

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Kasdi MERBAH Ouargla



Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur

Département De Biologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie
Option : Biochimie

THEME

*Analyses du venin des scorpions
Espèce Androctonus amoeruxi et comparaison avec
Androctonus australis Hector.*

Présentée par: CHAGRA Hanane
LATRECHE Saad

Devant le jury :

Présidente : M^{me}. OULD ELHADJ KHELIL A. (M.A.C.C.) – Univ. KASDI MERBAH –
Ouargla.

Promoteur: Mr. IDDER M.A. (M.A.C.C.) – Univ. KASDI MERBAH – Ouargla.

Examineur: Mr. SADINE S.E. (Ingénieur d'Etat.)-Univ. KASDI MERBAH-Ouargla.

Année Universitaire : 2007/2008

Dédicaces

A mon Dieu qui ma offert la santé et le courage d'achever ce mémoire de fin d'étude qui est dédié:

A mes parents pour leurs patiente et leurs conseils permanentes, et je leur formule toute ma reconnaissance et mon affection.

A mes frères surtout Ali.

A mes sœurs: Hayet, Leïla, Affaf, et Khouloud.

A mes très chères amis: Naïma, wahiba, Shahrazad, Salma, Asma, Mbarka.

A mon binôme: LATRECHE Saad.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, dans la contribué à la réalisation de ce mémoire

Hanane

Dédicaces

Grâce à mon Dieu, j'ai l'honneur de dédier ce petit travail à:

Mes parents qui m'ont encouragé de l'enfance jusqu'à maintenant et à leur patiente et leurs conseils.

Mes frères: Ridha et Mohammed Lamine.

Mes sœurs: Naïma, Zohra, El-Hadda, Ahlam, Hayet, Yasmîna, Houda, Nora et son mari et ses fils: Oussama, Imane, Mohamed.

A mes oncles et mes antes surtout Hocine, Abdelmalek, Belkheir et les autres.

A mon grand père.

A mes très chers amis: Laala, Messaoud, Naïma, Abdelmadjid, Younes.

A ma binôme Hanane qui m'a aidé à compléter cet mémoire et toutes sa familles.

A tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin notamment Salah Eddine.

Saad

Remerciements

Nous remercions vivement notre promoteur **Mr. IDDER M.A**, pour bien vouloir de diriger ce travaux, et pour ses conseils et ses remarques constructives.

A **M^{me} OULD EL HADJ A**, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptet de présider le jury.

Nous remercions également **Mr. SADINE S.E.**, pour ses efforts et ses conseils, sans oublier **M^{me}. IDDER**. Pour ses conseils aussi.

Nous exprimons notre profond remerciement et gratitude à **Pr. LARABA DJEBBARI F.** la doyenne de la faculté de biologie de l'USTHB. Et **Dr. HAMMOUDI TRIKI D.** le chef de département de biologie de l'USTHB. Qui nous ont aidés à réaliser ce travail.

On n'oublie pas **Amina, Fateh, Assia** et toute l'équipe du laboratoire de biochimie de l'USTHB.

Sans oublier l'association de lute contre l'envenimation scorpionique de la wilaya de Ouargla, notamment **Mr. DJOUHRI** pour leur aide et leur contribution à réaliser ce mémoire.

SAAD & HANANE

Liste des figures

| Titre | Page |
|--|------|
| Figure 01. Coupe transversale de l'ampoule venimeuse | 07 |
| Figure 02: Limites géographiques de la Wilaya de Ouargla | 25 |
| Figure 03: Evolution annuelle de l'envenimation scorpionique de 2000 à 2004 | 31 |
| Figure 04: Evolution annuelle de l'envenimation scorpionique de 2000 à 2004 | 32 |
| Figure 05: Evolution annuelle de taux de létalité de 2000 à 2004 | 33 |
| Figure 06: Evolution annuelle du nombre de piqûres de 2000 à 2006 | 33 |
| Figure 07: Evolution annuelle du nombre de décès de 2000 à 2006 | 34 |
| Figure 08: Evolution annuelle du taux de létalité de 2000 à 2006 | 35 |
| Figure 09: Evolution mensuelle du nombre de piqûre dans la wilaya de Ouargla pour l'an 2006 | 36 |
| Figure 10: Répartition des piqûres selon l'heure pour l'an 2006 | 38 |
| Figure 11: Répartition des piqûres selon le lieu pour l'an 2006 | 39 |
| Figure 12: Répartition des piqures selon le siège pour l'an 2006 | 39 |
| Figure 13: Nombre de piqures par tranche d'âge pour l'an 2006 | 40 |
| Figure 14: Nombre de décès par tranche d'âge pour l'an 2006 | 41 |
| Figure 15: Préparation de solution de venin | 50 |
| Figure 16: Schéma générale de test ELISA simple | 53 |
| Figure 17: Méthode de travail avec plaque ELISA | 53 |
| Figure 18: Le titre ELISA du sérum anti <i>A.a.h</i> à venin <i>A.am</i> | 55 |

Liste des photos

| Titre | Page |
|--|------|
| Photo 1. Le dernier segment portant la vésicule à venin et l'aiguillon de deux espèce Différents. | 06 |
| Photo 2: <i>Androctonus amoreuxi</i> avec ses pullus | 11 |
| Photo 3: Mâle et femelle <i>d'amoreuxi</i> face à face lors de l'accouplement | 12 |
| Photo 04. Un pullus (nouveau né) | 12 |
| Photo 05: Excitateur | 46 |
| Photo 06: Tube Eppendorf | 47 |
| Photo 07: Micropipette | 47 |
| Photo 08: Plaque ELISA | 48 |
| Photo 09: Vortex | 48 |
| Photo 10: La dernière étape du test ELISA | 54 |

Liste des tableaux

| Titre | Page |
|--|------|
| Tableau 01 : Caractères des scorpions <i>Androctonus amoreuxi</i> | 10 |
| Tableau 02 : Propriétés pharmacocinétique et biologiques des molécules d'IgG, et les fragments d'anticorps F(ab')₂ et Fab. | 19 |
| Tableau 03. Nombre de piqûres scorpionique de 2000 à 2004. | 31 |
| Tableau 04. Nombre de décès de 2000 à 2004. | 32 |
| Tableau 05. Le taux de létalité de 2000 à 2004. | 32 |
| Tableau 06: Nombre de piqûres du scorpion de 2000 à 2006. | 33 |
| Tableau 07. Nombre de décès de 2000 à 2006. | 34 |
| Tableau 08: Le taux de létalité de 2000 à 2006. | 34 |
| Tableau 09: Nombre de piqûres selon les mois pour l'an 2006. | 35 |
| Tableau 10 : Nombre des piqûres et décès selon les secteurs sanitaires pour l'an 2006. | 37 |
| Tableau 11:Nombre des Piqûres selon l'heure pour l'an 2006. | 38 |
| Tableau 12: Nombre de piqûres selon le lieu pour l'n 2006. | 38 |
| Tableau 13: Nombre de piqûres selon le siège pour l'an 2006. | 39 |
| Tableau 14: Nombre des piqûres selon la tranche d'âge pour l'an 2006. | 40 |
| Tableau 15: Nombre des décès selon la tranche d'âge pour l'an 2006. | 40 |
| Tableau 16: Absorbance de rayonnement selon l'inverse de la dilution | 54 |
| Tableau 17: La comparaison entre le titre d'ELISA de l'<i>A.am</i> et celui de l'<i>A.a.h.</i> | 55 |

Table de matières

| | |
|---|----|
| Introduction | 01 |
| Chapitre I: partie bibliographique. | 04 |
| 1. Généralités sur les scorpions | 05 |
| 1.1. Historique | 05 |
| 1.2. Morphologie | 05 |
| 1.2.1. Le corps | 05 |
| 1.2.1.1. Prosoma ou céphalothorax | 05 |
| 1.2.1.2. Mésosoma ou préabdomen | 05 |
| 1.2.1.3. Métasoma ou postabdomen | 06 |
| 1.2.1.3.1. Glande venimeuse | 06 |
| 1.2.2. Les appendices | 07 |
| 1.2.2.1. Les chélicères | 07 |
| 1.2.2.2. Les pattes mâchoires | 07 |
| 1.2.2.3. Les pattes ambulatoires | 08 |
| 1.2.2.4. L'opercule génitale et peignes | 08 |
| 1.3. La bioécologie des scorpions | 09 |
| 1.3.1. Les espèces existant dans la wilaya de Ouargla | 09 |
| 1.3.1.1. <i>Androctonus australis</i> | 09 |
| 1.3.1.2. <i>Androctonus amoreuxi</i> | 09 |
| 1.3.1.3. <i>Buthacus arenicola</i> | 09 |
| 1.3.1.4. <i>Orthocurus innesi</i> | 09 |
| 1.3.1.5. <i>Buthus occitanus tunetanus</i> | 09 |
| 1.3.2. Etude sur l'espèce <i>Androctonus amoreuxi</i> | 10 |
| 1.3.2.1. Morphologie | 10 |
| 1.3.2.2. Habitat | 10 |
| 1.3.2.3. Alimentation | 10 |
| 1.3.2.4. Reproduction et cycle de vie | 11 |
| 1.3.2.4.1. L'accouplement | 11 |
| 1.3.2.4.2. La mise bas | 12 |
| 2. Généralités sur les venins | 13 |
| 2.1. Introduction | 13 |
| 2.2. Propriétés du venin | 13 |
| 2.3. Collecte du venin | 13 |

| | |
|--|----|
| 2.4. composition du venin | |
| 2.4.1. Excitation électrique | 13 |
| 2.4.2. Excitation manuelle | 13 |
| 2.4.3. Extraction par broyage des telsons | 14 |
| 2.5. Composition de venin | 14 |
| 2.6. Les toxines et leurs fonctions | 14 |
| 2.6.1. Les toxines longues | 14 |
| 2.6.2. Les toxines courtes | 15 |
| 2.6.2.1. Les toxines actives sur les canaux Na ⁺ | 15 |
| 2.6.2.1.1. Les toxines actives sur les mammifères | 15 |
| 2.6.2.1.1.1. Les toxines de type α | 15 |
| 2.6.2.1.1.2. Les toxines de type β | 15 |
| 2.6.2.1.2. Les toxines actives sur les insectes | 16 |
| 2.6.2.1.2.1. Les toxines "contracturant" | 16 |
| 2.6.2.1.2.2. Les toxines "myorelaxantes" | 16 |
| 2.6.2.1.3. Les toxines à double spécificité | 16 |
| 2.6.2.2. Les toxines actives sur les canaux K ⁺ | 16 |
| 2.6.2.2.1. Les toxines très courtes | 17 |
| 2.6.2.2.2. Les toxines courtes | 17 |
| 2.6.2.2.2.1. Sous famille de la chryobdotoxines | 17 |
| 2.6.2.2.2.2. Sous famille de la nuxiuttoxines | 17 |
| 2.6.2.2.2.3. Sous famille de la kaliotoxines | 17 |
| 2.6.2.2.2.4. Sous famille de la Tsk α | 17 |
| 2.6.2.3. Les toxines actives sur les canaux Cl ⁻ | 18 |
| 2.6.2.4. Les toxines actives sur les canaux Ca ⁺⁺ | 18 |
| 3. Généralités sur l'antivenin | 18 |
| 3.1. Définition de l'antivenin | 18 |
| 3.2. Immunothérapie antivenimeuse | 19 |
| 3.2.1. L'antivenin | 19 |
| 3.2.2. Les conditions d'application | 20 |
| 3.3. Préparation de l'antivenin | 21 |
| 3.3.1. Préparation des échantillons sériques | 21 |
| 3.3.2. Préparation par sulfate d'ammonium | 21 |
| 3.3.3. Hydrolyse enzymatique | 22 |
| 3.3.3.1. Hydrolyse par la papaïne | 22 |
| 3.3.3.2. Hydrolyse par la pepsine | 22 |

| | | |
|---|--|-----------|
| Chapitre II: présentation de la région d'étude | | 24 |
| 1. | Situation géographique | 25 |
| 2. | Le climat | 26 |
| 2.1. | La température | 26 |
| 2.2. | Les précipitations | 26 |
| 2.3. | L'humidité relative | 26 |
| 2.4. | L'évaporation | 26 |
| 2.5. | L'insolation | 27 |
| 2.6. | Les vents | 27 |
| 3. | La géomorphologie | 27 |
| 4. | La géologie | 28 |
| 5. | Les sols et pédologie | 28 |
| Chapitre III: situation épidémiologique de l'envenimation scorpionique | | 30 |
| 1. | Introduction | 31 |
| 2. | Données sur la situation épidémiologique de l'envenimation scorpionique | 31 |
| 2.1. | Evolution annuelle des cas d'envenimation scorpionique | 31 |
| 2.2. | Evolution annuelle des cas des décès | 32 |
| 2.3. | Evolution annuelle de taux de létalité | 32 |
| 3. | Situation épidémiologique de l'envenimation scorpionique au niveau de wilaya de Ouargla | 33 |
| 3.1. | Evolution annuelle de nombre des piqûres | 33 |
| 3.2. | Evolution annuelle de nombre des décès | 34 |
| 3.3. | Evolution annuelle de taux de létalité | 34 |
| 3.4. | Evolution mensuelle de cas d'envenimation scorpionique dans la wilaya de Ouargla l'an 2006 | 35 |
| 3.4.1. | Répartition mensuelle | 35 |
| 3.4.2. | Répartition des piqûres et des décès selon les secteurs sanitaires pour l'an 2006 | 37 |
| 3.5. | Répartition des piqûres selon l'heure l'an 2006 | 38 |
| 3.6. | Répartition des piqûres selon le lieu l'an 2006 | 38 |
| 3.7. | Répartition des piqûres selon le siège l'an 2006 | 39 |
| 3.8. | Répartition des piqûres selon la tranche d'âge l'an 2006 | 40 |
| 3.9. | Répartition des décès selon la tranche d'âge pour l'an 2006 | 40 |
| 4. | Résultats | 41 |
| 5. | Discussion | 42 |
| Chapitre IV: partie pratique | | 43 |

| | |
|---|-----------|
| 1. Le ramassage | 44 |
| 1.1. Matériels de ramassage | 44 |
| 1.2. Méthode de ramassage | 44 |
| 1.2.1. Capture de nuit | 44 |
| 1.2.2. Capture de jour | 45 |
| 1.3. Résultats et discussions | 45 |
| 2. L'extraction de venin | 46 |
| 2.1. Matériels d'extraction | 46 |
| 2.2. Méthode d'extraction | 46 |
| 2.3. Résultats et discussions | 47 |
| 3. Analyse de venin | 47 |
| 3.1. Matériels et méthodes | 47 |
| 3.2. La détermination de la DO | 49 |
| 3.3. La détermination de titre AC par le test ELISA simple | 51 |
| 3.3.1. Définition | 51 |
| 3.3.2. Protocole de travail | 51 |
| 3.3.3. Résultats et discussion | 54 |
| 4. Comparaison entre le titre ELISA de l' <i>A.am</i> et <i>A.a.h</i> | 55 |
| 5. Conclusion | 56 |
| Conclusion générale | 57 |
| Références bibliographiques | 59 |
| Annexe | 64 |

Introduction

Les accidents provoqués par les piqûres des scorpions sont très nombreux et souvent mortel au maghreb. En Algérie en particulier l'envenimation scorpionique pose un sérieux problème de santé publique du fait de sa fréquence et de sa gravité (**LARABA DJEBARI, 1996**).

Selon les données épidémiologiques établies par le Ministère de la santé et de la population, chaque années l'Algérie enregistre plus de 50 000 cas de piqûres de scorpions plus de 150 cas de décès. Le nombres de personnes piquées est plus important durant le saisons chaude (Juin, Juillet, Août) (**DSP, 2006**).

La sévérité de l'envenimation scorpionique et la diffusion rapide du venin inoculé par le scorpion nécessitent un traitement spécifique en l'occurrence l'immunothérapie. Ce traitement doit être administré rapidement après une envenimation scorpionique. La plupart des chercheurs considèrent ce traitement comme étant le seul traitement spécifique après une piqûre de scorpion (**DE REZENDRE et al, 1995**).

Les scorpions *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) et *Androctonus australis Hector* (A.a.h) sont les deux espèces les plus dangereuses pour l'homme car leur venin contient plusieurs neurotoxines ayant un pouvoir létal élevé chez les mammifères (**LARABA DJEBARI**).

Parmi les espèces dangereuses aussi, il existe l'*Androctonus amoreuxi*. 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 3^{ème} anneau (**VACHON, 1952**).

Les venins de ces espèces sont des mélanges complexes d'activités diverses qui sortent d'un grand intérêt pour le physiologiste dans l'étude des relations structure fonction (enzyme substrat, canal ionique-toxine), mais se révèle une question difficile pour l'immunologiste qui veut développer des systèmes de protection aussi efficaces que possible. Le premier sérum antiscorpionique fut mis au point par (**E. Serpent 1938**), en Algérie avec de bons résultats. Cependant, il existe deux problèmes majeurs à l'obtention d'un sérum:

- La difficulté d'obtenir des titres neutralisants corrects car le venin brut est utilise dans les protocoles d'immunisation.

- La difficulté d'obtenir une polyspécificité à cause des degrés de protection croisée faibles
(LARABA DJEBARI, 1996).

Donc on a posé la question suivante:

Est ce que le sérum élaboré à partir le venin de *Androctonus australis Hector* est efficace au venin de l'*Androctonus amoreuxi*.

Notre travail constitue en une contribution dans ce domaine très varié et très complexe, afin de démontrer les caractéristiques immuno-enzymatique de venin de l'*Androctonus amoreuxi* de la région de Ouargla par le test ELISA simple, et la comparaison de Fab (Fragment Antigène Binding) et F (ab')₂ avec l'espèce l'*Androctonus australis Hector* de Ouargla.

chapitre I

Partie bibliographique

1. Généralité sur les scorpions:

1.1. Historique:

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

Ils sont des arthropodes terrestres les plus anciennement connus. Par rapport à l'équateur, leur apparition remonte à l'ère primaire au milieu du silurien (450 millions d'années) (VACHON, 1952).

Ils sont des arthropodes thermophiles qui ont franchi le cap de toutes les ères géologiques sans aucun changement de leur morphologie par leur adaptabilité et leur plasticité écologique, les scorpions résistent à tous les facteurs agressifs de l'environnement (SOULAYMANI, *et al*, 1998).

Dans le monde, plus de 800 espèces de scorpions sont décrites par les zoologistes mais seulement quelques une, sont toxiques pour l'homme. Environ 40000 décès sont enregistrés chaque année dans le monde (PIERRE, 2007).

1.2. Morphologie:

1.2.1. Le corps:

Le corps d'un scorpion se divise nettement en trois parties ou tagmes : le *Prosoma* ou céphalothorax, le *mésosoma* ou abdomen (préabdomen), le *métasoma* ou Postabdomen (queue). Les deux premiers tagmes forment un ensemble couramment désigné sous le nom de tronc, par opposition à la queue beaucoup plus étroite et terminée par la vésicule à venin. 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).

1.2.1.1. 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, à l'avant une paire de chélicérates, il porte également une paire de pédipalpe et ventralement quatre paires de pattes locomotrices, les sternites et la lèvre (VACHON, 1952).

1.2.1.2. Mésosoma ou préabdomen:

Le céphalothorax, dorsalement, n'est pas segmenté; il n'en est pas de même de l'abdomen qui compte sept plaques dorsales, les antérieurs, étroites, la postérieure rétréci vers

l'arrière en trapèze. Ces plaques, parfois lisses, ont souvent des crêtes granulées utilisées en systématique (VACHON, 1952).

Ventralement, on ne distingue que cinq plaques qui, visiblement, correspondent aux cinq plaques dorsales postérieures. Sauf la dernière, chaque plaque porte une partie de fentes stigmatiques, latérales, un peu obliques et souvent difficiles à voir.

En avant des cinq plaques ventrales, les deux autres segments sont reconnaissables grâce à leurs appendices ou dérivés d'appendices: *les peignes* et *les opercules génitaux* (VACHON, 1952).

1.2.1.3. Métasoma ou Postabdomen:

En générale, la queue d'un peu plus longue que le tronc. On compte toujours cinq segments ou anneaux pour tous les scorpions. Chaque segment est indéformable par suite de l'absence de chitine pleurale. La forme, l'épaisseur, 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).

1.2.1.3.1. Glandes venimeuses :



Photo 1. Le dernier segment portant la vésicule à venin et l'aiguillon de deux espèces différentes (Anonyme, 2004).

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

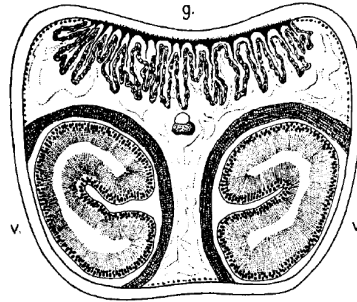


Figure 01. Coupe transversale de l'ampoule venimeuse
V : les deux glandes à venin. g: glande dorsale (VACHON
M., 1952).

Il comprend une paire de glandes ovoïdes, qui remplissent la majeure partie de la vésicule telsonienne (Figure 01). Leur face interne se prolonge par un fin canal évacuateur à travers l'aiguillon recourbé.

La couche glandulaire de soutien est enveloppée d'une assise musculaire dont les fortes contractions peuvent expulser violemment le venin à l'extérieur de l'aiguillon (VACHON, 1952).

1.2.2. Les appendices:

Ils sont au nombre de six paires pour le céphalothorax ; les chélicères, les pattes-mâchoires, les quatre paires de pattes ambulatoires. Nous considérons comme dérivant d'appendices abdominaux : les opercules génitaux et les peignes (VACHON, 1952).

1.2.2.1. Les chélicères:

Situées tout du corps, elles sont petites, très mobiles et rétractées sous le céphalothorax. Ces sont utilisées à la place des dents pour broyer les proies (SADINE, 2005).

1.2.2.2. Les pattes mâchoires:

Toujours très développées. Elles ont six articles, qui diffèrent selon les espèces. A titre d'exemple, chez *Heterometrus*, quelques soies rigides et recourbées ornent la face coxale en contact avec les pattes 1 et, par frottement, serviraient à la production de sons. En fin le trochanter, le pré fémur (avant bras), le fémur (bras) 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).

1.2.2.3. Les pattes ambulatoires:

Elles sont au nombre de huit ou plutôt 4 paires. Les hanches des pattes 2 sont très développées, et présentent un long processus dirigé vers l'avant formant la planche buccale qui sépare les hanches des pattes 1. Les hanches des pattes 3 et 4 sont obliques, nettement plus longues et étroites que celles des pattes antérieures. Les autres articles portent des poils ou soies, sauf le talon ou le tarse qui porte 2 griffes généralement courbées et fines, servant à l'escalade (raccrochement) dans les endroits inclinés (VACHON, 1952).

1.2.2.4. Opercule génital et peignes (système reproducteur):

L'opercule génital est toujours formé de deux plaques qui sont réunis sur presque toute leur longueur et constituent un volet qu'il faut soulever pour dégager l'entrée de l'utérus.

La forme de l'opercule varie selon les espèces et subit même des modifications d'ordre sexuel.

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

1.3. La bio écologie des scorpions:

1.3.1. Les espèces existant dans la wilaya d'Ouargla:

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

1.3.1.1. *Androctonus australis*:

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.

1.3.1.2. *Androctonus amoreuxi*:

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 3^{ème} anneau.

1.3.1.3. *Buthacus arenicola*:

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

1.3.1.4. *Orthochirus innesi*:

Est un scorpion de petite taille de 3.5 cm, et de teinte sombre allant du fauve rougeâtre au noir, pattes-mâchoires et pattes ambulatoire uniforme.

1.3.1.5. *Buthus occitanus tunetanus*:

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).

1.3.2. Etudes sur l'espèce *Androctonus amoreuxi*:

1.3.2.1. Morphologie:

En référant à la description de l'espèce *Androctonus amoreuxi* donnée par (VACHON, 1952), nous avons pu vérifier la correspondance des caractères parmi les plus importants. Les résultats sont résumés dans le tableau N°01.

Tableau 01: Caractères des scorpions *Androctonus amoreuxi*

| | Caractère décrit par VACHON | Présence chez la forme étudiée |
|---|--|--|
| 2 | Tergite tricaréné à partir du 2 ^{ème} anneau | Oui |
| 3 | Sternite 7 à 4 carènes granuleuses | Oui |
| 4 | Queue relativement étroite formée d'anneaux sensiblement de même largeur | Oui |
| 5 | Carènes des anneaux de la queue | |
| | 1er anneau | 10 carènes complètes |
| | 2eme anneau | 10 carènes, les carènes intermédiaires incomplètes |
| | 3eme anneau | 8 carènes |
| | 4eme anneau | 8 carènes |
| | 5eme anneau | 5 carènes |
| | | Oui: 2V+2LV+2I complètes+2 LD+2D |
| | | Oui |
| | | Oui 2V+2LV+2 LD+2D |
| | | oui |
| | | Oui 1 axiale+ 2LV+2D |
| 7 | Vésicule presque aussi large que le cadre anal | Oui |
| 9 | Pattes ambulatoires : éperon basitarsal externe à dents basale simple | Oui |

1.3.2.2. Habitat:

L'*Androctonus amoreuxi* est un espèce qui préfère le sol de couleur rouge (brune) c'est donc une espèce qui préfère le sol argileux (SADINE, 2005).

1.3.2.3. Prédateur:

Très carnassier* le scorpion mange sa proie vivante. Il se nourrit essentiellement de petits insectes (araignées, sauterelles, mouches, criquets, cigales). Après avoir immobilisé sa proie avec ses pédipalpes (voir définition plus loin), il la met en pièces avec ses chélicères et les aspire au moyen d'un pharynx** musclé. Un scorpion peut rester plusieurs mois sans manger.

*Carnassier : qui se nourrit de chair.

Pharynx: c'est le croisement des voies de la déglutition et de la respirât (BENLASFAR, 1998**).

1.3.2.4. Reproduction et cycle de vie:

Le scorpion est un animal à un dimorphisme sexuel. La femelle, généralement est plus grande que le mâle. La période d'accouplement se situe dans la saison froide, avant la période d'hibernation (**BAHIDA, 2001**).



Photo 2: *Androctonus amoreuxi* avec ses pullus (SADINE, 2005).

1.3.2.4.1. L'accouplement:

La femelle est plus robuste que le mâle pendant que le mâle a une plus longue queue que la femelle.

L'accouplement des scorpions est très complexe se fait plusieurs façons. Le scorpion mâle se place au début devant la femelle, ils relèvent tout 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**).



Photo 3: mâle et femelle face à face lors de l'accouplement

1.3.2.4.2. La mise bas:

Les petits scorpions appelés (pullus), sont au nombre de 10 à 140 en fonction des espèces, La durée de gestation est de 5 mois à deux années.

A la naissance, les jeunes guipent sur le dos de leur mère où s'ajournent jusqu' a la première mue, les scorpions vivent 2 à 8 ans (**VACHON, 1952**).



Photo 04. Un pullus (nouveau né) (ANONYME, 2004).

2. Généralités sur les venins:

2.1. Introduction:

Les venins de scorpions sont des mélanges de substances toxiques et non toxiques constitués de molécules pharmacologiquement actives (**KRIFI et al, 2001**).

2.2. Propriétés de venin :

Le venin de scorpion se présente sous forme d'un liquide blanchâtre, jaunit et devient opalescent et visqueux au cours du temps. Il 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**).

Le venin de scorpion résiste à la dessiccation sous vide et son pouvoir toxique se conserve pendant plusieurs années (**LUCIEN, 1955**).

2.3. Collecte du venin :

La collecte de venin se fait par trois méthodes :

2.3.1. Excitation électrique du scorpion :

La traite des scorpions par excitation électrique consiste à soumettre les scorpions 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 premières anneaux de sa queue à cette excitation provoque une contraction de la musculature de la glande à venin (**MIRANDA et ROCHAT, 1964**).

Excitation manuelle du scorpion :

La collecte du venin par stimulation manuelle (méthode dangereuse) se rapproche 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. 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**).

2.3.3. Extraction par broyage des telsons:

Après une congélation à -30° 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**).

2.4. Compositions du venin :

La composition des venins du scorpion est d'extrême complexité. Ont été décrits les mucop-olysaccharides, sérotonine, histamine et petites divers et nombreux. Rares sont les activités enzymatiques décelées (hyaloplasme, phospholipase).Les composés actifs majoritairement responsables de la toxicité du venin ont pour cibles biologiques les canaux Na^+ (**CHIPPAUX et al, 1990**).

2.5. Les toxines et leurs fonctions :

Les toxines du venin de scorpion sont des mini protéines basiques, de faible masse moléculaire et faiblement représentés dans les venins (4-5 %) (**COURAUD et al, 1984**).

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 les canaux à potassium (toxine courtes), celles qui agissent sur les canaux à calcium et celles qui agissent sur les canaux à chlore (**COURAUD et al, 1984**).

Ces études ont permis de classe aujourd'hui les toxines en deux grandes familles :

2.5.1. Toxines longues:

Ce sont des peptides de 60 à 70 résidus d'acides aminés stabilisés par quatre ponts désulfures. Ces toxines ont généralement une grande affinité pour les canaux Na^+ des cellules excitables. Bien qu'elles présentent de grandes homologues de séquences, ces peptides ont des cibles animales bien spécifiques (mammifères, insectes et crustacés) (**PASSANI et al, 1982**).

2.5.2. Toxines courtes:

A partir des années 1989, des toxines courtes, provoquant des effets complexes sur les canaux K^+ , ont été purifiées à partir de nombreux venins de scorpions (**COURAD et al., 1982**). Ces peptides constitués de 31 à 39 résidus sont réticulés par trois ponts désulfures. Les toxines actives sur les canaux K^+ sont minoritaires dans les venins des scorpions (**SRAIRI et al, 2002**).

D'autres petits peptides, réticulés par quatre ponts désulfures et identifiés tout d'abord comme des petites toxines actives sur les insectes ont montré une activité sur les canaux Cl^- de petite conductance des cellules épithéliales (**TEJECTOR et al, 1988**).

2.5.2.1. Toxine active sur les canaux Na^+ :

2.5.2.1.1. Les toxines actives sur les mammifères :

Suivant leur fixation spécifique sur les sites 3 et 4 du canal Na^+ , elles provoquent deux types de réponses pharmacologiques et ont été classées en toxines α et β (**TEJECTOR et al, 1988**).

2.5.2.1.1.1. Les toxines de type α :

En se fixant sur le site 3, elles induisent une prolongation caractéristique du potentiel d'action en agissant sur la phase d'inactivation du canal Na^+ . Cette fixation est dépendante du potentiel de la membrane par le biais d'un phénomène allostérique. Les toxines de type α sont les éléments responsables de la toxicité de venins de scorpion de "l'ancien monde". La plus active de ces toxines est la toxine *A.a.h II* du scorpion *Androctonus australis Hector* (**THOMEN et al, 1989 CASTILE et al, 1998**).

2.5.2.1.1.2. Les toxines de type β :

Cette deuxième classe de toxine, se lie au site 4 des canaux Na^+ de manière indépendante du potentiel de la membrane. L'activation des canaux se fait alors à des potentiels plus négatifs et il s'ensuit des trains de potentiels (**TEJECTOR et al, 1988**). Ces toxines ont été identifiées dans les venins des scorpions du "nouveau Monde". La toxine *Css II* du scorpion *Centruroides suffusus suffusus*, sert de référence pour cette classe de toxines longues (**ZLOTKIN E. al, 1972**).

2.5.2.1.2. Les toxines actives sur les insectes :

Trois types de toxines "anti-insectes" sont énumérés:

2.5.2.1.2.1. Les toxines "contracturant" :

Ces toxines sont responsables d'une paralysie rapide, associée à une contraction musculaire généralisée de l'animal (**DIANANS et al, 1987. ZLOTKIN et al, 1985**). Elles sont également désignées sous les termes de toxines de type "excitatrices", car elles induisent une dépolarisation du potentiel de la membrane, concomitante à une diminution de membrane, concomitant à une diminution de l'amplitude des potentiels d'action. (**CORDON et al, 1984**). La toxine AaHIT1. Purifiée du venin d'*Andractonus australis Hector* est considérée comme la toxine anti-insecte contracturant de référence, se fixe sur un seul type du site de manière indépendante du potentiel (**GORDON et al, 1992**), comme les toxines de type β . (**CORDON et a., 1984**).

2.5.2.1.2.2. Les toxines "myorelaxantes":

Elles provoquent une paralysie flasque de l'animal test. Les études électrophysiologies ont montré qu'elles induisent un blocage des potentiels d'action, suite à une forte dépolarisation membranaire, et une inhibition du courant Na^+ (**CORDON et al, 1984**). Parmi elle la toxine LqhIT 2 du venin de scorpion *leiurus quinquestriatus herbraeus* se fixe sur deux types de sites sur les préparations membranaires de synaptosomes de cordes nerveuses d'insecte : un site de faible affinité et un site de haute affinité (**DELIMA et al, 1986**).

2.5.2.1.3. Les toxines à double spécificité :

Certaines toxines présentent une double spécificité "anti-mammifère" et "anti-insecte", l'exemple types est la toxine Ts VII du venin de scorpion *Tityus serrulatur* qui montre à la fois une activité anti-mammifère de type et une activité anti-insecte (**DELIMA et a., 1986**).

Les toxines lqh α IT et lqqIII ont été décrites comme des toxines anti-insectes et anti-mammifère de type α (**EITAN et al, 1990. KOPEYAN et al, 1993**).

2.5.2.2. Les toxines actives sur les canaux potassium K^+ :

Elles sont présentes dans le venin en très faible quantité (< 1 % poids sec). (**LOURENT. al, 1993**). On les regrouper ces toxines en deux grandes familles essentiellement en fonction de leur homologie de structure primaire et de leur spécificité. Une première famille de peptides très courts (29 à 31 résidus d'acides aminés), bloque les canaux de type SK^+ (canaux K^+ activés par le calcium de petite conductance, dits apamine-sensible). La seconde famille se subdivise en plusieurs sous familles de peptides de 37 à 39 résidus,

généralement réticulées par trois ponts désulfure. Cependant trois d'entre elles sont encore plus fortement réticulées, passé dont quatre ponts (LOURENT *et al*, 1993).

2.5.2.2.1. Les toxines très courtes:

Ces toxines comptent de 29 à 35 résidus acides aminés. Elles possèdent une haute spécificité et une grande affinité pour les canaux potassium Ca^{++} dépendants à faible conductance (DREYER, 1990 et GARCIA *et al*, 1997). Les principales toxines de cette famille sont les neurotoxines I (LTX ou scyllatoxine) de *Leiurus quiquestraitus*, la toxines TSK du *Buthidé* sud américain *Tityus serrulatus* (SABATIER, 1994).

2.5.2.2.2. Les toxines courtes:

Elles comptent de 35 à 39 résidus d'acides aminés, de spécificité moins étroite que les précédentes, elles peuvent être divisées en quatre sous familles:

2.5.2.2.2.1. Sous famille de la charybdotoxine (CTX) :

Celle-ci reste encore la toxine de référence des toxines bloqueuses de canaux potassium (KILLER, 1995). Elle agit sur les canaux potassium Ca^{++} dépendants BK à large conductance et sur les canaux voltage dépendants de divers tissus (GARCIA *et al*, 1995).

2.5.2.2.2.2. Sous famille de la noxiustoxine (NTX):

Cette toxine agit sur les canaux voltage dépendants et calcium dépendants de nombreux tissus excitables et non excitables (GURRALA G. B. *al*, 1989). Ces toxines possèdent 39 résidus acides aminés, c'est deux de plus que les autres toxines courtes.

2.5.2.2.2.3. Sous famille des kaliotoxines (KTX) :

Les toxines de ce groupe, kaliotoxines et agitoxines, sont très homogènes. Elles présentent de 70 % de similarité dans leurs séquences. Sont spécifiques des canaux K^+ calcium dépendant (WERKMAN T. R. *al*, 1993).

2.5.2.2.2.4. Sous famille de la Tsk α :

Cette toxine extraite du venin de *Tityus serrulatus*. Elle bloque spécifiquement les canaux K^+ potentiel dépendants (NAWELLO J. C. *al*, 1999), en particulier un ensemble de toxines à quatre ponts désulfures: toxines de *Pandinus imperator* leurs séquences montrent une grande similarité avec les toxines à trois ponts égale au supérieure à 60 % (GRISHIN *et al*, 1982).

2.5.2.3. Les toxines actives sur les canaux Chlore Cl⁻:

Les premières molécules de ce type mises en évidence ont été purifiées du venin de *Buthus épeus* (**RASSO et al, 1985**). Se sont de courtes peptides de 135 résidus d'acides aminés très fortement réticulés par quatre ponts désulfure (**ARSENIV et al, 1984**). Cette molécule n'était pas retrouvée dans la sécrétion physiologique (venin manuel) (**ULLRICH et al, 1996**). 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 (**JULES B, 1998**).

2.5.2.4. Les toxines actives sur les canaux calcium:

Le peptide isolé (33 acides aminés, trois pont désulfure) présente une séquences 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**).

3. Généralité sur Anti-venin:

3.1. Définition de l'anti-venin:

Un siècle après les travaux de Calmette, ainsi que ceux de PHISALIX et BERTAND, les anti-venins se toujours préparés de plasma ou de sérum d'animaux, généralement le cheval, hyperimmunisé avec le venin correspondant (**RIVIERE et al, 2000**).

L'immunisation par voie sous-cutanée ou intraveineuse stimule la production d'anticorps sériques, l'ensemble de ces anticorps circulant dans le sang constitue « l'immuno-sérum » (**GRANDGEORGE et al, 1996**).

Cette dernière n'est pas utilisée à l'état brut, des améliorations successives lui ont été apportée pour obtenir une plus grande efficacité et une meilleure tolérance.

Une digestion d'une IgG (150 KDa) par la pepsine libère les fragments F(ab')₂; de masse moléculaire moyenne de 100 KDa et porteurs de deux sites de fixation de l'antigène.

Si un traitement par la papaïne libère un fragment Fc et deux fragments Fab de masse moléculaire moyenne de 50KDa et porteur s'une seule valence de fixation de l'antigène.

Ces caractéristiques confèrent aux fragments Fab des propriétés biologique différentes, par rapport à l'anticorps d'origine IgG ou aux fragments F(ab')₂. Une comparaison de ces

trois molécules d'anticorps, montre les caractéristiques particulières pour chacun d'elles (**GRANDGEORGE et al, 1996**).

3.2. Immunothérapie antivenimeuse :

Du point de vue thérapeutique, l'immunothérapie reste un traitement spécifique indispensable pour neutraliser directement l'action des toxines du venin. Son efficacité dépend en grand partie de l'anti venin (la pharmacocinétique des fragments d'anticorps constituant l'antivenin), mais également des conditions de son application (délai d'administration de l'antivenin sa dose injectée et sa voie d'injection) (**BERNARD, 2001**).

3.2.1. L'anti-venin:

L'anti-venin doit atteindre les différents tissus cibles des toxines du venin, il doit complexer la toxine en provoquant une redistribution de celle-ci depuis les tissus vers le compartiment vasculaire. Le complexe ainsi constitué doit rapidement être éliminé par le système réticulo-endoplasmique ou rénal (**VAZQUEZ et al, 2005**).

Les paramètres pharmacocinétique des anticorps de sérums antivenimeux ont été étudiés chez l'animal. Après administration intraveineuse, les IgG restent localisées dans les vaisseaux et ne sont pas distribuées dans les tissus alors que les fragments $F(ab')_2$ et les fab se distribuent dans l'espace extravasculaire. Le volume de distribution des IgG est égal à celui du compartiment vasculaire tandis que $F(ab')_2$ et Fab ont un volume de distribution 1,5 à 3 fois plus élevé que le volume plasmatique (**HAMMOUDI-TRIKI, 2004**).

Tableau 02 : Propriétés pharmacocinétique et biologiques des molécules d'IgG, et les fragments d'anticorps $F(ab')_2$ et Fab (AUBRY, 2006).

| Anti-corps proprieties | IgG | $F(ab')_2$ | Fab |
|------------------------------------|---------|------------|-------|
| Poids moléculaire | 150 KDa | 100 KDa | 50KDa |
| Affinité aux tissus | +++ | ++ | + |
| Temps distribution don l'organisme | >6h | 3h | 1h |
| Temps delimitations (demi-vie) | >100h | 60h | 10h |
| Effete undesirable | >30% | <5% | >5% |

Les IgG et les fragments F(ab')₂ de masse moléculaire plus élevée, de 150KDa et 100KDa respectivement, sont éliminés par les cellules du système immunitaire. Alors que Les fragments Fab de poids moléculaire plus faible 50KDa inférieur au seuil de filtration glomérulaire permet leur excrétion par la voie rénale et donc une élimination plus rapide que les fragments F(ab')₂ (**RIVIERE et al, 2000**).

Les anticorps IgG, F(ab')₂ et Fab sont équivalents concernant leur efficacité à neutraliser les antigènes spécifiques (**VAZQUEZ et a., 2005**). Cependant certains auteurs préconisent l'utilisation de fragment Fab (monovalents) à la place des fragments F(ab')₂ (bivalents).or les Fab incapables de former des complexes immuns de haut poids moléculaire pouvant être responsable de maladies sériques (**RIVIERE et al., 2000**). En parallèle (**SEIFERT et BOYER, 2001**). Suggèrent que la fréquence élevée des remontées de la toxicité après un traitement par fragment Fab se devait à un dépôt important de venin non neutralisé dans les tissus qui continue d'être absorbé pendant une période dépassant le temps d'élimination des fragments Fab. Néanmoins, l'étude de (**VAZQUE et al., 2005**) explique pourquoi les anti-venins F(ab')₂ restent la meilleure option de traitement en raison de leur extravasation rapide, de leur vaste distribution au sein de l'espace extracellulaire et leur temps moyen de résidence prolongée. Leur étude indique également que la capacité prolongée de neutralisation d'un anticorps est plus importante que l'élimination par voie rénale du complexe Ag-Ac.

3.2.2. Les conditions d'application :

L'administration de l'antivenin antiscorpionique doit être effectuée dans des délais rapides chez les patients piqués par les espèces potentiellement mortelles. En effet l'anti-venin n'est efficace que s'il est utilisé avant que les signes généraux sévères (grad3) n'apparaissent (**BERNARD J., 2001**).

Il est apparu clairement que l'antivenin est moins efficace lorsqu'il est utilisé par voie intramusculaire que lorsqu'il est injecté par voie intraveineuse. Cela est aisément explicable. Injectés par voie intramusculaire les fragments d'anticorps sont lentement absorbés vers le compartiment central et 50% d'entre eux seulement atteignent ce compartiment, tandis qu'après une injection intraveineuse leur biodisponibilité est de 100% et leur concentration plasmatique est immédiatement maximale (**RIVIERE et al, 2000**)

La réapparition des effets du venin après un traitement aux fragments F(ab')₂ reste une possibilité quand la dose d'antivenin administré est insuffisante, (SEVICIK et AL 2004- in VAZQUEZ et al., 2005). Dans ces conditions, l'antivenin libre dans le plasma est éliminé et le venin non neutralisé continue à pénétrer la circulation. Néanmoins, la réapparition des symptômes de l'envenimation ne semble pas se produire quand les fragments F(ab')₂ sont administrés en quantité suffisante (VAZQUEZ et al., 2005).

3.3. Préparation de l'antivenin :

3.3.1. Préparation des échantillons sérique :

Le sang prélevé à partir d'un cheval hyperimmunisé est mis à décanter, l'immunosérum séparé du coagulum subit une centrifugation à 3000tr/min pendant 15 min est puis dilué avec un volume égale d'eau physiologique (0,9% de NaCl).

3.3.2. Préparation par le sulfate d'ammonium :

La préparation par le sulfate d'ammonium est l'une des méthodes les plus courantes pour isoler les protéines d'une solution. Des liaisons hydrogènes se forment entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines en solution. De petits ions fortement chargés comme les ions ammonium ou sulfate entrent, si leur concentration est suffisamment élevée, en compétition avec les protéines pour la liaison avec les molécules d'eau. Ils dissocient alors les molécules d'eau des protéines, ce qui diminue la solubilité de ces dernières et provoquent leur précipitation (HARLOW et al, 1991).

Le volume du sulfate d'ammonium saturé à 40%, permettant la précipitation des IgG est calculé selon l'équation suivant $X/(X+2V)$ (tel que X: volume du sulfate d'ammonium à 40% ; V : volume de l'immun-sérum à la dilution 1/2) et est ajout au mélange goutte à goutte sous une agitation douce à 4°C.

Après une nuit d'incubation à 4°C, le mélange est centrifugé pendant 15 min à 3000tr/min. Le culot est récupéré dans un volume minimal de sulfate d'ammonium à 33% puis centrifuge à 3000 trs/min pendant 15 min (HARLOW et al, 1991).

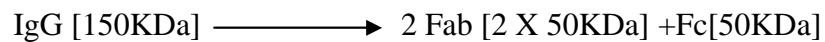
Le précipité est repris avec de l'eau physiologique puis dialysé contre l'eau distillé à 4°C sous agitation douce avec renouvellement continu d'eau distillée pendant 48 heures afin d'accélérer la disparition des sels et ions à travers les pores de la membrane de dialyse (diamètre des pores est compris entre 12 et 14000 KDa (HARLOW et al, 1991).

3.3.3. Hydrolyse enzymatique :

Etant de nature protéique, les IgG peuvent faire l'objet d'un clivage sous l'action des enzymes protéolytiques (**RIVIERE et al., 2000**), ce qui permet d'éliminer la partie responsable de nombreuses réactions adverses (**GENETET, 2002**).

3.3.3.1. Hydrolyse par la papaïne:

La papaïne est une protéase, d'origine végétale, clive les anticorps en trois fragments. Deux fragments identiques gardent l'activité de liaison à l'antigène, on les appelle fragment Fab (« Fragment Antigène Binding »), L'autre fragment incapable de se lier à l'antigène appelé fragment Fc (« Fragment cristallisable ») parce qu'il se cristallise au froid (**GENETET, 2002**).



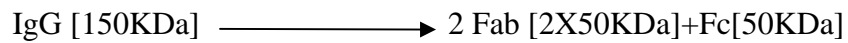
L'immuno-sérum précipité et dialysé est dilué dans du tampon phosphate (0,1M, pH7.4).

Pour obtenir une concentration de 20 mg/ml, puis les solutions suivantes sont ajoutées : EDTA (0,1M) à raison de 1/10 Vf, papaïne à raison de 1mg par 100 mg d'anticorps. Ensuite l'hydrolyse enzymatique dure toute une nuit sous agitation à 37°C.

L'arrêt de la réaction est réalisé en ajoutant une solution d'iodoacetamide (0,4M) à raison de 1/10 Vf. L'immun sérum soumis à la papaïne est dialysé contre le tampon PBS (1M, pH7.4).

3.3.3.2. Hydrolyse par la pepsine:

La pepsine est une protéase, d'origine animale, clive les IgG du côté carboxyterminal des ponts désulfures et ne donne qu'un seul gros fragment appelé F(ab')₂ tandis que le reste de la molécule est dégradé en plus petits fragments peptidiques (**GENETET, 2002**).



Le PH de l'immun-sérum précipité et dialysé est ajusté à 4,5 avec l'acide acétique (1Normal) puis une solution de pepsine (2mg/ml d'acétate de sodium ; 0,1 M) est ajoutée à raison de 2mg de pepsine pour 100 mg d'anticorps, le mélange est incubé pendant une nuit à 37⁰C.

L'arrêt de la réaction s'effectue en ajustant le PH à 8 avec la soude (1N), l'immun-sérum soumis à la pepsine est dialysé contre l'acétate de sodium (0,1) M pendant 48 heures (GENETET, 2002).

Chapitre II

Présentation de la zone d'étude

1. Situation géographique:

Ouargla l'une des oasis du Sahara algérien. Elle est située au sud Est du pays, au fond d'une

La wilaya de Ouargla, couvre une superficie de 163233 Km² et demeure une des collectivités administratives les plus étendues du pays. Elle est limitée :

- Au Nord par les wilayas de Djelfa et El Oued.
- A l'Est par la Tunisie.
- Au Sud par les wilayas d'Ilizi et de Tamanrasset.
- A l'Ouest par la wilaya de Ghardaïa.

Selon (ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975), ses coordonnées géographiques sont :

- Latitude : 31° 15' Nord.
- Longitude : 5° 20' Est.

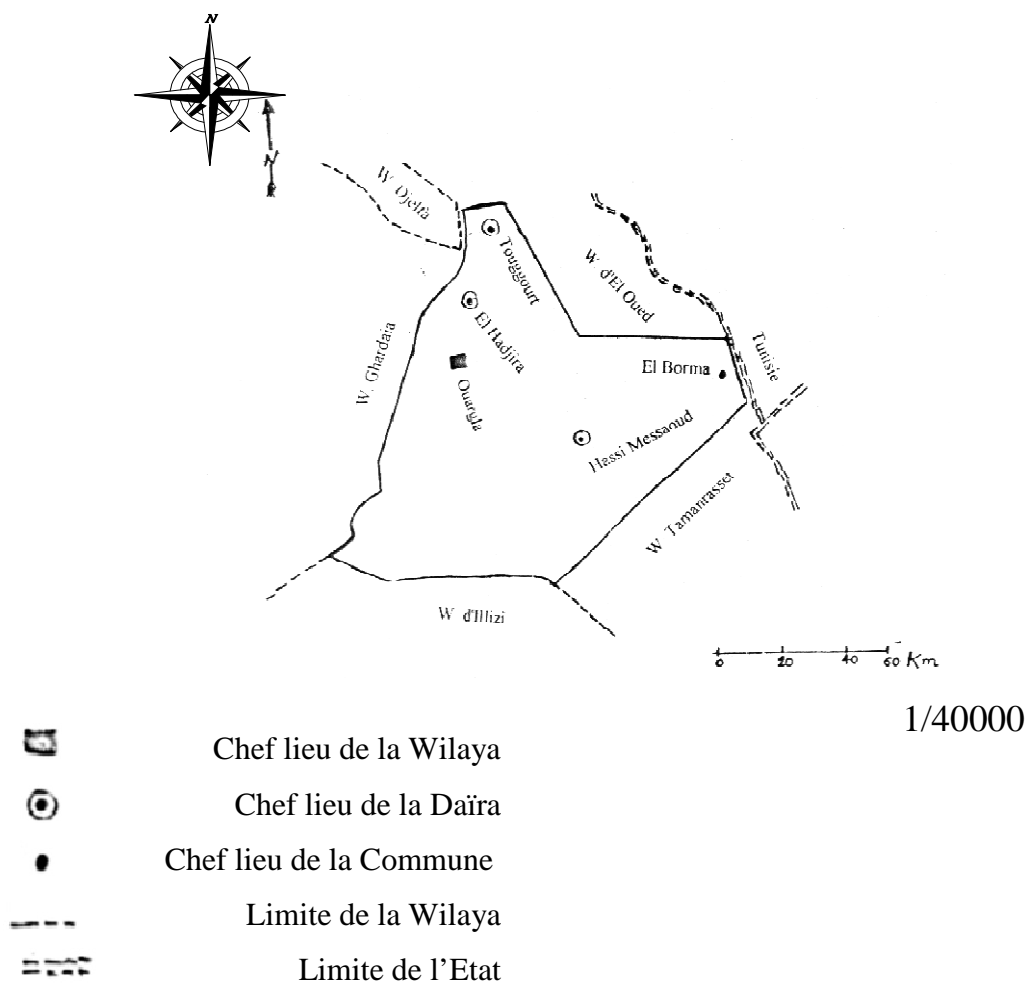


Figure 02: Limites géographiques de la Wilaya de Ouargla (Wilaya de Ouargla, 1985)

2. le climat:

La connaissance des caractéristiques climatiques est un impératif pour permettre une évaluation des conditions climatiques qui agissent sur le comportement et la répartition des espèces scorpioniques (**SADINE ,2005**).

Le climat de Ouargla est particulièrement contrasté malgré la latitude relativement septentrionale (**ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975**). La présente caractérisation est faite à partir d'une synthèse climatique de 20 ans entre 1982 et 2002 (**O.N.M., 2003**).

2.1. La température:

La température est un paramètre climatique important. Elle agit sur la rapidité des processus biologique.

La température moyenne mensuelle enregistrée au mois le plus chaud (Juillet) est de 32.40°C, alors que celle du mois le plus froid (Janvier) est de 10.68°C, la température moyenne annuelle est de 21.11°C.

D'après (**D.P.A.T, 1995**), les maxima enregistrés dépassent souvent 45°C et les minima descendent par fois en dessous de 0°C (**ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975**).

2.2. Les précipitations:

La pluviométrie est très réduite et irrégulière à travers les saisons et les années.

Sa répartition est marquée par une sécheresse presque absolue du mois de mai jusqu'au mois d'août, par un maximum en novembre avec 9,96 mm. Les précipitations moyennes sont de l'ordre de 38,85 mm, ce qui implique un biotope favorable pour la vie des scorpions désertiques (**SADINE, 2005**).

2.3. L'humidité relative:

L'humidité relative de l'air est très faible, l'air n'atteint jamais la saturation, le maximum est atteint en janvier avec 64,37%. Juin étant le mois plus sec avec seulement 28% la moyenne annuelle est de 44,04% (**ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975**).

2.4. L'évaporation:

La région de Ouargla se caractérise par une évaporation très élevée, surtout lorsqu'elle est renforcée par les vents chauds. L'évaporation est maximale au mois d'Août (383,43 mm) et minimale en janvier (87 mm). La moyenne annuelle est de 227,57 mm (**ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975**).

2.5. L'insolation:

L'ensoleillement est considérable à Ouargla, l'atmosphère est d'une grande pureté durant toute l'année. (TOUTAIN, 1979) avec 138 jours en moyenne de l'année où le ciel est totalement clair. (ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975) la durée moyenne de l'insolation est de 255.35 heures, avec un maximum de 322.72 heures en Juin et un minimum de 182.54 heures en décembre. Le cumul annuel moyen d'insolation est de 3064 heures/an. (ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975)

2.6. Les vents:

Les vents sont fréquents, surtout aux mois de mars et de mai. Surtout les vents de sable constituant le meilleur véhicule pour les scorpions lors de leur déplacement. (B.N.E.D.E.R., 1992)

Dans la région de Ouargla les vents soufflent du Nord-Est et du Sud. Les vents les plus fréquents en hiver sont les vents d'Ouest, tandis qu'au printemps les vents du Nord-Est et d'Ouest dominent. En été ils soufflent du Nord-Est et en automne du Nord-Est et Sud-Ouest. (DUBIEF, 1963)

Les vents sont fréquents sur toute l'année avec une vitesse moyenne annuelle de 3,93 m/s et une vitesse maximale de 5,10 m/s. (O.N.M., 2003)

3. La géomorphologie :

Selon (ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975), la région de Ouargla se trouve en caïsses au fond d'une cuvette très large de la basse vallée de l'oued M'ya.

La région de Ouargla est marquée le plan géomorphologique par :

- A l'ouest, un plateau calcaire qui surplombe la cuvette (à environ 150 m d'altitude) en confluence de l'ouest M'Zab et de l'Oued N'sa et au-delà tout le long de l'Oued Righ.

- A l'est, la limite est moins nette, le plateau très démantelé. Il ne dépasse pas 160 m d'altitude et son rebord disparaît souvent sous les sables : Erg Touil, Erg Boukhezana et Erg Ari Fidji.

- Au sud, un massif dunaire recouvre les ruines de Sedrata. Son altitude dépasse 150 m, dominant de 20 m le point le plus bas de vallée qui, à cette altitude, se trouve au pied du plateau occidental.

En fin, tout le long de la vallée de Sebkhah et massifs dunaires alternant avec les fonds sur lesquels se sont installées les cultures irriguées et bourgs.

La pente générale de la vallée est légèrement inférieure à 1‰, mais elle n'est pas constante. Nous pouvons isoler trois tronçons :

- du pied du Djebel Abbad à la rive de la Sebkhah de Ouargla, la pente est de 2‰.
- du nord de la sebkhah jusqu'à la palmeraie de N'goussa, une pente de 1.8‰.
- après le seuil de N'goussa, la topographie devient pratiquement plane jusqu'aux rives de la sebkhah Safioune où la pente est réduite à 0.6‰ (**ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975**).

4. La géologie:

Ouargla est située dans une région très peu accidentée, stable tectoniquement, on distingue trois régions :

- le grand Erg occidental, vaste dépôt de sable éolien à l'Est et au Sud.
- les vallées au centre où prédominent les dépôts d'alluvions.
- le plateau du M'Zab à l'Ouest (**DUTIL, 1971**).

5. Les sols et Pédologie:

Au Sahara, la couverture pédologique présente une grande hétérogénéité et se compose des classes suivantes : sols minéraux bruts, sols peu évolués, sols halomorphes et sols hydromorphes (**DUTIL, 1971**). La fraction minérale est constituée dans sa quasi-totalité de sable. La fraction organique est très faible (inférieure à 1 %) et ne permet pas une bonne agrégation. Ses sols squelettiques sont très peu fertiles car leur rétention en eau est très faible, environ 8 % en volume d'eau disponible (**DAOUD, HALITIM, 1994**).

La région de Ouargla est caractérisée par des sols légers à prédominance sableuse et à structure particulière. Ils sont caractérisés par un faible taux de matière organique, un pH alcalin, une activité biologique faible, une forte salinité et une bonne aération.

La typologie des sols de la région est comme suit: (**HALILAT, 1993**).

- Sols salsodiques.
- Sols hydromorphes.
- Sols minéraux bruts.

D'après les cartes géologiques de l'Algérie, il est constaté que la région de Ouargla est constituée géologiquement par des formations sédimentaires qui occupent les dépressions de la région :

-Dunes récentes: ce sont des dépôts sableux qui ont été déposés dans la vallée de Ouargla, où on les rencontre uniquement au Nord-Est près du lit de Oued M'aya (**ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975**).

Chapitre III

Situation épidémiologique

De l'Envenimation scorpionique

1. Introduction :

L'envenimation scorpionique est le résultat de la piqûre d'une personne par un scorpion. C'est un accident qui peut survenir suite à la rencontre fortuite du scorpion avec un être humain.

Chaque année près de 50 000 piqûres par scorpion et pas moins de 100 décès sont notifiés au ministère de la santé, de la population et de la réoforme hospitalière, ces cas de piqûres et de décès sont enregistrés à travers le territoire national dans le sud, les hauts plateaux et même certaines willayas du nord.

Notre étude épidémiologique de l'envenimation scorpionique au niveau de la wilaya d'Ouargla démontre qu'elle est la plus ancienne pathologie connue, de part sa morbidité et sa mortalité, elle représente le plus important problème de santé publique au niveau de l'ensemble des communes de la wilaya en période estivale.

2. Données sur la situation épidémiologique de l'envenimation scorpionique

2.1. Evolution annuelle des cas d'envenimation scorpionique

Les nombres des cas de piqûre par scorpion à l'échelle nationale entre les années 2000 à 2004 représenté dans le tableau 03.

Tableau 03. Nombre de piqûre scorpionique de 2000 à 2004 (DSP)

| Année | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Nombre des piqûres | 47461 | 48818 | 44124 | 47363 | 44653 |

(DSP), 2006

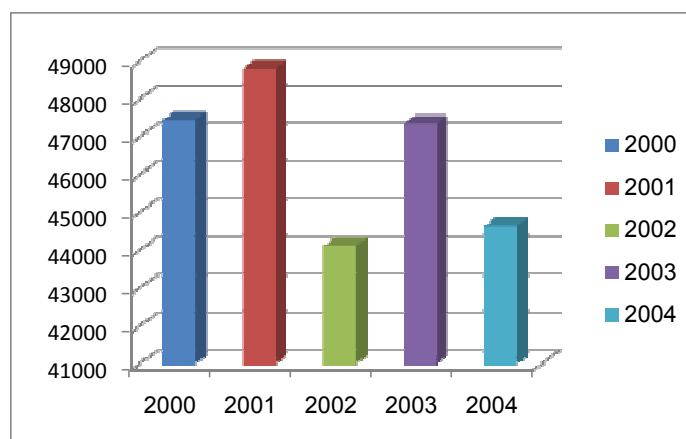


Figure 03: Evolution annuelle de l'envenimation scorpionique de 2000 à 2004

D'une façon globale c'est lors de l'année 2001, on remarque un pic important où le nombre de piqûres a été enregistré avec 48818 cas de piqûre, puis ce nombre diminue et devient 44653 cas de piqûres en 2004.

2.2. Evolution annuelle des cas de décès

Tableau 04. Nombre de décès de 2000 à 2004 (DSP)

| Année | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 |
|------------------|------|------|------|------|------|
| Nombre des décès | 107 | 119 | 81 | 66 | 69 |

(DSP, 2006)

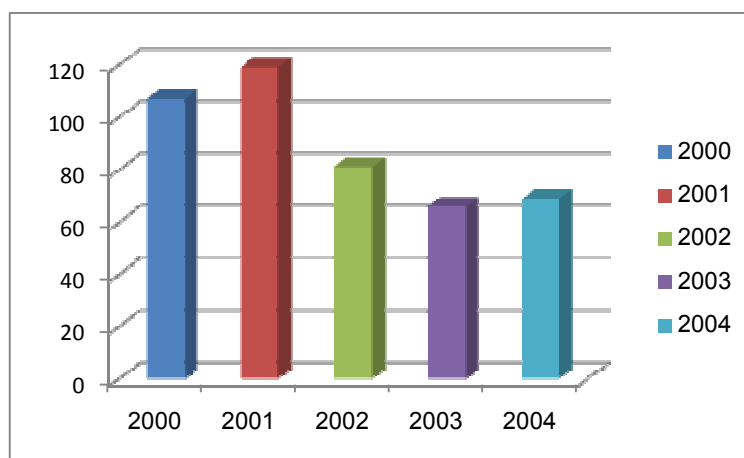


Figure 04: Evolution annuelle de l'envenimation scorpionique de 2000 à 2004

C'est lors de l'année 2001 que le plus grand nombre de décès a été enregistré, avec 119 cas de décès à l'échelle nationale.

2.3. Evolution annuelle de taux de létalité

Tableau 05. Le taux de létalité de 2000 à 2004 (DSP)

| Année | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 |
|------------------|------|------|------|------|------|
| Taux de létalité | 0.22 | 0.24 | 0.18 | 0.14 | 0.15 |

(DSP, 2006)

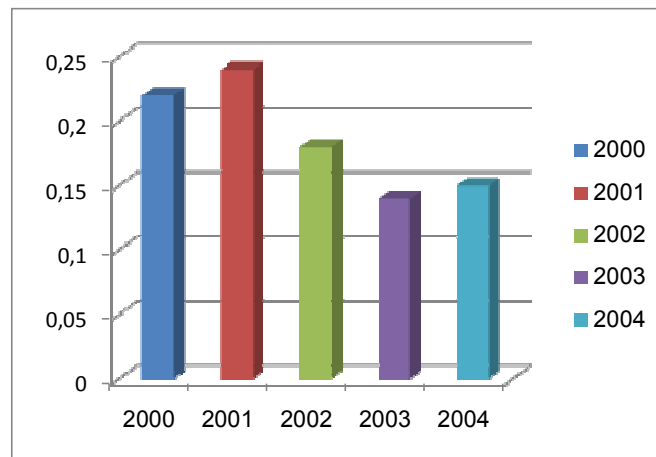


Figure 05: Evolution annuelle de taux de létalité de 2000 à 2004

Un fort taux de létalité a été noté durant les années 2000 et 2001. A partir de 2002 on remarque que ce taux régresse.

3. Situation épidémiologique de l'envenimation scorpionique au niveau de la wilaya d'Ouargla :

3.1. Evolution annuelle de nombre de piqures

Tableau 06: Nombre de piqûres de scorpion de 2000 à 2006

| Année | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 |
|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Nombre de piqûres | 5026 | 5356 | 4854 | 5243 | 4347 | 4721 | 4381 |

(DSP, 2006)

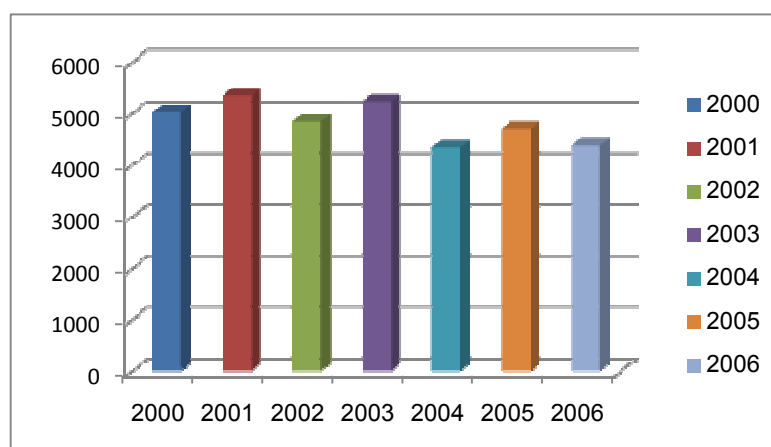


Figure 06: Evolution annuelle du nombre de piqûres de 2000 à 2006

D'une façon globale, on remarque que la plus grand nombre de piqûres a été enregistré durant l'an 2001 avec 5356 cas à partir de l'an 2004 on remarque une certaine stabilité.

3.2. Evolution annuelle du nombre de décès

Tableau 07. Nombre de décès de 2000 à 2006 (DSP)

| Année | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Nombre de décès | 21 | 16 | 14 | 10 | 11 | 12 | 4 |

DSP, 2006

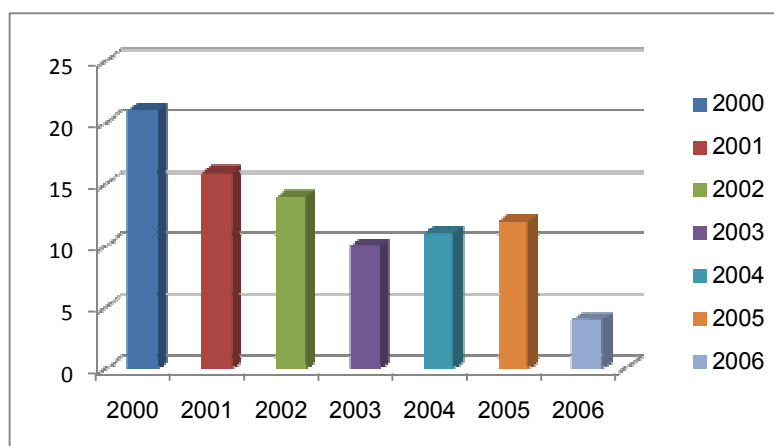


Figure 07: Evolution annuelle du nombre de décès de 2000 à 2006

Le nombre de décès a connu son maximum en 2000 avec un nombre de 21 individus.

A partir de l'année 2002, on constate une régression assez nette du nombre de décès.

Au cours de cette année 2006, 04 cas de décès contre 12 cas l'année précédente, les cas de décès sont répartis comme suit : un cas au niveau du secteur sanitaire de Touggourt et trois cas au niveau de secteur sanitaire de Ouargla.

3.3. Evolution annuelle du taux de létalité

Tableau 08: Le taux de létalité de 2000 à 2006

| Année | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Taux de létalité/1000 | 1.79 | 4.39 | 2.88 | 1.9 | 2.53 | 2.54 | 0.91 |

DSP, 2006

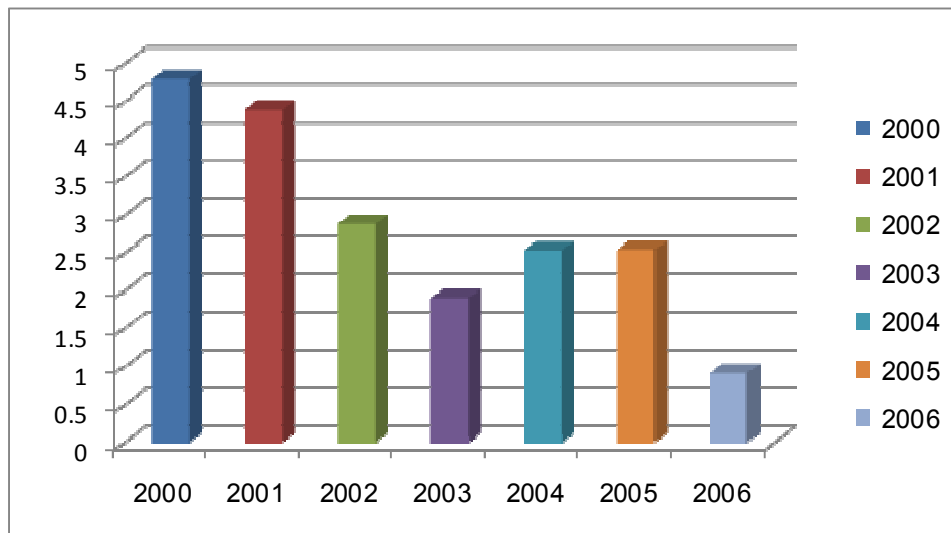


Figure 08: Evolution annuelle du taux de létalité de 2000 à 2006

On note une chute de taux de létalité qui est passé de 4.79 pour mille piqûres en 2000 à 0.91 pour milles piqûres en 2006.

3.4. Evolution mensuelle de cas d'envenimation scorpionique dans la wilaya d'Ouargla l'an 2006

3.4.1. Répartition mensuelle

Tableau 09: Nombre de piqûres selon les mois pour l'an 2006 (DSP)

| Mois | J | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D |
|-------------------|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Nombre de piqûres | 16 | 42 | 130 | 261 | 299 | 820 | 889 | 935 | 633 | 220 | 118 | 18 |

DSP, 2006

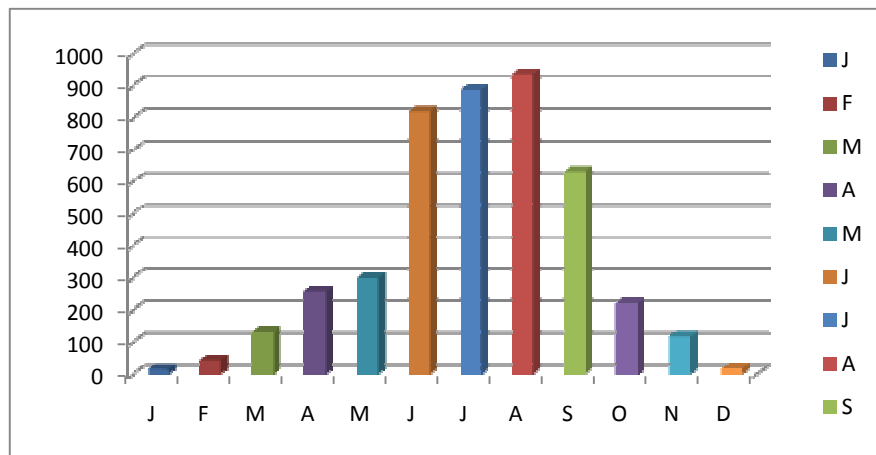


Figure 09: Evolution mensuelle du nombre de piqûre dans la wilaya d'Ouargla pour l'an 2006

On constate que la plupart de cas des piqûres sont enregistrés durant les mois de Juin, Juillet, Août et septembre (période de grande chaleur).

Par contre le plus faible nombre de piqûres sont constatées durant les restes des mois de l'année.

3.4.2. Répartition des piqûres et des décès selon les secteurs sanitaires pour l'an 2006

Tableau 10 : Nombre des piqûres et décès selon les secteurs sanitaires pour l'an 2006(DSP)

| Secteurs sanitaires | S.S. Ouargla | | S.S. Touggourt | | S.S.H Messaoud | | S.S. Hadjira | |
|------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| | Nbre de piqûres | Nbre de décès | Nbre de piqûres | Nbre de décès | Nbre de piqûres | Nbre de décès | Nbre de piqûres | Nbre de décès |
| J | 12 | 00 | 03 | 00 | 00 | 00 | 01 | 00 |
| F | 19 | 00 | 18 | 00 | 01 | 00 | 04 | 00 |
| M | 90 | 00 | 23 | 00 | 05 | 00 | 12 | 00 |
| A | 148 | 00 | 89 | 00 | 07 | 00 | 17 | 00 |
| M | 169 | 01 | 92 | 00 | 19 | 00 | 19 | 00 |
| J | 356 | 00 | 402 | 00 | 21 | 00 | 41 | 00 |
| J | 428 | 01 | 405 | 01 | 25 | 00 | 31 | 00 |
| A | 444 | 00 | 422 | 00 | 20 | 00 | 49 | 00 |
| S | 403 | 00 | 159 | 00 | 15 | 00 | 56 | 00 |
| O | 96 | 00 | 90 | 00 | 13 | 00 | 21 | 00 |
| N | 68 | 00 | 35 | 00 | 08 | 00 | 07 | 00 |
| D | 09 | 00 | 08 | 00 | 00 | 00 | 01 | 00 |
| Totale | 2242 | 03 | 1746 | 01 | 134 | 00 | 259 | 00 |

DSP, 2006

D'après les données statistiques, on constate que le secteur sanitaire le plus touché est le secteur sanitaire de Ouargla avec 2242 cas de piqûres et 03 décès. Ensuite celui de Touggourt avec 1746 cas de piqûres et 01 décès, les deux autres secteurs sanitaires Hassi Messaoud et El-Hadjira sont enregistrés respectivement avec 134 et 259 cas de piqûres sans aucun décès.

3.5. Répartition des piqûres selon l'heure

Tableau 11: Piqûres selon l'heure pour l'an 2006 (DSP)

| Heures | 00-05h | 06-11h | 12-17h | 18-23h |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|
| Nombre de piqûres | 1404 | 904 | 587 | 1486 |
| Taux de piqûres % | 32 | 21 | 13 | 34 |

DSP, 2006

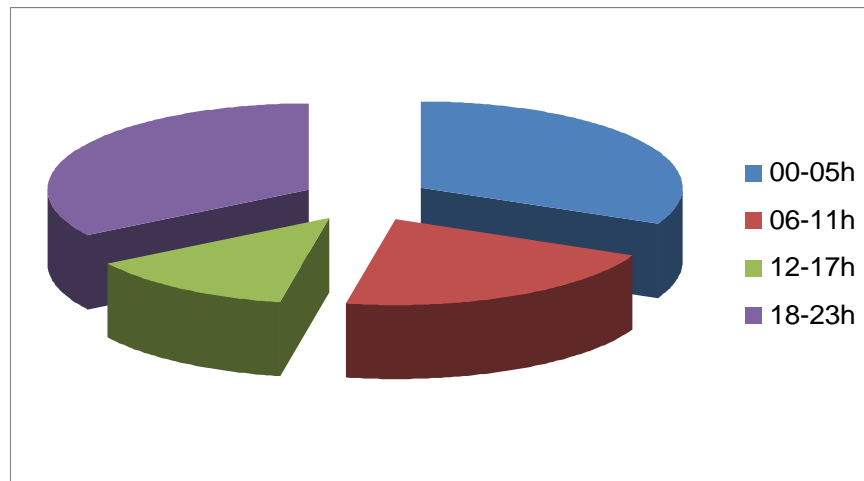


Figure 10: Répartition des piqûres selon l'heure pour l'an 2006

D'après le tableau 12 et la figure 10, on peut constater que les piqûres de scorpions ont lieu à partir la période crépusculaire allant le 18 :00h jusqu'à 05:00 heures.

En effet plus de 66% de piqûres de scorpions ont lieu durant cette période.

3.6. Répartition de piqûres selon le lieu

Tableau 12: Nombre de piqûres selon le lieu pour l'n 2006 (DSP)

| Lieu | A l'extérieur des habitants | A l'intérieures des habitants |
|-------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Nombre de piqûres | 1566 | 2815 |
| Taux de piqûres % | 36 | 64 |

DSP, 2006

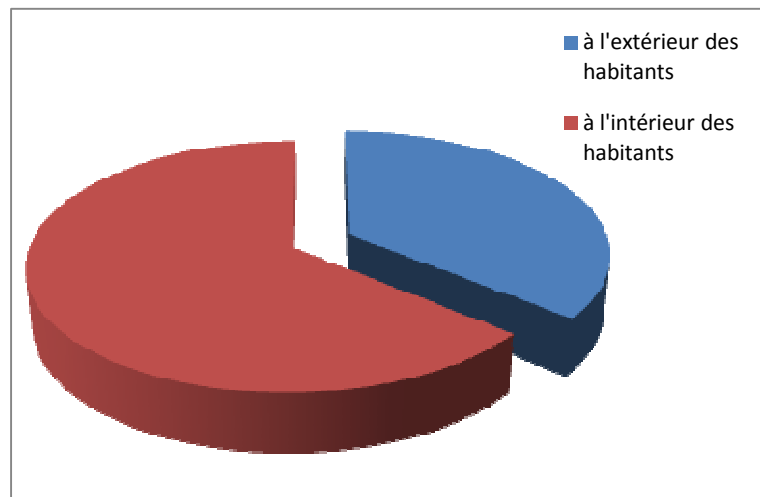


Figure 11: Répartition des piqûres selon le lieu pour l'an 2006

D'une façon générale, on remarque que 64% des piqûres ont lieu à l'intérieure des habitations.

3.7. Répartition des piqûres selon le siège

Tableau 13: Nombre de piqûres selon le siège pour l'an 2006 (DSP)

| Siège | Membres supérieurs | Membres inférieurs | tronc | Tête | Autres |
|--------------------|--------------------|--------------------|-------|------|--------|
| Nombre des piqûres | 1804 | 1914 | 443 | 140 | 80 |
| Taux de piqûres % | 41 | 44 | 10 | 3 | 2 |

DSP ,2006

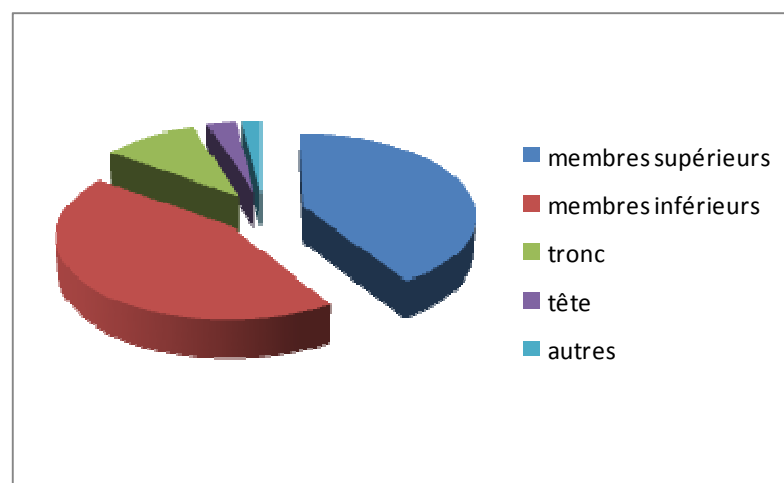


Figure 12: Répartition des piqûres selon le siège pour l'an 2006

D'après la figure 12, nous remarquons que ce sont les membres inférieurs qui sont les plus touchés avec 44%. En suite les membres supérieures avec 41%. Les autres parties tronc, tête et autres respectivement 10, 3, et 2%.

3.8. Répartition des piqûres selon la tranche d'âge :

Tableau 14: Nombre des piqûres selon la tranche d'âge pour l'an 2006

| L'age | <1 an | 1-4 ans | 5-14 ans | 15-49 ans | >50 ans |
|----------------------|-------|---------|----------|-----------|---------|
| Nombre de piqûres | 37 | 271 | 878 | 2519 | 676 |
| Le taux de piqûres % | 1 | 6 | 20 | 58 | 15 |

DSP, 2006

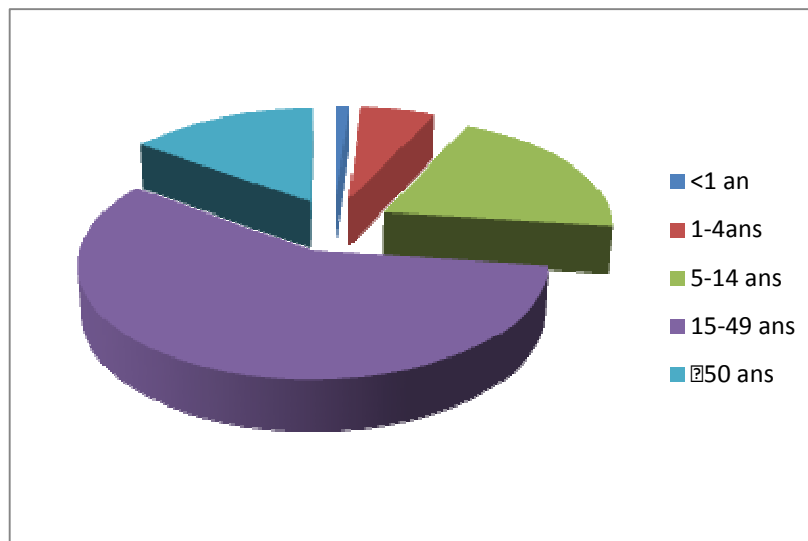


Figure 13: Nombre de piqûres par tranche d'âge pour l'an 2006

Toutes les tranches d'âge sont touchées, environ 58% de la tranche de population ayant été se situé entre 15-49ans (figure 13).

3.9. Répartition de décès selon la tranche d'âge pour l'an 2006

Tableau 15: Nombre des décès selon la tranche d'âge pour l'an 2006

| L'âge | <1 an | 1-4 ans | 5-14 ans | 15-49 ans | >50 ans |
|--------------------|-------|---------|----------|-----------|---------|
| Nombre de décès | 00 | 01 | 02 | 01 | 00 |
| Le taux de décès % | 00 | 25 | 50 | 25 | 00 |

DSP, 2006

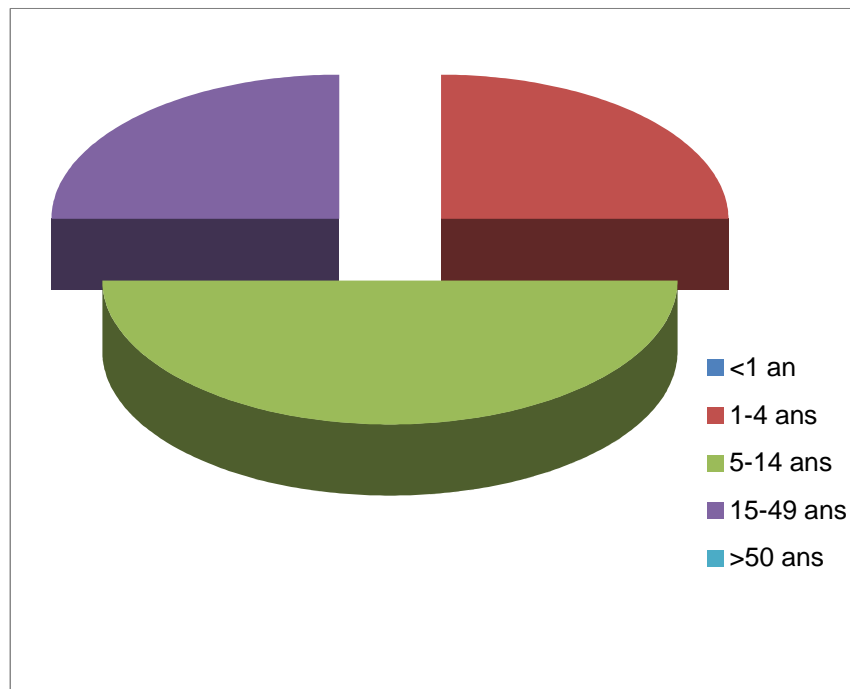


Figure 14: Nombre de décès par tranche d'âge pour l'an 2006

La plus grande proportion de décès par piqûres de scorpions est la catégorie d'âge située entre 5 à 14 ans. Ensuite 1-4 ans et 15-49 ans avec la même proportion de 25% (figure 14).

4. Résultats :

Suite aux données statistiques on peut dire que :

- Le nombre de piqûres de scorpion est fréquent pendant la nuit.
- Les piqûres de des scorpions ont lieu surtout en Juin, Juillet, Août et Septembre.
- Le secteur sanitaire de Ouargla est le plus touché parmi les autres secteurs.
- Les piqûres de des scorpions ont lieu à l'intérieur des habitats.
- Les parties les plus touchées sont les mains et les pieds.
- La plupart des personnes ayant été piquées ont un âge compris entre 15 et 49 ans. Mais la plus grande proportion de décès touché la catégorie d'âge située entre 5 et 14 ans.

5. Discussion :

On connaît que les scorpions sont des animaux qui favorise le mouvement en nuit à cause de la température ambiante de part, et de l'autre que l'absence de l'éclairage en nuit, ça explique la fréquence des piqûres en nuit.

On voit que la majorité des piqûres par les scorpions en Juin, Juillet, Août et septembre est un phénomène normale car cette période est la plus chaude pendant l'année ce qui explique la sorties des scorpions de ses abries et au dessous de ses cachettes pour avoir un climat favorable sur la terre.

Le secteur sanitaire de Ouargla est le plus touché parce que:

- il est le plus vaste que les autres secteurs (région et population)
- Il rassemble un biotope favorable pour les scorpions car l'existence des régions mal organisées (l'existence des déchets près de quelques marchés).
- L'existence des forets près des habitations.

La majorité des cas de piqûre sont à l'intérieur des habitats (64%), car le biotope convenable qui l'offre par l'habitation (la température, l'humidité).

Les membres sont les plus touchés parce qu'ils sont les plus utilisables dans le travail, et la difficulté de passage de scorpion à des autres parties.

On voit que la plupart des cas de l'envenimation scorpionique sont touchées les personnes de 15 à 49 ans, est rendu à la participation de cette catégories dans les travaux tels que les travaux des agricultures.

La plupart des cas des décès concernent la catégorie de 5-14 ans, car cette catégorie ne peut pas résister les toxines des venins des scorpions.

Chapitre IV

Partie pratique

1. Le ramassage:

1.1. Matériels:

On utilise dans le ramassage des scorpions les matériels suivants :

- La pince:

On utilise généralement une pince de longueur 20 à 30 cm pour la capture des individus, mais parfois, lorsqu'on trouve des individus beaucoup plus petits on utilise un autre type des pinces de longueur de 15 cm.

- La boîte de ramassage:

Il faut être bien aérées de matières solides inoxydables et assurant une bonne sécurité, avec des dimensions différents.

- Les gants et les bottes:

Ce sont les plus importants moyens de protections, fabriqué en caoutchouc, les bottes il faut être de 30 cm de longueur au moins.

Et en plus de ça il faut utiliser un projecteur comme un source lumineuse, si on fait la collection dans la nuit.

- Source lumineuse:

Un projecteur pour la prospection nocturne.

1.2. Méthodes de ramassage:

On a suivi deux méthodes pendant le ramassage selon le temps sont le capture de nuit et le capture de jour:

1.2.1. La capture de nuit:

La capture s'effectue le plus souvent de nuit entre neuf heure de soir jusqu'à deux heures de matin.

La prospection est facilitée par l'usage d'un projecteur dans plusieurs endroits fréquentés par la population.

Le principe de cette méthode n'est pas la collection de plus grand nombre des individus, mais aussi de remarquer plusieurs des informations sur la vie et le comportement nocturne des scorpions.

1.2.2. La capture de jour:

Par contre plusieurs des ramasseurs et des chercheurs, on remarque que la capture de jour est très possibles, très facile, et aussi très assurée par des méthodes bien déterminées :

- ❖ on cherche les scorpions dans ces cachettes dans les forets qui ne présentent pas d'aération élevée.
- ❖ On fait aussi quelques pièges par les palmes humides surtout dans les saisons chauds et sèches.
- ❖ Ce type de capture est très assuré à cause de la possibilité de voir le scorpion sans utilisation de source lumineuse.

1.2.3. Résultats et discussion :

Dans la période de ramassage, on récolte environ 140 Scorpions de l'espèce *Androctonus amoreuxi*.

Mais presque la moitié des individus sont morts, peut être à cause de :

- ❖ Le problème de cannibalisme qui est très remarqués pour cette espèce.

La présence de cinq individus de l'*Androctonus amoreuxi* dans une boîte de 50 cm de longueur et 25 cm de largeur, indique le degré de cannibalisme. Parfois pendant cinq jours, on remarque qu'il reste trois individus seulement.

- ❖ Le teste de sociabilité de '*Androctonus amoreuxi* indique que cet espèce est un espèce non sociale que avec soi même.

La répartition de l'*Androctonus amoreuxi* est remarquée dans les sols argileux surtout dans N'goussa, Elbour. Frann.

1.3. Conclusion:

On a ramassé un nombre des scorpions 140 individus, ce nombre est suffisant pour faire l'extraction de venin.

2. Extraction de venin:

2.1. Matériels:

Pendant la période de l'extraction de venin de scorpions on a utilisé les matériels suivants:

- Excitateur électrique:

C'est un appareil qui consiste à faire sensibiliser le scorpion par un courant électrique continue (12V). Il contient deux pôles électriques.

- Les pinces:

Il est très important lors de l'extraction pour fixer le scorpion sur les pôles électriques continue l'excitateur.

- Verre à montre:

C'est le matériel qui fait conserver le venin obtenu de l'extraction.

- Le matériel animal:

140 individus de scorpions de l'espèce *Androctonus amoreuxi*.

2.2. La méthode de travail :

Dans notre travail, on utilise la méthode de l'extraction électrique à cause de sa pureté de venin obtenu, elle consiste à stimuler le scorpion par un courant électrique.

L'exposition de la partie inférieure du scorpion et les premières anneaux de sa queue à cette excitation qui provoque une contraction du musculature de glande à venin.

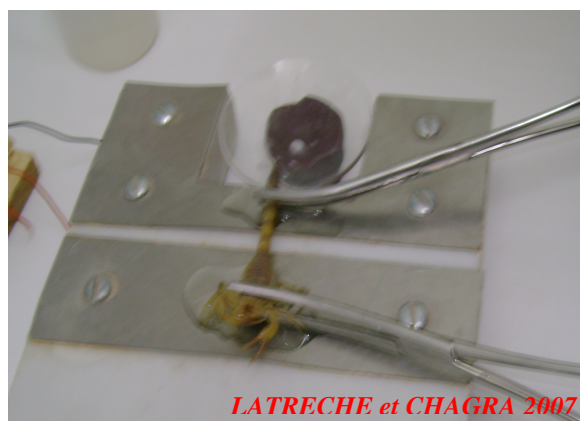


Photo 05: Excitateur

2.3. Résultats et discussions:

2.3.1. Résultats :

Après l'extraction de venin on a obtenu une quantité de venin 17.5 mg de venin sec. On voit que cette quantité de venin est suffisante à faire les analyses sur le venin de l'*Androctonus amoreuxi*.

2.3.2. Discussions :

L'espèce *Androctonus amoreuxi* qui donne une quantité de venin très élevé mais pas comme quelques espèces tel que *l'A.a.H et B.o.t*.

3. Les analyses de venin:

3.1. Matériels et méthodes:

3.1.1. Les matériels:

- Tube Eppendorf:

Ce matériel est très important pour le test ELISA, parce qu'il a bien conservé la solution de venin et fait faciliter la dissociation par le vortex. Il peut conserve une quantité de 3 ml de solution.



Photo 06: tube Eppendorf

- Micropipette:

Il y a plusieurs types de micropipette (de 5 μ l- 50 μ l, De 100 μ l-1000 μ l, standard 100 μ l, standard 200 μ l...etc). C'est un matériel utilisé pour prendre quelques produits.



Photo 07: micropipette

- Les plaques d'ELISA:

Ce sont des plaques constituées de 96 puits.
Elle est fabriquée généralement en plastique
à cause de sa possibilité de fixer les matières.

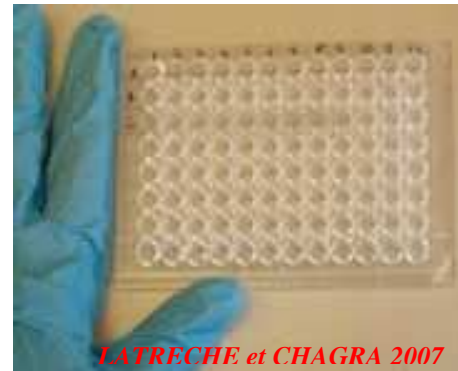


Photo 08: Plaque ELISA

Les appareils:

- Vortex:

Est un appareil qui fait la dissociation d'un solide dans un solvant pour obtenir une solution homogène à l'aide de la vitesse de rotation.



Photo 09: Vortex

- Etuve:

C'est un appareil qui sert à donner la température ambiante de la réaction.

- Lecteur de plaque d'ELISA

C'est un appareil qui est utilisé pour la lecture de l'absorption du rayonnement ultraviolet dans les puits de la plaque d'ELISA. Ce dernier explique le degré de la réaction.

3.1.2. Les produits:

Les produits utilisés dans le test ELISA sont les suivants:

Eau distillée, Tween 20, lait écrémé, peroxydase, OPD, H₂SO₄

Les tampons: carbonate bicarbonate, PBS, et le tampon phosphate.

- Le venin:

Nous avons utilisé un venin qui provient de scorpion (*Androctonus amoreuxi*) collectés dans la wilaya de Ouargla, il se présente sous forme déshydratée obtenue par la stimulation électrique.

- **Le tampon PBS (1M, PH=7.4):** on le prépare par la resette suivante:

-NaCl: 8g.

- KH₂PO₄: 0.2g.

- Na₂HPO₄: 2.9g.

- KCl: 0.1g.

- H₂O: 1l.

- **le tampon carbonate bicarbonate (1M ; PH=9.5):**

Dissoudre 95g de Na⁺, 10H₂O (carbonate de Na⁺ hydraté) et 56g de bicarbonate de Na dans 800ml de H₂O et compléter le volume jusqu'à 1l.

- **Le tampon phosphate (0.1M, pH=9.5)**

Phosphate bipotassique (174g) et une quantité suffisante pour 1000ml d'eau distillée.

Phosphate monopotassique (136g) et une quantité suffisante pour 1000ml d'eau distillée.

Ajouter à la solution phosphate bipotassique une quantité de phosphate monopotassique pour avoir un pH désiré.

3.2. La détermination de la densité optique:

On dissout 23mg de venin sec dans 1ml d'eau distillée à l'aide du vortex, puis on fait la centrifugation.

Pour effectuer la détermination de la densité optique de venin il faut préparer la solution de venin. Cette opération est expliquée dans la figure 15.

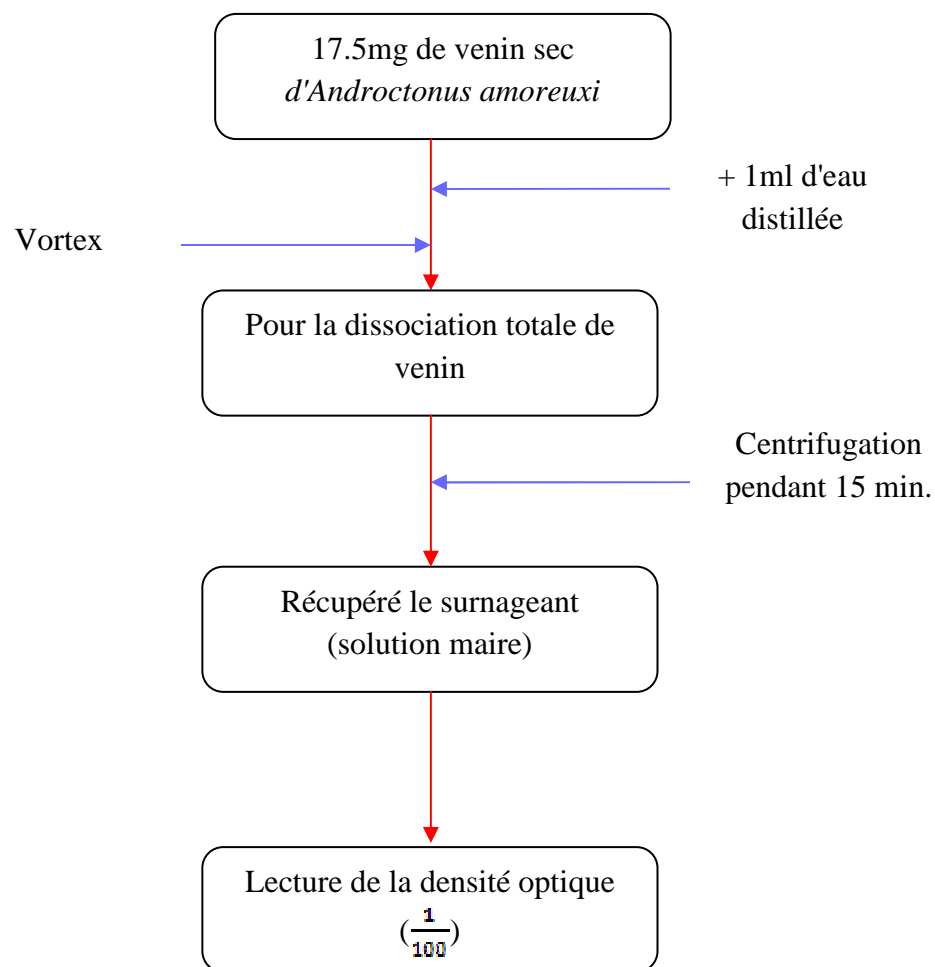


Figure 15: préparation de solution de venin

On trouve que la D.O de venin de *Androctonus amoreuxi* égale:

Moyen de calcul = 27.6 U D.O

- Remarque:

La dissociation totale de venin de scorpion dans l'eau distillée prend un long temps peut dépasser 1heure.

On prend une dilution 1/100 de la solution mère de venin (17.5mg, 1M), puis on détermine sa densité optique.

3.3. La détermination de titre AC par le test d'ELISA:

3.3.1. Définition:

L'ELISA est une technique qui permet d'identifier le titre d'AC. Dont le titre est une caractéristique d'AC défini comme étant l'inverse de la dilution qui représente la plus petite quantité d'AC qui détecte l'Ag. Pour relever les complexes AC-Ag dans les puits de microplaque. Il faut coupler cette réaction immunologique par une réaction enzymatique c'est-à-dire coupler AC issu de lapin ou de cheval par un conjugué anti IgG couplé à une peroxydase. On ajoute le substrat d'enzyme (H_2O_2) et un chromogène (OPD).

3.3.2. Protocole de travail:

On a suivi les étapes suivantes:

Sensibilisation de la microplaque par $5\mu\text{g/ml}$ de venin dissout dans le tampon carbonate bicarbonate (0.1M, PH=9.5) à raison de $100\mu\text{l/puits}$

Incubation pendant 24 heures à $+4^\circ\text{C}$

Série de lavages (5 à 6) par le tampon PBS tween 20 0.1% (0.15M, PH=7.4), à raison de $100\mu\text{l/puits}$. (Chaque lavage dure 5 minutes)

Saturation par le lait écrémé (5g de lait écrémé dans 100ml de tampon PBS tween 20 0.1%) en déposant $200\mu\text{l/puits}$.

Incubation pendant 1 heure à 37°C

Série de lavages (5 à 6) par le tampon PBS tween 20 0.1% (0.15M, PH=7.4), à raison de $100\mu\text{l/puits}$. (Chaque lavage dure 5 minutes)

Dépôt des sérums dilués à (1/100) dans le tampon PBS LE (5%) et faire 1/2 en 1/2 des sérums dans du tampon PBS LE 5% (0.15M, PH=7.4) après avoir déposé $100\mu\text{l}$ de tampon PBS LE 5% dans toutes les cupules.

On met $100\mu\text{l}$ de sérum dilué dans les deux premiers puits du 1^{er} et de 2^{ème}. Puis on met $100\mu\text{l}$ de PBS-LE dans tous les restes. On fait 1/2 en 1/2. C'est-à-dire on prend $100\mu\text{l}$ de 2^{ème} (elle contient $100\mu\text{l}$ de sérum dilué et $100\mu\text{l}$ de PBS-LE). Donc au fur et à mesure la concentration de sérum va être réduite.

Incubation pendant 1 heure à 37°C

Série de lavages (5 à 6) par le tampon PBS tween 20 0.1% (0.15M, PH=7.4), à raison de 100µl/puits. (Chaque lavage dure 5 minutes)

Dépôt du conjugué (anti IgG du lapin ou de cheval) couplé à peroxydase dilué 1/2000 au PBS LE à raison dans 100µl/cupule.

Incubation pendant 1 heure à 37° C.

Série de lavages (5 à 6) par le tampon PBS tween 20 0.1% (0.15M, PH=7.4), à raison de 100µl/puits. (Chaque lavage dure 5 minutes)

Dépôt de substrat chromogène OPD (10mg + 11ml de tampon phosphate (0.01M, PH=7.3) +10µl de H₂O₂ 30%) —————> couvrir, à raison 100µl/ puits.

Puis laisser faire la réaction pendant 10 minutes, à l'obscurité.

L'arrêt de la réaction par la solution de H₂SO₄ (2N) à raison de 50 µl- 100µl.

- La lecture à 490 nm.

La méthode de travail suivie dans le test ELISA est expliquée dans les figures 16 et 17.

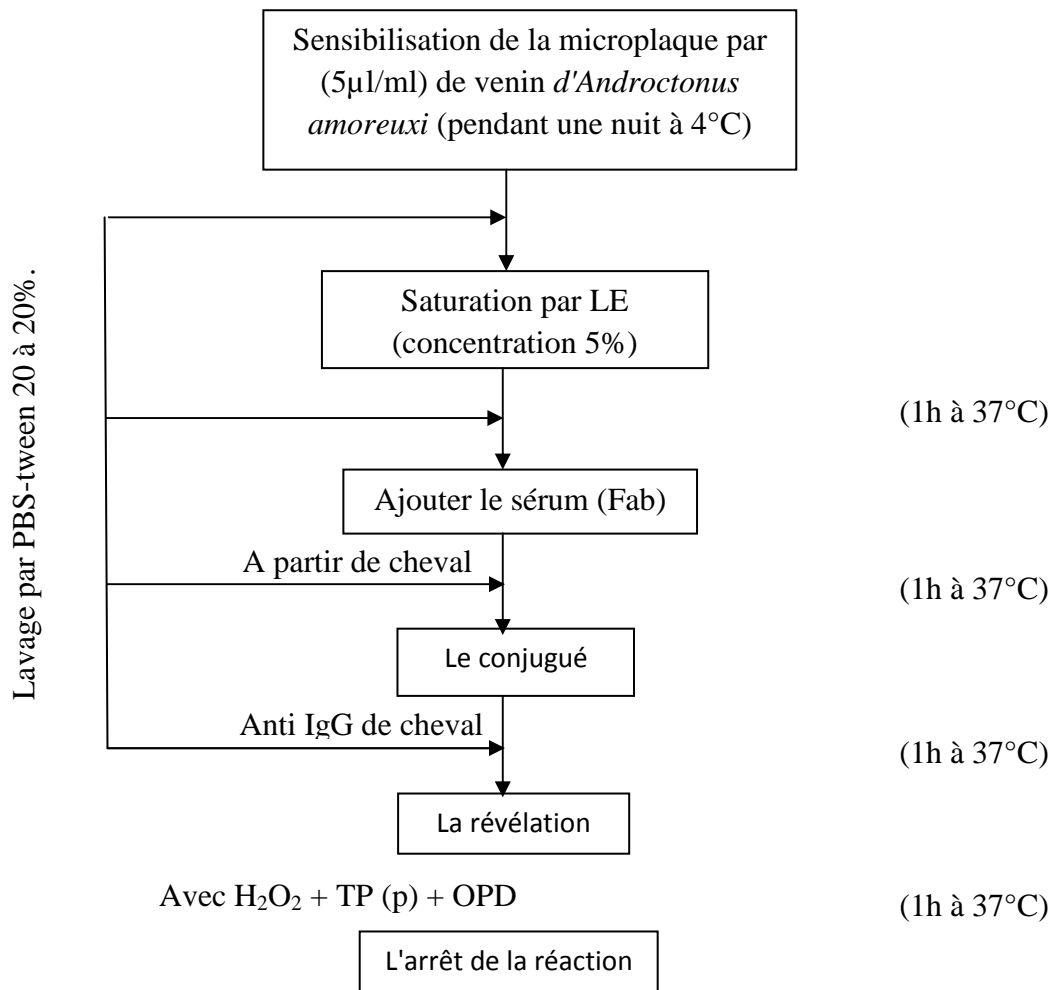


Figure 16: schéma générale de test ELISA simple

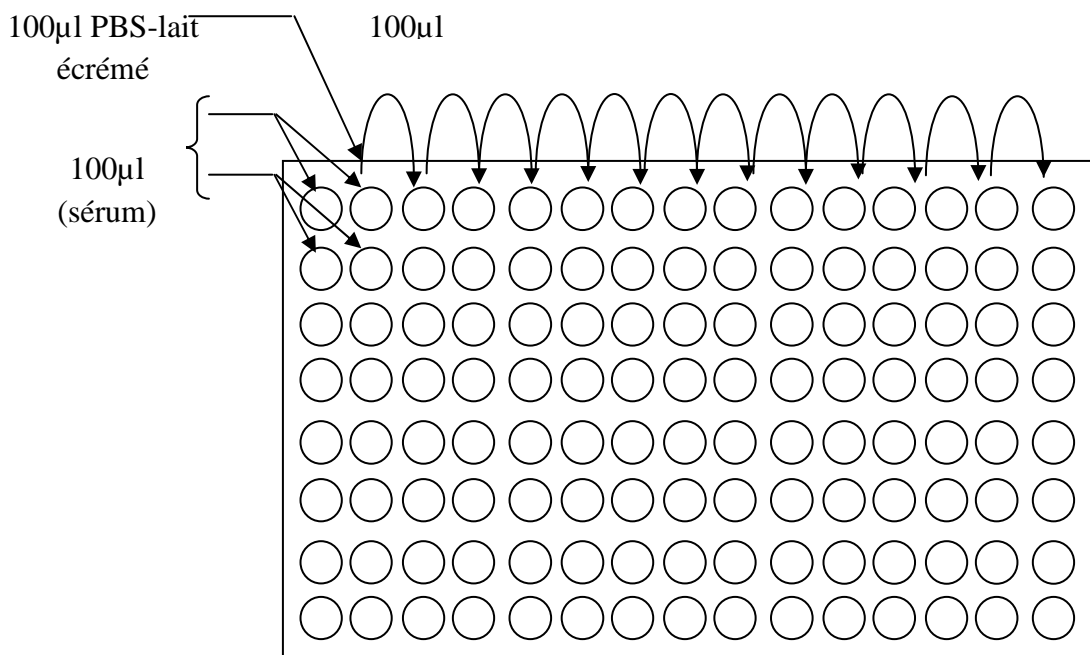
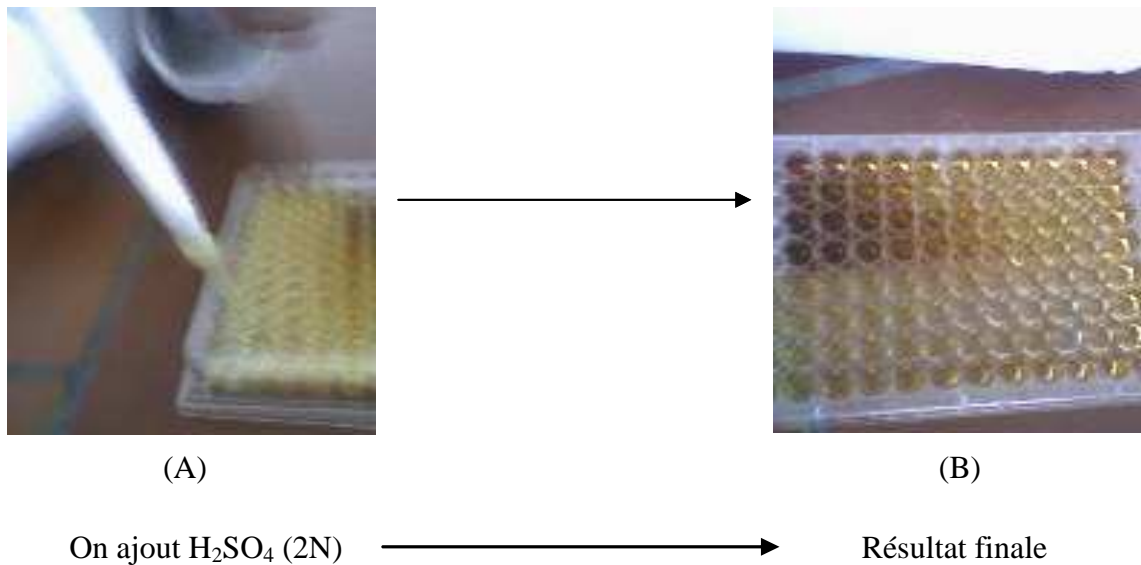


Figure 17: Méthode de travail avec plaque ELISA

3.3.3. Résultats et discussion:

**Photo 10: la dernière étape du test ELISA**

On trouve après l'ajoute de H_2SO_4 (2N) photo 10 (A), la coloration représentée dans la photo 10 (B) (résultat finale).

Après ce résultat, on fait la lecture de l'absorbance du rayonnement 490 nm, les résultats sont représentés dans le tableau 16 et la figure 18.

Tableau 16: Absorbance de rayonnement selon l'inverse de la dilution

| | | | | | | | | | |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbance | 2.851 | 1.983 | 1.338 | 1.245 | 0.871 | 0.659 | 0.492 | 0.454 | 0.301 |
| Inverse de la dilution | 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | 12800 | 25600 |

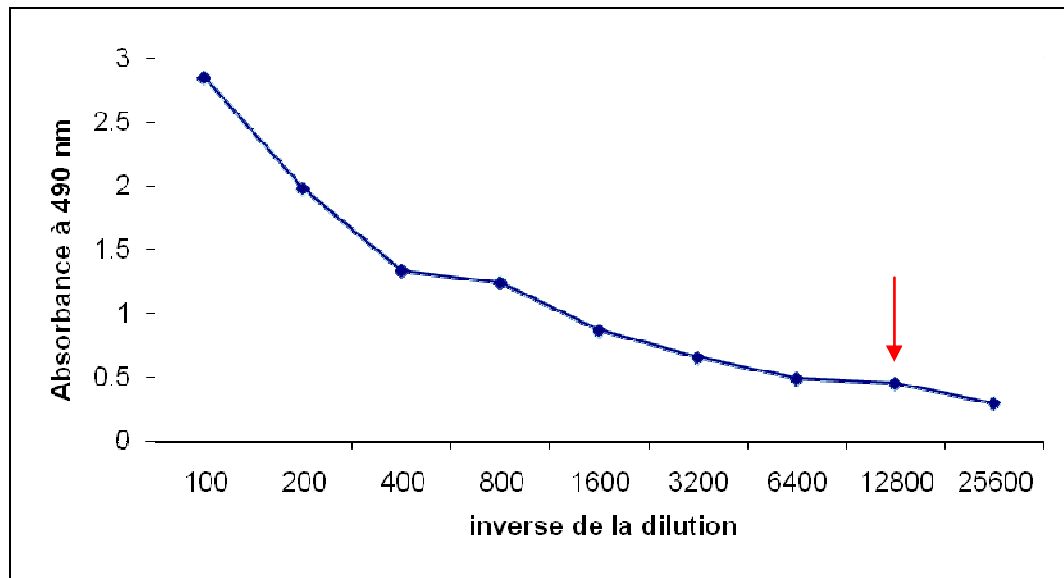


Figure 18: le titre ELISA du sérum anti *A.a.h* à venin *A.am*

Donc, on trouve que le titre d'ELISA de venin *A.am* 12800.

Ce titre d'ELISA d'*Amoreuxi* est relativement petite par rapport aux celui de l'*A.a.h* ce qu'on va voir lors de la comparaison.

4. La comparaison entre les titres d'ELISA entre les espèces *A.am* et *A.a.h*:

Tableau 17: La comparaison entre le titre d'ELISA de l'*A.am* et celui de l'*A.a.h*

| Les espèces | Le titre d'ELISA simple pour (Fab) |
|--------------|------------------------------------|
| <i>A.a.h</i> | 51200 |
| <i>A.am</i> | 12800 |

On remarque que le titre d'ELISA pour *A.a.h* est 4 fois plus grand que celui de l'*A.am*.

C'est-à-dire que le venin de l'*A.am* est faiblement réagit avec l'AC élaboré à partir de venin de l'*A.a.h*.

Conclusion:

Enfin, on conclure que les scorpions dans la wilaya de Ouargla ont des caractéristiques variables de venin tels que:

Selon le test ELISA que le sérum antiscorpionique élaboré à partir le venin de l'*A.a.h* n'est pas très efficace au venin de l'*A.am* à cause de son faible titre d'ELISA simple.

Le sérum de l'*A.a.h* est 4 fois plus moins efficace à venin de l'*A.am* que l'*A.a.h*.

Cette valeur est 4 fois plus moins d'une espèce de même genre avec l'*A.a.h*. mais le problème est quelle est la valeur de titre ELISA quand le venin utilisé est d'une espèce d'autre genre ou bien d'une espèce non Buthidae?

Conclusion générale

Conclusion générale

L'envenimation scorpionique par sa fréquence et sa gravité pose un problème majeur de santé publique notamment dans le sud algérien.

Selon les données épidémiologiques établies par le Ministère de la Santé et de la population, chaque année l'Algérie enregistre plus de 50000 piqûres de scorpions avec plus de 150 cas de décès. Ouargla malheureusement occupe la première place avec près de 4500 cas de piqûre et 11 décès pour l'année 2004.

Suite aux données statistiques, il ressort de notre travail que :

- Le nombre de piqûres de scorpion est fréquent pendant la nuit.
- Les piqûres de scorpions ont lieu surtout en Juin, Juillet, Août et septembre.
- Le secteur sanitaire de Ouargla est le plus touché parmi les autres secteurs.
- Les piqûres de scorpion ont lieu à l'intérieur des habitations.
- Les parties les plus touchées sont les mains et les pieds.

La plupart des personnes ayant été piquées ont un âge compris entre 15 et 49 ans. Mais la plus grande proportion de décès touche la catégorie d'âge située entre 5 et 14 ans.

Notre à effectué quelques ces résultats:

- La répartition de *A.am* est fréquemment dans les sols argileux.
- De 140 Individus de *A.am* on collecte une quantité de venin près de 17g de venin sec cette quantité démontre que la quantité de venin injecté par *A.am* est quantité faible par rapport à celui de *A.a.h* ou bien de *B.o.t*.
- Les résultats obtenus par le test ELISA simple (titre AC=12800) explique une autre remarque à l'utilisation d'un même sérum pour tout les cas des envenimations scorpioniques.

Pour cela, il faut travailler pour arriver les horizons suivants:

- Faire une recherche pour bien déterminer la répartition de chaque espèce scorpionique dans notre pays.
- Elaboration des résumés spécifique à chaque espèces et le distributions à partir la répartition géographique.

Summary

The scorpionic envenimation is a dangerous phenomenon to the human health. In our country scorpion are found specially in the south wilayates

Among them, we find Ouargla as one of the most affected wilayas.

Our work focuses on the *Androctonus amoreuxi* species its venom characteristics with the test of ELISA.

The results obtained are:

For (Fab) of *A.a.h*, we find that the efficacy of serum on the *A.am*'s venom is 12800, this efficacy is lees than which of *A.a.h*.

So, we advise manufacturing a serum antiscorpionic specific to each species

Key words: *Androctonus amoreuxi*, venom, scorpionic, envenimation, serum, ELISA.

Résumé

L'envenimation scorpionique est un phénomène majeur de la santé humaine, dans notre pays les scorpions sont trouvés dans les wilayas de sud.

Parmi ces wilayas, on trouve la wilaya de Ouargla.

Notre travail consiste à projeter la lumière sur une espèce dangereuse (*Androctonus amoreuxi*) et caractéristique de son venin par la méthode ELISA.

Les résultats obtenus sont :

Pour (Fab) de *A.a.h* on trouve que l'efficacité de sérum est 12800 sur le venin de l'*A.a.m*. Cette efficacité est réduite 4 fois plus faible que celle de venin de *A.a.h*.

Donc, pour suggérons de fabriquer un sérum antiscorpionique spécifique à chaque espèce de scorpions.

Mots clés: *Androctonus amoreuxi*, venin, envenimation scorpionique, sérum, ELISA.

! " # \$ "

31 ELISA 2 / O1 *Androctonus Amoreuxi* ()% + , %)% %* -. ' % \$ # \$

8 9 : ! 12800 6A.am5 " *)% 2 7 6Fab5 6A.a.h 5 2 4 % 2

" (2. O 2 * ; /% '6A.a.h 5 / * # 4 2

ELISA 2 *Androctonus Amoreuxi* 4

Abréviation

- A.am:** *Androctonus amoreuxi*
- Aah :** *Androctonus australis Hector*
- Ac :** Anticorps
- Ag :** Antigènes
- AgTX :** Agitoxine
- B.o.t:** *Buthus occitanus tunetanus*
- ChTX :** Charybdotoxine
- Css:** *centruroides suffusus suffusus*
- CTX :** Charybdotoxine
- DL50 :** Dose létale à 50%
- DO :** Densité Optique
- DSP:** Directoire de la santé et de la population
- ELISA:** Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- Fab :** Fragment Antigen Binding
- IbTX :** Ibériotoxine
- IgG :** Immunoglobuline de type G
- KDa :** kilos daltons
- KTX :** kaliotoxine
- KTX:** kaliotoxines
- LE:** Lait écrémé
- Lq2 :** Toxine 2 isolée du venin de *Leiurus quinquestriatus*
- LTX (ScTx) :** Leiurotoxine (Scylatoxine)
- MgTX :** Margatoxine
- NTX :** Noxiustoxine
- O.P.D:** O-Phényle Diamine Dilydrochloride
- PBS :** Phosphate Buffer Saline
- SAS :** Sérum Anti-Scorpionique
- STX :** Saxitoxine
- TP (p):** Tompon Phosphate
- Ts:** *Tityus serrulatur*

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

1. **ANONYME, 2004-htt: // perso.wanadoo.fr/ evcb /scorpions/gomacro.htm.**
2. **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.**
3. **BEN LASFER Z.,** étude taxonomique du genre *Androctonus* des oasis de Chabbat et de chémsa, mémoire de fin d'étude, Tunis, 1998, p 95.
4. **BERNARD J., (2001)-** Le technicien d'analyses biologique guide théorique et pratique, Ed Lavoisier, paris ; pp 1903.
5. **CASTILE S. QU. Y., ROGERS JROCHAT H., SCHENER T. et CATTERALL W, (1998)-** Neurone 21.pp 919 - 931.
6. **CATTERALL W. A.,(1988)-**Structure and function of voltage sensitive ion channel science 242,pp 50-61.
7. **CHIPPAUX J. P. et GOYFFON M., (1990)-** Animaux venimeux terrestres, EMS, Tome2, .p-4 et pp 88-94.
8. **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.
9. **DELIMA M. E., MARTIN M. F., DINIZ. C. R. et ROCHAT. H., (1986)-** Biochem, Biophys. Res .Comm, 139 (1) pp 296-302.
10. **DIANANS S., HOARO F. et ROCHAT H., (1987)-** Toxicon 25 (4), pp 411-417.
11. **DREYER F., (1990)-** Peptide toxins. And palassinn channels, Rev physiol .Biochem. Pharmacol 155,pp 94- 136
12. **GARCIA M. L., KMUS H. G., MANUJAS P., SLAUGHTER R. S. et KACZOROWSKI G. J., (1995) -** charybdotoxin and its effect on Palassium channels, Am J. Physiol p. 269.
13. **GENETET., (2002)-** immunologie, Ed Lavoisier, France, pp 165-771.
14. **GORDON D., MASKOWITZ H., WARMER C., CATTERALL W. A. et ZLOTKIN E.,(1992)-** Biochemistry 31,pp 7662-7628 .

15. **GRANDGEORGE M., VERON j. L., LUTSCH C., MAKULA M .F., RIFFARD P. PEPIN S. Et SCHERMANN. J. M., (1996)** - preparation of improved F(ab')₂ antivenoms. An example: New polyvalent European viper anti-venom (equine). *Envenoming and their treatments*. Eds Bon C., Goyffon M. Fan edition Marcel Mèriex, pp 161-172.
16. **GRASSE P. P. (1949)**- *Traité Zoologie, Ordre de Scorpions*, Edit Muséum National D'histoire Naturelle, Paris, Tome 6, P.P.386, 436
17. **GRISHIN E. V., VOLKOVA T. M. et SOLDATOVA L. N., (1982)**- *Bioorganika Rhim.* 8.pp 155 -164.
18. **GURRALA G. B., MALINA., RODE R., SITGES M., BAYON A. et PASSANI D., (1989)**- Synthetic peptides corresponding to the sequence of noxiustoxin indicate that the active site of this 15+ channel blocker is located at its amino-terminal portion, *J Neural Transm.* 77, 11-20.
19. **HALILAT M.T, 1993**-Etude de la fertilisation azotée et salinisation au Sahara Algérien, *sécheresse* vol 5 N 3, pp 151-160.
20. **HAMMOUDI-TRIKI D., (2004)**- Effets physiopathologiques et pharmacodynamie du venin d'*Aah* avant et après immunothérapie pp1-48. (Thèse).
21. **HARLOW E. D. et LANE. D., (1991)**- *Anticorps*, Ed pariel, Paris, pp 648.
22. **JULES B., (1998)**- *Biologie cellulaire et moléculaire*, De Boeck Université S.A, Paris –pp 88 91.
23. **KOPEYAN C., MANSUELLE P., EAUCLAIRE M. E., ROCHAT H. et MIRAND F., (1993)**-*Natural toxins* 1,pp 38 -312.
24. **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.
25. **LOURENT F., MICHEL A., BOUNNET P. A., BOMPART. J., CHAPAT J. P. et BAUCARD. M., (1993)**- Effets de toxines, opamine, charybdotoxine et iberiotoxine sur la relaxation de la fibre musculaire lisse induite par un dérivé de l'imidazole (1.2a) apyrozine, *C.R .soc . Biol.* 187, pp 526-535
26. **LUCIEN. B., (1955)**- venins des scorpions et sérum anti-scorpionique, *Archive .IPA,* Tom.33 (2), pp 90.92.

27. **MARTIN M. F., RACHAT H., MARCHOT P et BAUGIS P. E., (1987)-** *Toxicon*, N=5, pp .569-573.
28. **NAWELLO J. C., ARANTES E. C., VARANDA W. A., OLIVEIRA B. et GIGLIO J. R., (1999)-** Marangoni ,S.Ts Tx –IV . A short chain four disulfide bridged neurotoxin from Tityus Serrulatus venom which acts on. Ca⁺⁺ activated K⁺ Channels, *Toxicon*. 37,pp 651-660
29. **O.N.M., 2003.** Données météologique de Ouargla. P.p.3.
30. **PASSANI L. D., MARTIN B. M. et SWENDSEN. I., (1982)-** the primary structure of maxiustoxin: AK⁺, channel bloking peptide, purified from the venom of the scorpion *centruroides toxins Hoffman* .Carlsberg .Res.Comm.47,pp 285-289.
31. **RACHAT H., (1964)-** Thèse de doctorat d'état en pharmacie, Marseille.
32. **RASSO J. P., et ROCHAT H., (1985)-** *Toxicon*.23, pp 113-125.
33. **RIVIERE G. et BON C., (2000)-** Immunothérapie antivenimeuse vers une nouvelle approche rationnelle d'un traitement empirique –*Annales de l'institut pasteur/actualités*, Ed.Elsevier, Paris, pp 53-55.
34. **ROUVILLOI S., BRIGOL M., (1975)-** Le pays de Ouargla. (Sahara .Algérien, variation et organisation, d'une espèce rurale en milieu désertique. Edit : université de la Sorbonne, paris, P.P. 316
35. **SABATIER J. M., FRÉMANT V., MABROUK K., GVEST M., DARBON H., ROCHAT H., RIETSCHATEN J. et EAUCLAIRE M. F., (1994)-** scorpion toxin specific for Ca⁺⁺ activated K⁺ channels : structure – activity , analysising synthetic analogs .*Int .J. Peptide protein Res* .43,pp 486-495.
36. **SADINE. S. E., (2005)-** Contribution à l'étude bioécologique de quelques espèces des scorpions dans la wilaya de Ouargla. Mémoire d'ingénieur d'Etat en biologie Université de Ouargla, Pp 6-14
37. **SOULAYMANI, R, SKALL, S et SEMLALI, 1998-**Rapport scorpionisme au Maroc et état des connaissances, pp 6-7.
38. **THOMEN, W, J et CATTERALL, W, A., (1989) -** *Pnuc, Natl Acad . Sci, USA*, 86, pp 10161-10165.
39. **VACHAN M., (1952)-** Etude sur les scorpions, P'IPA, Alger.

40. **VAZQUEZ H., CHEVEZ -HARO A., GARCIA-UBBELOHD W., MANCILLA NAVA R., PANIAGUA-SOLIC J., ALAGON A. et SEVEIK. C., (2005)-** Pharmacocinétique d'un anti-venin de scorpion F(ab')₂ chez un group de volontaires humains sains, *Toxicon* 46,pp 797-805.
41. **WERKMAN T. R., GUSTAFSON T. A., ROGOWSKI. R. S., BLAUSTEIN M. P., RAGAWSKI M A. et TIYWTAXIN K. A., (1993)-** structurally nowvel and highly patent K⁺ canal peptide toxin , interacts with α -dendrotoxin binding site on the. Cloned KV1-2K⁺ channel, *Mal, Pharmacal* .44-pp 430 - 436.
42. **ZLOTKIN E., KADOURI D., GORDON D., PELHATE M., MARTIN M F et ROCHAT H., (1985)-** *Archive. Biochimie .Biophysique* .240(2) pp ,877-887.
43. **ZLOTKIN E., MIRANDA F. et ROCHAT H., (1972)-** *Toxicon*10, pp 211-216.

Annexe

Fiche technique N° 01 : préparation d'eau physiologique NaCl 0.4%

| | |
|-------------------|-------|
| NaCl..... | 0.9 g |
| Eau distillé..... | 100ml |

Fiche technique N° 02 : préparation du tampon phosphate (1M, PH= 6.4 ; 7.3 ou 8)

| | |
|-------------------------------|--------|
| *Phosphate bipotassique (1M). | |
| Phosphate bi potassique..... | 174g |
| l'eau distillée en q s p..... | 1000ml |

* Phosphate mono potassique (1M).

| | |
|--------------------------------|-------|
| Phosphate mono potassique..... | 136g |
| l'eau distillée en q s p..... | 1000g |

Ajouter à la solution de Phosphate bi potassique (1M) une quantité de Phosphate mono potassique pour avoir le PH désiré.

Fiche technique N° 03 : préparation du tampon PBS (1M, pH=7.4).

| | |
|---|-------|
| Chlorure de sodium | 0.8g |
| Chlorure de potassium | 0.2g |
| Na ₂ HPO ₄ , 12H ₂ O (PM=358,14g)..... | 2.9g |
| Phosphate mono potassique (PM=136g)..... | 2.9g |
| L'eau distillée en q s p..... | 1000g |

Fiche technique N° 04 : préparation du tampon Carbonate – Bicarbonate de sodium (0,1M ; PH=7,4).

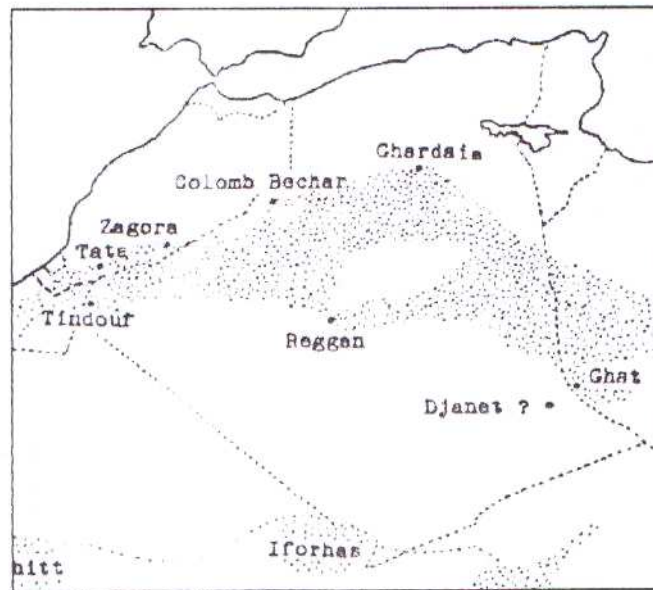
| | |
|---|--------|
| Carbonate de sodium (ou carbonate de sodium 10 fois hydraté)..... | 35g |
| Bicarbonate de sodium | 56g |
| l'eau distillée pou avoir un volume finale de | 1000ml |

Fiche technique N° 05 : préparation du la solution PBS-tween20 0.1%-Lait écrémé 5%

| | |
|------------------------------------|-------|
| PBS-tween ₂₀ 0,1% | 100ml |
| Lait écrémé..... | 5g |

Fiche technique N° 06 : préparation d'acétate de sodium (0.1M)-Chlorure de sodium (0.5M).

| | |
|-------------------------------|---------|
| Acétate de sodium | 8.203g. |
| Chlorure de sodium | 29.22g |
| L'eau distillé en q s p | 1000ml. |



La répartition de *Androctonus amoreuxi* en Algérie
(VACHON, 1952)