques des venins de certaines familles de scorpions comme les *Centrurinae* et les *Tityinae* (VANDENDRIESSCHE *et al.*, 2010 ;QUINTERO-HERNANDEZ *et al.*, 2011).

Elles se subdivisent en trois classes (BOSMANS et TYTGAT, 2007) :

- ❖ Les toxines  $\beta_m$  qui agissent sur les mammifères.
- ❖ Les toxines  $\beta_i$  qui agissent sur les insectes.
- ❖ Les toxines  $\beta$  like ou mixtes qui agissent sur les mammifères et les insectes.



**Figure 34. Structure tridimensionnelle des toxines spécifiques des canaux sodiques et leurs sites de fixation (AHMADI SH *et al.*, 2020).**

### II. 5. 2. 2. Toxines actives sur les canaux potassium

Ce sont de courtes toxines de 23 à 43 résidus d'acides aminés réticulés par 3 ou 4 ponts disulfures qui bloquent avec une forte affinité les canaux potassium ( $K^+$ ) potentiel-dépendant et calcium dépendant, du côté extracellulaire de ce canal (MARTIN-EAUCLAIRE *et al.*, 2016).

Bien qu'elles sont présentes dans le venin en très faible quantité (<1% de poids sec), ce groupe de neurotoxines est d'une grande diversité structurelle car plus de 140 séquences

de toxines à canaux  $K^+$  ont été rapportées et identifiées à partir des venins de scorpions. (POSSANI *et al.*, 1982 ; MAHDJOUBI *et al.*, 2003 ; GAO *et al.*, 2011 ; YU *et al.*, 2016).

En se basant sur la séquence peptidique et la position des résidus de cystéine des toxines, ce groupe a été subdivisé en quatre familles,  $\alpha$ -KTx,  $\beta$ KTx,  $\gamma$ KTx et  $\kappa$ KTx (figure 35) (QUINTERO-HEMANDEZ *et al.*, 2013).



**Figure 35.** L'agitoxine 1 de *Leiurus quinquestriatus hebræus* qui est une toxine  $\alpha$ -KTx (AHMADI SH *et al.*, 2020).

### II.5.2.3. Toxines actives sur les canaux Chlore Cl

Une chlorotoxine, toxique pour les insectes, a été isolée du venin de *Leiurus quinquestriatus*. La toxine doit être appliquée du côté intra cytoplasmique pour pouvoir bloquer le canal avec une affinité de l'ordre micro molaire. La chlorotoxine est capable de bloquer un canal chlore voltage activé, décrit comme spécifique de cellules humaines d'astrocytomes (Martin-Eauclaire *et al.*, 1999 ; Ortiz *et al.*, 2014).

### II. 5. 2. 4. Toxines actives sur les canaux calcium

Le peptide isolé (33 acides aminés, trois pont désulfure) présente une séquence original, sans analogie avec aucune des séquences de toxines (courtes) déjà identifiées dans les venins de scorpion, ces toxines sont connues comme des bloqueurs des canaux  $Ca^{++}$  activés par le voltage de type P (RACHAT, 1964).

***Chapitre III***  
***Physiopathologie de***  
***l'envenimation scorpionique***

### **III .1 .Toxicocénitique du venin de scorpion**

L'étude toxicocinétique du venin après son injection aux animaux associée à l'étude de la pharmacocinétique de l'antivenin a un grand intérêt, quant au choix de la molécule adéquate et des conditions nécessaires pour une immunothérapie efficace.

En effet l'administration du venin de *Tityus serrulatus* , de *Buthus occitanus* , *Androctonus mauritanicus mauritanicus* et d'*Androctonus australis hector* aux animaux et leur quantification sérique à différents temps par le test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbant Assay) a permis de montrer :

- ❖ Un passage rapide du venin de site d'injection vers le compartiment vasculaire (le temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale Tmax varie entre 30 et 60 min)
- ❖ Une distribution rapide vers les tissus (**REVELO *et al.*, 1996 ; KRIFI *et al.*, 2001 ; EL HAFNY *et al.*, 2002, HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2007**).

Ces mêmes conclusions ont été déduites suite à l'injection du venin de *Leiurus quinquestriatus*, de *Centruroides limpidus limpidus*, d'*Androctonus australis hector* radiomarqués à des animaux (**ISMAIL *et al.*, 1980; CALDERON-ARANDA *et al.*, 1999 ; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2007**).

La différence qui existe entre le test ELISA et la RIA (Radio Immuno Assay) est expliquée par le fait que cette dernière ne peut pas distinguer entre la radioactivité spécifique (liée aux toxines du venin) et non spécifique (libre, liée aux protéines de plasma, liée aux toxines dégradées) contrairement au test ELISA qui détermine la concentration du venin libre circulant (**HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2007**).

### **III. 2. Manifestations clinique de l'envenimation scorpionique**

L'envenimation scorpionique est grave chez 10 % des patients piqués en zone de forte endémie, avec 1 à 3 % de décès, surtout chez les enfants (Sahara, Mexique).

L'apparition rapide des symptômes dans les 5 à 30 minutes qui suivent la piqûre dans certains cas, témoignent d'une gravité qui dépend de plusieurs facteurs (**ISMAIL *et al.* , 1980**).

Ces symptômes sont variables, ils dépendent de l'espèce du scorpion, du poids de la victime, de son âge, son état de santé, de la quantité du venin injectée et de sa voie d'administration (**AUDEBERT *et al.*, 1993; PADILLA *et al.*, 2003**). En effet, une inoculation au niveau des

zones richement vascularisées est un facteur de gravité, de même que le délai de prise en charge des victimes envenimées (LAMROUS ,2009).

Les symptômes apparus peuvent se diversifier et s'aggraver, donnant ainsi un tableau polymorphe d'atteintes multiviscérales dans les cas les plus rares. En absence de traitement, ces manifestations systémiques peuvent devenir une menace pour le pronostic vital des patients, par l'installation d'un état de choc et la formation d'un œdème pulmonaire (LAMROUS ,2009).

Une gradation basée sur la sévérité croissante des manifestations cliniques de l'envenimation scorpionique a été établie en 1998 lors de la réunion de l'Action Concertée entre les Instituts Pasteur et Instituts Associés (ACIP) (KRIFI *et al.* , 1998; GHALIM *et al.*, 2000 ; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2004). Cette classification est subdivisée en trois grades de sévérité croissante (grade I, grade II et grade III) correspondant respectivement à une envenimation bénigne, modérée et sévère (Tableau 02).

**Tableau 2. Les principaux symptômes cliniques et gradation des envenimations Scorpioniques au Maghreb (ACIP, 1998).**

<b>Gradation</b>	<b>Principaux symptômes</b>
<b>Grade I</b> 5 - 20 min	<b>Signes locaux :</b> Douleur -Fourmillement
	<b>Signes généraux :</b> irritabilité -agitation/obnubilation
<b>Grade II</b> 2 – 4 h.	<b>Signes locaux :</b> douleur – fourmillement
	<b>Signes généraux :</b> irritabilité - agitation/obnubilation – sueur - rhinorrhée – diarrhée – vomissement/nausées – hyper salivation – ballonnement gastrique – extrémités froides – fièvre/frissonnement – dysrégulation thermique
	<b>Signes cardiovasculaires :</b> hypertension – hypotension - tachycardie
	<b>Signes respiratoires :</b> cyanose
	<b>Signes neuromusculaires :</b> priapisme
<b>Grade III</b> 24 h	<b>Signes locaux :</b> douleur – fourmillement
	<b>Signes généraux :</b> irritabilité – agitation/obnubilation –sueur - rhinorrhée – diarrhée –vomissement/nausées – hyper salivation –ballonnement gastrique – extrémités froides – fièvre/frissonnement – dysrégulation thermique

	<b>Signes cardiovasculaires</b> : hypertension –hypotension – tachycardie – bradycardie –hypertrophie auriculaire – fibrillation auriculaire et ventriculaire-troubles de la conduction –choc
	<b>Signes respiratoires</b> : cyanose – polypnée – dyspnée – mousse aux lèvres – râles crépitants – sécrétions bronchiques – arrêt respiratoire – OAP
	<b>Signes neuromusculaires</b> : priapisme –hyperexcitabilité –nystagmus – hémiparésie – prostration-convulsions – troubles de la conscience-coma

### **Grade 1 (signes bénins)**

Il correspond aux manifestations locales représentées essentiellement par des douleurs au point d'inoculation avec parfois une agitation modérée et une tachycardie, ne provoquant généralement aucune altération tissulaire, ni inflammation, ni œdème.

### **Grade II (signes modérés)**

Des manifestations systémiques ne comportant pas de menace sur le pronostic vital peuvent survenir. Ce stade est caractérisé essentiellement par un dérèglement neurovégétatif (syndrome muscarinique). Les symptômes tels que : sueur, nausées, diarrhées, vomissements, perturbation de la tension artérielle et parfois une dysrégulation thermique modérée sont observés.

### **Grade III (signes sévères)**

Aux signes précédents s'ajoutent des troubles respiratoires majeurs (polypnée, cyanose, râles crépitants, œdème pulmonaire aigu), des atteintes cardio-vasculaires (défaillance cardiaque) et des altérations neuromusculaires (troubles de la conscience, convulsions, coma). Le pronostic vital de ces patients est mis en jeu, ce qui nécessite leur hospitalisation dans le plus bref délai possible (**LAMROUS, 2009**).

## **III. 3. Physiopathologie de l'envenimation scorpionique**

A la suite d'une piqûre scorpionique, le venin est rapidement distribué dans tous les compartiments vasculaires et tissulaires, induisant un dysfonctionnement hémodynamique, une réaction inflammatoire, des variations métaboliques et des altérations tissulaires (figure 36) (**MOUHOU, 2007**).



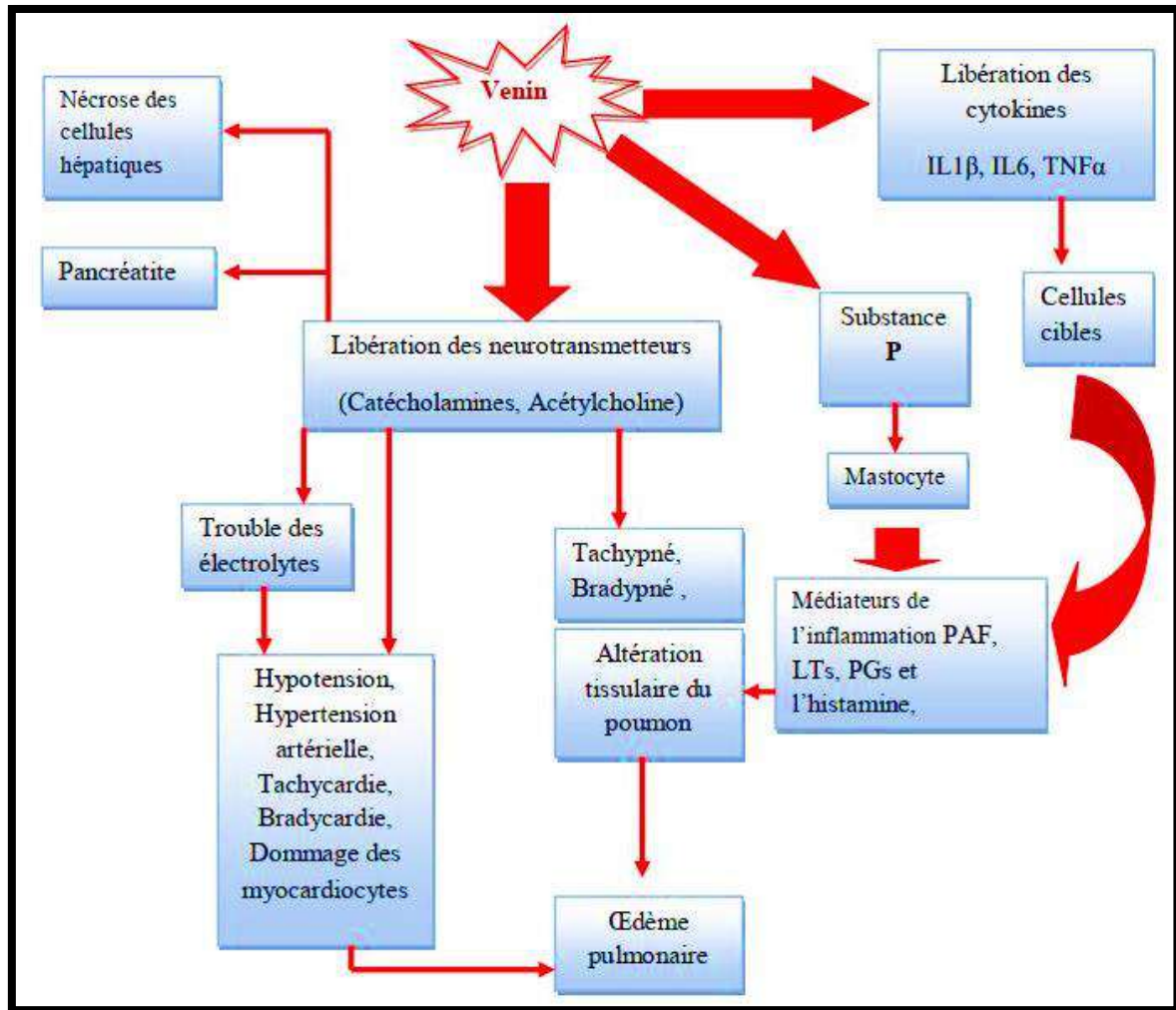


Figure 36. Quelques Effets physiopathologiques provoqués par le venin de scorpion (CAMPOS *et al.*, 1979; GHAZAL *et al.*, 1975 ; ISMAIL *et al.*, 1980 ; ISMAIL et ABD EL SALAM, 1998 ; D'SUZE *et al.*, 1995 ; HERING *et al.*, 1993 ; DE MATOS *et al.*, 1997, 1999, 2001 ; BESSALEM *et al.*, 2003 ; ANDRADE *et al.*, 2007).

### III. 3. 1. Troubles neuro-hormonaux

Les toxines de venin agissent sur les canaux ioniques des terminaisons nerveuses conduisant à la dépolarisation des membranes axonales, d'où une libération massive et précoce (5 min après l'envenimation) de neuromédiateurs (catécholamines et acétylcholine), substance P (neurotransmetteur de 11 acides aminés), neuropeptide Y (peptide vasoconstricteur), endothéline-1, et un facteur natriurétique atrial (FNA), qui affectent différents organes incluant le cœur, les poumons et les intestins (QUARTARA et MAGGI, 1998; GOYFFON, 2002).

Des études réalisées chez des rats envenimés avec une dose de 0,05 mg/kg de venin d'*Aah*, ont montré l'implication d'une libération excessive de catécholamines dans les perturbations hémodynamiques (augmentation de la pression artérielle, diminution du rythme cardiaque) (NOUIRA *et al.*, 2005).

La libération massive des catécholamines après une envenimation, serait impliquée dans les altérations enzymatiques, histopathologique mais aussi dans l'augmentation initiale de la force vasculaire et par conséquent les défaillances hémodynamique (GUERON *et al.*, 1980).

### **III .3 .2. Perturbation hémodynamique (cardiovasculaire)**

La réponse cardiovasculaire de l'organisme à l'envenimation scorpionique se produit en deux phases : la première, vasculaire périphérique secondaire à la libération massive des catécholamines et d'autres peptides vasoconstricteurs. La seconde, consiste en des modifications structurales, morphologiques et fonctionnelles de la performance du myocarde (TARASIUK *et al.*, 1994).

Les troubles cardio-vasculaires tels que des lésions du myocarde, une hypertension, une hypotension et une insuffisance cardiaque sont présents chez toutes les personnes sévèrement envenimées par *Aah* et *Leiurus quinquestriatus* (GUERON *et al.*, 1992 ; HAMMOUDI TRIKI *et al.*, 2004).

Des manifestations hémodynamiques similaires ont été observées après des envenimations avec les venins d'*Androctonus amoreuxi*, *Buthus occitanus* et de *Tityus serrulatus* (CAMPOS *et al.*, 1979; ISMAIL, 1995; ABROUG *et al.*, 1999).

Ces perturbations du système cardio-vasculaire résulteraient une profonde altération de la contractilité des deux ventricules gauche et droit, suivie le plus souvent d'une réduction de la fonction d'éjection des deux ventricules (GUERON *et al.*, 1980 ; ALMEIDA *et al.*, 1982 ; RAHAV et WEISS, 1990 ; GUERON *et al.*, 1992 ; AMARAL *et al.*, 1994 ; ABROUG *et al.*, 1995 ; NOUIRA *et al.*, 1995 ; DE MATOS *et al.*, 1999).

Par ailleurs, il semblerait que les défaillances cardiovasculaires, souvent impliquées dans la genèse de l'œdème pulmonaire, sont dues soit à l'effet direct du venin de scorpion sur les canaux sodium et potassium (ROGERS, 1996) soit à l'effet cholinergique et adrénérgique du venin (ABROUG *et al.*, 1991) ou bien, à la combinaison des deux effets (BOUAZIZ *et al.*, 1996).

Les catécholamines libérés activent les récepteurs B-adrénergique localisés au niveau cardiaque créant une instabilité électrique responsable d'une contraction ventriculaire et une libération massive des radicaux libres dont leur effet toxique sur le muscle cardiaque est à l'origine de la tachycardie, l'arythmie ventriculaire et l'insuffisance cardiaque observées lors de l'envenimation scorpionique (**ABD EL-RAHMAN et al.,2015**).

Cet hormone attribue la plupart des perturbations hémodynamiques caractéristiques des formes graves d'envenimation scorpionique, ainsi que une élévation d'autres peptides vasoconstricteurs (neuropeptide Y et endothélines) (**EI YASSIR ,2013**). Ces puissants vasoconstricteurs sont responsables de la phase « vasculaire » de l'envenimation scorpionique, caractérisée par une élévation importante mais transitoire de la pression artérielle systémique. Celle-ci tend par la suite à baisser de manière soutenue jusqu'à l'installation d'un état de choc (**ZEGHAL et al ., 2000**).

L'hormone cardiaque « atrial natrium peptid » (ANP), affecte l'homéostasie par vasodilatation. Cette hormone est libérée suite à une stimulation des nerfs cardiaques sympathiques après activation des canaux sodiques par le venin d'*Androctonus australis garzonii*. Cette libération est—considérablement diminuée après administration du propranolol ou de la tetrodotoxine (**SOUALMIA, 2008**).

L'utilisation d'antagonistes cholinergiques ou adrénergiques dans l'envenimation expérimentale avec les venins de *Tityus serrulatus*, de *Leiurus quinquestriatus*, d'*Androctonus amoreuxi*, de *Buthus occitanus*, de *Pandinus exitialis* et de *Buthus tamulus* , a exhibé l'effet direct des toxines du venin sur les fibres du muscle cardiaque (**YARON et al., 1974; GHAZAL et al., 1975; GRUPP et al.,1980; SILVEIRA et al., 1991 ; ROWAN, 1992; TARASIUCK et al., 1994 ; ISMAIL, 1995 ; TEIXEIRA et al., 2001**).

### **III. 3. 3. Trouble respiratoire**

En outre, les signes d'insuffisance respiratoire aigüe sont fréquemment observés après des envenimations scorpioniques sévères. Elles sont de type d'hypoxie, acidose, une arythmie respiratoire (tachypné et bradypné), polypnée, cyanose et d'œdème aigu du poumon (figure 37) (**CAMPOS et al., 1979; GOYFFON et al., 1982 ; SOFER et GUERON, 1988 ; FREIRE-MAIA et al., 1993 ; HERING et al., 1999 ; HAMMOUDI-TRIKI et al., 2007**).

Le mécanisme de l'œdème pulmonaire, complication majeure du syndrome d'envenimation et pouvant être la cause du décès (**AMARAL et al ., 1993**) reste incomplètement élucidé.

Deux facteurs pourraient être impliqués dans la pathogenèse de l'œdème pulmonaire :

-Un facteur cardiogénique (œdème pulmonaire cardiogénique) : résultant d'une libération massive de neuromédiateurs (catécholamines, acétylcholines), dont la conséquence est le dysfonctionnement du ventricule gauche (figure 38) (**AMARAL *et al.*, 1993**).

-Un facteur non cardiogénique (œdème pulmonaire lésionnel) qu'est liée à :

- ✚ Une infiltration de neutrophiles et de lymphocytes, après une augmentation de la perméabilité de la barrière capillo-alvéolaire due à l'augmentation des médiateurs vasodilatateurs (médiateurs d'inflammation) sécrétés par les mastocytes , tels que les leucotriènes, les prostaglandines, l'histamine, le monoxyde d'azote (NO), et le facteur d'activation plaquettaire (PAF) (**NOUIRA *et al.*, 1996 ;ADI-BESSALEM *et al.*, 2008 ; BAHLOUL *et al.*, 2013**).
- ✚ Une détérioration de l'endothélium pulmonaire et des cellules épithéliales qui semble résulter de l'effet direct de venin (**ROSSI *et al.*, 1974; FREIRE MAÏA *et al.*, 1978; RAHAV et WEISS, 1990; AMARAL *et al.*, 1994 ; ANDRADE *et al.*, 2002**).

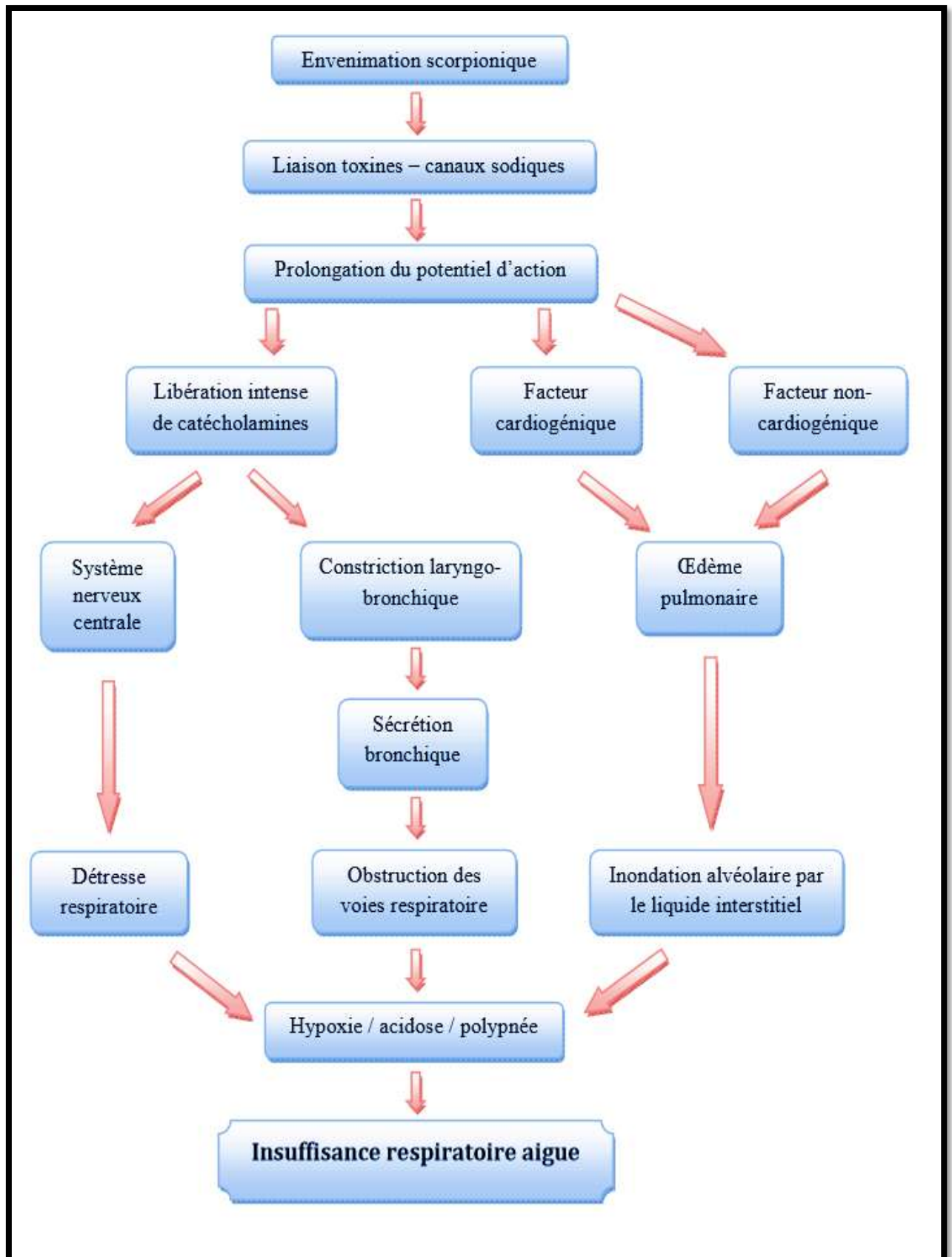


Figure 37. Insuffisance respiratoire aigüe lors envenimation scorpionique (SOFER et GUERON, 1988 ; FREIRE-MAIA *et al.*, 1994; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2007).

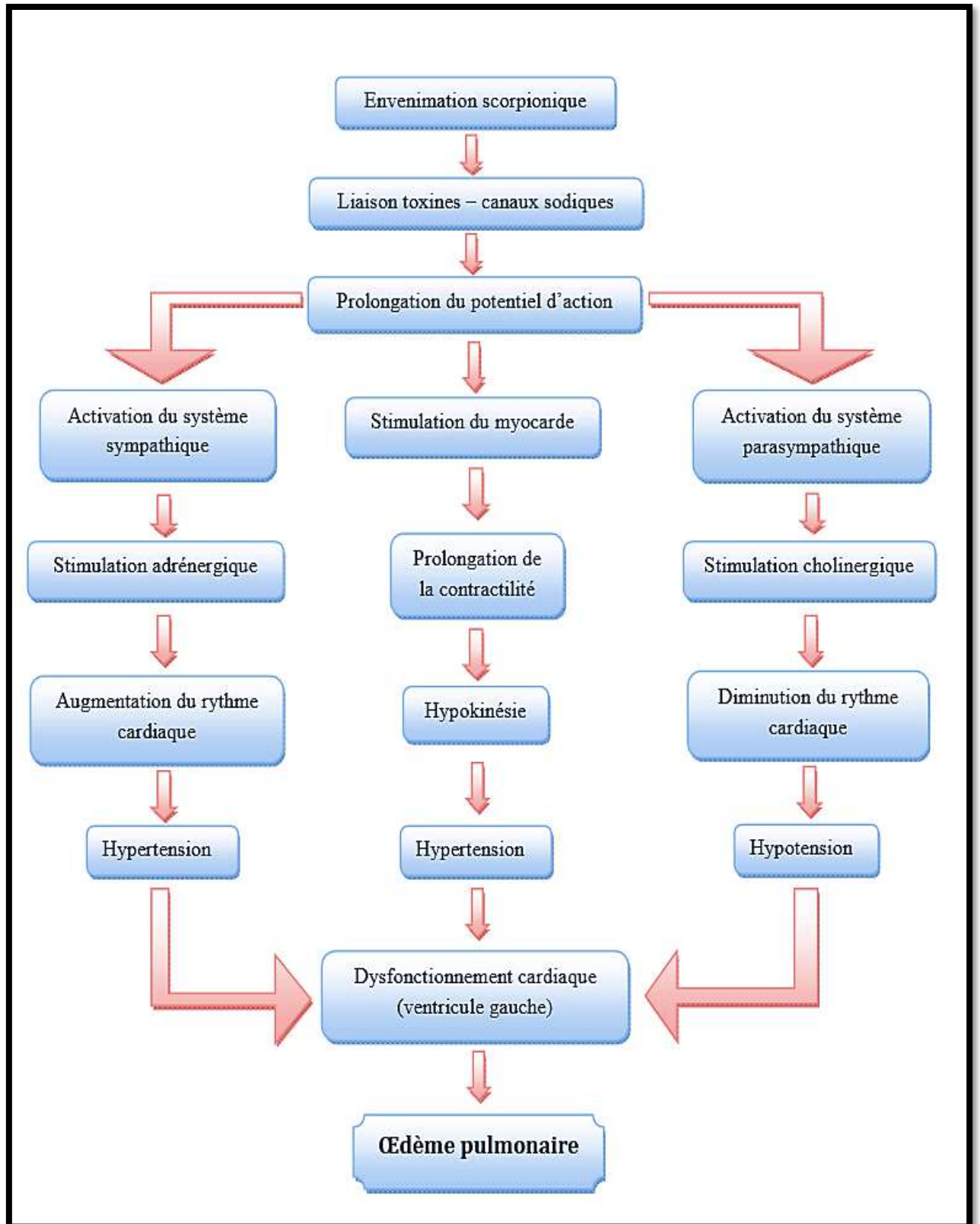


Figure 38. La nature non-cardiogénique de l'installation de l'œdème pulmonaire (AMARAL *et al.*, 1994 ; DE MATOS *et al.*, 1997, 2001 ; D'SUZE *et al.* 1999; ANDRADE *et al.*, 2002).

### **III. 3.4. Atteinte digestive**

Des symptômes digestifs à type de nausées, hypersalivation, vomissements et diarrhées sont fréquents chez l'enfant envenimé. Chez l'animal, l'injection de venin produit une hypersalivation secondaire à la stimulation des récepteurs adrénergiques et cholinergiques des glandes salivaires (**BENOIT et MABRINI, 1967**).

Au niveau gastrique, elle induit une libération importante d'histamine et d'acétylcholine, et on observe une augmentation de l'acidité titrable et une augmentation des sécrétions gastrique, liée à l'hyperactivité enzymatique de la pepsine (**CUNHA-MELO et al., 1991 ; MOHAMED et al., 1980**).

Cela explique que, chez les malades ulcéreux, la piqûre de scorpion peut provoquer une exacerbation des symptômes ou le réveil d'un ulcère en rémission. Une pancréatite aigüe est possible (**YAROM et al., 1971**) à laquelle participent une hypersécrétion pancréatique exocrine sans doute due à l'action de l'acétylcholine sur les récepteurs muscariniques, et un certain degré d'obstruction canaliculaire à l'origine de laquelle une production exagérée de kallibréine a été incriminée. La motilité intestinale est également altérée par l'action de l'acétylcholine, des catécholamines et d'autres médiateurs libérés tels que la substance P (**BARTHOLOMEW et al., 1976**).

### **III. 3. 5. Variations métabolique**

L'envenimation scorpionique est aussi caractérisée par une variation dans les activités enzymatiques, marqueurs de certaines lésions tissulaires. En effet, une diminution des taux des enzymes transaminases : Transaminase Glutamique Oxaloacétique, Transaminase Glutamique Pyruvique (TGO, TGP), Lactate Déshydrogénase (LDH), Phosphatase Alcaline (PAL), Créatine Phosphatase Kinase (CPK), aspartate amino-transférase, alanine amino-transférase et  $\alpha$ -amylase, est observée dans tous les organes, associée à une augmentation de leur concentration dans le sérum. La concentration sérique élevée est probablement due à la diffusion des enzymes cellulaires des organes altérés vers le compartiment vasculaire (**AMARAL et al., 1991, SOFER et al., 1991 ; CUPO et al., 1994 ; BUCARETCHI et al., 1995; CORREA et al., 1997; POSSANI et al., 2001 ; D'SUZE et al., 2003; MIRAKABADI et al., 2006**).

Les modifications dans les activités enzymatiques rapportées chez le rat, montrent que le taux des enzymes augmente en fonction de la dose et du délai d'administration du venin

d'*Androctonus australis hector*, à l'exception du taux sérique de la LDH qui retourne à la valeur normale (HAMMOUDI-TRIKI et LARABA-DJEBARI, 2003).

Un autre enzyme marqueur spécifique des lésions du myocarde, la troponine (cTnI) est également observé à des taux élevés après envenimation par les scorpions. En effet, une corrélation entre les valeurs sériques élevées de cTnI et la sévérité des altérations cardiovasculaires a été rapportée chez des enfants piqués par le scorpion *Buthus occitanus* et *Leiurus quinquestriatus* (MEKI *et al.*, 2003). Les mêmes observations ont été rapportées chez des patients décédés à la suite d'un choc septique et du syndrome de la réponse inflammatoire systémique (SIRS) (AMMANN *et al.*, 2001).

L'injection des rats avec une dose sub létale (200µg/kg) de *Leiurus quinquestriatus* induit une augmentation des acides gras, cholestérol, phosphatidyl-choline, phosphatidyl-éthanolamine et une diminution de lysolecithine et de la sphingomyéline (EL-ASMAR *et al.*, 1979).

Une augmentation de l'urémie, créatinémie, cholestérolémie et de la triglycéridémie a été également rapportée (EL-ASMAR *et al.*, 1979; CORREA *et al.*, 1997; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2003 ; MIRAKABADI *et al.*, 2006).

L'envenimation scorpionique induit également une inhibition de la sécrétion d'insuline secondaire à la libération massive de catécholamines, pouvant contribuer ainsi, soit à une hyperglycémie (COGAN, 1994 ; MURTHY et HASE, 1994 ; MIRAKABADI *et al.*, 2006), soit à une conversion du glucose en lactate et pyruvate (GUYTON, 1996).

### **III. 3.6. Perturbation de l'équilibre électrolytique**

L'envenimation scorpionique expérimentale et accidentelle conduit à une modification dans le taux sérique des électrolytes via la fixation des toxines sur les canaux ioniques. En effet une hyponatrémie a été révélée chez les patients envenimés, accompagnée d'une concentration normale ou élevée de potassium et une diminution dans le taux sérique de calcium (ISMAIL, 1995). Une diminution du taux de sodium et calcium et une hyperkaliémie a été rapportée après envenimation des lapins avec le venin d'*Androctonus amoreuxi* (ISMAIL et Abd El SALEM, 1998).

### **III. 3. 7. Processus inflammatoire induit par le venin**

Des études expérimentales ont montré que le venin de *Tityus serrulatus* provoque la libération de neuropeptides, dont la conséquence est l'activation des mastocytes, qui à leur



tour secrètent des médiateurs lipidiques tels que : l'histamine, le ~~Plaquet Activated Factor~~ (PAF), les leucotriènes, les prostaglandines et les cytokines, qui provoquent l'augmentation de la perméabilité vasculaire qui se traduit par la fuite d'exsudat dans le compartiment interstitiel, dont les conséquences sont la formation d'un œdème pulmonaire et le dysfonctionnement du système cardiaque (Figure 39) (**CUNHA-MELO *et al.*, 1987 ; KOWALSKI et KALINER, 1988 ; FREIRE-MAIA et CAMPOS, 1989 ; WARAOTO *et al.*, 1993; FREIRE MAÏA et DE MATOS, 1993 ; DE MATOS *et al.*, 1997 ; DE MATOS *et al.*, 2001 ; FUKUHARA *et al.*, 2003).**

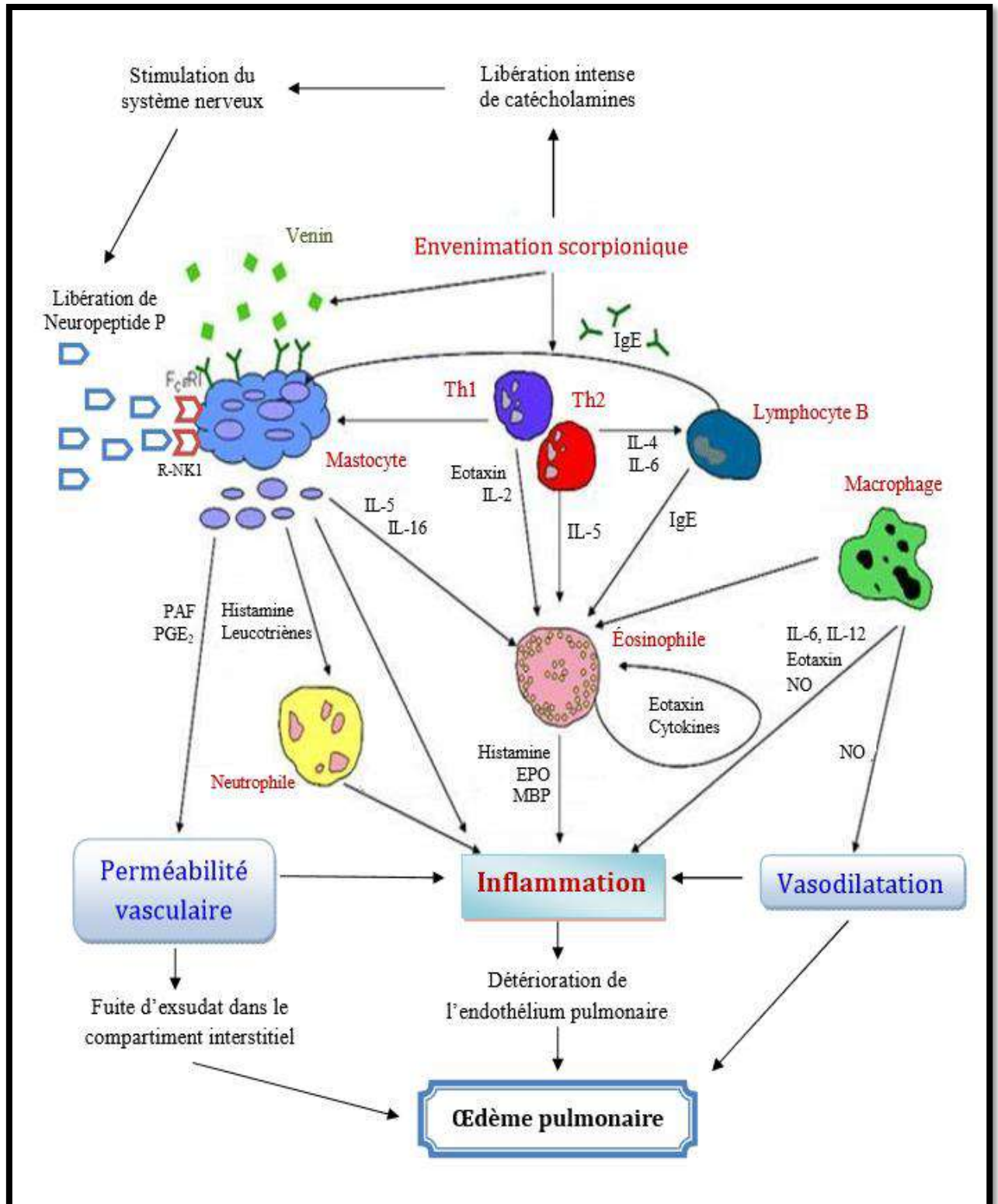


Figure 39. L'implication du processus inflammatoire dans l'installation de l'œdème pulmonaire (AMARAL *et al.*, 1994 ; DE MATOS *et al.*, 1997, 2001 ; D'SUZE *et al.* 1999; ANDRADE *et al.*, 2002).

L'utilisation d'animaux Knock-out en mastocytes exhibe le rôle important de ces cellules dans la sécrétion des médiateurs de l'inflammation, dans le développement de l'œdème pulmonaire et dans la létalité des animaux à la suite de l'envenimation (**MEKI et MOHEY EL DEAN, 1998 ; DE MATOS *et al.*, 2001**).

Les prostaglandines et les leucotriènes sont de puissants médiateurs lipidiques impliqués dans de nombreuses fonctions biologiques et dans l'inflammation. En effet, les prostaglandines, aux effets hyperalgésiques et pyrétiques, sont impliquées dans la sensation de douleur au site de l'injection (**ANDRADE *et al.*, 2004**).

Le LTB<sub>4</sub>, appartenant aux leucotriènes, est un facteur chimiotactique pour les neutrophiles et les monocytes et un activateur des molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales, alors que le LTD<sub>4</sub> est un facteur chimiotactique des éosinophiles. Ce qui pourrait expliquer en partie, l'infiltration leucocytaire au niveau tissulaire (**ANDRADE *et al.*, 2004**).

L'activation du complément chez les animaux a été également décrite après envenimation par les scorpions (**DA SILVA *et al.*, 1995**). En effet, une augmentation de l'activité lytique du complément a été observée dans les sérums de rats envenimés avec une dose sublétales (150 µg/kg) de venin de *Tityus serrulatus* (**BERTAZZI *et al.*, 2003**). L'activation du complément est dose et temps dépendante. Le clivage de la fraction C3 et du facteur B révélés par l'immunoélectrophorèse et migration leucocytaire est un indicateur de l'activation du complément et par conséquent, de la génération des facteurs chimiotactiques tels que : les fragments C3a et C5b (**BERTAZZI *et al.*, 2005**).

L'implication des Kinines a été également rapportée dans l'envenimation chez l'homme et l'animal (**TEIXEIRA *et al.*, 1997 ; MEKI et MOHEY EL- DEAN, 1998 ; FUKUHARA *et al.*, 2001**). L'utilisation des inhibiteurs de la Kallikreine tels que : l'aprotinine ou l'indométacine atténue significativement les troubles cardiorespiratoires en augmentant ainsi, le taux de survie chez les rats et les lapins envenimés (**CASTANIA et ROTHCHILD, 1974 ; FATANI *et al.*, 1998**).

En effet, L'activation du système kininogène impliqué dans les lésions tissulaires conduit à la génération des Kinines, responsables de l'augmentation de la perméabilité vasculaire, de la vasodilatation, de la sensation de douleur et d'une accumulation des leucocytes au site inflammatoire (**BLOOHA *et al.*, 1992**).

Par ailleurs, des travaux ont montré que les venins de scorpions de *Tityus serrulatus*, *Tityus discrepans*, *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*, *Androctonus australis* et *Buthotus judaicus*, peuvent induire une augmentation du taux du monoxyde d'azote (NO), impliqué dans la genèse d'une variété des conditions pathologiques.

Une augmentation du taux de NO et de la pression artérielle a été rapportée chez des patients piqués par des scorpions (**MEKI et MOHEY EL-DEAN, 1998**). L'activation de la NO synthase constitutive sous l'effet de la libération de l'acétylcholine et de la bradykinine est responsable des troubles physiologiques (**BUSSE *et al.*, 1993**).

L'activation de l'isoforme inductible de la NO synthase sous l'effet des cytokines (IL-1b, TNF-a, IFN-g et IL-12) peut également induire une élévation des taux plasmatiques de NO (**MEKI et MOHEY EL DEAN, 1998 ; PETRICEVICH *et al.*, 2000**).

### **III.3.8. Implication des cytokines dans l'envenimation scorpionique**

Les cytokines sont des molécules pharmacologiques impliquées dans les réactions inflammatoires et immunitaires. Les manifestations pathophysiologiques de l'envenimation (réaction inflammatoire et altération de plusieurs organes) peuvent être médiées, également par l'action directe des cytokines pro inflammatoires ou indirectement par les médiateurs libérés par ces cytokines (figure 40). En effet, des variations dans les concentrations des taux sériques de cytokines ont été observées dans les envenimations cliniques et expérimentales (**GUERON et YARON, 1970 ; SOFER et GUERON, 1988**).

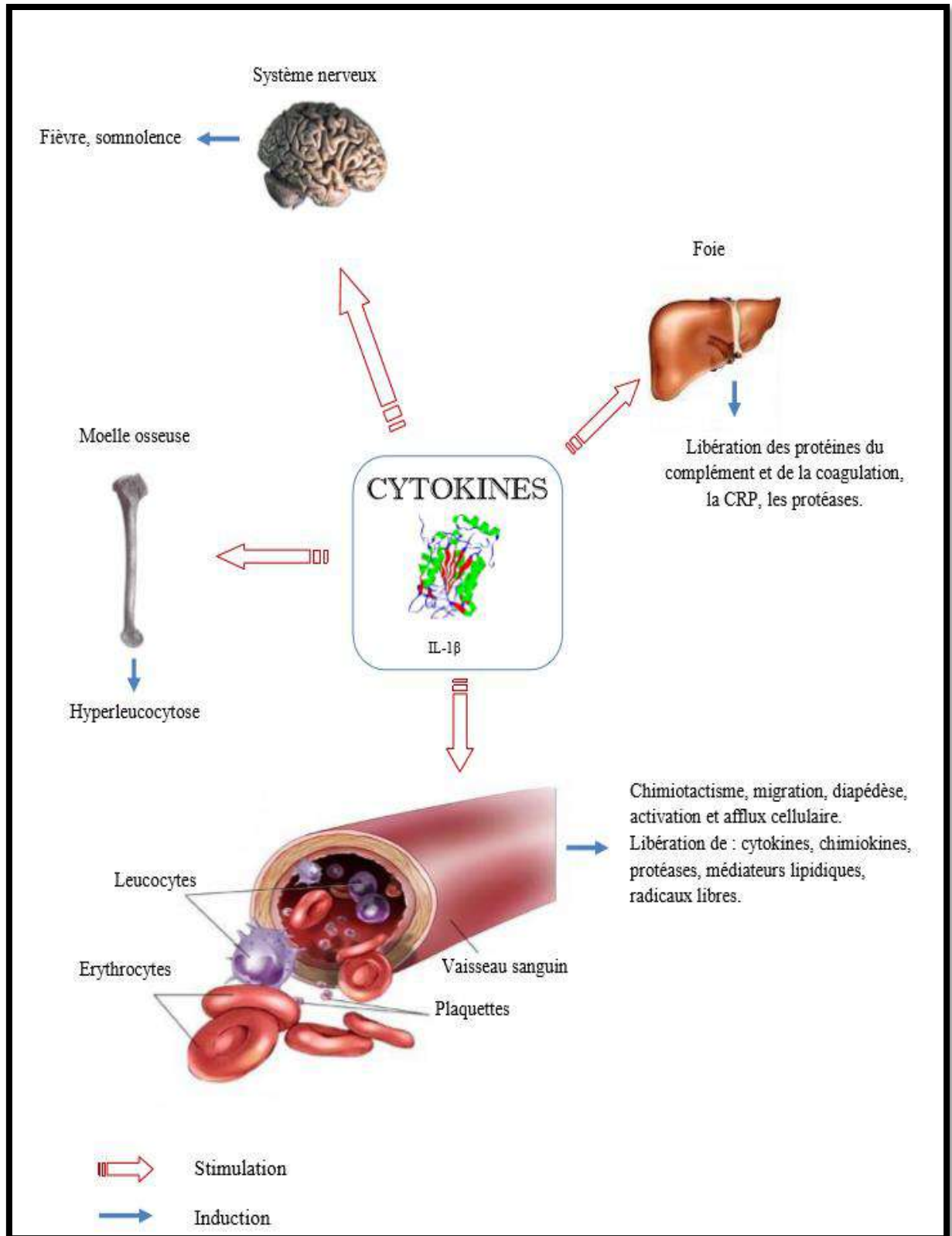


Figure 39. Rôle des cytokines dans l'orchestration du processus inflammatoire (ANDRU *et al.*, 1991).

Plusieurs travaux ont montré une augmentation significative des taux sériques de IL-1b, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IFNg et NO et une corrélation étroite entre les concentrations de cytokines et les concentrations sanguines de venin de *Tityus serrulatus* (**FUKUHARA et al., 2003**), de *Tityus discrepans* (**D'SUZE et al., 2003**) et d'*Androctonus australis hector* (**HAMMOUDI-TRIKI et LARABA-DJEBARI, 2003 ; HAMMOUDI-TRIKI et al., 2004**).

L'élévation des taux sériques des cytokines persiste dans le cas de l'envenimation sévère, ce qui reflète la corrélation étroite avec la sévérité de l'envenimation. Cette corrélation exhibe le rôle crucial des cytokines et des chémokines dans les manifestations des troubles pathophysiologiques ; pancréatite, myocardite, détresse respiratoire et altérations de plusieurs organes (**SOFER et al., 1996**), similaires à celles observées dans le cas du choc septique (**DINARELLO, 1997**).

Ces cytokines activent l'induction de la synthèse des molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales vasculaires, des protéines de la phase aiguë, des prostaglandines et stimulent la libération de PAF, des leucotriènes et des chémokines. Ces médiateurs activent et accumulent les leucocytes au site inflammatoire, induisant ainsi des lésions tissulaires et la formation d'un œdème pulmonaire (**FACCIOLI et al., 1990 ; NOUIRA et al., 1995 ; SOFER. et al., 1996 ; LASKIN et al., 1998**).

En effet, l'IL-1 contribue à la dilatation vasculaire et l'hypotension dans le choc septique à travers l'induction du NO dans les cellules endothéliales, et stimule la synthèse de la substance P. L'IL-6, par fixation sur les hépatocytes, est le principal inducteur des protéines de l'inflammation aiguë telles que : les protéines du complément, de la coagulation et la Protéine C Réactive (CRP) (**ANDRU et al., 1991**).

Elle stimule également la formation des plaquettes et l'activation de la thrombine (**ESMON, 1999**).

La relation étroite entre la production de l'IL-1 et l'IL-6 et, la morbidité et la mortalité a été clairement rapportée dans les envenimations scorpioniques (**ROUMEN et al., 1993 ; MEKI et MOHEY EL DEAN, 1998**).

La chémokine, IL-8 contribue au processus inflammatoire en favorisant le recrutement des neutrophiles, des basophiles et des lymphocytes sur le site inflammatoire (**MOLAD et al., 1994**).

L'implication de l'IL-8 dans la pathogenèse de l'altération du myocarde a été également rapportée dans l'envenimation scorpionique. En effet, des concentrations sériques élevées d'IL-8 ont été observées chez des enfants les plus sévèrement envenimés à la suite de piqûres par les scorpions *Buthus occitanus* et *Leiurus quinquestriatus*. Une corrélation étroite entre le taux d'IL-8 et les taux d'activités enzymatiques : CPK et cTnI, marqueurs spécifiques de l'atteinte du myocarde, a été également observée (MEKI *et al.*, 2003).

Des résultats similaires ont été trouvés dans le sérum de patients décédés à la suite de choc septique (AMMAN *et al.*, 2001).

Les troubles biologiques induits par les différents médiateurs impliqués dans le déclenchement du processus inflammatoire, peuvent être réduits sous l'effet des cytokines anti-inflammatoires. L'IL-10, cytokine pivot dans l'inhibition de la production des cytokines pro-inflammatoires, diminue la sévérité du choc septique. Une corrélation entre l'augmentation de l'IL-10 et la diminution des cytokines TNF- $\alpha$ , IL-1, IFN- $\gamma$ , IL-6 a été également rapportée (HOWARD *et al.*, 1993).

### **III . 4. Traitements anti-scorpioniques**

Les diverses complications engendrées par le venin de scorpion telles que : l'hypertension, l'œdème pulmonaire, altérations neurologiques, font de l'antivenin, seul, incapable d'abolir tous les effets systémiques déclenchés par le venin (BAWASKAR et BAWASKAR, 1991; SOFER *et al.*, 1994; TARASIUCK *et al.*, 1998).

Donc ces effets sont neutralisés par l'immunothérapie associée à un traitement symptomatique.

#### **III. 4. 1. Les traitements symptomatiques**

Le traitement symptomatique est indiqué pour corriger l'hypotension et l'hypertension artérielle (à base de captopril et nifédipine , prazosine, hydralazine) (SOFER et GUERON, 1988 ; BAWASKAR et BAWASKAR, 1994 ), les perturbations cardio-vasculaires (métoprolol, dobutamine) (Elatrous *et al.*, 1999), les réactions allergiques (administration d'épinephrine et de corticoïdes), les vomissements (métoclopramide, chlorpromazine), l'hyperthermie (acétylcholine, dandrolène) et soulager la douleur (traitement à base d'antalgiques) (ISMAIL,2003).

### **III. 4. 2. L'immunothérapie**

L'immunothérapie, seul traitement spécifique des piqûres scorpioniques et des morsures ophidiennes consiste à administrer des fragments d'immunoglobulines spécifiques au venin ou de la fraction toxique majoritaire (**LAHFI et TABATABAI, 1979; FERNADES *et al.*, 1999 ; CALDERON-ARANDA *et al.*, 1993; MORAIS *et al.*, 1993 ; DEHESA-DAVILA et POSSANI, 1994 ; CONSROE *et al.*, 1995; DE REZENDE *et al.*, 1995a ; THEAKSTON, 1996 ; MARIA *et al.*, 1998 ; BELGHITH *et al.*, 1999 ; KRIFI *et al.*, 1999 ; ABROUG *et al.*, 1999; GHALIM *et al.*, 2000 ; KRIFI *et al.*, 2001; DEVAUX et ROCHAT, 2002 ).**

Peu de travaux ont montré des réactions secondaires immédiates ou retardées, suite à l'administration des protéines hétérologues présentes dans le sérum d'origine équine (immunoglobulines non spécifiques, albumine, complément) (**SOFFER *et al.*, 1994**).

Plusieurs stratégies ont été utilisées dans un but de produire des sérums anti-venimeux avec une grande efficacité immunologique et une meilleure tolérance (**CHIPPAUX et GOYFFON, 1991 ; DEVAUX et ROCHAT, 2002**).

La purification des immunoglobulines sur échangeuse d'anions ou par chromatographie d'affinité (**RUSSEL *et al.*, 1985**) permet d'obtenir des antivenins, ayant des capacités neutralisantes importantes, mais très glycosylées sur le fragment Fc et donc très immunogènes (**SJÖSTRÖM *et al.*, 1994**).

L'utilisation des fragments F (ab')<sub>2</sub> ou Fab obtenus par digestion enzymatique (**THEAKSTON et WARELI , 1991**) est préconisée afin de réduire ainsi les réactions allergiques (**BOND, 1992, MORAIS *et al.*, 1994**).

Outre la glycosylation sur leurs fragments Fc, les immunoglobulines totales du sérum anti -scorpionique présentent des différences pharmacocinétiques avec le venin (**ISMAIL *et al.*, 1998**).

En effet, les études toxicocinétiques réalisées sur plusieurs modèles expérimentaux (lapins, chiens et rats) montrent que le venin de scorpion a une distribution rapide dans les organes et les tissus avec une demi-vie estimée de quelques minutes (2 à 11 min) et une concentration maximale dans les tissus de 30 à 60 min après envenimation. Par contre, la demi vie de l'anti-venin est de 11 à 102 fois supérieure à celle du venin (**TARASIUCK *et al.*, 1998 ; ABROUG *et al.*, 1999 ; EL- HAFNY *et al.*, 2002 ; KRIFI *et al.*, 2001; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2007**).



La diffusion rapide des toxines rend la voie veineuse, une voie recommandée pour l'injection de l'antisérum (LAHFI et TABATABAI, 1979 ; FREIRE-MAIA et CAMPOS, 1989 ; ISMAIL *et al.*, 1998 ; KRIFI *et al.*, 2001 ; EL-HAFNY *et al.*, 2002 ; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2007).

Les études expérimentales ont montré que l'antivenin administré par voie intraveineuse est caractérisé par une biodisponibilité de 96 à 100%, d'où une concentration plasmatique maximale dans l'immédiat, induisant une neutralisation immédiate, rapide et durable de la toxine, avec une redistribution des toxines des compartiments périphériques vers le sang. L'antisérum présente une absorption et une distribution retardées après son administration par la voie intramusculaire. En conséquence, une incomplète neutralisation du venin (ISMAIL *et al.*, 1994 ; PEPIN-COVATTA *et al.*, 1996 ; RIVIERE *et al.*, 1997 ; KRIFI *et al.*, 2001 ; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2007).

L'efficacité de l'immunothérapie est aussi conditionnée par le délai de l'administration du sérum anti-scorpionique. En effet, l'antivenin n'est efficace que s'il est utilisé avant que les signes généraux sévères d'envenimation n'apparaissent (CHAVEZ-OLORTEGUI *et al.*, 1994 ; DE REZENDE *et al.*, 1996 ; REVELO *et al.*, 1996).

L'injection simultanée de l'antivenin avec le venin prévient les perturbations hémodynamiques observées chez le chien (TARASIUCK *et al.*, 1998).

L'administration de l'antivenin 30 min après l'envenimation des rats, semble réduire totalement les altérations observées dans les organes ; cœur et foie, et partiellement celles retrouvées au niveau des poumons et des reins (HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2003).

Dans l'exercice clinique, ce délai est très court pour la prise en charge des personnes envenimées (CHAVEZ-OLORTEGUI *et al.*, 1994 ; DE REZENDE *et al.*, 1995a).

Les toxines du venin ont un poids moléculaire beaucoup plus faible (7 kDa) comparativement aux anticorps administrés en immunothérapie. Les doses d'antivenin administrées aux personnes envenimées sont empiriques. Des tests d'immunodétection spécifiques et sensibles de type ELISA sandwich ont été mis au point afin d'adapter la dose d'antivenin à la sévérité de l'envenimation (WARRELI *et al.*, 1974 ; DE-REZENDE *et al.*, 1995b ; CALDERON-ARANDA *et al.*, 1999 ; KRIFI *et al.*, 2001).

Ce test immunologique a été développé afin de quantifier le venin et les toxines des venins dans les liquides biologiques (urines et sang). Actuellement, le test ELISA ouvre de nouvelles perspectives pour la prise en charge des personnes envenimées par les scorpions

(CHAVEZ OLORTEGUI *et al.*, 1994; DE REZENDE *et al.*, 1995b ; KRIFI *et al.*, 1998 ; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2004) et par les vipères (THEAKSTON, 1983; AUDEBERT *et al.*, 1993; MARIA *et al.*, 1998 ).

En effet, HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, (2004) ont mis au point un test d'ELISA sandwich pour la quantification du venin sérique chez les personnes envenimées par les scorpions. La réalisation de cette méthode a nécessité d'une part, la préparation d'un conjugué spécifique [fragments F (ab')<sub>2</sub> couplé à la peroxydase] et d'autre part, la validation du test par le dosage du venin dans le sérum de donneurs non envenimés. Ces techniques immuno-enzymatiques ont été également mises au point afin d'identifier l'espèce, de définir une corrélation entre la quantité de venin dans les liquides biologiques et la gravité de l'envenimation (KRIFI *et al.*, 1998 ; GHALIM *et al.*, 2000 ; HAMMOUDI-TRIKI *et al.*, 2007).

Les toxines détoxifiées du venin de *Centruroides noxius* (CALDERON-ARANDA *et al.* 1993), *Androctonus australis hector* et *Buthus occitanus tunetanus* (KHARRAT *et al.*, 1997), ont été utilisées dans un but d'induire une immunoprotection chez l'animal contre les effets nocifs des toxines natives. L'utilisation de toxines modifiées par l'irradiation gamma dans la préparation d'anticorps neutralisants a été également abordée. En effet, l'immunisation de souris avec le venin d'*Aah* irradié avec des rayons gamma (2 KGy) a permis d'obtenir des immuns-sérums ayant une meilleure immunoréactivité et capacité neutralisante des toxines du venin natif d'*Aah* (ABIB et LARABA-DJEBARI, 2003).

La synthèse chimique a été également abordée. La production d'analogues de toxines dépourvues de toxicité, mais très immunogène, telles que : *Aah II* d'*Androctonus australis hector* (ZENOUAKI *et al.*, 1997) et *Tsg* de *Tityus serrulatus* (ALVARENGA *et al.*, 2002), a été d'un grand apport dans l'immunisation des souris pour la préparation des anticorps capables de reconnaître spécifiquement un antigène dont les propriétés structurales sont mieux adaptées aux applications souhaitées (CLOT FAYBESSE *et al.*, 1999).

Une autre voie d'approche a consisté en une production d'anticorps recombinants, prometteurs d'une protection contre la toxicité du venin de scorpion (MOUSLI *et al.*, 1999 ; AUBREY *et al.*, 2004).

Les fragments courts appelés Single Chain FV (SC. FV) ont également servi de module de base pour le développement de fragments d'anticorps de structures plus modifiées, aux

propriétés pharmacocinétiques et immunologiques améliorées (**DEVAUX et ROCHAT, 2002**).

*Chapitre IV*  
*Généralités sur le stress*  
*oxydant*

La section qui suit constitue une synthèse des connaissances actuelles en termes de biochimie radicalaire. Ces éléments constituent un prérequis nécessaire afin de comprendre le mécanisme de déclenchement de stress oxydant lors l'envenimation scorpionique (ES) (**BOTHOREL, 2011**).

Il faut pouvoir définir par quelles actions les pro-oxydants augmentent les perturbations et les altérations physiopathologiques chez le patient envenimé (**BOTHOREL, 2011**).

La formation de radicaux libres résulte du métabolisme basal chez l'homme, elle est donc physiologique et étroitement liée à l'utilisation de dioxygène par nos cellules (**GOUDABLE et FAVIER, 1997**).

Les ERO peuvent jouer un rôle important de défense de l'organisme lors des mécanismes de phagocytose des micro-organismes. De récentes études démontrent leur rôle dans certaines voies de signalisation cellulaire. En effet, beaucoup d'ERO jouent un rôle de second messager lors de la sécrétion de cytokines ou dans les voies de signalisation du NF- $\kappa$ B (**EDEAS *et al.*, 2010 ; MIGDAL, 2011**).

D'autre part, l'expression du programme génétique des cellules peut varier en réponse aux modifications des taux d'ERO intracellulaires (**BAEUERLE P A *et al.*, 1996**).

Donc, Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et le total des antioxydants, en défaveur de ces derniers soit à une production accrue des pro-oxydantes, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (Figure 41) (**SIES H, 1991**).

Le stress oxydant est responsable de dommages moléculaires liés à la forte réactivité des ERO. Les acides nucléiques de l'ADN, les lipides des membranes cellulaires, les protéines enzymatiques ou structurales qui jouent un rôle fondamental pour la survie cellulaire, sont les cibles moléculaires de ces ERO (**GOUDABLE et FAVIER., 1997**).

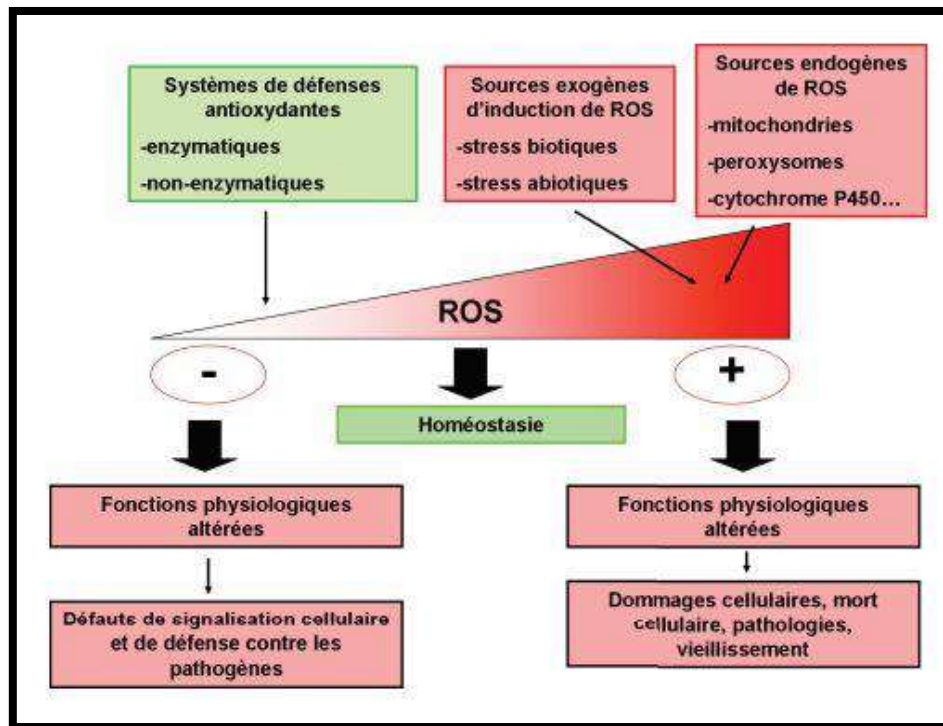


Figure 40. Origine, régulation et effets des ERO (BEGUEL, 2013).

#### IV. 1. Les pro-oxydants

##### VI. 1. 1. Les différentes espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Toutes les ERO ne sont pas des radicaux libres. Par exemple, le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le peroxydinitrite ( $ONOO^-$ ) ne possèdent pas d'électrons célibataires et ne peuvent donc pas être considérés comme radicaux libres (GOUDABLE et FAVIER, 19997).

Il est donc courant de parler d'espèces réactives de l'oxygène, ce qui permet d'inclure l'ensemble des espèces qui dérivent de l'oxygène moléculaire  $O_2$  (BOTHOREL, 2011).

Les ERO comprennent l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'ozone ( $O_3$ ). Selon les auteurs, ils incluent également le monoxyde d'azote ( $NO\cdot$ ), l'anion peroxydinitrite ( $ONOO^-$ ), également désignés espèces réactives de l'azote (ERN), et les radicaux peroxydes ( $ROO\cdot$ ) et alkoxydes ( $RO\cdot$ ). Les principales ERO sont énumérées dans (le tableau 03) (FAVIER A ,2003).

Tableau 3. Principales espèces réactives de l'oxygène (FAVIER A ,2003).

Radicaux libres (RL)	Espèces réactives non radicalaires
Anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ )	Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )
Hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ )	Acide hypochlorique ( $HOCl$ )
Hydroperoxyde ( $HO_2^{\bullet}$ )	Ozone ( $O_3$ )
Peroxyde ( $RO_2^{\bullet}$ )	Oxygène singulet ( $^1O_2$ )
Alkoxyde ( $RO^{\bullet}$ )	Hydroperoxyde ( $ROOH$ )
Dioxyde de carbone ( $CO_2^{\bullet-}$ )	Peroxynitrite ( $ONOO^-$ )

#### IV. 1. 1. 1. Anion superoxyde

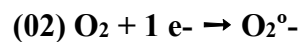
Ce métabolite est synthétisé par la phosphorylation oxydative mitochondriale, qui combine un système réducteur de transfert d'électrons et du dioxygène. Le dioxygène est de ce point de vue, le récepteur terminal des électrons issus du métabolisme du glucose (réaction 01) (PINCEMAIL J *et al.* , 2002)

**Réaction 01 | Le dioxygène : accepteur d'électrons lors de la respiration cellulaire.**



Or cette réaction n'est pas totale. Selon les auteurs 1 à 6% du dioxygène va être transformé en radical superoxyde par l'addition d'un seul électron sur le dioxygène (réaction 02) (BOTHOREL, 2011).

**Réaction 02 | Synthèse du radical superoxyde dans la mitochondrie.**



Les  $O_2^{\bullet-}$  ont une faible réactivité avec les composés biologiques et ne réagissent ni avec les acides nucléiques et leurs constituants, ni avec les protéines et leurs acides aminés, ni avec les lipides et leurs acides gras. Toutefois, la présence de la charge électrique négative sur cette molécule bloque leur diffusion au travers des membranes biologiques (BENNAMARA, 2017).

L' $O_2^{\bullet-}$  soit transformée en peroxyde d'hydrogène par la réaction de dismutation suscitée par Le SOD (réaction 08) (HADDAD, 1996).

En fait, Les  $O_2^{\bullet-}$  sont indirectement toxiques en réagissant avec  $NO^{\bullet}$ , produisant  $ONOO^-$  (réaction 3) (BENNAMARA, 2017).

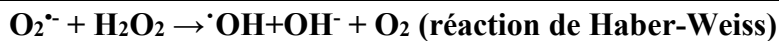
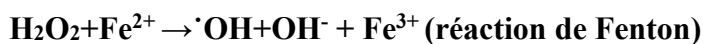
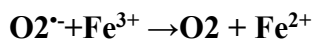
**Réaction 03 | Réaction biradicalaire formant du peroxynitrite.**



Or le peroxyde d'hydrogène issu de cette dismutation est à l'origine de la formation de radicaux hydroxyles, la plus délétère des ERO, via la réaction de Fenton en présence de cations métalliques (réaction 04) (BOTHOREL, 2011).

Inversement la dismutation spontanée des anions superoxydes aboutit à la formation du radical hydroxyle selon la réaction de HaberWeiss (réaction 04) (FAVIER A ,2003).

**Réaction 04 | Production du radical hydroxyle par réaction de Fenton et réaction de Haber Weiss (FAVIER A ,2003).**



C'est à l'issue de cette production mitochondriale initiale, que le radical superoxyde va pouvoir alimenter la synthèse d'ERO (HADDAD, 2002 ; PINCEMAIL J *et al.* , 2002 ; CASTEILLA L *et al.* , 2003 ; HOUEE-LEVIN C *et al.* , 2005).

Certains auteurs estiment la production de cet élément radicalaire à 2 kg par an chez l'être humain (HADDAD, 1996).

Les radicaux superoxydes ont la capacité de diffuser au niveau de la membrane mitochondriale externe, de la matrice, et de part et d'autre de la membrane interne (VALKO M *at al.* , 2006).

### VI. 1 .1 .2. Le radical hydroxyle

Les  $\bullet OH$  sont les radicaux les plus délétères. Ils présentent une extrême réactivité, une demi vie limitée ( $10^{-10}$  s dans les systèmes biologiques), diffusent donc peu et sont les plus toxiques lors d'un stress oxydant (SO). Ils agissent selon trois mécanismes : en arrachant soit un électron ( ${}^{\bullet}OH + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH^-$ ) soit un atome d'hydrogène ( ${}^{\bullet}OH + RH \rightarrow R^{\bullet} + H_2O$ ) ou encore en s'additionnant sur les doubles liaisons ( ${}^{\bullet}OH + >C=C< \rightarrow >{}^{\bullet}C(OH)-$ ). Leurs cibles biologiques sont la plupart des molécules organiques et inorganiques des cellules, en



particulier, l'ADN, les protéines, les lipides, les acide-aminés, les sucres et les métaux. Le radical  $\bullet\text{OH}$  est produit au sein des cellules, suite soit à la réaction de Haber-Weiss, soit à la réaction de Fenton qui nécessite des catalyseurs métalliques (réaction IV.4) (FAVIER A ,2003).

La significativité de la réaction de Fenton dans les conditions physiologiques n'est pas claire car les ions fer sous la forme libre catalyseur sont peu disponibles en raison de leur séquestration par une variété de protéines piègeuses de métaux (FAVIER A ,2003)

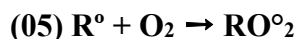
#### IV. 1. 1. 3. Le peroxyde d'hydrogène

Le  $\text{H}_2\text{O}_2$ , également appelée dioxyde de dihydrogène ou « eau oxygénée » est très soluble dans l'eau, pénètre facilement les membranes biologiques, et peut provoquer la dégradation des protéines, la libération de  $\text{Fe}^{3+}$ , l'oxydation de l'ADN, de lipides, ou encore de thiols, mais également l'inactivation d'enzymes. Sa capacité à traverser les membranes biologiques et à diffuser loin de son lieu de synthèse, fait du  $\text{H}_2\text{O}_2$  une des composantes utilisée par les cellules dans la signalisation intra et/ou intercellulaire. En effet, en faible concentration, il ne présente pas de toxicité pour la cellule. Cependant, en forte concentration, il induit une cytotoxicité par le biais des ERO qu'il génère. En se décomposant en anions hydroxyles et en radicaux hydroxyles par la réaction de Fenton en présence de sels métalliques ( $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cu}^+$ ), il devient toxique (FAVIER A ,2003).

#### IV. 1. 1. 4. Les radicaux peroxydes

Les radicaux  $\text{ROO}\bullet$  sont des radicaux secondaires issus de l'oxydation de substrats organiques, initiée par l' $^1\text{O}_2$  ou le  $\bullet\text{OH}$ . Ils sont dotés d'un pouvoir oxydant important mais inférieur à celui de  $\bullet\text{OH}$ , avec le même mécanisme d'action que ce dernier. Ils peuvent également se décomposer pour donner des radicaux  $\text{O}_2\bullet^-$ . Ils sont à l'origine de réactions en chaîne et la peroxydation des lipides est un exemple d'oxydation très dangereux pour les cellules avec des conséquences multiples en induisant une diminution de la fluidité des membranes plasmiques et une augmentation de la charge négative de surface, et en perturbant les membranes des organites cellulaires. On observe ainsi une inactivation des enzymes membranaires, une oxydation des groupements thiols, une augmentation de la perméabilité membranaire, un gonflement des mitochondries avec inhibition de la chaîne respiratoire et la perte du cytochrome C (cyt C) (FAVIER A ,2003).

Les radicaux  $\text{RO}_2\bullet$  sont formés par attachement de l'oxygène sur des radicaux centrés sur le carbone (symbolisés  $\text{R}\bullet$ ) (réaction 05) (BENNAMARA, 2017).

**Réaction 05 | Synthèse des radicaux peroxydes.**

Les hydroperoxydes (RO<sub>2</sub>H) proviennent de l'oxydation d'un substrat (RH) (réaction 06) (BENNAMARA, 2017).

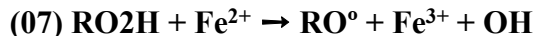
**Réaction 06 | Synthèse des hydroperoxydes.**

Cette réaction est spontanée en milieu aérobie avec une constante de vitesse de l'ordre de 10<sup>8</sup> à 10<sup>9</sup> mol<sup>-1</sup>.L.s<sup>-1</sup> (BOTHOREL, 2011).

**VI. 1. 1. 5. Les alkoxydes**

La synthèse de radicaux alkoxydes nécessite la présence de fer ferreux et emprunte un mécanisme réactionnel de type Fenton (BOTHOREL, 2011).

Alors que les radicaux alkoxydes RO<sup>•</sup> sont issus de la décomposition des RO<sub>2</sub>H par des cations métalliques (Réactions 07) (FAVIER A, 2003).

**Réaction 07 | Synthèse des radicaux alkoxydes.**

Les constantes de vitesses réactionnelles avec les biomolécules sont assez élevées, ce qui procure aux radicaux alkoxydes une toxicité directe. La peroxydation lipidique inducible par les radicaux hydroxydes ou par des radicaux peroxydes eux-mêmes est une source importante de production d'ERO. Ces réactions entraînent des dommages par propagation radicalaire (figure 42) (BOTHOREL, 2011).

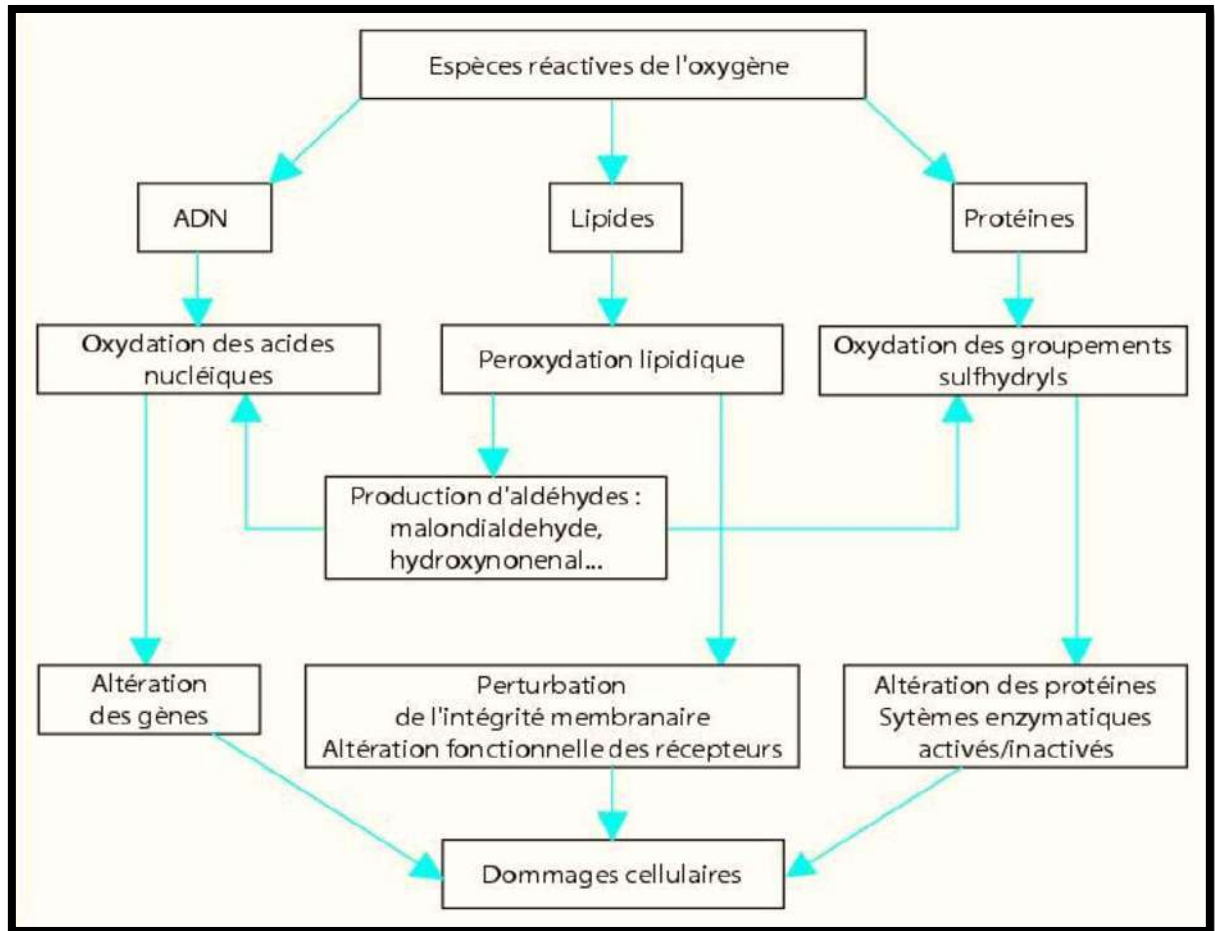


Figure 41. Principaux dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène et provoqués sur les lipides, les protéines et l'ADN (MONTEIL *et al.*, 2004).

## VI. 1. 2. Les espèces réactives de l'azote (ERN)

### VI. 1. 2. 1. Le monoxyde d'azote

Le NO<sup>•</sup> est le produit de la transformation de la L-arginine en L-citruline grâce à une famille d'enzymes : Les monoxydes d'azote synthases (NOS) (Figure 43) (DELATTRE J *et al.*, 2005).

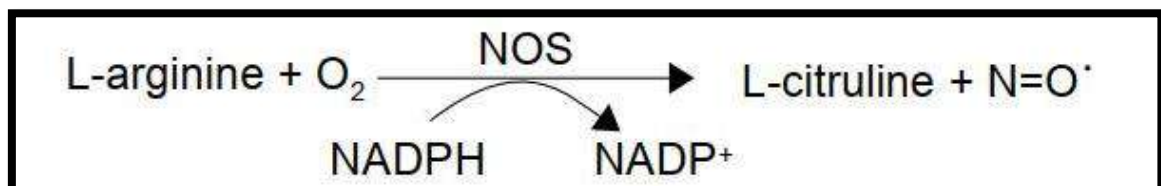


Figure 42. Production du monoxyde d'azote (DELATTRE J *et al.*, 2005).

Le  $\text{NO}\cdot$  peut réagir avec une grande variété de substances ou des radicaux libres et conduire (par exemple après réaction avec  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) à la formation de nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) ou de nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) (DELATTRE J *et al.* , 2005).

#### IV. 1. 2. 2. Le peroxynitrite

Le  $\text{ONOO}^-$  est formé suite à la réaction entre  $\text{O}_2^{\cdot-}$  et  $\text{NO}\cdot$  avec une constante de vitesse de  $6,7 \cdot 10^9 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  (Figure 44). La forme protonée du radical  $\text{ONOO}^-$  ( $\text{ONOOH}$ ) est un puissant agent oxydant causant des dommages importants similaires à ceux observés avec  $\cdot\text{OH}$  (DELATTRE J *et al.* , 2005).

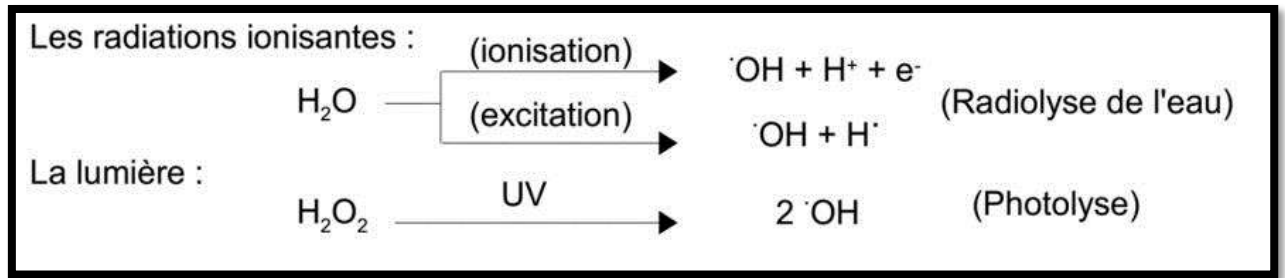


Figure 43. Formation du peroxynitrite (DELATTRE J *et al.* , 2005).

#### IV. 1. 3. Les sources endogènes et exogènes des espèces réactives de l'oxygène

La production des ERO dans les cellules est essentiellement d'origine enzymatique et découle de plusieurs sources possibles (Tableau 04). Il s'agit principalement de la NAD(P)H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, mais d'autres sources, cytosoliques ou présentes au sein de différents organites cellulaires peuvent également jouer un rôle dans la modulation de la signalisation intracellulaire: xanthine oxydase, enzymes de la voie de l'acide arachidonique (lipo-oxygénases, cyclo-oxygénases), enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et peroxysomes. Les NOS sont à l'origine de la synthèse du radical  $\text{NO}\cdot$  mais qui peuvent aussi dans certaines conditions (faible concentration en L-arginine) produire des  $\text{O}_2^{\cdot-}$  (DELATTRE J *et al.* , 2005).

Les sources exogènes sont majoritairement des pro-oxydants environnementaux tels que les pesticides, les métaux lourds, la fumée de cigarettes, les polluants, la poussière (d'amiante, de silice), et les composés induits par la prise de certains médicaments, par le rayonnement électromagnétique (radiation ionisante, lumière ultraviolette), ou lors d'un coup de chaleur (Figure 45) (FAVIER A ,2003).



**Figure 44. Production des espèces réactives de l'oxygène par l'action des radiations ionisantes et de la lumière (DELATTRE J *et al.*., 2005).**

**Tableau 4. Les sources endogènes et exogènes des espèces réactives de l'oxygène (DELATTRE J *et al.*., 2005).**

Sources endogènes d'ERO	Sources exogènes d'ERO
NAD(P)H oxydase	Toxiques environnementaux
Chaîne respiratoire mitochondriale	Radiations ionisantes
Peroxysomes	Radiations UV
Cytochrome P450	Champs électriques
Xanthine oxydase	Xénobiotiques pro-oxydants
Cyclo-oxygénases	Cytokines pro-inflammatoires
Lipo-oxygénases	

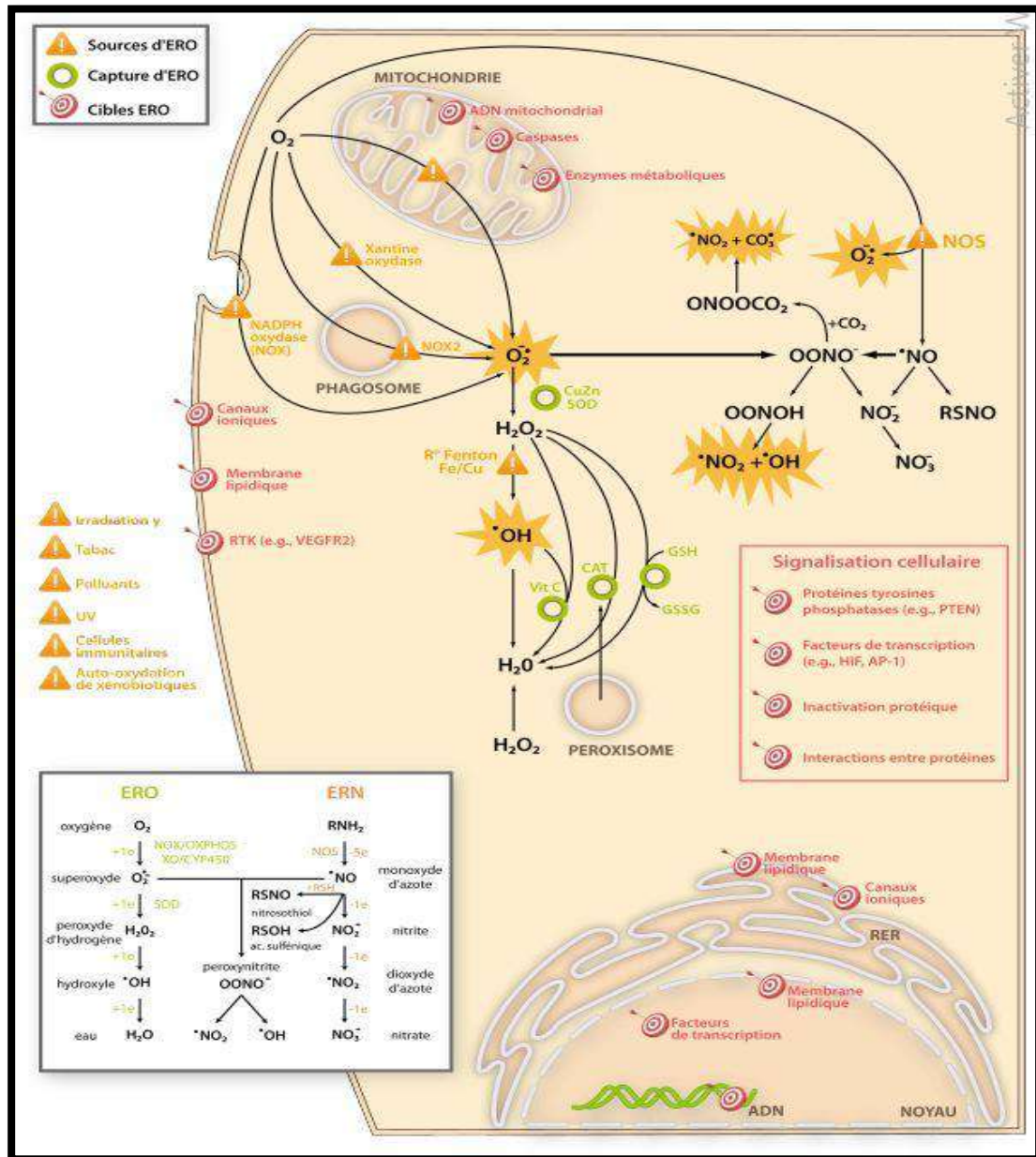


Figure 45. Réactivité des Espèces De l'Oxygène et de l'Azote (KORYTOWSKI W *et al* ., 1986 ; GOUDABLE et FAVIER, 1997 ; WEIJL N I *et al* ., 1997 ; MIKKELSEN R B et WARDMAN P. , 2003 ; HOUEE-LEVIN C *et al* ., 2005 ; TEROND P, 2006 ; FAVIER A, 2006 ; NATHAN C et DING A, 2010 ; MIGDAL, 2011).

#### IV. 2. Les systèmes de défenses antioxydants

Les phénomènes d'oxydation sont nécessaires afin que l'organisme puisse produire de l'énergie et assurer une partie de la signalisation cellulaire. Lors de ces réactions physiologiques, certaines espèces réactives telles que les ERO et ERN peuvent être produites (DUGO L *et al* ., 2011).

Une seule cellule de l'organisme est soumise à environ 1,5.10<sup>5</sup> attaques oxydatives par jour, initiées par les radicaux hydroxyles et autres espèces réactives (VALKO M *et al.*, 2006).

Les mécanismes de compensation des lésions oxydatives sont donc indispensables au maintien de l'intégrité cellulaire. Les cellules sont capables de synthétiser en réponse aux agressions oxydantes des entités antioxydants soit enzymatiques, soit issues du métabolisme. Toutefois, un certain nombre d'antioxydants présents dans notre organisme sont exogènes et proviennent de la présence dans notre alimentation de fruits et légumes (exemple : polyphénols, alpha-tocophérol, acide ascorbique, caroténoïdes) (BOTHOREL, 2011).

#### IV. 2. 1. Systèmes de défenses antioxydants enzymatiques

Il s'agit de systèmes enzymatiques dont l'activité peut être régulée par différents événements. Leur taux peut croître par up-régulation à mesure que le stress oxydant se fait ressentir dans une cellule (PINCEMAIL J *et al.*, 2002 ; MIAO L *et* CLAIR D K, 2009).

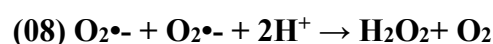
Ils peuvent de cette façon pallier immédiatement à une agression oxydative ponctuelle sans être subordonnés à un apport exogène. Cette caractéristique les différencie des antioxydants non enzymatiques qui sont nécessairement soumis à l'alimentation ou aux stocks cellulaires. Comme le démontrent plusieurs auteurs, l'intégrité des antioxydants enzymatiques est donc primordiale pour la survie (HOUEE-LEVIN C *et al.*, 2005 ; MIAO L *et* CLAIR D K, 2009 ; DUGO L *et al.*, 2011).

##### IV. 2. 1. 1 Les superoxydes dismutases (SOD)

La SOD est l'une des plus importantes enzymes cellulaires possédant une fonction antioxydante. C'est l'enzyme antioxydante « anti-O<sub>2</sub><sup>•-</sup> » la plus importante dans toutes les cellules aérobies car elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée.

L'absence de cette enzyme peut être létale. La SOD catalyse la dismutation de l'O<sub>2</sub><sup>•-</sup> en dioxygène et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selon la formule (réactions 08) (AFONSO V *et al.*, 2007).

#### Réaction 08 | Action du superoxyde dismutase sur l'anion superoxyde

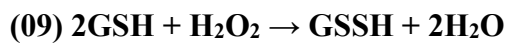


Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été définies. La SOD1 cytosolique, et la SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique (Cu/Zn-SOD), alors que la SOD2 mitochondriale utilise le manganèse (Mn-SOD) (AFONSO V *et al.*, 2007).

#### IV. 2. 1. 2. Les glutathion peroxydases (GPx)

Les GPx catalysent la décomposition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en couplant sa réduction en H<sub>2</sub>O avec l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en bisulfure de glutathion (GSSG) (réaction 09) (BENNAMARA, 2017).

##### Réaction 09 | Action de la glutathion peroxydase

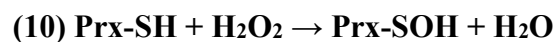


Outre le peroxyde d'hydrogène, les GPx peuvent réduire de nombreux peroxydes tels que les hydroperoxydes lipidiques (ROOH) transformés en groupement alcool (ROH). Le GSH reste toujours le donneur d'hydrogène. Les GPx sont composées de quatre sous-unités, chacune contenant un atome de sélénium essentiel à l'activité enzymatique. Chez l'homme quatre isoenzymes numérotés de 1 à 4 ont été identifiés. Les GPx sont majoritairement localisées dans le cytoplasme. Une proportion plus faible est présente dans la matrice mitochondriale. Les mitochondries sont dépourvues des enzymes nécessaires à la synthèse du GSH qui doit donc être importé du cytoplasme. La plus grande partie d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit au niveau des mitochondries ou du cytoplasme est éliminé par les GPx plutôt que par la catalase (HALLIWELL B, GUTTERIDGE JM., 1986 ; HALLIWELL B et GUTTERIDGE JM., 1988).

#### IV. 2. 1. 3. Le système peroxyrédoxine / thiorédoxine (Prx/Trx)

Les peroxyrédoxines (Prx) forment une famille de peroxydases à groupement thiol capables de réduire le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et d'autres peroxydes (réaction 10). Elles ont en commun le fait de posséder un résidu cystéine à leur extrémité N terminale qui va être le site primitif d'oxydation par l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (RHEE SG *et al.*., 2005).

##### Réaction 10 | Réduction du peroxyde d'hydrogène par la peroxyrédoxine



La Prx oxydée réagit alors avec une autre molécule de Prx-SH pour former un pont disulfure (réaction 11) (RHEE SG *et al.*., 2005).

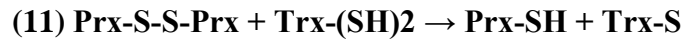
##### Réaction 11 | Formation de pont disulfure entre deux peroxyrédoxines





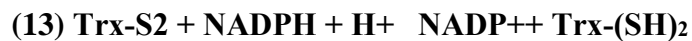
Le dimère disulfure est finalement régénéré en Prx réduite en oxydant une molécule contenant deux groupements thiols adjacents, la thiorédoxine (Trx) (réaction 12) (RHEE SG *et al.*, 2005).

**Réaction 12 | Régénération du dimère disulfure par la thiorédoxine**



Les deux groupements thiols de la Trx forment alors un pont disulfure qui est réduit par la thiorédoxine réductase en utilisant comme donneur d'électrons le NADPH (réaction 5) (BENNAMARA, 2017).

**Réaction 13 | Réduction de la thiorédoxine par la thiorédoxine réductase (Rhee SG *et al.*, 2005).**



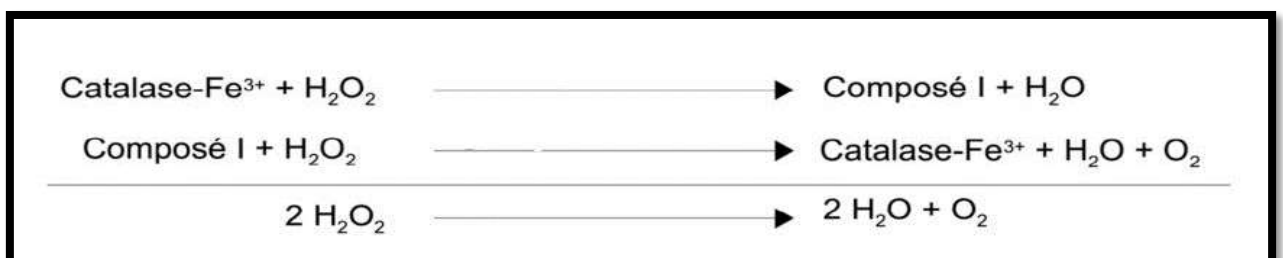
Il existe six isoformes de Prx localisés principalement dans le cytoplasme et les mitochondries. Leur activité catalytique est plus faible que celle de la catalase ou des GPx mais elles possèdent une forte affinité pour H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Les Prx pourraient ainsi être plus efficaces pour éliminer des niveaux faibles d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (RHEE SG *et al.*, 2005).

#### IV. 2. 1. 4. Les catalases (CAT)

La CAT est une enzyme héminique (un noyau héminique) capable de transformer H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau et en oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes (DELATTRE J *et al.*, 2005).

La CAT humaine est formé de quatre sous-unités, chaque sous-unité comporte un groupement ferri-protoporphyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe<sup>3+</sup> (KO TZ *et al.*, 2000).

La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (figure 47) (DELATTRE J *et al.*, 2005).



**Figure 46. Action de la catalase (DELATTRE J *et al.*, 2005).**

#### IV. 2. 1. 5. L'hème oxygénase

L'hème oxygénase dégrade l'hème (prooxydant) en biliverdine, puis en bilirubine qui est un antioxydant, en CO et en fer, et peut prévenir l'oxydation des LDLs (figure 48) (BOUGUERNE ,2012).

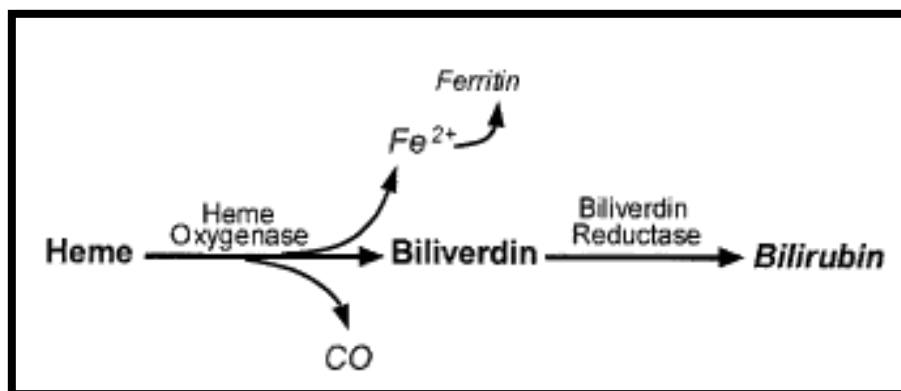
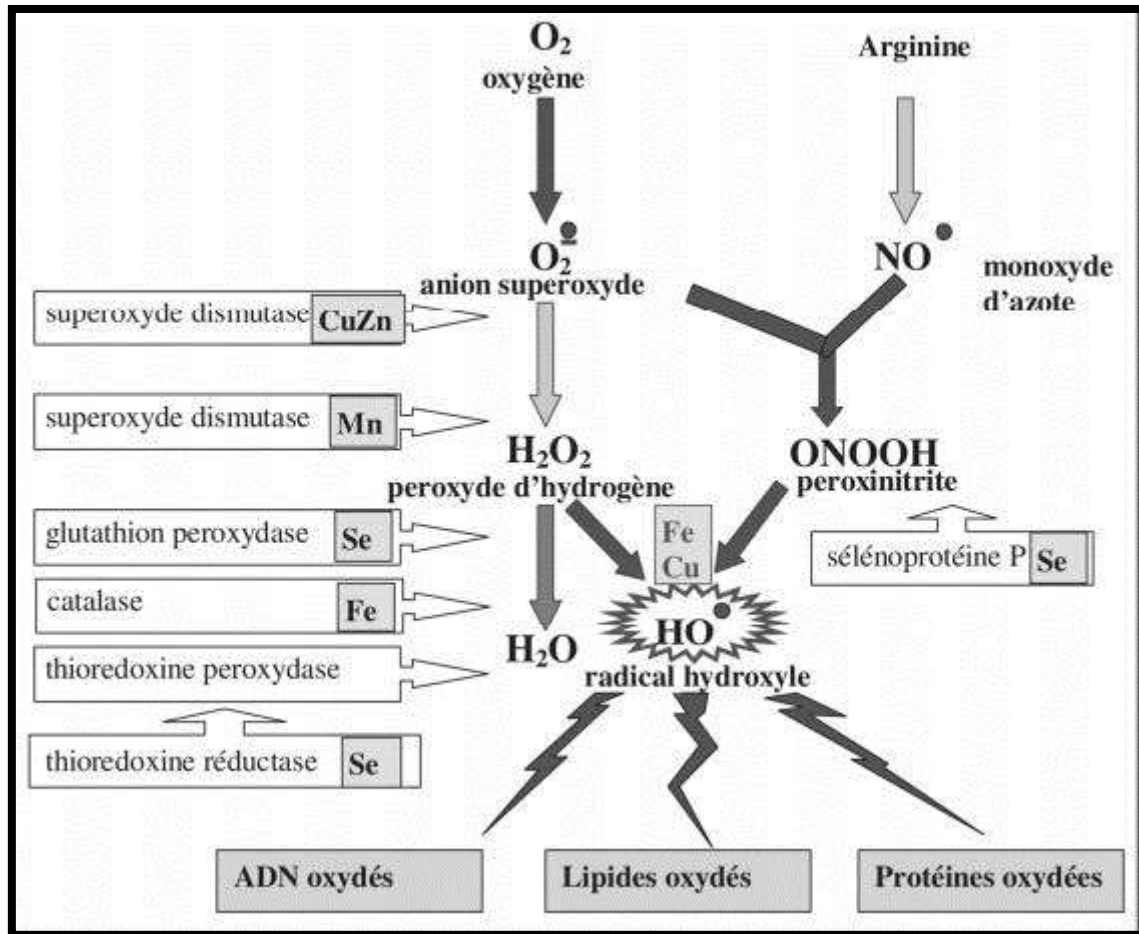


Figure 47. L'activité de l'hème oxygénase dans la dégradation de l'hème (site 13).

#### IV. 2. 1. 6. Les glutathion réductases (GR)

La GR est une enzyme ubiquitaire, qui catalyse la réduction du GSSG en GSH (Figure 49). La GR est essentiel pour le cycle redox du glutathion qui maintient un niveau adéquat de GSH cellulaire. Le GSH sert d'antioxydant, réagissant avec les radicaux libre et les peroxydes organiques, dans le transport d'acides aminés, et en tant que substrat pour les glutathion peroxydases (GPx) et les glutathion S transférases (GST) dans la détoxification des peroxydes organiques et métabolisme des xénobiotiques, respectivement (CARLSBERG I et MANNERVIK B ., 1985).

Le GSSG est réduit par une réaction en plusieurs étapes, dans laquelle la GR est d'abord réduite par une NADPH formant une semiquinone du FAD, un radical soufre et un thiol. La GR réduite réagit avec une molécule de GSSG, induisant un échange de disulfure, ce qui produit une molécule de GSH et le complexe GR réduite-SG. Un réarrangement d'électrons dans le complexe GR réduite-SG induit un deuxième échange de disulfure, scission de la deuxième molécule de GSH et la restauration de la GR sous sa forme oxydée (MASSEY V et WILLIAMS C.H ., 1965).



**Figure 49.** Schéma récapitulatif des modes d'actions des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (GOUDABLE et FAVIER, 1997).

#### IV. 2. 2. Système de défenses antioxydants non enzymatiques

##### II. 2. 2. 1. Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide constitué d'acide glutamique, de cystéine et de glycine ( $\gamma$ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine). Le groupement amine de la cystéine est lié à la fonction acide en  $\gamma$  de l'acide glutamique. La fonction thiol de la cystéine porte les principales propriétés de ce peptide. Il est impliqué dans l'inactivation des ERO, ainsi que dans la régénération de certains composés aux propriétés antioxydantes, comme la vitamine E (DESMIER, 2016).

On le retrouve dans de nombreux compartiments intracellulaires (cytosol, noyau, mitochondries) soit sous forme réduite (GSH) soit sous forme oxydée (GS-SG). Le rapport

de concentration entre ces deux formes est en faveur de la forme réduite, ce qui est nécessaire à l'action antioxydante (DESMIER, 2016).

#### IV. 2. 2. 2. La vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est une molécule soluble dans l'eau (figure 50). Elle est synthétisée par les plantes et la plupart des animaux, exceptés chez certains mammifères tels que l'homme (BEGUEL, 2013).

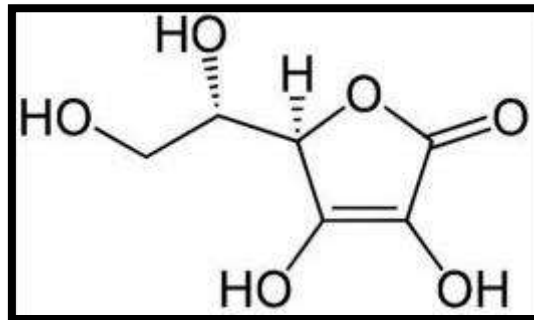
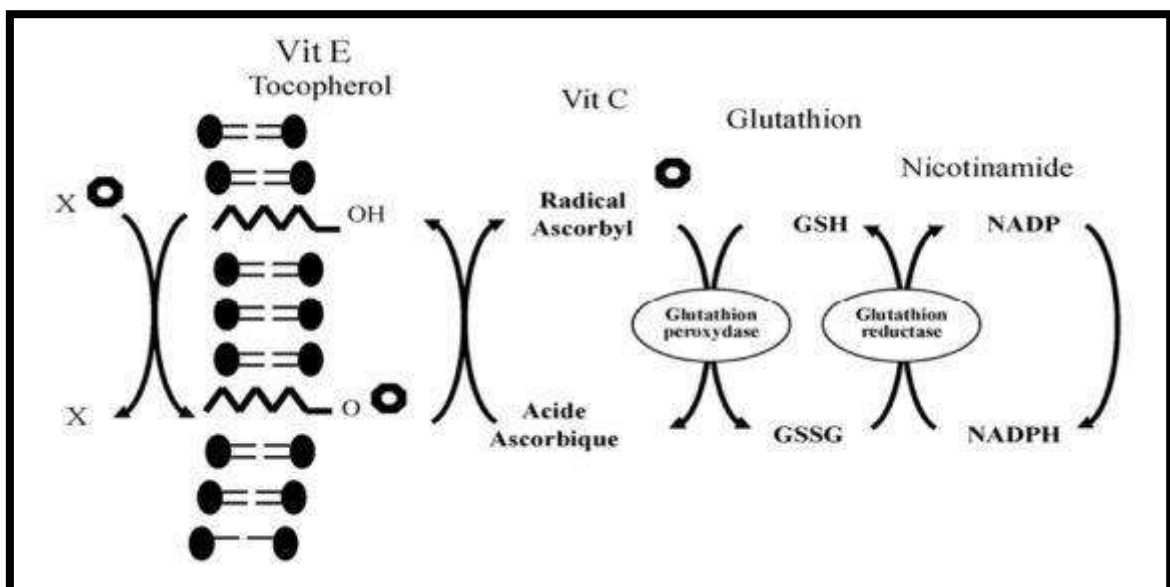


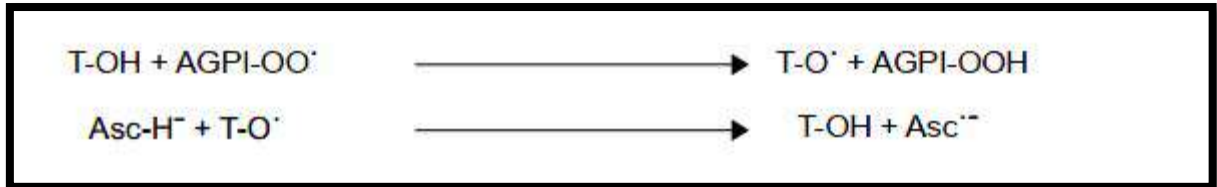
Figure 48. Structure de la vitamine C (VERTUANI S *et al.* , 2004).

C'est une molécule antioxydante capable de réagir directement avec tous les ERO réduisant ainsi la peroxydation lipidique et les dommages aux protéines et à l'ADN. La vitamine C a également un pouvoir antioxydant indirect en recyclant les caroténoïdes et la vitamine E. D'un autre côté, la vitamine C permet le recyclage de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  favorisant ainsi la réaction de Fenton et a donc de manière indirecte une action pro-oxydante (figure 51) (BEGUEL, 2013).



**Figure 49. Complémentarité entre systèmes de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques (cas de la séquence vitamine E-vitamine C-glutathion) (LEVERSE X , 2009).**

L'acide urique est issu du métabolisme des purines et peut réagir avec HO· et être régénéré par la vitamine C (figure 52) (AMES *et al.*, 1981).



**Figure 50. Recyclage de l' $\alpha$ -tocophérol par la vitamine C (VERTUANI S *et al.* , 2004).**

#### IV. 2. 2. 3. La vitamine E

La vitamine E, particulièrement l' $\alpha$ -tocophérol, est un antioxydant liposoluble. De ce fait, elle est capable d'empêcher ou d'arrêter la propagation de la peroxydation lipidique. Elle réagit directement avec les ERO dérivés des acides gras polyinsaturée ou d'autres molécules radicalaires et devient elle-même une espèce radicalaire  $\alpha$ -Toc avant d'être de nouveau réduite de manière non enzymatique par les caroténoïdes par exemple. La vitamine E est produite dans les chloroplastes des plantes, en revanche les animaux doivent la trouver dans leur alimentation (BEGUEL, 2013).

Sa concentration est assez faible dans les membranes dans la mesure où elle est continuellement recyclée en sa forme réduite (BEGUEL, 2013).

#### IV. 2. 2. 4. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont également des molécules liposolubles produites par les organismes photoautotrophes et qui doivent être acquis par l'alimentation chez les animaux (BEGUEL, 2013).

Leur potentiel antioxydant pour lutter contre la peroxydation lipidique a été démontré très tôt (MONAGHAN et SCHMITT, 1932) et ils sont capables de réagir avec les radicaux libres de trois manières : par le transfert d'électron, d'hydrogène ou la liaison avec le radical. Ils sont également capables de régénérer la vitamine E et sont eux-mêmes régénérés par la vitamine C (HERMES-LIMA, 2005).

#### **IV. 2. 2. 5. Les oligo-éléments (métaux de transition)**

Les oligo-éléments se définissent comme une classe de nutriments nécessaires, en quantité très faible, à la vie d'un organisme. L'apport par l'alimentation, en quantité raisonnable, est crucial. En effet, ils n'agissent pas directement contre les ERO, mais ils sont nécessaires aux enzymes décrites précédemment. Un apport excessif en oligo-éléments peut entraîner de sérieux dysfonctionnements (DESMIER, 2016).

##### **IV. 2. 2. 5. 1. Le sélénium**

Le sélénium est un oligo-élément constituant des sélénoprotéines dont fait partie le principal antioxydant intracellulaire, la glutathion peroxydase. On le retrouve notamment dans le porc, le bœuf et le poisson. Il joue également le rôle de détoxification des métaux lourds comme le cadmium (DESMIER, 2016).

##### **IV. 2. 2. 5. 2. Le cuivre**

Le cuivre est un des cofacteurs essentiels de la SOD étant donné sa facilité à passer de l'état réduit à l'état oxydé (JOMOVA et VALKO, 2001).

Néanmoins, il joue également un rôle important dans l'initiation des réactions produisant des ERO de par ses propriétés de métal de transition, tout comme le fer (LALIBERTE et LABBE, 2008).

##### **IV. 2. 2. 5. 3. Le zinc**

Le zinc est un cofacteur de la SOD. On retrouve le zinc dans les huîtres, le foie de veau et la viande de bœuf. Le zinc a également comme fonction de protéger le groupement thiol des protéines. De plus, il peut lutter contre la formation des ERO induite par le fer ou le cuivre. Ainsi l'analyse du rapport des taux sanguins Cuivre/ Zinc permet d'évaluer le stress oxydant d'un individu donné. Il semblerait que les personnes atteintes de maladies dégénératives aient un rapport Cuivre/Zinc plus élevé que la moyenne (MEZZETTI *et al*., 1998).

#### **IV. 2. 2. 6. Hormones sexuelles (Oestrogènes)**

Les hormones sexuelles femelles (œstradiol, œstrone et œstriol) sont capables d'inhiber la peroxydation lipidique des LDL *in vitro* à des concentrations micromolaires (KEANEY *et al*., 1994).

#### IV. 2. 2. 7. Mélanine

Les mélanines sont des pigments formés par oxydation et polymérisation de la tyrosine, grâce à l'action d'enzymes (tyrosine hydroxylase et tyrosinase). Les mélanines noires et marron présentent dans la peau protègent des rayonnements ultraviolets. Elles se comportent comme des piègeurs des RL (en particulier d' $O_2^{\cdot -}$  qui est produit lors d'illumination de la mélanine, et de  $RO_2^{\cdot}$ ) (KORYTOWSKI W *et al.* , 1986).

#### IV. 2. 2. 8. Mélatonine

La mélatonine est une hormone produite par la glande pinéale, par méthylation de la sérotonine. La mélatonine est capable de piéger plusieurs espèces radicalaires, mais sa capacité à rompre les chaînes de peroxydation lipidique est limitée (DELATTRE J *et al.* , 2005).

#### IV. 2. 2. 9. Acide Urique

L'acide urique est un piègeur de  $^1O_2$ , des radicaux peroxydes et hydroxydes ( $RO_2^{\cdot}$  et  $HO^{\cdot}$ ) (figure 53) de l'ozote (figure 54) et de  $HClO^{\cdot}$ . La réaction de l'acide urique avec ces ERO génère des radicaux moins réactifs que  $HO^{\cdot}$  qu'est ensuite régénérer par la vitamine C (figure 55) (BOUGUERNE ,2012).

À pH physiologique, l'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate, en raison de pKa de 5,4 (SIMIC MG et JOVANOVIC SV , 1989).



Figure 51 .Réaction de l'urate avec le radical peroxyde (DELATTRE J *et al.* , 2005).



Figure 52. Réaction d'urate avec le dioxyde d'azote (DELATTRE J *et al.* , 2005).



Figure 53 .Régénération de l'urate par l'ascorbate (DELATTRE J *et al.* , 2005).

#### IV. 2. 2. 10. Les protéines de stockage des métaux de transition

Des protéines liant les métaux (transferrine, céruloplasmine, etc.), l'albumine ou l'haptoglobine diminuent le taux des ions métalliques libres en les complexant avec en conséquence, une diminution de leur pouvoir oxydant. A titre d'exemple, la réaction de Fenton entre le fer (cuivre) et l'eau oxygénée ne se fait pas en absence du métal (BOUGUERNE ,2012).

#### IV. 2. 2. 11. Polyphénols

Les phénols sont des molécules qui contiennent un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle (OH). Ils peuvent être extraits à partir de plantes ou synthétiques

Une grande partie de ces molécules est présente dans l'alimentation. Les plus connus sont les acides phénoliques (benzoïque ou cinnamique), les flavonoïdes, et les tanins. Les stilbènes et le lignan sont moins connus (Tableau 05) (BEGUEL, 2013).

**Tableau 5.** Les grandes familles de polyphénols (DEFRAIGNE J et PINCEMAIL J , 2008).

Famille	Principaux composés
<b>Acides phénoliques</b>	Acide vallique Acide caféique Acide gallique Acide férulique
<b>Flavonoïdes :</b> Flavonols Flavonones Flavones-3-ols Anthocyanidines	Quercétine Naringénine Catéchine Cyanidine
<b>Stilbènes</b>	Resvératrol
<b>Lignanes</b>	Lignine





# *Partie expérimentale*

*Chapitre I*  
*Matériels et méthodes*

### I.1. Lieu du travail

Notre étude a été réalisée dans 2 entités :

- Le laboratoire d'immunologie, faculté de médecine Ouargla.
- Le laboratoire central de l'hôpital civil de Ouargla "Mohammed Boudhiaf" précisément au service de biochimie II.

Nous avons développé un nouveau protocole expérimental qui permet d'étudier *in vitro* les pouvoirs pro-oxydants des venins des sept espèces du scorpion de la faune de Ouargla, et aussi d'étudier l'effet d'antivenin (l'immunothérapie anti-scorpionique) sur ces pouvoirs.

En effet, nous avons utilisé 3 matrices biologiques :

1. Plasma humain normal (PHN).
2. Globules rouges seuls.
3. Plasma humain normal et Globules rouges seuls.

Le pouvoir de l'oxydation de chacune de ces 3 matrices biologiques par les sept venins scorpioniques en absence ou en présence de l'IT (antivenin), a été marqué par les taux des malondialdéhydes (MDA), la concentration de ce dernier permet d'évaluer le pouvoir oxydatif de chaque venin.

#### **Principe**

Le MDA est un biomarqueur du dommage oxydatif et produit lors des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène générées dans certains cas pathologiques.

La mesure des produits de peroxydation des lipides tels que le MDA par le test des TBARS est l'un des tests les plus largement acceptés.

Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 532 nm (figure 56).

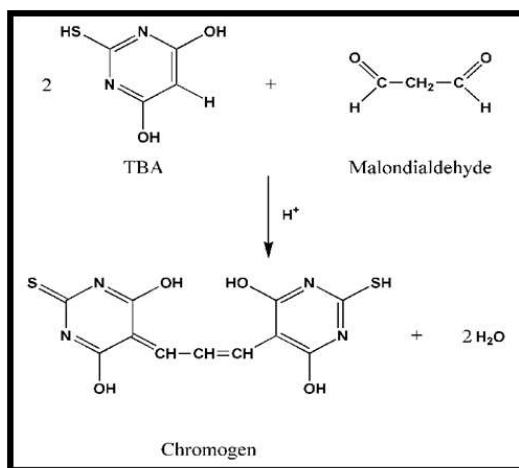


Figure 54. La réaction de MDA avec TBA qui donne un produit chromogène.

## I.2. Matériel

### I. 2. 1. Matériels biologiques

#### a) Le sang

Les globules rouges que nous avons utilisé, ont obtenu après une centrifugation du sang total (O+) pour éliminer le plasma, les protéines et l'albumine...etc, puis un lavage.

Le sang frais (prélever dans le même jour de manipulation dans des tubes citratés) a été obtenu à partir du centre de transfusion sanguine de l'hôpital Mohamed Boudiaf-Ouargla (figure 57).

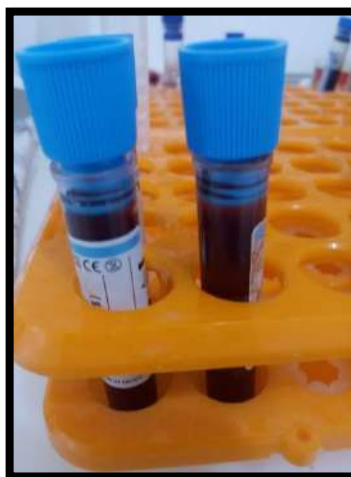


Figure 55. Deux tubes citratés, chacun contient 5 mL du sang O+.

**b) Le plasma**

Afin de normaliser les conditions expérimentales, nous n'avons pas utilisés le plasma sanguin d'un seul personne mais celui des plusieurs personnes (présente le plasma sanguin de population de région du Ouargla).

Il a été séparé à partir du sang total des plusieurs personnes, par centrifugation à (5000 rpm pendant 5 min) (figure 58).

Les enchantions du sang ont été prélevé dans des tubes EDTA dans le service des urgences de l'hôpital Mohamed Boudiaf-Ouargla et la séparation a été réalisé dans le laboratoire central de l'hôpital Mohamed Boudiaf-Ouargla.



**Figure 56. Tube sec contient 5 mL du plasma humain normal.**

**c) L'antivenin**

L'immun-sérum anti-scorpionique nous a été fourni par laboratoire de recherche et développement sur les venins de l'IPA (figure 59).

Il est obtenu après hyperimmunisation d'un cheval, avec les fractions toxiques majoritaires des venins d'*A.australis* et *A.amoreuxi*.



Figure 59. Sérum anti-scorpionique fabriqué par IPA.

#### d) Les venins

Les venins scorpioniques des espèces : *A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas*, *B.arenicola*, *O.innesi*, *B.occitanus* et *S.punicus*, ont été fournis sous forme diluée à concentration de 0.01 % (100 µg/mL) (figure 60), par le laboratoire d'immunologie de la faculté de médecine de Ouargla.

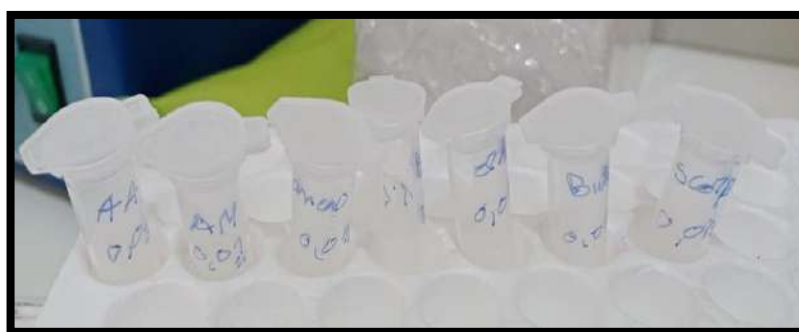


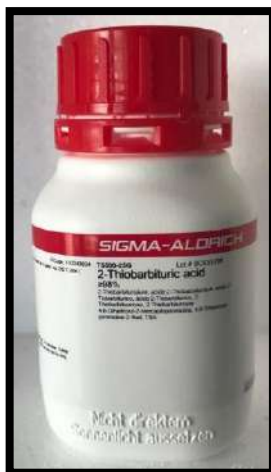
Figure 57. Les venins scorpioniques des espèces : *A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas*, *B.arenicola*, *O.innesi*, *B.occitanus* et *S.punicus*, à concentration 100 µg/mL.

### I.2.2. Matériels non biologique

#### I.2.2.1. Réactifs et produits chimiques

##### a) L'acide thiobarbiturique (TBA)

Pour le test des TBARS (dosage des MDA) le réactif chimique « TBA » a été importé sous forme de poudre à partir des laboratoires SIGMA-ALDRICH (figure 61).



**Figure 58. Flacon d'acide thiobarbiturique fabriqué par les laboratoires SIGMA-ALDRICH.**

#### **b) L'acide trichloracétique (TCA)**

Le dosage des MDA a besoin l'utilisation de l'acide trichloracétique (TCA) pour la précipitation des protéines.

#### **I.2. 2. 2. Appareillage et équipement**

- Agitateur magnétique à plaque chauffante
- Balance
- Centrifugeuse
- Spectrophotomètre UV
- Bain marie

#### **I.2.2.3. Instrument**

Bécher, spatule, éprouvette graduée, barreau magnétique, fiole à jaugee (100 mL), des tubes à centrifuger de plastiques (10 mL), pack de glace, des tubes à essai, des embouts de micropipette (50  $\mu$ L, 500  $\mu$ L et 1000  $\mu$ L), des micropipettes (50  $\mu$ L, 500  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L et 3 mL), des packs des glaces, parafilm, des portoirs, des tubes en verre.

#### **I.2.2.4. Solvants et tampon**

- Solution saline 0.9 % (Chlorure de Sodium) (figure 62).
- Tampon véronal (VBS).
- Eau distillée.





**Figure 59. Solution du chlorure de sodium (0.9%).**

### **I.3. Méthode**

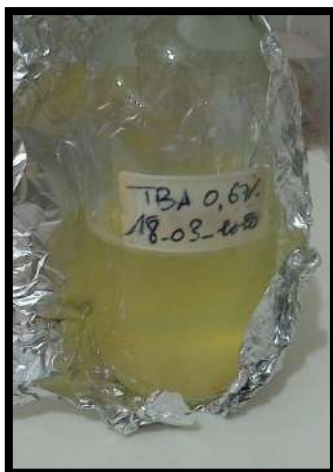
La procédure expérimentale, a été déroulée selon les étapes suivantes :

- 1) Préparation des réactifs du test des TBARS.
- 2) Lavage des globules rouges.
- 3) Incubation du venin de chaque espèce du scorpion avec les différentes matrices biologiques, en présence et en absence d'immunothérapie.
- 4) Mesure du MDA.

#### **I.3.1. Préparation des réactifs du test des TBARS**

##### **a) Préparation d'une solution de TBA (0,67 %) :**

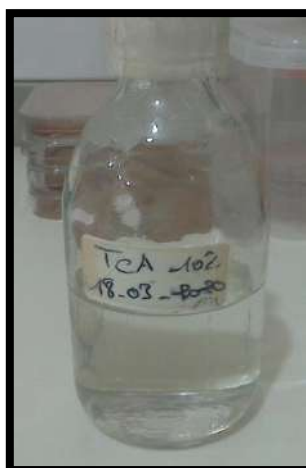
- 1) Dans un bécher, peser la quantité appropriée de TBA (670 mg).
- 2) Ajouter 50 mL d'eau distillée.
- 3) Placez un couvercle ou une plaque de verre dans le haut du bécher, chauffez-le doucement ( $\approx 80\text{ C}^\circ$ ) et agitez le pendant 30 min, à l'aide d'un agitateur magnétique à plaque chauffante
- 4) Laisser refroidir la solution, puis la transférer dans une fiole jaugée (flacon de 100 mL) et ajuster le volume avec de l'eau distillée pour obtenir une solution de TBA à 0,67 % (figure 63).



**Figure 60. Solution de TBA (0,67 %).**

**b) Préparation de la solution de TCA (10 %) :**

- 1) Dans un bécher, peser la quantité appropriée de TCA (10 g).
- 2) Ajouter 50 ml d'eau distillée.
- 3) Mélanger la solution pour la dissoudre.
- 4) Transférer dans une fiole jaugée (fiole de 100 ml) et ajuster le volume avec de l'eau distillée pour obtenir une solution de TCA à 10% (figure 64).

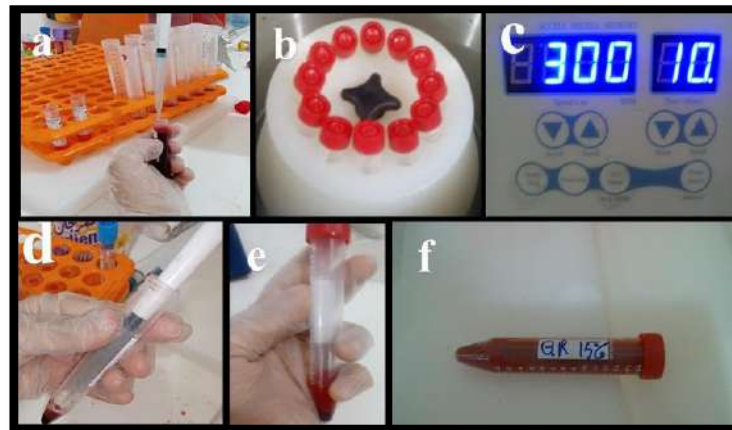


**Figure 61. Solution de TCA (10 %).**

**Note :** le TCA est très hygroscopique, essayez donc de minimiser l'exposition des composés (TCA) à l'air et bouchez le flacon immédiatement.

**I.3.2. Lavage des globules rouges**

- 1) Placer les tubes à centrifuger dans le portoir.
- 2) Placer le portoir sur le pack de glace.
- 3) À l'aide de micropipette mettre 1 mL du sang dans chaque tube (figure 65(a)).
- 4) Centrifuger à 3000 rpm /10 min (figure 65 (b et c)).
- 5) Pipetter le plasma et la couche leucocytaire et les jeter.
- 6) Ajouter 2 mL de solution de lavage (VBS) dans chaque tube.
- 7) Centrifuger à 3000 rpm /10 min.
- 8) Pipetter le surnagent et le jeter (figure 65 (d)).
- 9) Répéter les étapes 7, 8 et 9 deux fois (figure 65 (e)).
- 10) Mélanger les hématies obtenues et placer 1.5 mL de ces hématies (O<sup>+</sup>) dans des tubes à centrifuger.
- 11) Utiliser l'éprouvette graduée pour compléter le volume à 10 mL par solution saline 0.9 % (pour obtenu une concentration final 15 %).
- 12) Placer vos tubes du sang sur le pack de glace (figure 65 (f)).



**Figure 62. Lavage des globules rouges.**

**I.3.3. Incubation du venin de chaque espèce du scorpion avec les différentes matrices biologiques, en présence et en absence d'immunothérapie.**

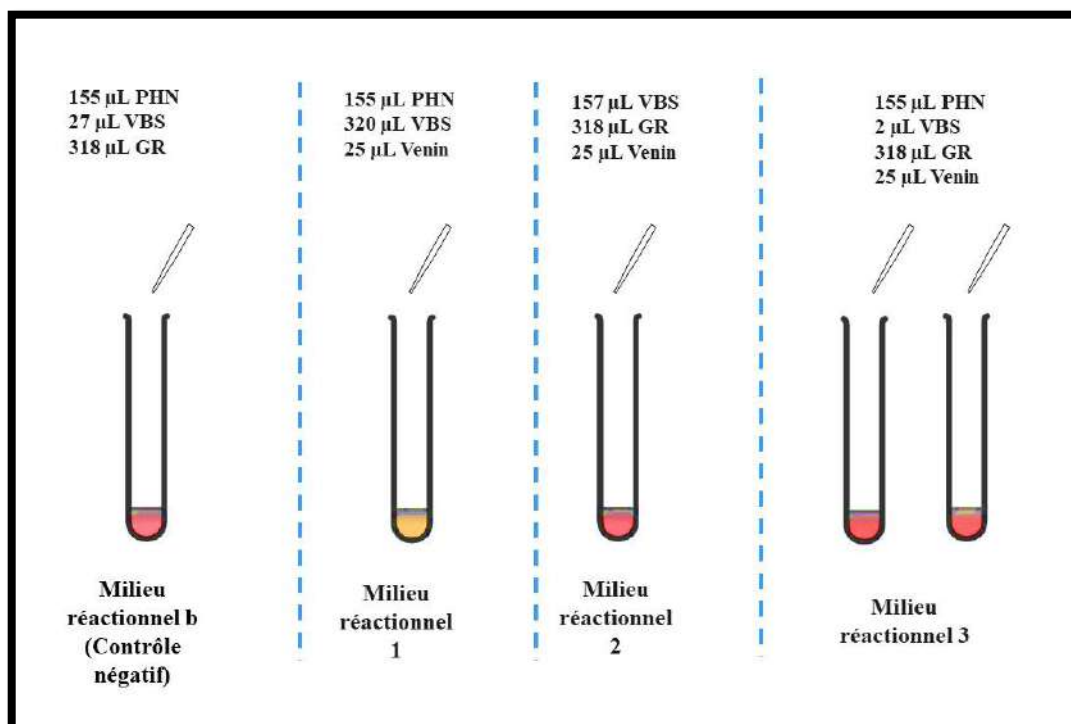
En effet 3 milieux réactionnels ont été préparés (figure 66) :

- **Milieu réactionnel 1** : contient et le venin de l'un des sept espèces du scorpion et le plasma.
- **Milieu réactionnel 2** : contient le venin de l'un des sept espèces du scorpion et les globules rouges.
- **Milieu réactionnel 3** : contient le venin de l'un des sept espèces du scorpion le plasma et les globules rouges.

Un autre milieu réactionnel a été réalisé pour l'étude du pouvoir pro-oxydant net du venin scorpionique :

- **Milieu b (contrôle négatif)** : ce milieu contient les mêmes constituions du milieu réactionnel 3 sauf le venin scorpionique.

Il contient le plasma, les globules rouges et VBS (tampon véronal), alors ce dernier remplace le venin scorpionique (figure 66).



**Figure 63. Les différents milieux réactionnels utilisés pour l'étude *in vitro* des pouvoirs pro-oxydants des venins scorpioniques en absence de l'immunothérapie.**

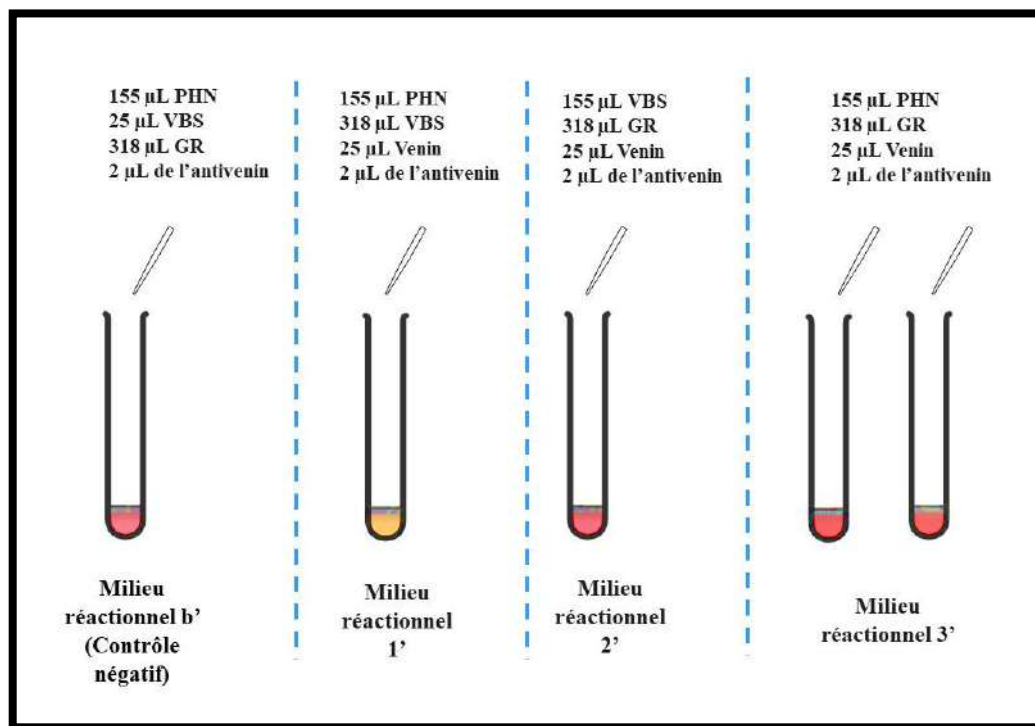
GR : globules rouges.

PHN : plasma humain normal.

VBS : tampon véronal

Afin d'étudier l'effet de l'immunothérapie sur ces pouvoirs oxydatifs des venins, des mêmes milieux ont été préparés mais avec l'addition d'antivenin (l'IT) (figure 67) :

- **Milieu réactionnel 1'** : contient le plasma, le venin de l'un des sept espèces du scorpion et antivenin (IT).
- **Milieu réactionnel 2'** : contient le venin de l'un des sept espèces du scorpion, les globules rouges et antivenin (IT).
- **Milieu réactionnel 3'** : contient le plasma, le venin de l'un des sept espèces du scorpion, les globules rouges et antivenin (IT).
- **Milieu b' (contrôle négatif)** : contient le plasma, les globules rouges, le VBS (tampon véronal) et antivenin (IT).



**Figure 64.** Les différents milieux réactionnels utilisés pour l'étude *in vitro* de des pouvoirs pro-oxydants des venins scorpioniques, en présence de l'IT.

GR : globules rouges.

PHN : plasma humain normal.

VBS : tampon véronal

**Protocole**

- 1) Régler le bain marie à 37 C°.
- 2) Faire sortir le venin de réfrigérateur et placer sur le pack de glace.
- 3) Écrire sur les tubes à essai les noms des différentes espèces du scorpion et sur les tubes de contrôle négative (CN).
- 4) Placer les tubes à essai dans le portoir et placer le portoir sur le pack de glace.
- 5) À l'aide de micropipette mettre dans :
  - Le milieu réactionnel b : 155 µL de PHN et 27 µL de VBS.
  - Le milieu réactionnel b' : 155 µL de PHN, 25 µL de VBS et 2 µL d'antivenin.
  - Le milieu réactionnel 1 : 155 µL de PHN et 25 µL de venin et 2 µL de VBS.
  - Le milieu réactionnel 1' : 155 µL de PHN et 25 µL de venin et 2 µL d'antivenin.
  - Le milieu réactionnel 2 : 155 µL de VBS et 25 µL de venin et 2 µL de VBS.
  - Le milieu réactionnel 2' : 155 µL de VBS et 25 µL de venin et 2 µL d'antivenin.
  - Le milieu réactionnel 3 : 155 µL de PHN et 25 µL de venin et 2 µL de VBS.
  - Le milieu réactionnel 3' : 155 µL de PHN et 25 µL de venin et 2 µL d'antivenin.
- 6) À l'aide de parafilm fermer les tubes.
- 7) Incuber dans le bain marie pendant une heure à 37 C° (figure 68).



**Figure 65. Incubation des différents milieux réactionnels dans le bain marie.**

- 8) Après une heure d'incubation, faire sortir les tubes de bain marie.
- 9) Placer vos tubes dans le portoir.
- 10) Éliminer le parafilm.

- 11) Ajouter 318  $\mu\text{L}$  des érythrocytes (15%) dans les tubes des milieux réactionnels b, b', 2, 2', 3 et 3'.
- 12) Ajouter 318  $\mu\text{L}$  de VBS dans les tubes des milieux réactionnels 1 et 1'.
- 13) À l'aide de parafilm refermer les tubes à essais.
- 14) Incuber les tubes pendant 24h pendant à 37 C°.

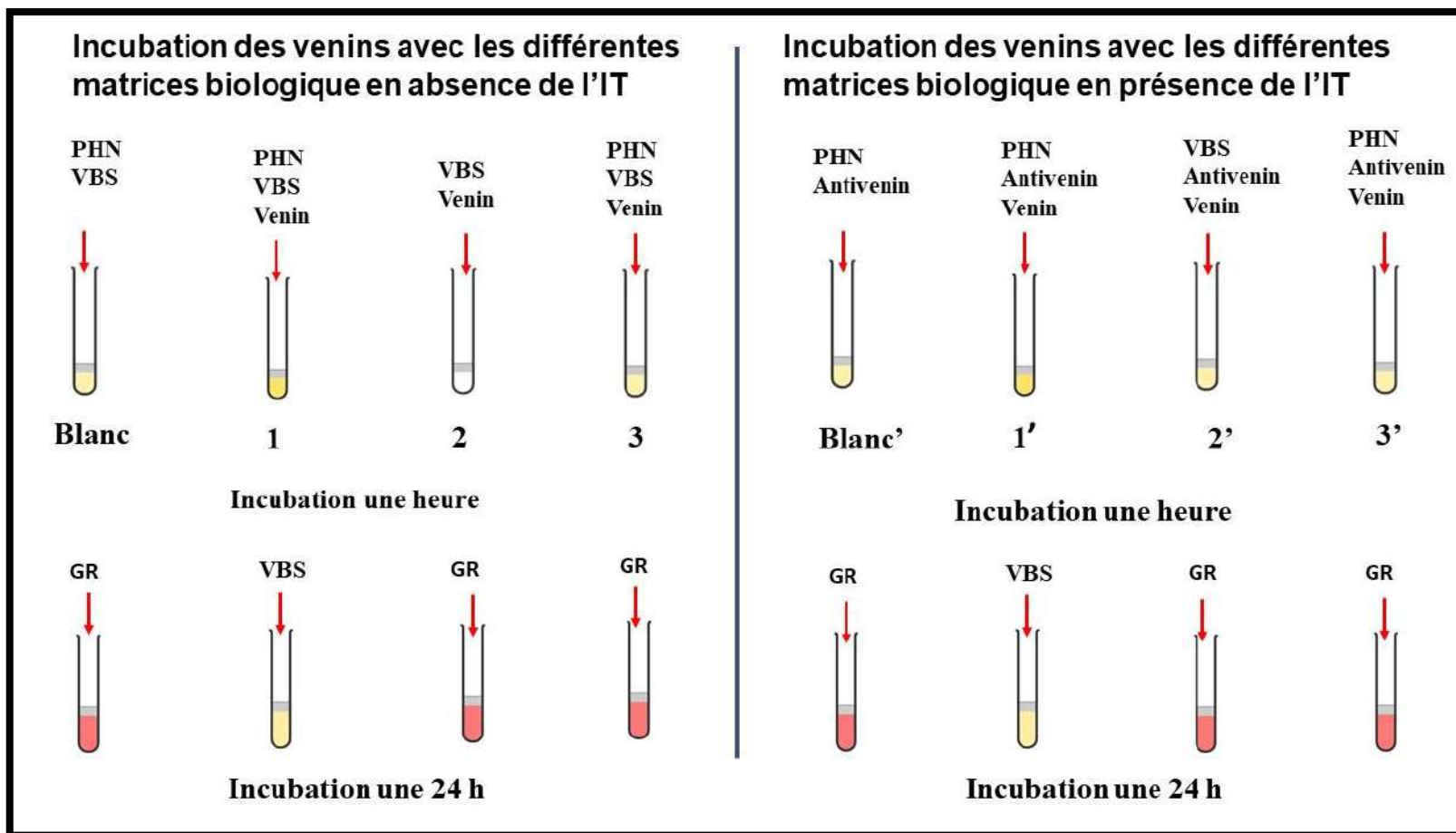


Figure 69. Le plan expérimental

GR : globules rouges.

PHN : plasma humain normal.

VBS : tampon véronal



Tableau 6. Les réactifs utilisés pour l'étude *in vitro* de l'activité oxydative du venin scorpionique avec le volume de chacune.

Étude <i>in vitro</i> de l'activité oxydative des venins scorpioniques													Volume totale dans chaque tube (µL)
Les différents réactifs  Espèce	Milieu réactionnel 1 (PHN + venin)				Milieu réactionnel 2 (GR+ venin)				Milieu réactionnel 3 (PHN + GR+ venin)				
	PHN (µL)	VBS (µL)	Venin c=100 µg/mL (µL)	GR (15%) (µL)	PHN (µL)	VBS (µL)	Venin c=100 µg/mL (µL)	GR 15% (µL)	PHN (µL)	VBS (µL)	Venin c=100 µg/mL (µL)	GR 15% (µL)	
Contrôle négatif	/	/	/	/	/	/	/	/	155	27	0	318	500
<i>A.australis</i>	155	320	25	0	0	157	25	318	155	2	25	318	500
<i>A.amoreuxi</i>	155	320	25	0	0	157	25	318	155	2	25	318	500
<i>A.aeneas</i>	155	320	25	0	0	157	25	318	155	2	25	318	500
<i>B.arenicola</i>	155	320	25	0	0	157	25	318	155	2	25	318	500
<i>O. innesi</i>	155	320	25	0	0	157	25	318	155	2	25	318	500
<i>B.occitanus</i>	155	320	25	0	0	157	25	318	155	2	25	318	500
<i>S.punicus</i>	155	320	25	0	0	157	25	318	155	2	25	318	500

**C** : concertation.

**GR** : globules rouges.

**PHN** : plasma humain normal.

**VBS** : solution véronal.

Tableau 7. Les réactifs utilisés pour l'étude *in vitro* de l'effet d'antivenin (IT) sur l'activité oxydative du venin scorpionique avec le volume de chacune.

Étude <i>in vitro</i> de l'effet de l'IT sur l'activité oxydative des venins scorpioniques																Volume totale dans chaque tube (µL)
Les différents réactifs Espèce	Milieu réactionnel 1' (PHN+ venin + Antivenin (IT))					Milieu réactionnel 2' (GR+ venin +Antivenin (IT))					Milieu réactionnel 3' (PHN + GR+ venin +Antivenin (IT))					
	PHN (µL)	VBS (µL)	Venin c=100 µg/mL (µL)	IT (µL)	GR 15% (µL)	PHN (µL)	VBS (µL)	Venin c=100 µg/mL (µL)	IT (µL)	GR 15% (µL)	PHN (µL)	VBS (µL)	Venin c=100 µg/mL (µL)	IT (µL)	GR 15% (µL)	
Contrôle négatif	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	155	25	0	2	318	500
<i>A.australis</i>	155	318	25	2	0	0	155	25	2	318	155	0	25	2	318	500
<i>A.amoreuxi</i>	155	318	25	2	0	0	155	25	2	318	155	0	25	2	318	500
<i>A.aeneas</i>	155	318	25	2	0	0	155	25	2	318	155	0	25	2	318	500
<i>B.arenicola</i>	155	318	25	2	0	0	155	25	2	318	155	0	25	2	318	500
<i>O.innesi</i>	155	318	25	2	0	0	155	25	2	318	155	0	25	2	318	500
<i>B.occitanus</i>	155	318	25	2	0	0	155	25	2	318	155	0	25	2	318	500
<i>S.punicus</i>	155	318	25	2	0	0	155	25	2	318	155	0	25	2	318	500

**C** : concertation.

**GR** : globules rouges.

**PHN** : plasma humain normal.

**VBS** : solution véronal.

**IT** : immunothérapie (antivenin).

### I.3. 4. Mesure du MDA

Nous avons utilisé la méthode du double chauffage de **Draper et Hadley (1990)** pour le dosage des MDA.

Avant que l'incubation se termine :

- 1) Écrire sur les tubes en verre les noms des différentes espèces du scorpion et écrire « CN » sur le tube de contrôle négatif et les placer dans les portoirs.
- 2) Écrire sur un tube à essai la lettre (B) qui indique le blanc de réactives et le placer dans le portoir des tubes à essais.
- 3) Ouvrir et régler le bain marie à  $\approx 100\text{ C}^\circ$ .
- 4) À l'aide de micropipette placer 1.25 mL de la solution d'acide trichloracétique (TCA 10%) dans chaque tube en verre (pour le premier chauffage).
- 5) À l'aide de micropipette placer 0.5 mL de solution TBA (0,67%) dans autres tubes en verre pour le 2<sup>ème</sup> chauffage (mettre les tubes dans l'obscurité).
- 6) Dans le tube de blanc réactive mélanger 1.25 mL de solution TCA (10%) et 0.5 mL de TBA (0.67%).

#### Premier chauffage

Une fois l'incubation se termine, faire sortir les tubes de bain marie :

- 1) À l'aide de micropipette ajouter 0.25 mL de chaque suspension (de chaque milieu réactionnel) sur la solution de TCA dans chaque tube en verre et fermez les biens.
- 2) Placer les tubes dans le bain marie ( $\approx 100\text{ C}^\circ$ ) pendant 15 min (laisser les tubes fermées) (figure 70).



**Figure 66. Le premier chauffage du test des TBARS.**

- 3) Au cours le chauffage essayer de mixer le contenant de chaque tube manuellement pour accélérer la réaction (attention : ne pas sortez les tube hors l'eau chaud de bain marie).
- 4) Après refroidissement des tubes sous l'eau du robinet, le mélange a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min (laisser les tubes fermées).

### Deuxième chauffage

- 1) À l'aide de micropipette pipetter 1 mL du surnageant de chaque mélange (suspension + TCA) préalablement chauffées et le placer dans les tubes en verre qui contiennent la solution de TBA.
- 2) Placer le portoir dans le bain marie ( $\approx 100\text{ C}^\circ$ ) pendant 15 min (laisser les tubes fermées).
- 3) Les tubes ont ensuite été refroidis sous l'eau du robinet (laisser les tubes fermées).

L'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à  $\lambda=546\text{ nm}$  ( $\lambda=532\text{ nm}$  dans les références).

La concentration de MDA a été calculée par l'utilisation du coefficient d'extinction molaire du complexe (MDA-TBA)<sub>2</sub> qu'est égal :

$$\varepsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}, \text{ (exprimé en nmol / mL de matrice biologique).}$$

Ainsi que, par l'application de la loi de B er Lambert :

$$\text{MDA (nmol/mL)} = (A_{\text{échantillon}} / l \times \varepsilon) \times \text{DF}$$

$l$  = la longueur de trajet optique = 1 cm.

$$\varepsilon = \text{coefficient d'extinction molaire} = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$\text{DF}$  = Facteur de dilution.

  cause de la différence de la nature et la quantité de matrice biologique utilisée dans chaque milieu réactionnel la méthode de calcul des concentrations des MDA a changé d'un milieu à autre.

### Calcul de MDA1 ou MDA1' (concentration des MDA dans les milieux qui contient le plasma seul)

Le plasma que nous avons utilisé n'était pas dilué donc  $\text{DF} = 1$ .

  titre d'exemple :

La densité optique mesuré dans le milieu réactionnel qui contient le plasma et le venin d'*A.australis* est : DO= 0,795.

$$\text{MDA (nmol/mL)} = (0,795 / 1 \text{ cm} \times 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}) \times 1 = 5.096 \text{ nmol/mL}$$

Sachant que, nous avons utilisé 155  $\mu\text{L}$  du plasma (matrice biologique), donc la concentration MDA=5.096 nmol/mL, exprime la concentration de MDA correspondant à l'oxydation du 0.155 mL du plasma, alors que pour 1 mL du plasma (matrice biologique oxydé) :

$$\text{MDA} = 5,096 \text{ nmol/mL} \rightarrow 0,155 \text{ mL}$$

$$\text{MDA} = x \text{ nmol/mL} \rightarrow 1 \text{ mL.}$$

$$\text{MDA} = \frac{5,096 \text{ nmol/mL}}{1 \text{ mL} \times 0,155 \text{ mL}} = 32,878 \text{ nmol/mL}$$

#### **Calcul de MDA2 ou MDA2' (concentration des MDA dans les milieux qui contient les globules rouges seuls)**

Les globules rouges que nous avons utilisé étaient dilués (15%) donc DF = 100/15 = 1/0.15.

À titre d'exemple :

La densité optique mesuré dans le milieu réactionnel qui contient les globules rouges et le venin d'*A.australis* est : DO=0,642.

$$\text{MDA (nmol/mL)} = (0,642 / 1 \text{ cm} \times 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}) \times (1/0.15) = 27,436 \text{ nmol/mL}$$

Sachant que, nous avons utilisé 318  $\mu\text{L}$  des globules rouges (matrice biologique), donc la concentration MDA=27,436 nmol/mL exprime la concentration de MDA correspondant à l'oxydation du 0.318 mL des globules rouges, alors que pour 1 mL (matrice biologique oxydé) :

$$\text{MDA} = 27,436 \text{ nmol/mL} \rightarrow 0,318 \text{ mL}$$

$$\text{MDA} = x \text{ nmol/mL} \rightarrow 1 \text{ mL.}$$

$$\text{MDA} = \frac{27,436 \text{ nmol/mL}}{1 \text{ mL} \times 0.318 \text{ mL}} = 86,276 \text{ nmol/mL}$$

#### **Calcul de MDA3, MDA3', MDAb ou MDAb' (concentration des MDA dans les milieux qui contient le mélange du plasma et des globules rouges)**

Le plasma que nous avons utilisé n'était pas dilué, mais les globules rouges que nous avons utilisé étaient dilués (15%) donc DF = 1/0.15.

À titre d'exemple :

La densité optique mesuré dans le milieu réactionnel qui contient le mélange du plasma et des globules rouges et le venin d'*A. australis* est :  $DO=0,965$ .

Sachant que, nous avons utilisé 318  $\mu\text{L}$  des globules rouges (15%) et 155  $\mu\text{L}$  du plasma (matrice biologique).

$MDA \text{ (nmol/mL)} = (0,965 / 1 \text{ cm} \times 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}) \times (1 / (0.15 \times 0.318) + 0.155) = 30.501 \text{ nmol/mL}$ . **La concentration finale du venin scorpionique dans les différents milieux réactionnels ( $C_2$ )**

Le volume totale dans chaque tube (milieu réactionnel) était 500  $\mu\text{L}$  c'est-à-dire 0.5 mL

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_t \quad (1) \quad \text{avec} \quad \begin{cases} C_1 = 100 \mu\text{g/mL} = 0.1 \mu\text{g}/\mu\text{L} \\ V_1 = 25 \mu\text{L} \\ \text{et } V_t = 500 \mu\text{L}. \end{cases}$$

$$\text{Donc } C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_t} = \frac{0.1 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 25 \mu\text{L}}{500 \mu\text{L}} = 0.005 \mu\text{g}/\mu\text{L} = 5 \mu\text{g/mL}$$

*Chapitre II*  
*Résultats*

### II.1. Résultats de l'étude du pouvoir pro-oxydant des venins scorpioniques

Après l'interaction des venins scorpioniques avec les différentes matrices biologiques (le plasma seul, les globules rouges seuls ou mélange du plasma et des globules rouges).

Nous avons réalisé un test des TBARS pour le dosage des MDA dans les milieux réactionnels : b, 1, 2 et 3, puis on a mesuré leurs densités optiques à  $\lambda=546$  nm.

**Tableau 8. Les valeurs de densité optique (DO) des milieux réactionnels 1, 2 et 3 à  $\lambda=546$  nm.**

Espèce	La densité optique à $\lambda=546$ nm		DO du milieu réactionnel 3 (PHN +GR + venin)		Moyenne
	DO du milieu réactionnel 1 (PHN+ venin)	DO du milieu réactionnel 2 (GR+ venin)			
<i>A.australis</i>	0,795	0,642	0,983	0,946	0,965
<i>A.amoreuxi</i>	0,806	0,815	0,664	0,855	0,760
<i>A.aeneas</i>	0,812	0,337	0,361	0,641	0,501
<i>B.arenicola</i>	0,547	0,109	0,879	0,97	0,925
<i>O.innesi</i>	0,848	0,133	0,796	0,493	0,645
<i>B.occitanus</i>	0,843	0,491	0,866	0,962	0,914
<i>S.punicus</i>	0,818	0,745	0,627	0,528	0,578

DO : densité optique.

GR : globules rouges.

PHN : plasma humain normal.

$\lambda$  : longueur d'onde par nanomètre (nm).

De plus, la densité optique du milieu réactionnel b est : DO = 0,372.

À partir de ces valeurs, nous avons calculé les concentrations des malodialdéhydes (MDA) par utilisation du coefficient d'extinction molaire ( $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) et l'application de la loi de Béer Lambert (la méthode du calcul a été mentionné dans le chapitre précédant).



Tableau 9. Les concentrations des MDA dans les milieux réactionnels 1, 2 et 3.

Concentrations des MDA (nmol/mL) Espèce	MDA1 (PHN+ venin)	MDA2 (GR+ venin)	MDA3 (PHN+ GR+ venin)
<i>A.australis</i>	32,878	86,276	30,501
<i>A.amoreuxi</i>	33,333	109,525	24,018
<i>A.aeneas</i>	33,581	45,288	15,844
<i>B.arenicola</i>	22,622	14,648	29,236
<i>O.innesi</i>	35,070	17,873	20,382
<i>B.occitanus</i>	34,863	65,984	28,904
<i>S.punicus</i>	33,829	100,118	18,263

**GR** : globules rouges.

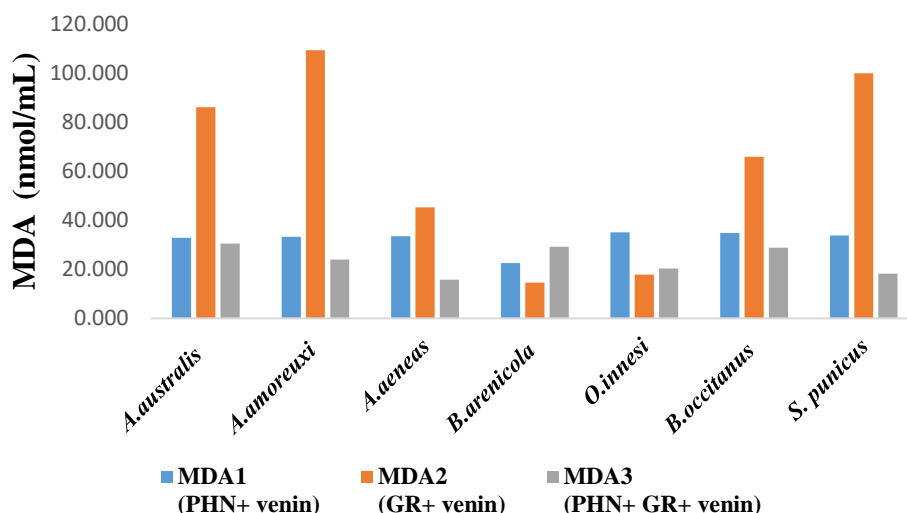
**PHN** : plasma humain normal.

**MDA1** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1 qui contient le PHN et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul.

**MDA2** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2 qui contient les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls.

**MDA3** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3 qui contient le PHN, les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

Ainsi que, la concentration des MDA dans le milieu réactionnel b (le contrôle négative) est : **MDAb**= 11,764 nmol/mL.



**Figure 67. Les concentrations des MDA dans les milieux réactionnels 1, 2 et 3.**

**GR** : globules rouges.

**PHN** : plasma humain normal.

**MDA1** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1 qui contient le PHN et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul.

**MDA2** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2 qui contient les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls.

**MDA3** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3 qui contient le PHN, les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

On n'observe que le plus fort pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul est constaté chez l'espèce : *O. innesi* et le plus faible chez l'espèce : *B. arenicola*.

Tandis que, les plus forts pouvoirs pro-oxydants des venins sur les globules rouges seuls est constatés chez les espèces : *A. australis*, *A. amoreuxi* et *S. punicus* et le plus faible chez l'espèce : *B. arenicola*.

Cependant, le plus fort pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges est constaté chez l'espèce : *A. australis* et le plus faible chez l'espèce : *A. aeneas*.

On trouve que les pouvoirs pro-oxydants des venins sur le mélange du plasma et des globules rouges inférieurs aux ceux des venins sur les globules rouges seul. Ces résultats suggèrent que le plasma a un effet neutralisant de l'oxydation des globules rouges.

Afin de mieux exploitation des résultats obtenus dans les différents milieux réactionnels, nous avons basé les algorithmes suivants.

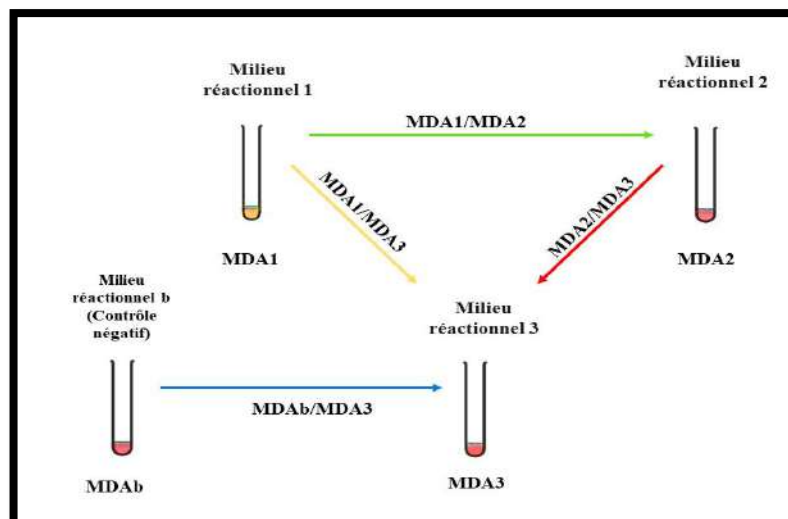


Figure 68. L'exploitation des donnés.

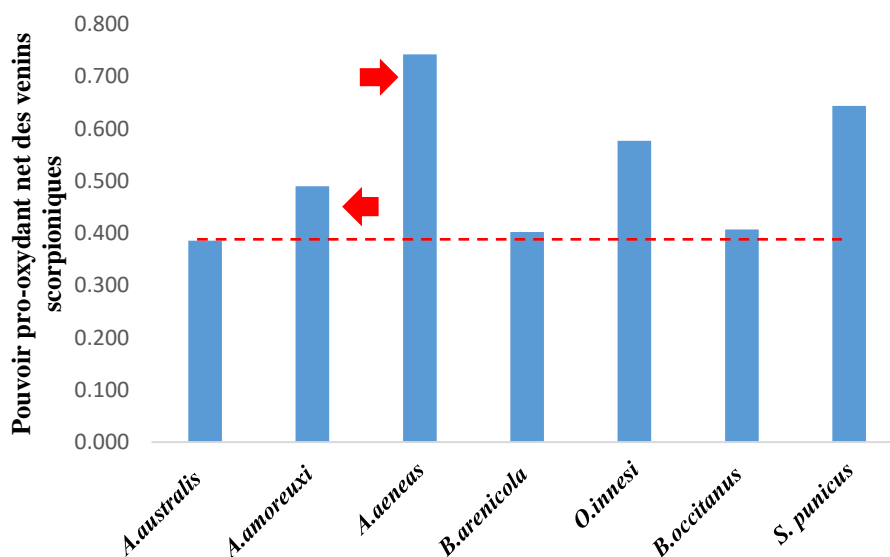
Tableau 10. Les indicateurs des pouvoirs pro-oxydants nets des venins scorpioniques (MDAb/MDA3).

Espèce	indicateur du pouvoir pro-oxydant net du venin scorpionique (MDAb/MDA 3)
<i>A.australis</i>	0,386
<i>A.amoreuxi</i>	0,490
<i>A.aeneas</i>	0,743
<i>B.arenicola</i>	0,402
<i>O.innesi</i>	0,577
<i>B.occitanus</i>	0,407
<i>S.punicus</i>	0,644

**MDA3** : la concentration des malondialdéhyde dans le milieu réactionnel 3 qui contient le plasma, les globules rouges et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

**MDA b** : la concentration des malondialdéhyde dans le milieu réactionnel b qui contient le plasma, les globules rouges et le tampon véronal (VBS), ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma et les globules rouges en absence du venin.

**MDAb/MDA 3** : indicateur du pouvoir pro-oxydant net du venin scorpionique.



**Figure 69. Les indicateurs des pouvoirs pro-oxydants nets des venins scorpioniques (MDAb/MDA3).**

**MDA3** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3 qui contient le plasma, les globules rouges et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

**MDA b** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel b qui contient le plasma, les globules rouges et le tampon véronal (VBS), ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma et les globules rouges en absence du venin.

**MDAb/MDA 3** : indicateur du pouvoir pro-oxydant net du venin scorpionique.

Les indicateurs des pouvoirs pro-oxydants nets des venins scorpioniques sont inférieures à un ( $<1$ ) chez toutes les espèces du scorpion, où la valeur la plus faible (0,386) a été observée chez l'espèce : *A.australis*, ce qu'indique le fort pouvoir pro-oxydant net du venin de cette espèce.

On constate que chez l'espèce : *A.aeneas*, l'indicateur est le plus élevé (0,743). Cela signifie que le pouvoir pro-oxydant net du venin de cette espèce est le plus faible.

Tableau 11. Les indicateurs des pouvoirs pro-oxydants des venins scorpioniques.

indicateur du pouvoir oxydatif	$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN} + \text{venin})}{\text{MDA2}(\text{GR} + \text{venin})}$	$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN} + \text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN} + \text{GR} + \text{venin})}$	$\frac{\text{MDA2}(\text{GR} + \text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN} + \text{GR} + \text{venin})}$
Espèce			
<i>A.australis</i>	0,381	1,078	2,829
<i>A.amoreuxi</i>	0,304	1,388	4,560
<i>A.aeneas</i>	0,741	2,120	2,858
<i>B.arenicola</i>	1,544	0,774	0,501
<i>O.innesi</i>	1,962	1,721	0,877
<i>B.occitanus</i>	0,528	1,206	2,283
<i>S.punicus</i>	0,338	1,852	5,482

PHN : plasma humain normal.

GR : globules rouges.

**MDA1** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1 qui contient le PHN et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul.

**MDA2** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2 qui contient les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls.

**MDA3** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3 qui contient le PHN, les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN}+\text{venin})}{\text{MDA2}(\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur permet de comparer entre le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul et le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls.

$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN}+\text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN}+\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur permet de comparer entre le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul et le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

$\frac{\text{MDA2}(\text{GR}+\text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN}+\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur permet de comparer entre le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls et le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

Nous avons combiné les résultats des différentes matrices biologiques (MDA1, MDA2 et MDA3) pour établir un classement des pouvoirs pro-oxydants des venins suivant la matrice biologique oxydée (Tableau 12).

**Tableau 12. Combinaison des différents pouvoirs pro-oxydants des venins sur le plasma seul, sur les globules rouges seuls et sur le mélange du plasma et des globules rouges**

indicateur du pouvoir oxydatif Espèce	$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN} + \text{venin})}{\text{MDA2}(\text{GR} + \text{venin})}$	Commentaire	$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN} + \text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN} + \text{GR} + \text{venin})}$	Commentaire	$\frac{\text{MDA2}(\text{GR} + \text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN} + \text{GR} + \text{venin})}$	Commentaire	Classement suivant la matrice biologique oxydée
	<i>A.australis</i>	<1	GR > PHN	>1	PHN > PHN+GR	>1	GR > PHN+GR
<i>A.amoreuxi</i>	<1	GR > PHN	>1	PHN > PHN+GR	>1	GR > PHN+GR	GR > PHN > PHN+GR
<i>A.aeneas</i>	<1	GR > PHN	>1	PHN > PHN+GR	>1	GR > PHN+GR	GR > PHN > PHN+GR
<i>B.arenicola</i>	>1	PHN > GR	<1	PHN+GR > PHN	<1	PHN+GR > GR	PHN+GR > PHN > GR
<i>O.innesi</i>	>1	PHN > GR	>1	PHN > PHN+GR	<1	PHN+GR > GR	PHN > PHN+GR > GR
<i>B.occitanus</i>	<1	GR > PHN	>1	PHN > PHN+GR	>1	GR > PHN+GR	GR > PHN > PHN+GR
<i>S.punicus</i>	<1	GR > PHN	>1	PHN > PHN+GR	>1	GR > PHN+GR	GR > PHN > PHN+GR

**PHN** : plasma humain normal.

**GR** : globules rouges.

**MDA1** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1 qui contient le PHN et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul.

**MDA2** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2 qui contient les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls.

**MDA3** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3 qui contient le PHN, les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN}+\text{venin})}{\text{MDA2}(\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur permet de comparer entre le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul et le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls.

$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN}+\text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN}+\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur permet de comparer entre le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul et le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

$\frac{\text{MDA2}(\text{GR}+\text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN}+\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur permet de comparer entre le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls et le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges

Ce classement permet de déterminer la matrice biologique qu'a été oxydé plus par le venin de chaque espèce du scorpion :

- **GR > PHN > PHN+GR** : les venins des espèces : *A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas*, *B.occitanus* et *S.punicus* oxydent les globules rouges seuls plus que le plasma seul et oxydent le plasma seul plus que le mélange du plasma et des globules rouges.

Donc, l'activité oxydatif des venins de ces espèces est minimale en présence du mélange du plasma et des globules rouges par rapport en présence du plasma seul ou des globules rouges seuls.

- **PHN+GR > PHN > GR** : le venin d'espèce *B.arenicola* oxyde le mélange du plasma et des globules rouges plus que le plasma seul et oxyde le plasma seul plus que les globules rouges seuls.
- **PHN > PHN+GR > GR** : le venin d'espèce *O.innesi* oxyde le plasma seul plus le mélange du plasma et des globules rouges et oxyde le mélange du plasma et des globules rouges plus que les globules rouges seuls.

## II. 2. Résultats de l'étude du pouvoir pro-oxydants des venins scorpioniques en présence d'antivenin (IT)

Après l'interaction des venins scorpioniques avec les différentes matrices biologiques (le plasma seul, les globules rouges seuls ou le mélange du plasma et des globules rouges) et l'antivenin.

Nous avons réalisé un test des TBARS pour le dosage des MDA dans les milieux réactionnels : b', 1', 2' et 3', puis on a mesuré leurs densités optiques à  $\lambda=546$  nm.

**Tableau 13. Les valeurs de densité optique (DO) des milieux réactionnels 1', 2' et 3' à  $\lambda=546$  nm.**

Espèce	La densité optique à $\lambda=546$ nm				
	DO du milieu réactionnel 1' (PHN+ venin+ Antivenin)	DO du milieu réactionnel 2' (GR+ venin + Antivenin)	DO du milieu réactionnel 3' (PHN +GR + venin + Antivenin)		Moyenne
<i>A.australis</i>	0,248	0,232	0,3	0,345	0,323
<i>A.amoreuxi</i>	0,251	0,325	0,206	0,222	0,214
<i>A.aeneas</i>	0,223	0,295	0,213	0,236	0,225
<i>B.arenicola</i>	0,26	0,23	0,336	0,093	0,215
<i>O.innesi</i>	0,394	0,438	0,207	0,106	0,157
<i>B.occitanus</i>	0,452	0,536	0,22	0,345	0,283
<i>S.punicus</i>	0,311	0,282	0,558	0,133	0,346

**DO** : densité optique.

**GR** : globules rouges.

**IT** : immunothérapie (antivenin).

**PHN** : plasma humain normal.

$\lambda$  : longueur d'onde par nanomètre (nm).

Aussi, la densité optique du milieu réactionnel b' est : DO = 0,200.

À partir de ces valeurs, nous avons calculé les concentrations des malodialdéhydes (MDA) par utilisation du coefficient d'extinction molaire ( $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) et l'application de la loi de B er Lambert (la méthode du calcul a été mentionné dans le chapitre précédant).



Tableau 14. Les concentrations des MDA dans les milieux réactionnels 1', 2' et 3'.

Concentrations des MDA (nmol/mL) Espèce	MDA1' (PHN + venin + Antivenin)	MDA2' (GR+ venin + Antivenin)	MDA3' (PHN+ GR+ venin+ Antivenin)
<i>A.australis</i>	10,256	31,178	10,199
<i>A.amoreuxi</i>	10,380	43,676	6,768
<i>A.aeneas</i>	9,222	39,644	7,100
<i>B.arenicola</i>	10,753	30,909	6,783
<i>O.innesi</i>	16,294	58,862	4,949
<i>B.occitanus</i>	18,693	72,031	8,934
<i>S.punicus</i>	12,862	37,897	10,926

**GR** : globules rouges.

**PHN** : plasma humain normal.

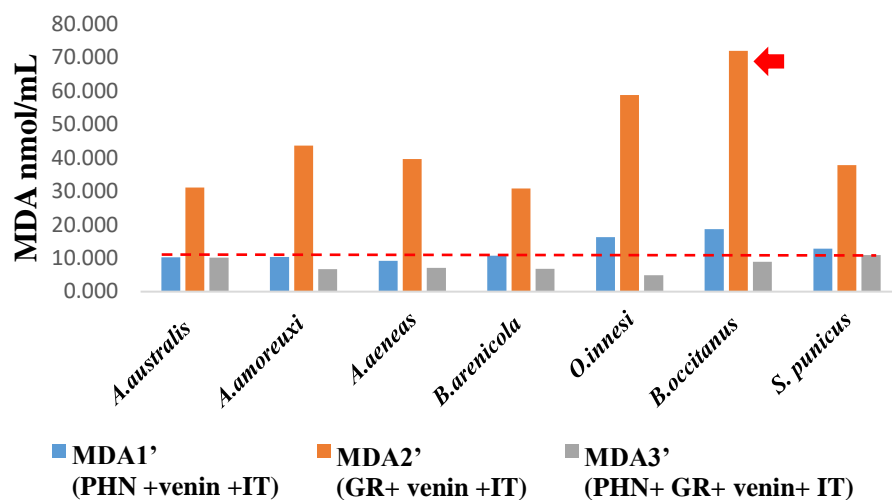
**IT** : immunothérapie (antivenin).

**MDA1'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1' qui contient le PHN, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du plasma seul.

**MDA2'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2' qui contient les GR, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation des globules rouges seuls.

**MDA3'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3' qui contient le PHN, les GR, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges

Ainsi, la concentration des MDA dans le milieu réactionnel b' est :  $MDA_{b'} = 6,325$  nmol/mL.



**Figure 70.** Les concentrations des MDA dans les milieux réactionnels 1', 2' et 3'.

**GR :** globules rouges.

**PHN :** plasma humain normal.

**IT :** immunothérapie (antivenin).

**MDA1' :** la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1' qui contient le PHN, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du plasma seul.

**MDA2' :** la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2' qui contient les GR, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation des globules rouges seuls.

**MDA3' :** la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3' qui contient le PHN, les GR, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges

Le graphique démontre que l'addition d'antivenin aux milieux réactionnels aboutit à une variation des concentrations des MDA (ou le pouvoir pro-oxydant du venin), où on constate que parmi, les 3 pouvoirs pro-oxydants des venins (sur le plasma seul, sur les globules rouges seuls et sur le mélange du plasma et des globules rouges le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges sont le plus forts chez toutes les espèces du scorpion même les espèces : *O.innesi* et *B.arenicola*. En outre, les pouvoirs pro-oxydants des venins sur le mélange du plasma et des globules rouges sont proches chez les espèces :

- *A.amoreuxi* : 6,768 nmol/mL.
- *A.aeneas* : 7,100 nmol/mL.
- *B.arenicola* : 6,783 nmol/mL.

Tandis que, chez les 3 espèces du genre *Androctonus* les pouvoirs pro-oxydants des venins sur le plasma seul restent proches, mais ils sont diminué.

- *A.australis* : 10,256 nmol/mL.

- *A.amoreuxi* : 10,380 nmol/mL.
- *A.aeneas* : 9,222 nmol/mL.

Il semble que l'antivenin effet quasi-identique sur l'oxydation des globules rouges seuls déclenché par les venins des espèces : *A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas*.

Pour mieux comprendre l'effet de l'immunothérapie sur l'activité oxydative des venins scorpionique que nous avons étudié, d'autres algorithmes ont été également calculés pour les milieux réactionnels qui contiennent l'antivenin.

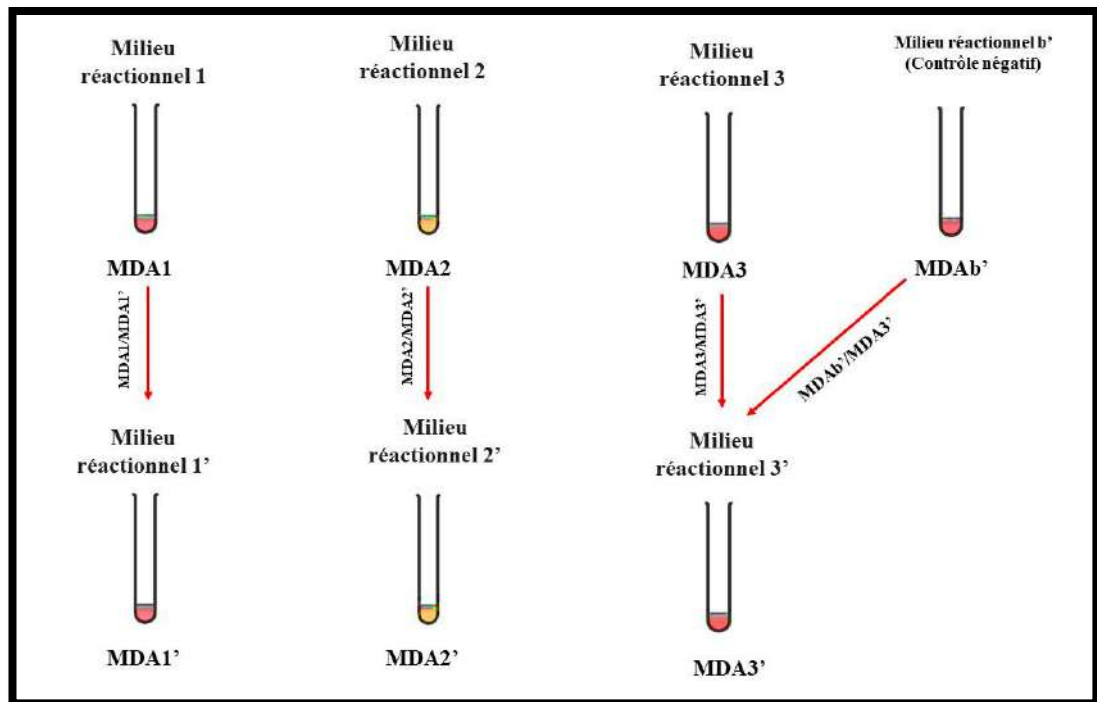


Figure 71. L'exploitation des donnés.

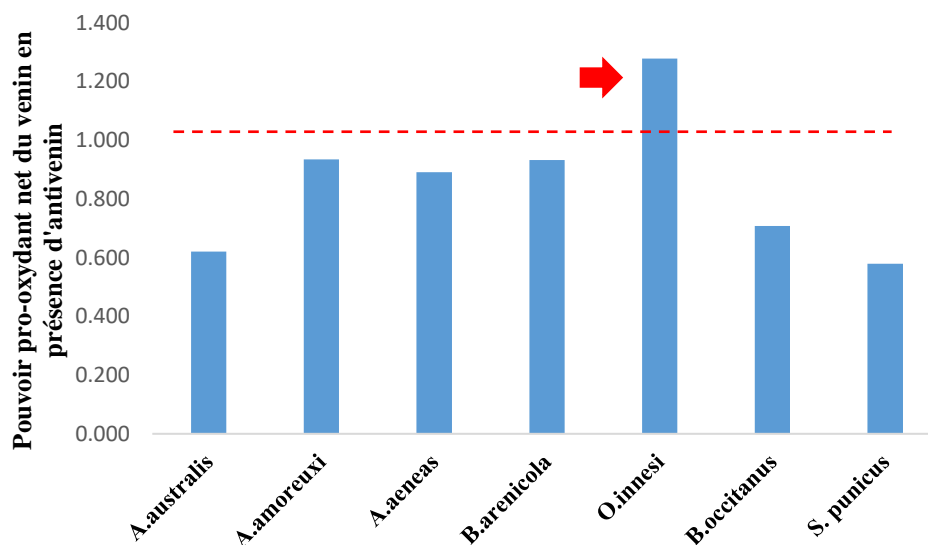
Tableau 15. Le pouvoir pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin (MDAb'/MDA3').

Espèce	Pouvoir pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin (MDAb'/MDA3')
<i>A.australis</i>	0,620
<i>A.amoreuxi</i>	0,935
<i>A.aeneas</i>	0,891
<i>B.arenicola</i>	0,932
<i>O.innesi</i>	1,278
<i>B.occitanus</i>	0,708
<i>S.punicus</i>	0,579

MDA3' : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3' qui contient le plasma, les globules rouges, le venin et antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges

**MDA b'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel b' qui contient le plasma, les globules rouges, le tampon véronal (VBS) et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant d'antivenin en absence du venin.

**MDAb'/MDA 3'** : indicateur du pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin.



**Figure 72. Le pouvoir pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin (MDAb'/MDA3').**

**MDA3'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3' qui contient le PHN, les GR, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges

**MDA b'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel b' qui contient le plasma, les globules rouges, le tampon véronal (VBS) et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'antivenin en absence du venin.

**MDAb'/MDA 3'** : indicateur du pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin.

Chaque fois cet indicateur (MDAb'/MDA3') augmente le pouvoir pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin diminue, on observe que :

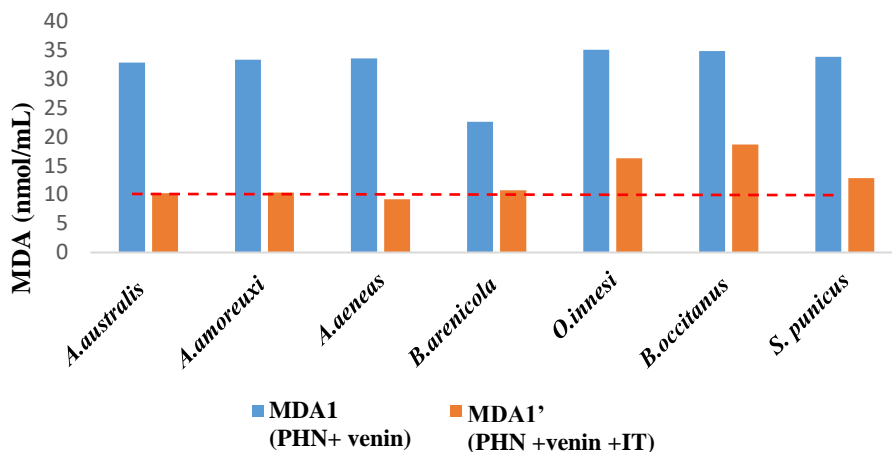
Le plus faible pouvoir pro-oxydant net du venin en présence d'antivenin est celui du venin d'*O.innesi*. Cela indique que la concentration MDA b' du venin de cette espèce est supérieur à sa concentration MDA3' :

$$\text{MDAb}' > \text{MDA3}'$$

$$6,325 \text{ nmol/mL} > 4,949 \text{ nmol/mL}$$

Ces valeurs montrent que, l'oxydation dans le milieu réactionnel b' (qu'a dépourvu de venin), est supérieur au l'oxydation dans le milieu réactionnel 3' (qui contient le venin).

Donc, l'interaction entre le venin d'*O.innesi* et l'antivenin augmente le pouvoir neutralisant de l'antivenin.



**Figure 73. Comparaison entre les concentrations des MDA1 du milieu réactionnel 1 et celles du milieu réactionnel 1'.**

**GR** : globules rouges.

**IT** : immunothérapie (antivenin).

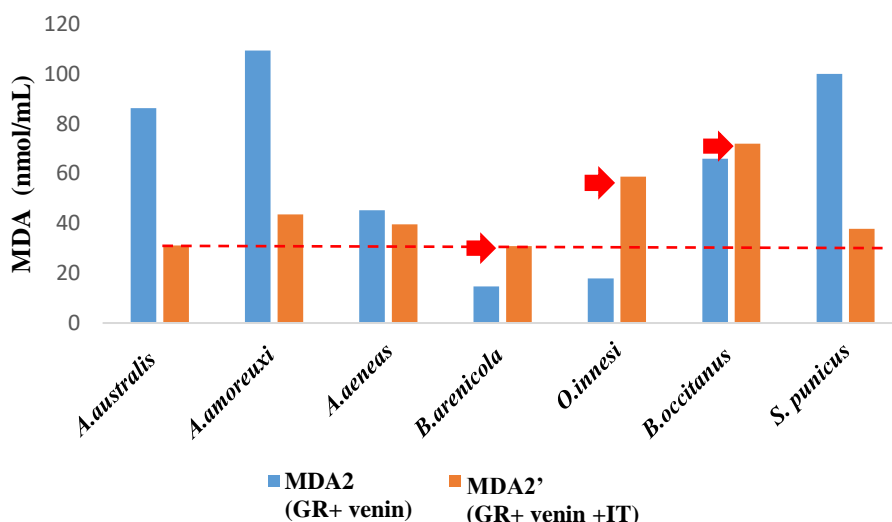
**PHN** : plasma humain normal.

**MDA1** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1 qui contient le PHN et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul.

**MDA1'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1' qui contient le PHN, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du plasma seul.

Chez toutes les espèces, les pouvoirs neutralisants de l'oxydation du plasma seul sont supérieurs aux pouvoirs pro-oxydants des venins sur le plasma seul.

Les pouvoirs neutralisants de l'oxydation du plasma seul chez les espèces : *A.australis*, *A.amoreuxi* et *A.aeneas* sont les plus forts par rapport ceux qui sont constatées chez les autres espèces. Ces pouvoirs neutralisants sont proches les uns des autres, ce qu'indique que l'antivenin a un effet neutralisant quasi identique sur le pouvoir pro-oxydant du venin sur le plasma seul.



**Figure 74. Comparaison entre les concentrations des MDA2 du milieu réactionnel 2 et celles du milieu réactionnel 2'.**

**GR** : globules rouges.

**IT** : immunothérapie (antivenin).

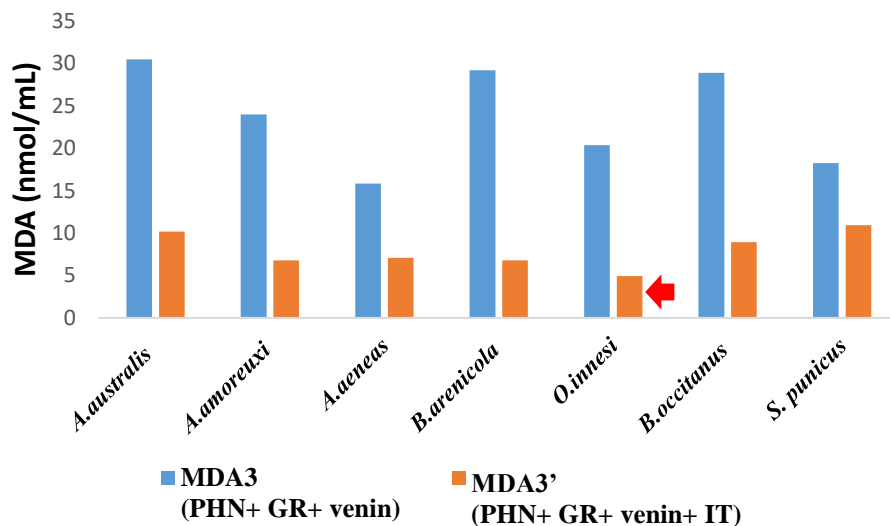
**MDA2** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2 qui contient les GR et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls.

**MDA2'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1' qui contient les GR, le venin et l' antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation des globules rouges seuls.

Les pouvoirs neutralisants de l'oxydation des globules rouges seuls chez les 3 espèces de genre d'*Androctonus* (*A.australis*, *A.amoreuxi* et *A.aeneas*) et *S.punicus* sont supérieurs aux pouvoirs pro-oxydants des venins.

Ces pouvoirs neutralisants (chez les 3 espèces du genre d'*Androctonus*) sont également proches les uns des autres ce qu'indique que l'antivenin a un effet neutralisant quasi identique sur l'activité oxydative du venin sur les globules rouges seuls chez ces espèces. Néanmoins, on observe le contraire chez les espèces : *B.arenicola*, *O.innesi* et *B.occitanus*.

Cela suggère que l'antivenin non spécifique peut provoquer une augmentation dans le pouvoir pro-oxydant du venin sur les globules rouges seuls chez les espèces : *B.arenicola*, *O.innesi* et *B.occitanus*.



**Figure 79. Comparaison entre les concentrations des MDA3 du milieu réactionnel 3 et celles du milieu réactionnel 3'.**

**GR** : globules rouges.

**IT** : immunothérapie (antivenin).

**PHN** : plasma humain normal.

**MDA3** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2 qui contient les GR, le plasma et le venin, ou le pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges.

**MDA3'** : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3' qui contient le PHN, les GR, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges.

Chez toutes les espèces du scorpion, les pouvoirs neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges sont supérieurs aux pouvoirs pro-oxydants des venins.

Alors que l'antivenin a un effet neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges déclenchée par les venins de toutes ces espèces.

Bien que, l'augmentation des pouvoirs pro-oxydants des venins sur les globules rouges seuls constatés chez les espèces : *B.arenicola*, *O.innesi* et *B.occitanus* suite à l'addition d'antivenin. L'antivenin peut également module cette augmentation en présence du plasma.

Tableau 16. Les indicateurs des pouvoirs neutralisants d'antivenin.

indicateur du pouvoir neutralisant Espèce	$\frac{\text{MDA1}'(\text{PHN} + \text{venin})}{\text{MDA1}(\text{PHN} + \text{venin} + \text{IT})}$	$\frac{\text{MDA2}'(\text{GR} + \text{venin})}{\text{MDA2}(\text{GR} + \text{venin} + \text{IT})}$	$\frac{\text{MDA3}'(\text{PHN} + \text{GR} + \text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN} + \text{GR} + \text{venin} + \text{IT})}$
<i>A.australis</i>	0,312	0,361	0,334
<i>A.amoreuxi</i>	0,311	0,399	0,282
<i>A.aeneas</i>	0,275	0,875	0,448
<i>B.arenicola</i>	0,475	2,110	0,232
<i>O.innesi</i>	0,465	3,293	0,243
<i>B.occitanus</i>	0,536	1,092	0,309
<i>S.punicus</i>	0,380	0,379	0,598

PHN : plasma humain normal.

GR : globules rouges.

IT : immunothérapie (antivenin).

MDA1' : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 1' qui contient le PHN, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du plasma seul.

MDA2' : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 2' qui contient les GR, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation des globules rouges seuls.

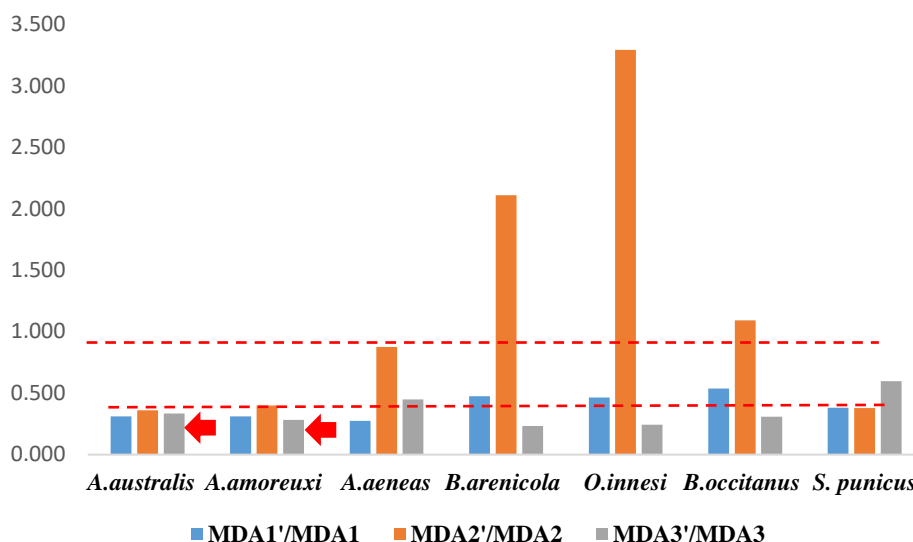
MDA3' : la concentration des malondialdéhydes dans le milieu réactionnel 3' qui contient le PHN, les GR, le venin et l'antivenin, ou le pouvoir neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges

$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN}+\text{venin})}{\text{MDA2}(\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur du pouvoir pro-oxydant du venin sur le PHN seul ou sur les GR seuls.

$\frac{\text{MDA1}(\text{PHN}+\text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN}+\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur du pouvoir pro-oxydant du venin sur les GR seuls.

$\frac{\text{MDA2}(\text{GR}+\text{venin})}{\text{MDA3}(\text{PHN}+\text{GR}+\text{venin})}$  : indicateur du pouvoir pro-oxydant du venin sur le PHN seul.





**Figure 75. Les indicateurs du pouvoir neutralisant d'antivenin.**

MDA1'/MDA1 : indicateur du pouvoir neutralisant de l'oxydation du plasma seul.

MDA2'/MDA2 : indicateur du pouvoir neutralisant de l'oxydation des globules rouges seuls.

MDA3'/MDA3 : indicateur du pouvoir neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges

Lorsque ces indicateurs sont inférieurs à un ( $<1$ ), cela indique que les pouvoirs neutralisants de l'oxydation des différentes matrices biologiques (MDA1, MDA2 et MDA3) sont plus forts que les pouvoirs pro-oxydants (MDA1', MDA2' et MDA3') sur ces matrices biologiques. Par contre, lorsque ils sont supérieurs à un ( $>1$ ), cela signifie que le contraire.

Le graphique démontre que chez toutes les espèces l'indicateur du pouvoir neutralisant de l'oxydation du plasma seul et l'indicateur de pouvoir neutralisant de l'oxydation du mélange du plasma et des globules rouges sont inférieurs à un, cela indique que l'antivenin a un pouvoir neutralisant de l'oxydation du plasma seul ou du mélange du plasma et des globules rouges.

*Chapitre III*  
*Discussion*

En effet, le stress oxydatif est devenu le centre d'intérêt des plusieurs recherches scientifiques à cause de leur rôle physiopathologique dans nombreuse maladies.

Le sang remplit de multiples fonctions dans notre corps. Il ne transporte pas seulement l'oxygène, les éléments nutritifs, les déchets et les hormones à leur lieu de destination, mais il joue également le rôle d'un véhicule de transport pour les molécules et les substances qui franchissent l'organisme, parmi lesquels le venin scorpionique en cas de piqûre du scorpion.

Dans le but d'étudier de stress oxydatif dans l'ES, nous avons réalisé une étude *in vitro* qui vise à déterminer le pouvoir oxydatif des venins scorpioniques de sept espèces du scorpion de la faune de Ouargla (*A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas*, *B.arenicola*, *O.innesi*, *B.occitanus* et *S.punicus*) en absence et en présence de l'IT.

#### **Nos résultats démontrent qu'en absence d'antivenin (IT) :**

- Les venins des sept espèces du scorpion stimulent le stress oxydatif dans toutes les matrices biologiques que nous avons utilisées (plasma seul, globules rouges seuls ou le mélange du plasma et des globules rouges) :

**AKEF et al.,(2017)** ont trouvé que, le traitement des cellules PC3 (cellules cancéreuses de la prostate humaine) avec différents concentrations du venin d'*A.amoreuxi* pendant 24 h, a provoqué une augmentation significative de peroxydation lipidique dans le lysat cellulaire par rapport aux cellules témoins. Cela est confirmé par nos résultats.

- Le plus fort pouvoir pro-oxydant du venin sur le mélange du plasma et des globules rouges est constaté chez les espèces : *A.australis* :

Ce pouvoir a été évalué par la différence entre les taux de peroxydation lipidique (marqué par la concentration des MDA) dans le blanc et le milieu réactionnel qui contient le plasma, les globules rouges et le venin d'*A.australis*, où la concentration des MDA dans ce milieu réactionnel est 30,501 nmol/mL et la concentration des MDA dans le blanc est 11,764 nmol/mL. La grande différence entre ces 2 concentrations indique que le venin d'*A.australis* a un fort pouvoir de peroxydation des lipides dans le plasma et les globules rouge, ce venin a également un fort pouvoir oxydatif sur les globules rouges seuls (MDA=86,276 nmol/mL). Ces résultats sont semblables à celles d'**ALOUACHE (2010)** qui a stimulé des macrophages péritonéaux des souris par une concentration de 10 µg/10<sup>6</sup> cellules/mL de venin d'*Aah* ou par concentration 0,1 µg/10<sup>6</sup> cellules/mL de toxine *Aah* II, puis elle les a mis en culture *in vitro* à 37 C°, dans une atmosphère humidifiée à 5 % de CO<sub>2</sub>, pendant 24 heures. Pour trouver ensuite une élévation

importante de taux de peroxydation des lipides dans ces cultures, où l'activité oxydative a été aussi évalué par la grande différence entre la concentration des MDA dans le blanc (MDA= 260 pmol/ 10<sup>6</sup> cellules) et ses concentration dans la culture des macrophages qui contient le venin d'*Aah* (MDA=510 pmol/ 10<sup>6</sup> cellules) ou dans celle qui contient la toxine *Aah* II (MDA=590 pmol/ 10<sup>6</sup> cellules). Cela indique également que le venin d'*A. australis hector* et sa toxine *Aah* II ont une activité oxydative sur les macrophages.

- Les venins des sept espèces du scorpion que nous avons étudiés sont capable de déclencher la peroxydation lipidique dans le plasma :

**EL-ABD et al., (2018)**, ont comparé entre les taux sériques de marqueurs cardiaques et les taux sériques des biomarqueurs du stress oxydatif tel que : l'oxyde nitrique (NO), malondialdéhyde (MDA), superoxyde dismutase (SOD), glutathion réduit (GSH) et zinc (Zn) chez 45 enfants (moins de 16 ans), et ceux des 30 enfants (en bonne santé, d'âge et de sexe correspondants) qu'étaient utilisés comme témoins. Les 45 enfants ont été admis à l'unité de soins intensifs pédiatriques, à la suite d'une envenimation scorpionique. Parmi les victimes étudiées, 35 victimes présentaient des signes d'envenimation sévère et 10 victimes présentaient des signes d'envenimation légère. Le taux de mortalité était de 33%. Sachant que, l'espèce du scorpion le plus mortel dans l'Égypte est *Leiurus quinquestriatus*, leurs résultats démontrent que les niveaux sériques des marqueurs du stress oxydatif ont montré des différences non significatives dans l'envenimation grave par rapport à l'envenimation légère, ainsi que, entre les non-survivants par rapport aux survivants. Par contre les marqueurs cardiaques étaient élevés dans les cas graves et chez les non-survivants par rapport aux cas légers et aux survivants respectivement. Ces résultats ont clarifié que la gravité et l'issue des lésions myocardiques induites par le venin de scorpion étaient indépendantes du stress oxydatif et ce dernier ne détermine pas le pronostic. Alors, les marqueurs cardiaques, restent le facteur qui détermine plus la gravité de l'ES.

Par ailleurs, **DEVECI et al., (2019)** ont également réalisé une étude mais *in vivo* sur le sérum des 40 patients ( $\leq 18$  ans) qui ont été admis à la clinique pédiatrique en Turquie à la suite d'une piqûre du scorpion et sur le sérum des 40 volontaires ( $\leq 18$  ans) qui représentaient le groupe de contrôle. Ils ont évalué l'état oxydatif du sérum par la mesure de la quantité du groupement thiol (SH) et celle du groupement disulfide (S-S) dans le sérum des patients et du groupe contrôle, pour ensuite calculer le rapport Thiol/Disulfide, où le groupement thiol présente la forme réduit. Ils ont révélé le

déplacement de l'homéostasie thiol/disulfure vers le côté disulfure, ce qu'indique la présence du stress oxydant dans le sang des enfants envenimés par rapport le groupe contrôle.

On constate que les résultats d'**EL-ABD et al., (2018)** et **DEVECI et al., (2019)** ont été réalisés *in vivo* et sur le sérum humain, contrairement au notre étude qu'était *in vitro* et a consulté l'oxydation du venin sur le plasma. Mais malgré ça, leurs résultats sont compatibles aux nos résultats en ce qui concerne l'oxydation du plasma par les venins du scorpion, où on trouve que bien que l'oxydation du plasma étaient plus faible que l'oxydation des globules rouges seuls chez les espèces *A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas*, *B.occitanus* et *S.punicus*, l'oxydation du plasma par les venins scorpioniques (biomarqueur du stress oxydatif) soit importante

**DOUSSET et al., (2005)** ont trouvé une augmentation dans la peroxydation lipidiques dans les organes des rats injectés par 1 mg/Kg du fragment toxique *Aah-FG50* (Fraction toxique majoritaire) du venin d'*A.australis hector* comparativement aux groupes contrôle qui sont injectés par une solution saline, leurs résultats ont aussi indiqué que cette augmentation était absente dans le plasma. Par contre, nos résultats démontrent un élévation de l'oxydation du plasma seul après l'addition des venins d'*A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas*, *B.occitanus* et *S.punicus*, cette oxydation soit faible par rapport à celle des globules rouges seuls chez ces espèces.

- La matrice biologique qui a été oxydé plus par les venins des espèces : *A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas*, *B.occitanus* et *S.punicus* est les globules rouges seuls :

**AL et al., (2013)** ont réalisé une étude sur les personnes envenimés qui ont été admis à l'hôpital de Gaziantep en Turquie .De plus, cet étude comprenait 44 patients, où 26 patients étaient aux garde 2 et 18 patients étaient aux garde 1 et un groupe contrôle du 20 volontaires ont été également enrôlés dans l'étude. Ils ont prélevé le sang total des patients au moment de l'arrivée et lors du contrôle suivant (après un mois) et du groupe de contrôle, par la suite ils ont isolé les globules rouges et les bien laver par une solution saline de chlorure du sodium (0.9%), pour mesurer le statut antioxydant total (TAS) et le statut oxydant total (TOS), ces 2 paramètres sont utilisées pour le calcul de l'indice du stress oxydatif (OSI) où  $OSI = \frac{TOS}{TAS}$  . Ils ont constaté que l'OSI dans le premier prélèvement était plus élevé que celui de contrôle (qui a été mesuré un mois plus tard) et était aussi plus élevé que celui du groupe de contrôle sain et cette différence était

également statistiquement significative. Sachant que, l'espèce du scorpion le plus mortel dans la région de Gaziantep où ces patients vivaient est *Leiurus quinquestriatus*. Bien que, leur étude était *in vivo* contrairement aux nos travail qu'était *in vitro*, ils ont trouvé que les venins des scorpions soient effectivement capables de déclencher le stress oxydatif dans les globules rouges.

**Lorsque, on ajouta l'antivenin (IT) aux différents milieux réactionnels, nous avons trouvé :**

- L'addition d'antivenin (IT) aux milieux réactionnels aboutit à une augmentation de l'oxydation des globules rouges chez les espèces : *B.arenicola*, *O.innesi* et *B.occitanus*, et à une diminution de cette oxydation chez les espèces *A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas* et *S.punicus*, ce qu'indique que l'antivenin peut jouer un rôle d'un antioxydant, comme peut provoquer une augmentation de l'oxydation :

Dans la même étude d'ALOUCHE (2013) cité au-dessus, a trouvé que l'ajout *in vitro* des fragments F (ab')<sub>2</sub> anti *Aah*-FG50 a abouti à la diminution de la peroxydation lipidique au niveau des macrophages péritonéaux. Alors que, une diminution des effets oxydatifs du venin d'*Aah*. Elle a expliqué ça par l'interaction (la réactions croisée) entre les épitopes de l'antigène (les venins du scorpion) et les paratopes des anticorps (fragments F (ab')<sub>2</sub>), ce qu'a permet d'éviter ou de réduire les lésions occasionnés par le stress oxydatif. Cette explication soutient nos résultat ce que concerne la diminution constaté dans l'oxydation des globules rouges chez les espèces *A.australis*, *A.amoreuxi*, *A.aeneas* et *S.punicus* en présence de l'immunothérapie.

Par contre, AL *et al.*,(2013) ont montré que les niveaux des TOS (statut oxydatif total) et des SOI (l'indice du stress oxydatif) chez les patients qui reçoivent l'antivenin sont sensiblement plus élevés. Ils ont révèlé que l'antivenin n'active pas efficacement le système antioxydant, mais il peut avoir un effet oxydatif. Cela confirme aussi ce que nous avons trouvé chez les espèces : *B.arenicola*, *O.innesi* et *B.occitanus* qui provoquent l'augmentation de l'oxydation des globules rouges en en présence de l'immunothérapie.

RIVIÈRE *et al.*, (1997) ; ISMAIL (1995) ont aussi déclaré que la différence des caractéristiques pharmacocinétiques entre le venin d'*Aah* ou la toxine *Aah* II et les fragments F(ab')<sub>2</sub> peut aggraver l'envenimation scorpionique.

- Les pouvoirs pro-oxydants des venins des 3 espèces du genre *Androctonus* sur le plasma seul sont proches les uns des autres, ce qu'indique que l'antivenin a un effet neutralisant

quasi identique sur l'activité oxydative du venin de ces espèces sur le plasma. Même chose avec et les pouvoirs pro-oxydants des venins de ces 3 espèces sur les globules rouges seuls chez ces (sont proches les uns des autres) :

Cela peut s'expliquer par la parenté phylogénétique entre ces trois espèces, ce qui rend l'effet neutralisant de l'IT quasi identique sur l'oxydation induite par les venins de ces 3 espèces du genre *Androctonus*. Ainsi, le type d'immunothérapie que nous avons utilisé qui a été préparé par l'immunisation des animaux par des toxines modifiées (détoxifiées) isolées à partir des venins *A.australis* et *A.amoreuxi*.

### **Limite de l'étude**

L'étude a inclut des limites qui sont :

- La durée de l'essai est insuffisante (période limité à cause de la pandémie Covid-19).
- Le nombre limité des facteurs étudiés (dosage de quelque radical libre, des antioxydants enzymatique ou non enzymatique et d'autres biomarqueurs de stress oxydatif).
- L'absence d'une gamme de différentes concentrations des venins scorpionique.
- Nombre des échantillons limités (un seul échantillon pour chaque venin scorpionique dans l'étude de l'oxydation de plasma seul ou des globules rouges seuls).

Toutes ces limitations dues à la quantité limitée des venins du scorpion et le manque des réactifs chimiques.

# *Conclusion*



Cette étude a été montrée que l'incubation d'une forte dose (5µg /mL) des venins des sept espèces du scorpion de la faune de Ouargla, avec le plasma seul, avec globules rouges seuls et avec mélange du plasma et des globules rouges, a provoqué une oxydation aux niveaux de ces 3 matrices biologiques. Cette oxydation est marquée par l'augmentation de la peroxydation des lipides et alors que un stress oxydant. Ainsi, l'effet neutralisant de l'immunothérapie est optimale lorsque l'antivenin est spécifique (les anticorps comprennent des paratopes spécifique aux épitopes d'antigène qu'est le venin scorpionique).

Nous avons également arrivé que l'antivenin puisse moduler l'oxydation du plasma seul et du mélange du plasma et des globules rouges déclenché par tous les venins scorpioniques que nous avons utilisés, même l'oxydation des globules rouges seuls mais seulement chez certain espèces.

Alors que, l'immunothérapie administrée *in vitro* capable de neutraliser l'oxydation, comme peut le renforcer.

Par ailleurs, il semble que nous sommes les premiers qui trouvons que l'interaction entre le venin d'*O.innesi* et l'antivenin augmente le pouvoir neutralisant de l'antivenin.

Au terme de l'étude *in vitro* que nous avons réalisée sur le rôle des venins scorpioniques dans la peroxydation des lipides plasmatiques et érythrocytaire, nous avons pu vérifier notre hypothèse de départ.

À la fin, au point de vue perspective, nous encourageons d'autres études *in vivo* (sur des animaux ou même des personnes envenimées) vise à :

- Étudier *in vivo* l'effet du stress oxydant produit par les venins scorpioniques sur les taux des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques plasmatiques, cellulaire et même tissulaire.
- Tester l'effet des différents antioxydants sur les dommages cellulaires provoqués par l'envenimation scorpionique, ce qui pourrait apporter dans le futur de nouveaux protocoles de traitement de l'envenimation scorpionique.
- Faire un dépistage sur la présence d'une oxydation des protéines due aux venins scorpioniques.
- La détermination des mécanismes d'oxydation impliqués au niveau cellulaire sera utile pour comprendre les effets physiopathologiques induits par le stress oxydatif lors l'ES, à fin d'établir une meilleure stratégie thérapeutique pour la prise en charge des personnes envenimées.



*Références  
bibliographiques*

**ABIB, H., LARABA-DJEBARI, F. (2003).** Effect of Co60 gamma radiation on toxicity and haemorrhage, myonecrotic and edema-forming activities of *Cerastes cerastes* venom. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **81**: 1141-1147.

**ABOUMAAD B. , N. IBA N. DERSI .,(2014).** L'envenimation scorpionique au Maroc : scorpions du genre *Androctonus*, *Buthus* et *Hottentota*. Bulletin de la Société de pathologie exotique. 107 9-47.

**ABROUG, F., AYARI M., NOUIRA, S. et al. (1995).** Assessment left ventricular function in severe scorpion envenomation : combined hemodynamic and echo-doppler study. *Intensive care Med.***21**, 629-635.

**ABROUG, F., EL ATROUS, S., NOUIRA S., TOUZI, N and BOUCHOUCHA, S. (1999)** Serotherapy in scorpion envenoming: a randomised controlled trial. *Lancet* **354**: 906-909.

**ADI-BESSALEM S, HAMMOUDI-TRIKI D, LARABA-DJEBARI F. (2008).** Pathophysiological effects of *Androctonus australis hector* scorpion venom: tissue damages and inflammatory response. *Exp Toxicol Pathol.*60 (4-5):373-80.

**ADI-BESSALEM, S., HAMMOUDI-TRIKI, D., LARABA-DJEBARI, F. (2003).** Effet de l'immunothérapie sur les modifications métaboliques et histopathologiques après envenimation scorpionique expérimentale. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **96**: 110-114.

**AFONSO V, CHAMPY R, MITROVIC D, COLLIN P, LOMRI A.** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Rev Rhum* 2007 ; 74 :636-643.

**AHMADI SH., ANDREAS H. LAUSTSEN ., JULIUS M. KNERR ., LÍDIA ARGEMI ., KARLA C. F. BORDON., MANUELA B. PUCCA ., FELIPE A. CERNI., ELIANE C. ARANTES AND FIGEN ÇALIŞKAN.,(2020).** Scorpion venom: detriments and benefits. *Biomedcines*, vol.8, n°118: p.2-31.

**AHMED AE-A, HASSAN MH, RASHWAN NI, SAYED MM and MEKI A-RMA (2018).** Myocardial injury induced by scorpion sting envenoming and evidence of oxidative stress in Egyptian children. *Toxicon.*153 :72-7.

**AL B, YARBIL P, ZENGİN S et al.** Evaluation of Oxidants and Antioxidants in Scorpion Envenomation. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 2013;33:1119- 26

**ALAIN, V. et B. ALAIN. 2005.** Toxicologie. 2ème édition. Lavoisier, Paris. pp.11-13. Alger.pp. 90-92.

**ALMEIDA, A. P., ALPOIM, N. C and FREIRE-MAIA, L. (1982)** Effects of a purified scorpion toxin (tityustoxin) on the isolated guinea pig heart. *Toxicon* **20**: 855-865.

**ALOUACHE, L, (2011).** Immunomodulation in vivo et in vitro de la balance inflammatoire des macrophages induits par le venin d'*Androctonus australis hector* et sa toxine Aah II, en présence et en absence d'immunothérapie. Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de

Magister en Biologie. Option : Biochimie : Biotechnologie et santé. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene.

**ALVARENGA, L.M., DINIZ, C.R., GRANIER C., CHAVEZ-OLORTEGUI, C. (2002).** Induction of neutralizing antibodies against *Tityus serrulatus* scorpion toxins by immunization with a mixture of defined synthetic epitopes. *Toxicon*, **40**: 89-95.

**Amaral, C. F. S., Barbosa, A. J. A., Leite, V. H. R., Tafuri, W. L and de Rezende, N.A.(1994).** Scorpion sting induced pulmonary edema: evidence of increased alveolocapillary membrane permeability. *Toxicon* **32**: 999-1003.

**AMARAL, C.F.S., LOPES, J.A., MAGALHAES, R.A. AND REZENDE, N.A. (1991).**Electrocardiographic, enzymatic and echocardiographic evidence of myocardial damage after *Tityus serrulatus* scorpion poisoning. *Am. J. Cardiol.***67**: 655-657.

**AMARAL, C.F.S., REZENDE, N.A. AND FREIRE-MAIA, L. (1993).** Acute pulmonary edema after *Tityus serrulatus* scorpion sting in children. *Am. J. Cardiol.* **71**: 242-245.

**AMES, B.N., CATHCART, R., SCHWIERS, E., HOCHSTEIN, P., 1981.** Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **78**, 6858-6862.

**AMMAN, P., FEHR, T., MINDER, E., GUNTER, C., BERTEL, O. (2001).** Elevation of cardiac troponin I in sepsis and septic shock. *Int. Care Med.* **27** (6), 965-969.

**ANDRADE, M. V. M., SOUZA, D. G., CASTRO, M. S., CUNHA-MELO, J. R AND TEIXEIRA, M. M (2002).** Evidence for a role of capsaicin-sensitive sensory nerves in the lung oedema induced by *Tityus serrulatus* venom in rats. *Toxicon* **40**: 283-287.  
**ANDRADE, M.V., CAMEZ, M.P.R., ABREU, E.M.N.N., DOLNIKOFF, M., OMAR, E.D., VELASCO I.T., CUNHA-MELO, J.R. (2004).** Lung compliance, plasma electrolyte levels and acid-base balance are affected by scorpion envenomation in anesthetized rats under mechanical ventilation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **138**, 97-104.

**ANDRU, T., BAUER, J. AND GEROK, W. (1991).** Effects of cytokines on the liver. *Hepatology* **13**, 364-369.

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

**AUBREY N.,MUZARD, J., PETER, J.C., ROCHAT, H., GOYFFON, M., DEVAUX, C., BILLIALD, P. (2004).** Engineering of a recombinant Fab from a neutralizing IgG directed against scorpion neurotoxin Aah I, and functional evaluation versus other antibody fragments. *Toxicon* **43**:233-241.

**AUDEBERT F., GROSSELET O., SABOURAUD A BON C (1993)** Quantification of venom antigens from European vipers in human serum and urine. *J Anal Toxicol.* **19**: 236-240.

**AUVIN-Guette C.(2002).** Nouvelles techniques de spectrometrie de masse appliquées à l'échelle des venins. *Bull SocPatholExot*, **95**, (3), 212-213.

**BAEUERLE P A, RUPEC R A, PAHL H L.** Reactive oxygen intermediates as second messengers of a general pathogen response. *Pathologie Biologie*, 1996, vol. 44, n° 1, p. 29-35.

**BAHIDA B, 2001**-l'envenimation scorpionique dans la wilaya d'Adrar. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention de diplôme d'état, Institut Technologique de la santé publique D'Oran.

**BAHLOUL, M., et al.** Les envenimations scorpioniques graves : physiopathologie et rôle de l'inflammation dans la défaillance multiviscérale. *Médecine et Santé Tropicales* 2017 ; 27,2: 214-221.

**BALAZET I.,(1955).**Venins des scorpions et serum antiscorpionique , arch .Inst . Past, Alger, tome 33 (2): 90-92.

**BARTHOLOMEW, C., MCGEENEY, K.F., MURPHY J.J., FRITZGERALD, O. AND SANKARAN, H. (1976).**Experimental studies on the aetiology of acute scorpion pancreatitis. *Br. J. Surg.* **63**, 807-810.

**BAWASKAR, H.S AND BAWASKAR, P.H. (1986).** Prazosine in management of cardiovascular manifestations of scorpion sting. *Lancet I*, 510-511.

**BELFAR H, MOUICI F.,(2019).** Etude de la réactivité immunologique du sérum anti-scorpionique algérien contre les venins scorpioniques. Mémoire de Master en Sciences Biologiques, Spécialité : Biochimie Appliquée, Université de Ouargla. Algérie. pp104.

**BELGHITH, M., BOUSSARSAR, M., HAGUIGA, H., BESBES, L., ELATROUS, S., TOUZI, N., BOUJDARIA, R., BCHIR, A., NOUIRA, S., BOUCHOUCHA, S., ABROUG, F. (1999).** Efficacy of serotherapy in scorpion sting : A matched-pair study. *Clinical Toxicology*, **37** (1), 51-57.

**BENGUEDDA ,C., LARABA, F., OUAHDI, M ., HELLAL, H.,GRIENE, L.,GUERENIK ,M., LAID, Y.,(2002).**Membres du comité national de lutte contre l'envenimation scorpionique, Expérience de quinze années de lutte contre l'Envenimation Scorpionique en Algérie. *Bull Soc Pathos Exot*, 95, 3, 205-208,P: 54.

**BENOIT PR, MANRINI J ,(1967).** Action du venin de scorpion sur la jonction neuromusculaire de la grenouille. *J. Physiol(Paris)* . 59: 348.

**BERTAZZI, D. T., DE ASSIS-PANDOCHI, A. I., CALEIRO SEIXAS AZZOLINI, A. E., TALHAFFERRO, V. L .,LAZZARINI, M AND ARANTES, E. C. (2003)** Effetc of *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major toxin TsTX-I, on the complement system in vivo. *Toxicon* 41: 501-508.

**BERTAZZI, D.T., DE ASSIS-PANDOCHI, A.I., TALHAFFERRO, V.L., AZZOLINI, A.E.C.S., CROTT, L.S.P., ARANTES, E.C. (2005).** Activation of the complement system and leukocyte recruitment by *Tityus serrulatus* scorpion venom. *International immunopharmacology* **5**, 1077-1084.

**BESSALEM, S., HAMMOUDI-TRIKI, D., LARABA-DJEBARI, F. (2003)** Effet de l'immunothérapie sur modifications métaboliques et histopathologiques après envenimation scorpionique expérimentale. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 96: 110-114.

**BOND, G.R. (1992).** Antivenin administration of *Centruroides* scorpion stings: risks and benefits. *Ann. Emerg. Med* 21: 788-791.

**BORGES CM, SILVEIRA MR, APARECIDA M, BEKER CL, FREIRE-MAIA L, TEIXEIRA MM. (2000).** Scorpion venom-induced neutrophilia is inhibited by a PAF receptor antagonist in the rat. *J Leukoc Biol.* 67(4):515-9.

**BOSMANS, F. & TYTGAT, J. 2007.** Sea anemone venom as a source of insecticidal peptides acting on voltage-gated Na<sup>+</sup> channels. *Toxicon*, 49, 550-60.

**BRIANNA L., DAVID W., OLGA Z., PETER J., ROGER D. et GLENN F., 2005-**Were arachnids the first to use combinatorial peptide libraries? *Peptides*, 26: 131-139.

**BRIGELIUS-FLOHÉ R, KIPP A.** Glutathione peroxidases in different stages of carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 2009, vol. 1790, n° 11, p. 1555-1568.

**BROGLIO N , GOYFFON M .,(1980).**Les accidents d'envenimation scorpionique. *Le Concours Médical*.102 (38): 5615-5622.

**BUCARETCHI, F., BRACATT, E.C., NOGUEIRA, R.J.N., CHAVEZ, A., ZAMBRONE, F.A.D., FONSECA, M.R.C.C., TOURINHO, F.S. (1995)** Severe scorpion envenomation in children: a comparison study between *Tityus serrulatus* and *Tityus bahiensis*. *Rev. Inst. Med. Trop.* 37: 331-336.

**BUSSE, R., MULSCH, A., FLEMING, I. AND HEDCER, M. (1993).** Mechanisms of nitric oxide release from the vascular endothelium. *Circulation* 87 (Suppl. V), V18- V25.

**CALDERON-ARANDA, E. S., HOZBOR, D., POSSANI, L. D. (1993)** Neutralizing capacity of murine sera induced by different antigens of scorpion venom. *Toxicon* 31: 327-337.

**CALDERON-ARANDA, E. S., RIVIÈRE, G., CHOUMET, V., POSSANI, L. D AND BON, C (1999)** Pharmacokinetics of the toxic fraction of *Centruroides limpidus limpidus* venom in experimentally envenomed rabbits and effects of immunotherapy with specific Fab'2. *Toxicon* 37: 771-782.

**CAMPOS, J.A., SILVA, O.A., LOPEZ, M. AND FREIRE-MAIA, L. (1979).** Signs, symptoms and treatment of severe scorpion sting in children. *Toxicon*, 17 (Suppl. 1), 19.

**CARLSBERG I, MANNERVIK B.** Glutathione reductase. *Methods Enzymol*, 1985 ; 113: 484-490.

**CASTANIA, A. AND ROTHSCHILD, A.M. (1974).** Lowering of kininogène in rat blood by adrenaline and its inhibition by sympatholytic agents, heparin and aspirin. *Br. J. Pharmac.* **50**, 375-381.

**CASTEILLA L, DUVAL C, FERNANDEZ Y, [et al.].** Quel avenir pour la mitochondrie ? *HépathoGastro*, 2003, vol. 10, n° 1, p. 65-74.

**CATTERALL W.,(1988).**Structure and function of voltage sensitive ion channel science.242: 50-61.

**CHAGRA H. et LATRECHE S.,(2008).** Analyses du venin des scorpions : Espèce *Androctonus amoeruxi* et comparaison avec *Androctonus australis Hector* .Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie. Option : Biochimie. Université Kasdi Merbah Ouargla.

**CHARNOT A , FAUVE L.,(1934).**Les scorpions du Maroc. Bull. Inst. Hyg. Maroc. 4:81-148.

**CHARRAB, N. 2009.** Analyse de la situation épidémiologique des piqûres et des envenimations scorpioniques dans la province de Beni Mellal (2002-2007).Université Ibn Tofail-Kénitra. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention d'un diplôme de Doctorat National. 115p.

**CHAVEZ-OLORTEGUI, C., FONSECA, S.C.G, CAMPOLINA, D., AMARAL, CFS AND DINIZ, C.R. (1994)** ELISA for the detection of toxic antigens in experimental and clinical envenoming by *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Toxicon* **32**: 1649-1656.

**CHIPPAUX JP, GOYFFON M.** Epidemiology of scorpionism : a global appraisal. *Acta Trop* 2008 ; 107 : 71-9.

**CLOT-FAYBESSE, O., JUIN, M., ROCHAT, H AND DEVAUX, C. (1999)** Monoclonal antibodies against the *Androctonus australis hector* scorpion neurotoxin I: Characterization and use for venom neutralisation. *FEBS lett.* **458**: 313-318.

**CLOUDSLEY- THOMPSON J. L. et LOURENÇO W. R. The origin of desert faunas. Biogéo. 1994, 79 (4): 183-192.**

**COELHO, J.S., ISHIKAWA, E.A.Y., DOS SANTOS, P.R.S.G., PARDAL, P.P., 2016.** Scorpionism by *tityus silvestris* in eastern Brazilian amazon. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.*22, 24.

**COGAN, E., SCHANDENE, L., CRUSIAUX, A. ET COLL. (1994).** Clonal proliferation of type 2 helper Tcells in a man with the hypereosinophilic syndrome. *N. Engl. Med.* **330**: 535-538.

**CONSROE, P., EGEN, N. B., RUSSELL, F. E., GRRISH, K., SMITH, D. C., SIDKI, D. C AND LANDON, J.T. (1995)** Comparison of a new ovine antigen binding fragment (Fab) antivenin for United States Crotalidae with commercial antivenin for protection against venom-induced lethality in mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **53**: 507-510.



**COURAUD F. et JOVERE., DUBOIS J M., ROCHAT H, 1982-** Two types of scorpion toxin receptor sites, one related to the activation, the other to the inactivation of the action potential sodium channel. *Toxicon* 20,p 9

**CUNHA-MELO, J.R., ALMEIDA, A.P., GONZAGA, H.M.S., GOMEZ, M.V., FREIRE-MAIA, L. (1987).** Effect of scorpion toxin on gastric histamine and acetylcholine content in the rat. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 20, 393-401.

**CUPO, P., JURCA, M., AZEVEDO, M.M., OLIVEIRA, J.S.M. AND HERING, S.E. (1994).** Severe envenomation scorpion in Brazil. Clinical, Laboratory and anatomopathological aspects. *Rev.Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 36: 67-76.

**D'SUZE, G., COMELLAS, A., PESCE, L., SEVICK, C., SANCHEZ DE-LEON, R. (1999).** *Tityus discrepans* venom produces a respiratory distress syndrome in rabbits through an indirect mechanism. *Toxicon* 37, 173-180.

**D'SUZE, G., MONCEDA, S., GONZALEZ, C., SEVCIK, C., AGUILAR, V AND ALAGON, A. (2003).** Relationship between plasmatic levels of various cytokines, tumour necrosis factor, enzymes, glucose and venom concentration following *Tityus* scorpion sting. *Toxicon* 41: 367-375.

**D'SUZE, G., SALAZAR, V., DIAZ, P., SEVCIK, C., AZPURUA, H., BRACHO, N. (2004).** Histopathological changes and inflammatory response induced by *Tityus discrepans* scorpion venom in rams. *Toxicon* 44, 851-860.

**DA SILVA, W.D., TAMBOURGI D.V., CAMPOS, A.C.M.R., MAGNOLI, F., PETRICEVICH, V.L., KIPNIS, T.L. (1995).** Complement activation by animal venoms. *J. Toxicol, Toxin. Rev.* 14: 375-400.

**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.

**DE MATOS, I.M., ROCHAT, O.A., LEITE, R., FREIRE-MAIA, L. (1997).** Lung edema induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom in the rat. *Comp. Biochem. Physiol.* 118C, 143-148.

**DE REZENDE, N.A., CHAVEZ-OLORTEGUI, C AND AMARAL, C. F. S. (1996)** Is the severity of *Tityus serrulatus* scorpion envenoming related to plasma venom concentrations? *Toxicon* 34: 820- 823

**DEFRAIGNE J O, PINCEMAIL J.** Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège.* 2008 ; 63:10-19. Dehesa-Davila, M. and Possani, L. D. (1994) Scorpionism and serotherapy in Mexico. *Toxicon* 32: 1015-1018.

**DELATTRE J, BEAUDEUX J.L, BONNEFONT- ROUSSELOT D.** Monoxyde d'azote. In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques. Edt Tec Doc. Paris : Lavoisier, 2005 : 25-41.

**DELATTRE J, BEAUDEUX J.L, BONNEFONT- ROUSSELOT D.** Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologique. Edt Tec Doc. Paris : Lavoisier, 2005 : 45-80.

**DELATTRE J, BEAUDEUX J.L, BONNEFONT- ROUSSELOT D.** Systèmes antioxydants endogènes. In Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques. Edt Tec Doc. Paris : Lavoisier, 2005 : 87 108.

**DE-MATOS, I. M., SOUZA, D. G., SEABRA, D. G., FREIRA-MAIA, L AND TEIXIERA, M.M. (1999).** Effects of tachykinin NK (1) or PAF receptor blockade on the lung injury induced by scorpion venom in rats. *Eur. J. Phar.* **376** (3): 296-300.

**DE-MATOS, I. M., TALVANI, A., ROCHA, O. O. A., FREIRA-MAIA, L AND TEIXIERA, M. M. (2001)** Evidence for the role of mast cells in the lung edema induced by *Tityus serrulatus* venom in rats. *Toxicon* 39: 861-867.

**DE-REZENDE, N.A., BORGES, DIAS, M., CAMPOLINO, D., CHAVEZ-ORTELIGUI, C., AMARAL, C. F. S.(1995b).** Standardisation of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting circulating toxic venom antigens in patients stung by the scorpion *Tityus serrulatus*. *Rev. Inst.Trop. Sao Paulo* **37** (1): 71-74.

**DE-REZENDE, N.A., BORGES, DIAS, M., CAMPOLINO, D., CHAVEZ-ORTELIGUI, C., DINIZ, C.R.,AMARAL, C. F. S. (1995A)** Efficacy of antivenom therapy for neutralising circulating venom antigens in patients stung by *Tityus serrulatus* scorpions. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **52**: 277-280.

**DE-REZENDE, N.A., BORGES, DIAS, M., CAMPOLINO, D., CHAVEZ-ORTELIGUI, C., AMARAL, C. F. S. (1995B).** Standardisation of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting circulating toxic venom antigens in patients stung by the scorpion *Tityus serrulatus*. *Rev. Inst. Trop. Sao Paulo* **37** (1): 71-74.

**DEVAUX C., JOUIRON B., NACEURKRIFI M., CLOT-FAYBESSE O., EL AYEB M. &ROCHAT H.(2004).** Quantitative variability in the biodistribution and intoxicokinetic studies of the three main alpha toxins from the *Androctonus australis hectors* scorpion venom. *Toxicon*, 43, 661- 669.

**DEVAUX, C. AND ROCHAT, H. (2002).** Bases théoriques et expérimentales du traitement des envenimations scorpioniques. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **95**, (3), 197-199.

**DEVECI, S ., DEMIR , M., GUZELCICEK , A AND KIRMIT , A (2019).** Sociodemographic characteristics and dynamic thiol/disulfide homeostasis in pediatric patients presenting with scorpion sting ; 26(11):2609-14.

**DINARELLO, C.A. (1997).** Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest.* **112** (Suppl.6), 321-329.

**DOUSSET, L., CARREGA, J.G., STEINBERG, O., CLOT-FAYBESSE, B., JOUIROU, N., SAUZE, T., DEVAUX, Y., AUTIER, Y., JAMMES, M.F., MARTIN-**

**EAUCLAIRE, R., GUIEU. (2005).** Evidence that free radical generation occurs during scorpion envenomation. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* **140**: 221–226.

**DRAPER, H. ET HADLEY, M. (1990).** Malondialdehyde Determination as Index of Lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology*, 186, 421-431.

**DUGO L, NEGIS Y, AZZI A (2011).** Antioxidants. In: *Encyclopedia of Life Science (ELS)*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.

**DUNLOP J.A. et WEBSTER M., 1999-** Fossil evidence, terrestrialization and arachnid phylogeny. *The Journal of Arachnology*, 27: 86-93.

**EDEAS M, ATTAFF D, MAILFERT A S, [et al.].** Maillard Reaction, mitochondria and oxidative stress: Potential role of antioxidants. *Pathologie Biologie*, 2010, vol. 58, n° 3, p. 220-225.

**EL YASSIR, FATIMA EZ.,(2013).** Envenimations chez l'enfant par morsure de serpent et piqure de scorpion à propos d'un cas. Thèse de doctorat. UNIVERSITE MOHAMMED V – SOUISSI FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT .

**EL-ASMAR, M. F., FARAG, R.M., SHOUKRY, S. AND EL-SHIMI, I.R. (1979).** Effect of scorpion *Leiurus quinquestriatus* H and E venom on lipid metabolism. *Toxicon*, Vol. **17**,279-283.

**EL-HAFNY, B AND GHALIM, N. (2002)** Evolution clinique et taux circulants du venin dans les envenimations scorpioniques au Maroc. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 95, 3: 200-204.

**EREL O. A .** novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004;37(4):277-85.

**ESMON, C. T. (1999).** Possible involvement of cytokines in diffuse intravascular coagulation and thrombosis. *Bailliera's Clin. Haematol.* **12**: 349-359.

**FACCIOLI, L.H., SOUZA, G.E.P., CUNHA, F.Q.S., POOLE, S., FERREIRA, S.H. (1990).** Recombinant interleukin-1 and tumor necrosis factor induce neutrophil migration in vivo by indirect mechanisms. *Agent Actions* **30**, 344-349.

**FATANI, A J, FURMAN, B. L AND ZEITLIN, I.J (1998)** The involvement of plasma kinins in the cardiovascular effects of *Leiurus quinquestriatus* scorpion venom in anaesthetised rabbits. *Toxicon* **36**: 523-536.

**FAVIER A.** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'act. chim*, 2003: 108-115.

**FAVIER A.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 2006, vol. 64, n° 6, p. 390-396.

**FERNANDES, I., TAKEHARA, H.A. AND MOTA I. (1999).** Isolation of IgG T from hyperimmune horse anti-snake venom serum: Its protective ability. *Toxicon*, vol. 29, n° **11**, 1373-1379.

**FIALHO E., MACIEL M., SILVA A., REIS A-S., ASSUNÇÃO A., FORTES T., SILVA A., GUERRA R., KWASNIEWSKI F-H. ET NASCIMENTO F. (2011).** Immune cells recruitment and activation by *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Toxicon*, 58 (6-7):480-485.

**FLORENCE JUNGO & Amos Bairoch (2005).** Tox-Prot, the toxin protein annotation program of the Swiss-Prot protein knowledgebase. *Toxicon* 45,293-301.

**FRANK BOSMANS & Jan Tytgat (2007).** Voltage-gated sodium channel modulation by scorpion  $\alpha$ -toxins. *Toxicon* 49, 142-158

**FREIRE-MAIA, L AND DE MATOS, I. M. (1993).** Heparin or a PAF antagonist (BN-52021) prevents the acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* scorpion in the rat. *Toxicon* 31: 1207-1220.

**FREIRE-MAIA, L., ALMEIDA H.G., CUNHA-MELO J.R., AZEVEDO A.D., BARROSO, J. (1978).** Mechanism of the pulmonary edema induced by intravenous injection of scorpion toxin in the rat. *Agents Actions* 8, 113-118.

**FREIRE-MAIA, L., CAMPOS, J.A. (1989)** Pathophysiology and treatment of scorpion poisoning. *Natural Toxins*. Pergamon Press, Oxford , 139-159.

**FUKUHARA, Y. D. M., DELLALIBERA-JOVILIANI, R., CUNHA, F. Q. C ; REIS, M. L. AND DONADI, E. A. (2001).** The Kinin system in the envenomation caused by the *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 196: 390-395.

**FUKUHARA, Y. D. M., REIS, M. L., DELLALIBERA-JOVILIANI, R., CUNHA, F. Q. C AND DONADI, E. A (2003)** Increased levels of IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- $\alpha$  in patients moderately or severely envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicon* 41: 49-55.

**GANTENBEIN B, LARGIADER C.R.,2003.** The phylogeographic importance of the Strait of Gibraltar as a gene flow barrier in terrestrial arthropods: A case study with the scorpion *Buthus Occitan's* as model organism ,*Mol. Phylogenet. Evol.*, 28: 119 130.

**GAO B., PEIGNEUR S., DALZIEL J., TYTGAT J. et ZHU S.,(2011).** Molecular divergence of two orthologous scorpion toxins affecting potassium channels. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 159 (29) : 313-321.

**GAO B., PEIGNEUR S., DALZIEL J., TYTGAT J. et ZHU S.,(2011).** Molecular divergence of two orthologous scorpion toxins affecting potassium channels. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 159 (29) : 313-321.

**GAUDREULT, P.(2002).** Qu'est-ce qui m'a piqué ' Un scorpion... - Bulletin d'Information Toxicologique; 2, p : 3-4.

**GENIEZ P., 2009-** Découverte au Maroc d'*Androctonus australis* (Linnaeus,1758)(Scorpiones, Buthidae). *Poiretia* (1): 1-4.

**GEOFFERY KI, ERICH SV, CORRINE RB, MARK SH .,(2003).**Australian scorpion stings: a prospective study of definite stings. *Toxicon*.41: 877-883.

**GHALIM, N., EL HAFNY, B., SEBTI, F., HAIKEL, J., LAZAR, N., MOUSTAMIR, R AND BENSLIMANE, A (2000)** Scorpion envenomation and serotherapy in Morocco. *Am. J.Trop.Med. Hyg.* 62: 277-283.

**GHAZAL, A., ISMAIL, M., ABDEL-RAHMAN, A.A. AND EL-ASMAR, M.F. (1975).** Pharmacolo studies of scorpion (*Androctonus amoreuxi*, Aud. & Sav.) venom. *Toxicon* **13**, 253-259.

**GOUDABLE J, FAVIER A.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique & Métabolisme*, 1997, vol. 11, n° 2, p. 115-120.

**GOUGE D. H., SMITH K. A., OLSON C. et BAKER P.,2001-**Scorpions. A Coopérative Extension.AZ 1223.

**GOYFFON M et ELAYEB M.,(2002).**Epidémiologie du scorpionisme. Infotox n°15 juin.

**GOYFFON M, VACHON M, BROGLIO N.** Epidemiological and clinical characteristics of the scorpion envenomation in Tunisia. *Toxicon* 1982 ; 20 : 337-44.

**GOYFFON M.(2002)** .Le scorpionisme. *Revue Française des Laboratoires* **342**: 41-48.

**GOYFFON,(2002).**Le scorpionisme en Afrique sub-saharienne. *Bull. Soc. Patho Exot.*95: 191-193.

**GRASSE P. P., 1949-** Traité Zoologie, Ordre des scorpions, Edit Muséum National d'Historique Naturelle, Paris, tome 6, p.p.386-436

**GRASSE PP.** Précis de sciences biologiques. Intervertébrés Masson 1965 ; 6 : 492-500.

**GRUPP, G., GRUPP, I.L., GUERON, M., ADOLPH, F. AND FOWLER, N.O. (1980).** Direct Myocardial effects of vagal stimulation. *Am. J. Physiol.* **208**, 954-960.

**GUERON, M. and YAROM, R. (1970)** Cardiovascular manifestations of severe scorpion sting. Clinicopathological correlations. *Chest* **57**: 156-162.

**GUERON, M., ADOLPH, R., GRUPP, I., GRUPP, O., GABEL, M., FOWLER, N.O. (1980)** Hemodynamic and myobardial consequences of scorpion venom. *Am. J. Cardiol* **45**: 979-986.

**GUERON, M., ILIA R., SHAHAK, E and SOFER, S. (1992)** Renin and aldosterone levels and hypertension following envenomation in humans by yellow scorpion *Leiurus quinquestriatus*. *Toxicon* **30**: 765-767.

**GUYTON, A.C. (1996).** Textbook of Medical physiology. Ed. WB. Saundres. Philadelphia, 867-869.

**GWEE M.C.E, S.NIRTHANAN,H.-E.KHOO,P.GOPALAKRISHNAKONE,R. M. KINI, L.-S. CHEAH.,(2002).** Autonomic effects of some scorpion venoms and toxins. *Clinical and Experimental pharmacology and Physiology*,2 9: (9) : 7 95 —8 01.

**HADDAD J J.** Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors. *Cellular Signalling*, 2002, vol. 14, n° 11, p. 879-897.

**HALLIWELL B, GUTTERIDGE JM.** Free radicals and antioxidant protection: mechanisms and significance in toxicology and disease. *Hum Toxicol.* 1988; 7: 7-13.

**HALLIWELL B, GUTTERIDGE JM.** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys.* 1986; 246: 501-514.

**HALLIWELL B.** Mechanisms innvolved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie*, 1996, vol. 44, n° 1, p. 6-13.

**HAMMOUDI-TRIKI D, LEFORT J., C. ROUGEOT, A ROBBE-VINCENT, C. BON, AND F. LARABA-DJEBARI V. CHOUMET (2007).** Toxicokinetic and Toxicodynamic analyses of *Androctonus australis hector* venom in rats: Optimization of antivenom Therapy *Toxicology and Applied Pharmacology*.

**HAMMOUDI-TRIKI, D. (2004).** Effets physiopathologiques et pharmacodistribution du venin d'*Androctonus australis hector* avant et après immunothérapie. Thèse de doctorat d'état.

**HAMMOUDI-TRIKI, D. ET LARABA-DJEBARI, F. (2003)** Application du test ELISA pour la quantification du venin d'*Androctonus australis hector* dans les sérums des personnes et rats envenimés. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **96** : 297-302.

**HAMMOUDI-TRIKI, D., BESSALEM, S., LARABA-DJEBARI, F. (2003)** Comment réduire les altérations pulmonaires induites par le venin d'*Androctonus australis hector*? *Toxinogénèse Biosynthèse, ingénierie, polymorphisme, neutralisation des toxines*, ed. Elsevier 139-142.

**HAMMOUDI-TRIKI, D., FERQUIEL, E., ROBBE-VINCENT, A., BON, C., CHOUMET, V AND LARABADJEBARI, F. (2004)** Epidemiological data, clinical admission gradation and biological quantification by ELISA of scorpion envenomations in Algeria : effect of immunotherapy. *J.Royal Society of Tropical Medicine and hygiene* **98**: 240-250.

**HEINEN TE, GORINI DA VEIGA AB. (2011).** Arthropod venoms and cancer. *Toxicon.* **57** : 497 —511.

**HERING, S.E., JURCA, M., VICHI, F.L. AND AL. (1993).** Reversible cardiomyopathy in patients with severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*: evolution of enzymatic, electrocardiographic and echocardiographic alterations. *Ann. Trop. Pediatr.* **13**: 173-82.

**HERMES-LIMA, M., 2005.** Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals, In K.B. Storey (Ed.), Functional Metabolism: Regulation and Adaptation. Hoboken, NJ: Wiley-Liss, 319-368.

**HOUÉE-LEVIN C, SICARD-ROSELLI C, BERGÈS J.** Chimie et biochimie radicalaires. Paris : Belin, 2005. 160 p. (Collection échelles).

**HOUÉE-LEVIN C, SICARD-ROSELLI C, BERGÈS J. CHIMIE ET BIOCHIMIE RADICALAIRES. PARIS : BELIN, 2005.** 160 p. (Collection échelles).

**HOWARD, M., MUCHAMUEL, T., ANDRADE, S., MENON, S. (1993).** Interleukin-10 protects mice from lethal endotoxemia. *J. Exp. Med.* **177**, 1205-1208.

**HUTT M J. & HOUGHTON P.J.(1998).** A survey from the literature of plants used to treat scorpion stings. *Ethno- pharmacology*, 60, 97-110.

**IDDER, M.A., 2011.** *Lutte biologique en palmeraies : cas de la cochenille blanche, de la pyrale des dattes et du boufaroua.* Thèse doctorat ENSA, El-Harrach, Alger, 152 p.

**INCEOGLU B., LANGO J., JING J., CHEN L., DOYMAZ F., PESSAH I. & HAMMOCK B.D. (2003).** One scorpion, two venoms: Pre venom of *Par buthust ransvaalicus* acts as an alternative type of venom with distinct mechanism of action. *PNAS*, 100, (3), 922-927

**ISBISTER GK, BAWASKAR HS. (2014).** Scorpion envenomation. *N Engl J Med.* 31;371(5):457-63.

**ISBISTER GK, BAWASKAR HS.** Scorpion Envenomation. *N Engl J Med* 2014 ;371 : 1557-60

**ISMAIL ,M (1995).** The scorpion envenoming syndrome. *Toxicon* 33 .p: 825-858.

**ISMAIL M, FATANI AJ, DABEES T.,( 1992).** Experimental protocols for scorpion envenomation : A review of common therapies and effect of kallikrein-kinin inhibitors. *Toxicon.* 30:1257-1279.

**ISMAIL M. (1994).** The traitement of the scorpion envenoming syndroms :the Saudi expérience with sérothérapie . *Toxicon*, 32, (9), 1019-1024

**ISMAIL M.,(2003 ).** Treatment of the scorpion envenoming syndrome: 12 years experience with serotherapy. *International Journal of Antimicrobial Agents.*21 (2): 170 174.

**Ismail, M. (1995).** Review article: The scorpion envenoming syndrome. *Toxicon* **33**: 825-858

**ISMAIL, M., ABD-ELSALAM, M.A. AND AL-AHAIDIB, M.S. (1994).** *Androctonus crassicauda* (Olivier), a dangerous and unduly neglected scorpion-I. Pharmacological and clinical studies. *Toxicon* **32**: 1599-1618.

**ISMAIL, M., ABD-ELSALAM, M.A. AND AL-AHAIDIB, M.S. (1998).** Pharmacokinetics of <sup>125</sup>I-labelled *Walterinnesia aegyptia* venom and its specific antivenins: flash absorption and distribution of the venom and its toxin versus slow absorption and distribution of IgG, Fab'2 and Fab of the antivenin. *Toxicon* **36**: 93-114.

**ISMAIL, M., ABDOULAH, M.E, MORAD, A.M. AND AGEEL, A.M. (1980).** Pharmacokinetics of <sup>125</sup>I-labelled venom from the scorpion *Androctonus amoreuxi* (Aud. and Sav.) *Toxicon* **18**: 301-308.

**JOMOVA K, VALKO M.** Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 10 mai 2011;283(2-3):65-87.

**KARREN J. B., 2001-** Scorpions. *Extension Entomology*, n° 68

**KEANEY et al.** Free radicals, oxidative stress and antioxidants: Pathological and physiological significance. *Life sciences*, 1994; Vol 296: 100-106.

**KHARRAT, R., ZENOUBI, I., BEN LASFER, Z., MILED, K. AND EL AYEB, M; (1997).** Molecular characterization, antigenicity and immunoassay anatoxic polymeric forms conferring protection against scorpion venoms. *Toxicon* **35**: 915-930.

**KHECHEKHOUCHE, HAMDAT,(2007).**L'envenimation scorpionique et un analyse du venin de *Buthus occitanus tunetanus* dans la région de Ouargla.

**KHIATI M., (1984).** L'envenimation scorpionique en Algérie , O.P.U. Alger , p6-21.

**KO TZ, SAFO MK, MUSAYEV FN, DI SALVO ML, WANG C, WU SH, ABRAHAM DJ.** Structure of human erythrocyte catalase. *Acta cryst*, 2000; 56: 241-246.

**KORYTOWSKI W, KALYANARAMAN B, MENON IA SARNA T, SEALY RC.** Reaction of O<sub>2</sub><sup>•-</sup> With melanins: electron spin resonance and spin trapping studies. *Biochim Biophys acta*, 1986; 882: 145-153.

**KOWALSKI, M. L. AND KALINER, M. A. (1988).** Neurogenic inflammation, vascular permeability and mast cells. *J. Immunol.* **140**: 3905-3911.

**KRIFI M., CHAUMET V., BON C. et ELAYEB M., (2001)-**Immunothérapie anti-scorpionique: faits et perspectives .Edition scientifique et médicales . El sérier, pp 253-265

**KRIFI, M. N., AMRI F., KHARRAT H. AND EL AYEB M. (1999).** Evaluation of antivenom therapy on children severely envenomed by *Androctonus australis garzonii* (Aag) and *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) scorpion venom. *Toxicon* **37**:1627-1634.

**KRIFI, M. N., KHARRAT, H., ZGHAL, K., ABDOULI, M., ABROUG, F., BOUCHOUCHA, S., DELLAGI, K., EL-AYEB, M. (1998).** Development of method ELISA for the detection of scorpion venoms in sera of humans envenomed by *Androctonus australis garzonii* (AAG) and *Buthus occitanus tunetanus* (BOT): correlation with clinical severity of envenoming in Tunisia. *Toxicon* **36**: 887-900.



**KRIFI, M. N; MILED, M; ABDERREZAK, M AND EL AYEB,M.,(2001).** Effect of antivenom on *Buthus accitanus tenutanus* (Bot) scorpion venom pharmacokinetics: Toward an optimisation of antivenom immunotherapy in rabbit model. *Toxicon* 39: 1317-1326.

**LA GRANGE, R. G. L. (1977).** Elevation of blood pressure and plasma renin levels by venom from scorpions *Centruroides sculpturatus* and *Leiurus quinquetriatus*. *Toxicon* 15: 429-433.

**LAHFI, M. AND TABATABAI, M. (1979).** Immunological studies on Iranian scorpion venom and antiserum. *Toxicon*, vol. 17, 617-620.

**LALIBERTÉ J, LABBÉ S.** [The molecular bases for copper uptake and distribution: lessons from yeast]. *Médecine Sci MS.* mars 2008;24(3):277-83.

**LASKIN, D.L., HECK, D.E., LASKIN, J.D. (1998).** Role of inflammatory cytokines and nitric oxide in hepatic and pulmonary toxicity. *Toxicology Letters* **102-103**: 289-293.

**Leverse X.** Stress oxydant et antioxydants? *Médecine et nutrition*, septembre 2009 ; 44 : 219-244.

**LMROUS ,Y.(2009).** Étude de syndrome respiratoire provoqué par les constituants des venins des scorpions en absence et en absence de thérapie. Mémoire présenté pour l'obtention d'un diplôme du magister.

**LOURENÇO W. R., 2000-** Reproduction in scorpions, with special reference to parthenogenesis. *European Arachnology*, 71-85

**LOURENÇO W.R. et CUELLAR O., 1995-** Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. *J.Venom. Anim. Toxins*, 1(2): 51-62

**LOURENÇO,W.(1991).** Les scorpions organismes modèles en biogéographie. *C. R. Soc.Biogeog*, 67 (2),p: 132.

**LUCIEN,B. (1955).**Venins des scorpions et sérum anti-scorpionique, *Archive .IPA,Tom.33* (2), pp :90.92.

**LOUISA BÉCHOHRA, FATIMA LARABA-DJEBARI AND DJELILA HAMMOUDI-TRIKI ., (2016).**Cytotoxic activity of *Androctonus australis hector* venom and its toxic fractions on human lung cancer cell line, **Béchohra et al.** *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases.* 22:29

**MAANANE A, NOUBA M .,(2019).** Etude de l'effet d'*Artimesia Campestris* sur les lapins hollandaise envenimé par le scorpion d'*Androctonus australis*, Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences Biologiques, Option : Toxicologie, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED. Algérie. pp10

**MAHDJOUBI M ., EL AYEB M. et KHARRAT R.,(2003).** Caractérisation d'une nouvelle toxine active sur des canaux potassium apamine sensible purifiée à partir du venin de *Buthus occitanus tunetanus*. *Archs. Int . Pasteur Tunis*, 80: 43-52.

**MANIE D.** Intoxications par piqûre de scorpion à Tiznit ; étude prospective. Thèse Doctorat Médecine, Rabat;1995, n°63.

**MARIA, W.S., CAMBUY, M.O., COSTA, J.O., VELARDE, D.T., AND CHAVEZ-OLORTEGUI, C. (1998).** Neutralizing potency of Horse antithrotophic antivenom. Correlation between in vivo and *in vitro* methods. *Toxicon* **36**, N°10, 1433-1439.

**MARTIN-EAUCLAIRE M-F, LEGROS C, BOUGIS PE, ROCHAT H.** Les toxines des venins de scorpion. Annales de l'Institut Pasteur / Actualités. 1999

**MARTIN-EAUCLAIRE M-F., LEGROS C., BARGIS P. et ROCHAT H. (1999).** Les toxines des venins de scorpion. Annales de l'institut Pasteur, 10 (2) : 207-222.

**MARTIN-EAUCLAIRE, M.-F., RMENTA, A. M., BOUGIS, P. E. & DE LIMA, M.-E. 2016.** Potassium channel blockers from the venom of the Brazilian scorpion *Tityus serrulatus*. *Toxicon*, 119, 253-265.

**MASSEY V, WILLIAMS C.H.** On the mechanism of yeast glutathione reductase. *J.Biol.Chem.*1965; 240: 4470-4480.

**MASTER RW, RAO S & SOMANPD.,(1963).** Electrophoretic separation of biologically active constituents of scorpion venom. *Biochem Biophys Acta*, , 7 1 , 422-43 0 .

**MATTHEW CE GWEE, SELVANAYAGAM NIRTHANAN, HOON-ENG KHOO, PONNAMPALAM GOPALAKRISHNAKONE, R MANJUNATHA KINI& LI-SAM CHEAH. (2002).** Autonomic effects of some scorpion venoms and toxins. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 29, 795-801.

**Meki, A. R. M. A, Mohamed, Z. M. M., Mohey El-Dean, H. M. (2003).** Significance of assessment of serum cardiac troponin I and intrleukin-8 envenomed children. *Toxicon* **41**:129-137.

**MEZZETTI A, PIERDOMENICO SD, COSTANTINI F, ROMANO F, DE CESARE D, CUCCURULLO F, et al.** Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med.* oct 1998;25(6):676-81.

**MIAO L, ST. CLAIR D K.** Regulation of superoxide dismutase genes : Implications in disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009, vol. 47, n° 4, p. 344-356.

**MIGDAL M.** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine science*, 2011, vol. 27, n°4, p. 405-412.

**MIKKELSEN R B, WARDMAN P.** Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation induced signal transduction mechanisms. *Oncogene*, 2003, vol. 22, n° 37, p. 5734-5754.

**MILLOT J. et VACHON M., 1949-** Traité Zoologie, Ordre des scorpions, Edit Muséum National d'Historique Naturelle, Paris, tome 6, p.p.386-436.

**MIRAKABADI, A.Z., JALALI, A., JAHROMI, A.E., VATANPUR, H., AKBARYA, A. (2006).** Biochemical changes and manifestations of envenomation produced by *Odonthobuthus doriae* venom in rabbit. . *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis* vol. 12 n° 1 Botucatu

**MIRINDA, F., H. ROCHAT, et S. LISSITZKY. 1964.** Sur les neurotoxines de deux espèces de scorpions nord africains. *Toxicon* 2. pp. 51-138

**MOHAMED AH, AHMED S, FUKEY MS, IBRAHIM MK .,(1980).**Gastric secretion and ulceration induced in the rat by an extract from scorpion (B quinquestratisTelsons). *Toxicon*. 18: 619-24.

**MOLAD, Y., HANIES, K.A., ANDERSON, D.C., BUYON, J.P., CRONSTEIN, B.N. (1994).** Immunocomplexes stimulate different signalling events to chemoattractants in the neutrophil and regulate L-selection and  $\alpha\alpha 2$  integrin expression differently. *Biochem. J.* **299**, 881-887.

**MONAGHAN, B.R., SCHMITT, F.O., 1932.** The effects of carotene and of vitamin A on the oxidation of linoleic acid. *J Biol Chem* 96, 387-395.

**MONTEIL C, MULDER P, THUILLEZ C.** Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique ? Inserm U644, 2004. Volume 2, numéro 2 : p. 79.

**MORAIS, J.F., DE FREITAS, M.C.W., YAMAGUCHI, I.K., DOS SANTOS, M.C., DIAS DA SILVA, W. (1994).** Snake antivenoms from hyperimmunized horses: comparison of the antivenom activity and biological properties of their whole IgG and F(ab')<sub>2</sub> fragments. *Toxicon* **32** (6): 725-734.

**MORGAN PE, DEAN RT, DAVIES MJ.** Inactivation of cellular enzymes by carbonyls and proteinbound glycation/glycooxidation products. *Arch Biochem Biophys* 2002; 403(2):259-69.

**MOUSLI, M., DEVAUX, C., ROCHAT, H., GOYFFON, AND BILLIALD P. (1999).** A recombinant singlechain antibody fragment that neutralizes toxin II from the venom of the scorpion *Androctonus AUBREY australis hector*. *FEBS Lett.* **442**: 183-188.

**MURTHY, R.K., HASE, N.K. (1994).** Scorpion envenoming and the role of insulin. *Toxicon* **32** (9), 1041-1044.

**NARAYANAN NIKHITHA, GARGE VAIBHAVI N, KADAM VILASRAO J.,(2016).** Scorpion venom: therapeutically potential drug candidate. *International Standard Serial Number.5*: 2319 8141.

**NATHAN C, DING A.** SnapShot : Reactive Oxygen Intermediates (ROI). *Cell*, 2010, vol. 140, n° 6, p. 952-954.

**NEZHA CHARRAB.,(2009).** Analyse de la situation épidémiologique des piqûres et des envenimations scorpioniques dans la province de Beni Mellal (2002-2007). Thèse présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat National. Option : Génétique et Biométrie. Faculté des Sciences de Kénitra. Université Ibn Tofail.

**NOUIRA S., ABROUG F., BOUJDARIA R., AYARI M., JAAFOURA M., HAGUIGA H., BEN FARHAT M. ET BOUCHOUCHA S. (1996).** Mécanisme de l'œdème pulmonaire et de la dysfonction cardiaque au cours de l'envenimation scorpionique grave. *Réanimation et urgence*, 5(1): 17-24.

**NOUIRA, S., ABROUG, F., HAGUIGA, H., JAAFOURA M., BOUJDARIA, R AND BOUCHOUCHA, S. (1995).** Right ventricular dysfunction following severe scorpion envenomation. *Chest* **108**: 682-687.

**NOUIRA, S., ELATROUS, S., BESBES, L., BOUKEF, R., DEVAUX, C., AUBREY, N., EL-AYEB, M. and ABROUG, F. (2005).** Neurohormonal activation in severe scorpion envenomation correlation with hemodynamics and circulating toxin. *Rea. Med. Toxicon.*: 1-17.

**ORTIZ E, GURROLA GB, SCHWARTZ EF, POSSANI LD.** Scorpion venom components as potential candidates for drug development. *Toxicon*.2014 Jan;93:125-35. PubMed PMID: 25432067. Epub 2014/11/29. eng.

**OUIDIDI A. (1995).** Les intoxications par piqûre de scorpion à Beni Mellal :étude prospective d'Avril 1995 à septembre 1995. Thèse de méd., Fac. Méd.et Pharm. de Rabat, n° 317, pp 92.

**OZKAN ,O et KARAER,Z ,(2004),.**Scorpions in Turkey *J. Turkish Hyg. Exp. Biol.*, 61,pp. 50-53

**PADILLA, A., GOVEZENSKY, T., POSSANI L., D., LARRALDE, C. (2003).** Experimental envenoming of mice with venom from the scorpion *Centruroides limpidus limpidus*: differences in mortality and symptoms with and without antibody therapy relating to differences in age, sex and strain of mouse. *Toxicon* **41**: 959-965.

**PEPIN-COVATTA, S, LUTSCH, C, GRANDGEORGE, M., LANG, J. AND SCHERRMANN, J.M. (1996).** Immunoreactivity and pharmacokinetics of horse anti-scorpion venom F(ab')<sub>2</sub>-scorpion venom interactions. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **146**: 272-277.

**PERETTI A.V. et CARRERA P., 2005-** Female control of mating sequences in the mountain scorpion *Zabius fuscus*: males do not use coercion as a response to unreceptive females. *Ethology*, 112, (2), 152-163.

**PETRICEVICH VL.** Scorpion venom and the inflammatory response. *Mediators Inflamm* 2010; 2010:903295. doi:10.1155/2010/903295.

**PETRICEVICH, L. V., TEXEIRA, C. F. P., TAMPORGI D. V., GUTIÉRREZ, J. M. (2000).** Increments in serum cytokine and nitric oxide levels in mice injected with *Bothrops asper* and *Bothrops jararaca* snake venoms. *Toxicon* **38**: 1253-1266.

**PINCEMAIL J, BONJEAN K, CAYEUX K, [ET AL.].** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique & Métabolisme*, 2002, vol. 16, n° 4, p. 233-239.

**PINKSTON K. et WRIGHT R., 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-** Ecology. In: Polis GA (Ed. 1996) The biology of scorpions. Stanford University Press, Stanford, California. 247-293.

**POLIS G.A., 1996** - Biology of scorpions. 233p.

**POLIS, G. A.1990.** The biologie of scorpions. Standford University press, Standford, california. 587p

**POSSANI L. D., E. MERINO, M. CORONA, F. BOLIVAR, AND B. BECERRIL. (2000).** Peptides and genes coding for scorpion toxins that affect ion-channels. *Biochimie*.82 (9-10): 86 68.

**POSSANI L-D., MARTIN B-M. et SVENDSEN J.,(1982).** The primary structure of noxiustoxin a K<sup>+</sup> channel blocking peptide, purified from the venom of the scorpion *Centruroids noxius hoffiman*. *Carlsberg Res*,285-289.

**POSSANI, L.D., BECERIL, B., TYTGAT, J., DELEPIERRE, M. (2001).** High affinity scorpion toxins for studying potassium and sodium channels. In: Lopatin, A., Nichols, C.G. (Eds), *Ion channel Localization Methods and Protocol, Humana Press Inc*, Totoja, NJ, 145-165.

**QUARTARA, L., MAGGI, C.A. (1998).** The tachykinin NK1 receptor. Part II : Distribution and pathophysiological roles. *Neuropeptides* **32**, 1-49.

**QUINTERO-HERNÁNDEZ V., ORTIZ A E., RENDON M-R., SCHWARTZ E-F., BECERRIL B. et CORZO G. (2011).** Scorpion and spider venom peptides: Gene cloning and peptide expression. *Toxicon*, 25 : 1-20.

**QUINTERO-HERNANDEZ, V., JIMENEZ-VARGAS, J., GURROLA, G., VALDIVIA, H. & POSSANI, L. 2013.** Scorpion venom components that affect ion-channels function. *Toxicon*, 76, 328-342.

**RACHAT H., (1964)-** Thèse de doctorat d état en pharmacie, Marseille.

**Rahav, G. and Weiss, A.T. (1990).** Scorpion sting induced pulmonary edema. *Chem*. **97**,1478-1480.

**REVELO, M.P., BAMBIRRA, E.A., FERRIERA, A.P., DINIZ, C.R., CHAVEZ-OLORTEGUI, R. (1996).** Body distribution of *Tityius serralitus* scorpion venom in mice and effects of scorpion antivenom *Toxicon* **34**: 1119-1125.

**RHEE SG, CHAE HZ, KIM K.** Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med*. 2005; 38: 1543-1552.

**RIVIÈRE, G., CHOUMET, V., AUDEBERT, V., SABORAUD, A., DEBRAY, M., SCHERRMANN, J.M., BON, C. (1997).** Effect of antivenom on venom pharmacokinetics in experimentally envenomed rabbits: toward an optimization of antivenom therapy. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 281: 1-8.

**ROCHAT H, BERNARD P, COURAUD F. (1979).** Scorpion toxins: chemistry and mode of action; in Ceccarelli B, Clemenli F (eds): *Advances in Cytopharmacology*. New York, Raven Press, vol 3, pp 325—334.

**RODRIGUEZ DE LA VEGA RC, SCHWARTZ EF, POSSANI LD. (2010).** Mining on scorpion venom biodiversity. *Toxicon.*; 56: 115 5—1161.

**ROGER F., 2005-** Developmental changes in the embryo, pronymph, and first molt of the scorpion *Centuroides vittatus* (Scorpiones: Buthidae). *Journal of Morphology*, 265 (1): 1-27.

**ROGERS, J. C., QU, Y., TANADA, T. N., SCHEUER, T. AND CATTERALL, W. A. (1996).** Molecular determinants of high affinity binding of a scorpion toxin and sea anemone toxin I S3-S4 extracellular loop in domain IV of the Na<sup>+</sup> channel a subunit. *J. Biol. Chem.* 271: 15950-15962.

**ROSSI, M.A., FERREIRA, A.L. AND PAIVA, S.M. (1974).** Fine structures of pulmonary changes induced by Brazilian scorpion venom. *Arch. Path.* 97: 284-288.

**ROUMEN, R.M.H., HENDRIKS, T., VANDER-VEN-JONGERKRIJG, J., (1993).** Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock and severe blunt trauma: relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Am. Surg.* 218:769-775.

**ROUSCHMEYER, L, (2015) :** Clé de détermination simplifiée des Scorpions De la région PACA, Version 2 .Laurent Rouschmeyer faune-paca.org / paca.lpo.fr

**ROWAN, E. G., VATANPOUR, H., FURMAN, B. L., HARVEY, A. L., TANIRA, M. O. M. and GOLPALAKRISHNAKONE, P. (1992).** The effects of indian red scorpion *Buthus tamulus* venom in vivo and in vitro. *Toxicon* 30: 1157-1164.

**ROWAN, E. G., VATANPOUR, H., FURMAN, B. L., HARVEY, A. L., TANIRA, M. O. M. and GOLPALAKRISHNAKONE, P. (1992).** The effects of indian red scorpion *Buthus tamulus* venom in vivo and in vitro. *Toxicon* 30: 1157-1164.

**RUSSELL, F.E., SULLIVAN, J.B., EGEN, N.B., JETER, W., MARKLAND, F.S., WILINGERT, W.A and BAROR, D. (1985).** Preparation of new antivenom by affinity chromatography. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34: 141-150.

**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 ,Algerie.

**SADINE S. E., 2005-** Contribution a l'étude bioécologique de quelques espèces du scorpion ; *Androctonus australis*, *Androctonus amoreuxi*, *Buthacus arenicola*, *Buthus tunetanus* et *Orthochirus innesi* dans la wilaya de Ouargla, Mémoire Ingénieur d'Etat en Biologie, Option Ecologie et environnement, Université de Ouargla. Algérie. pp100.

**SAIDI H.(2010).** Etude de processus inflammatoire induit par le venin d'*Androctonus amoreuxi* en absence et en présence de thérapie. Mémoire présenté pour d'obtention du diplôme en Magister en science de la nature. Spécialité : Biochimie-Immunologie. Université des sciences et de la Technologie Houari Boumediene.

**SANTOS, M. S., SILVA, C. G., NETO, B. S., JUNIOR, C. R. G., LOPES, V. H., JUNIOR, A. G. T., BEZERRA, D. A., LUNA, J. V., CORDEIRO, J. B. & JÚNIOR, J. G. 2016.** Clinical and Epidemiological Aspects of Scorpionism in the World: A Systematic Review. *Wilderness & Environmental Medicine*, 27, 504-518.

**Sies H.** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991, 91, 31-38.

**Silveira, N. P., Moraes-Santos, T., Azevedo, A. D. and Freire-Maia, L. (1991).** Effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom and one of its purified toxins (toxin gamma) on the isolated guinea-pig heart. *Comp. Biochem. Physiol. C.* **98**: 329-336

**Simic MG, Jovanovic SV.** Antioxidation mechanisms of uric acid. *J Am chem Soc.* 1989 ; 111: 5778-5782.

**Site 01 :** <https://arthropodus.com/2014/03/21/anatomie-d-un-scorpion/> .

**Site 02:** <https://www.flickrriver.com/photos/44150996@N06/tags/hadrurus/> .

**Site 03:** <https://www.flickrriver.com/photos/44150996@N06/sets/72157623386751699/> .

**Site 04:** <https://www.batraciens-reptiles.com/paros.htm>.

**Site 05:** [http://www.onem-france.org/scorpion/wakka.php?wiki=GaleriePhoto&show\\_comments=1](http://www.onem-france.org/scorpion/wakka.php?wiki=GaleriePhoto&show_comments=1).

**Site 06 :** <http://troupedudesert.canalblog.com/archives/2018/05/31/36448754.html> .

**Site 07 :** <https://www.alamy.com/collecting-scorpion-venom-for-production-of-anti-serum-institute-for-medical-research-rsa-image181693845.html> .

**Site 08:** <http://vipere-passion.over-blog.fr/2019/02/androctonus-australis-hector-scorpion-jaune-a-queue-large.html>.

**Site 09 :** <https://arthropodus.com/2014/03/21/anatomie-d-un-scorpion/> .

**Site 10 :** <http://scorpion-files.blogspot.com/search/label/Algeria> .

**Site 11 :** <https://www.reptilic.com/viewtopic.php?f=13&t=36136> .

Site 12 : <http://eldonia.fr/index.php?numlien=11>

Site 13 : <https://encrypted.tbn0.gstatic.com/images?q=tbn%3AANd9GcSOOma4tTi30VJgYNbkXhIGAsURTKIzAwVXHA&usqp=CAU>

**SJOSTROM, L., AL ABDULLA, I.H., RAWAT, S., SMITH, D.C. AND LANDON, J.A. (1994).** Comparison of ovine and equine antivenoms. *Toxicon* **32**: 247-433

**SOFER, S. AND GUERON, M. (1988).** Respiratory failure in children following envenomation by the scorpion *Leiurus quinquestriatus*: Hemodynamic and neurological aspects. *Toxicon* **26**: 931-939.

**SOFER, S., GUERON, M., WHITE, R. M., LIFSHITZ, M. AND APTE, R. N. (1996).** Interleukin-6 release following scorpion sting in children. *Toxicon* **34**: 389-392.

**SOFER, S., SHAHAK, E. AND GUERON, M. (1994).** Scorpion envenomation and antivenom therapy. *J.Pediatr.* **124**: 973-978.

**SOFER, S., SHAHAK, E., SLONIM, A., GUERON, M. (1991a).** Myocardial injury without heart failure following envenomation by the scorpion *Leiurus quinquestriatus* in children. *Toxicon* **29** (3): 382-385.

**SOFER, S., SHALEV H., WEIZMAN Z., SHAHAK, E. AND GUERON, M. (1991b).** Acute pancreatitis in children following envenomation by the yellow scorpion *Leiurus quinquestriatus*. *Toxicon* **29**: 125-128.

**SOULAYMANI-BENCHEIKH R., SEMLALI I., SKALLI S. et TEBAA A., 1999-** Épidémiologie des piqûres de scorpions au Maroc. *Espérance Médicale*, 6: 288-290.

**SRAIRI N, KHARRAT R, ELAYEB M., 2002.** Données biochimiques et pharmacologique des venins de scorpions. *Bull soctoxicol clin in fotox n°(15)*.

**STOCKMANN R. & YTHIER E., 2010-** Scorpion du monde. NAP Editions. 572p.

**T. VANDENDRIESSCHE, T. OLAMENDI-PORTUGAL, F.Z. ZAMUDIO, L.D. POSSANI, J. TYTGAT.** Isolation and characterization of two novel scorpion toxins: the  $\alpha$ -toxin-like CeII8, specific for Nav1.7 channels and the classical anti-mammalian CeII9, specific for Nav1.4 channels. *Toxicon* : Off. J. Int. Soc. Toxinol., 56 (2010), pp. 613-623.

**TARASIUCK, A., SOFER, S., HUBERFELO, S. (1994).** Hemodynamic effects following injection of venom from the scorpion *Leiurus quinquinstriatus*. *J. Crit. Care*, **94**: 134-140.

**TARASIUK, A., KHVATSKIN S., SOFER, S. (1998).** Effects of antivenom serotherapy on hemodynamic pathophysiology in dogs injected with *Leiurus quinquestriatus* scorpion venom. *Toxicon* **36**: 963-971.



**TEIXEIRA DE LEMOS E, PINTO R, OLIVEIRA J, GARRIDO P, SERENO J, MASCARENHAS-MELO F, et al.** Differential effects of acute (extenuating) and chronic (training) exercise on inflammation and oxidative stress status in an animal model of type 2 diabetes mellitus. *Mediators Inflamm* 2011; 2011:253061. doi: 10.1155/2011/253061.

**TEIXEIRA, A.L., FONTOURA, B.F., FREIRA-MAIA, L., MACHADO, C.R.S., CAMARGO, E.R.S., TEIXEIRA, M.M. (2001).** Evidence for a direct action of *Tityus serrulatus* on the cardiac muscle. *Toxicon* **39**: 703-709.

**TEIXEIRA, C.F.P., GALANTE, F., MANZOLI, S., STEIL, A.A, JANCAR, S. (1997).** Inflammatory reaction induced by *Tityus serrulatus* crude venom (TsV) in the of rats. *J. Venom Anim. Toxins* **3** (1), 111.

**TEROND P.** Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, DNA) par le stress oxydant. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 2006, vol. 64, n° 6, p. 383-389.

**THEAKSTON, R. D. G. (1983).** The application of immunoassay techniques including enzymelinked immunosorbent assay (ELISA), to snake venom research. *Toxicon* **21**: 341-352.

**THEAKSTON, R. D.G., WARRELL, D.A. (1991).** Antivenoms: Alist of hyperimmune sera currently available for the treatment of envenoming by bites and stings. *Toxicon* **29**, 1419-1470.

**THEAKSTON, R.D.G. (1996).** Snake bite: The kinetics of envenoming and therapy. Eds C. Bon and M.Goyffon.

**TIAHO,F.(2001).**Toxines de venin : des armes biologiques redoutables au service de la santé humaine, p : 947-951.

**TOUREILLES J. M. (2002).** Premiers secours : piqûres de scorpions. Sahariens, fiches conseil.

**VACHON M., 1952-** Etude sur les scorpions. Institut Pasteur d'Algérie. Alger.479p.

**VALKO M, RHODES C J, MONCOL J, [et al.].** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, vol. 160, n° 1, p. 1-40.

**VATANPOUR H. (2003).** Effects of black scorpion *Androctonus crasicuda* venom on striated muscle preparation in vitro. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2,17-22.

**VERTUANI S, ANGUSTI A, AND MANFREDINI S.** The Antioxidants and ProAntioxidants Network: An Overview. *Curr. Pharm.* 2004 ; 10: 1677-1694.

**WANG, J., & SLUNGAARD, A.,(2011).** Role of eosinophil peroxidase in host defense and disease pathology. *Archives of biochemistry and biophysics*, 445(2), 256-260.

**WARAOTO, I., TOMOE, S., TOMIOKO, H. AND YOSHIDA, S. (1993).** Leukotriene B4 mediates substance P-induced pronulocyte infiltration in mouse skin. *J. Immunol.* 151: 2116-2123.

**WEIJL N I, CLETON F J, OSANTO S.** Free radicals and antioxidants in chemotherapy induced toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, 1997, vol. 23, n° 4, p. 209-240.

**WILLIAMS S. C.** Scorpion bionomics. *Ann. Rev. Ent.* 1987, 32: 275 -295.

**YAROM IT, YALLON S, NOTOWITZ F, BRAUN K .,(1971).** Reversible myocardial damage by scorpion venom in perfused rat hearts. *Toxicon.* 12: 347-71.

**YARON, R., YALLON, S., NOTOWITZ, F. AND BRAUN, K. (1974).** Reversible myocardial damage by scorpion in perfused rat hearts. *Toxicon*, 12: 347-351.

**YILMAZ HL, BOŞNAK M.** [Management guidelines of scorpion sting and snake-bite in children]. *Turkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2007 ;3(50):104-11.

**ZEGHAL K, SAHNOUN M, GUINOT C, RICHER JF, GIUDICELLI,(2000).** Characterization and mechanisms of the cardiovascular and haemodynamic alterations induced by scorpion venom in rats *Fundam .Clin-Pharmacol.* 14: 351–361.

**ZENOUEKI, I., KHARRAT, R., SABATIER, J. M., DEVAUX, C., KAROIU, H., VAN RIETSCHOTEN, J., EL AYEB, M. and ROCHAT, H. (1997).** In vivo protection against *Androctonus australis hector* scorpion toxin and venom by immunization with synthetic analog toxin II. *Vaccine* 15: 187-194.

**ZLOTKIN E, MIRANDA F & ROCHAT H.,(1978).** Chemistry and pharmacology of Buthinae scorpion venoms. In: BET T IN I s (Ed.), *Arthropods venoms. Springer Verlag*, Berlin, pp.3 17-3 69.

**ZOCCAL KF, BITENCOURT CD, SORGI CA, DE CASTRO FIGUEIREDO BORDON K, SAMPAIO SV, ARANTES EC, FACCIOLI LH. (2013).** Ts6 and Ts2 from *Tityus serrulatus* venom induce inflammation by mechanisms dependent on lipid mediators and cytokine production. *Toxicon.*;61:1-10.



# *Annexes*

**Annexe**

**Annexe 1 : Équipement utilisé dans la préparation des réactifs de test des TBARS**



**Annexe 2 : Centrifugeuse.**



**Annexe 3 : Spectrophotomètre UV.**



**Annexe 4 : Réfrigérateur utilisé pour la conservation du venin, l'antivenin et le plasma humain normal.**



Annexe 5 : parafilm.



## Résumé

Dans ce travail, les pouvoirs pro-oxydants *in vitro* des venins scorpioniques de sept espèces du scorpion de la faune de Ouargla, en absence et en présence d'immunothérapie ont été étudiés. L'incubation de 5 µg/mL du venin provenant de chacune de ces espèces avec le plasma seul, les globules rouges seuls ou mélangé, à 37 C° pendant 24 h, en absence d'antivenin, a montré que tous les venins scorpioniques étudiés possèdent des pouvoirs pro-oxydants que ça soit sur le plasma seul, sur les globules rouges seuls ou sur le mélange du plasma et des globules rouges. La matrice biologique qui a été plus oxydée est les globules rouges chez la plupart des espèces. Cependant, cette oxydation a diminué en présence du plasma. L'antivenin peut neutraliser l'oxydation du plasma seul ou le mélange du plasma et des globules rouges chez toutes les espèces du scorpion, avec une augmentation de l'oxydation des globules rouge chez certain espèces du scorpion. Par ailleurs, l'interaction du venin avec l'antivenin peut renforcer le pouvoir neutralisant. Ces résultats suggèrent que les venins des espèces du scorpion, que nous avons étudiés, sont capables de stimuler le stress oxydant lors l'envenimation scorpionique alors que l'immunothérapie généralement peut le diminuer.

**Mot clés :** envenimation scorpionique, faune, immunothérapie, Ouargla, pouvoirs pro-oxydant, pouvoir neutralisant, stress oxydant.

## Abstract

In this work, the *in vitro* pro-oxidant capacity of the scorpion venoms of seven species of the Ouargla scorpion fauna in the absence and presence of immunotherapy were studied. Incubation of 5 µg/mL of the venom of each of these species with plasma only, red blood cells only, and plasma and red blood cells mixed together, at 37 C° for 24 h in the absence of antivenom, showed that all the scorpion venoms studied had pro-oxidant powers on plasma alone, red blood cells only and plasma and red blood cells mixed together. The biological matrix that was oxidized more is the red blood cells in most species, but this oxidation decreased in the presence of plasma. The antivenom can neutralize the oxidation of plasma only or plasma and red blood cells together in all scorpion species, but can increase the oxidation of red blood cells in some scorpion species. Furthermore, the interaction of the venom with the antivenom may enhance the free radical neutralization. These results suggest that the venoms of the scorpion species we studied, able to stimulate oxidative stress during scorpion envenomation and immunotherapy, in general, can decrease this stress.

**Keywords:** scorpion envenomation, Ouargla fauna, pro-oxidant powers of the venom, oxidative stress, immunotherapy neutralizing power.

## ملخص

في هذا العمل، تمت دراسة القوى المؤكسدة لسم العقرب لسبعة أنواع من العقارب لمنطقة ورقلة، في غياب وجود العلاج المناعي. احتضان 5 ميكروغرام / مل من سم كل نوع من هذه الأنواع من العقارب مع البلازما وحدها، خلايا الدم الحمراء وحدها، البلازما وخلايا الدم الحمراء معاً عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة في حالة عدم وجود مضاد السم، أظهر أن جميع سموم العقارب التي تمت دراستها تملك قوة مؤكسدة على البلازما وحدها، خلايا الدم الحمراء وحدها والبلازما وخلايا الدم الحمراء معاً. المادة البيولوجية التي تتأكسد أكثر هي خلايا الدم الحمراء في معظم الأنواع، لكن هذه الأكسدة تتناقص في وجود البلازما. يمكن لمضاد السموم أن يبطل أكسدة البلازما وحدها أو البلازما وخلايا الدم الحمراء معاً عند جميع أنواع العقارب ولكن يمكن أن يزيد من أكسدة خلايا الدم الحمراء عند بعضها. علاوة على ذلك، قد يؤدي تفاعل السم مع مضاد السم إلى تعزيز القدرة المضادة للاكسدة لمضاد السم. تشير هذه النتائج إلى أن سموم أنواع العقارب التي درسناها، قادرة على تحفيز الإجهاد التأكسدي خلال التسمم العقربي والعلاج المناعي بشكل عام يمكن أن يقلل من هذا الإجهاد.

الكلمات المفتاحية: تسمم العقرب، ثروة الحيوانية لورقلة، القوى المؤكسدة للسم، الإجهاد التأكسدي، قوة تثبيط العلاج المناعي.