

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie HOUARI BOUMEDIENNE
Faculté des Sciences Biologiques



Mémoire

Présenté pour l'obtention du Diplôme de MAGISTER

En : Sciences de la Nature

Spécialité : Biochimie-immunologie

Par : ISHAK BOUSHAKI Wassila

Sujet :

Quantification d'antigènes toxiques et identification de profils
inflammatoires dans le cas de patients envenimés

Soutenue le 25 / 06 / 2012 devant le membre de jury suivant :

Mme C. TOUIL-BOUKOUFFA, Professeur (USTHB)

Présidente.

Mme F. LARABA-DJEBARI, Professeur (USTHB)

Directrice de thèse.

Mme D. HAMMOUDI-TRIKI, Professeur (USTHB)

Examinatrice.

Mme S. ADI-BESSALEM, Maître de conférence (USTHB)

Examinatrice.

Année universitaire : 2011-2012

REMERCIEMENTS

Au nom de dieu le clément et le miséricordieux

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH tout puissant, pour m'avoir donné la chance d'entreprendre le domaine de la recherche, sur l'envenimation scorpionique et de travailler à fin de contribuer, à alléger la souffrance de tous ces gens envenimés, que ce soit dans notre pays ou dans n'importe quelle partie du monde.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire de la Faculté des Sciences Biologique de l'U.S.T.H.B et au Laboratoire de Recherche et Développement sur les Venins de l'institut Pasteur d'Alger, sous la direction du Professeur Laraba-Djebari F.

Je tiens à exprimer tout particulièrement ma reconnaissance et mes vifs remerciements à ma directrice de thèse, Mme Laraba-Djebari F, Professeur à la Faculté des Sciences Biologiques (USTHB) pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et pour avoir accepté sans réserve, de diriger cette thèse.

Elle s'y est grandement impliquée par ses directives, ses suggestions judicieuses et ses conseils précieux, mais aussi par ses encouragements.

Je lui suis reconnaissante pour ses grandes qualités humaines. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je ne manquerais pas de remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail :

Je remercie Mme Touil-Boukoffa C, Professeur à la Faculté des Sciences Biologiques (USTHB) pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury.

A Mme Hamoudi-Trikî D, Professeur à la Faculté des Sciences Biologiques (USTHB) qui m'honore de sa présence dans le jury en acceptant d'examiner ce travail.

Je lui suis très reconnaissante pour ses conseils, ainsi que sa contribution technique.

A Mme Adi-Bessalem S, Maître de conférences à la Faculté des Sciences Biologiques (USTHB) pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Je la remercie pour son aide aimable au cours de la réalisation de ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je voudrais remercier l'ensemble du personnel de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), pour leur accueil et leur disponibilité.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous mes collègues du Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire de la FSB spécialement à SAIDI Hâjjer, BEKKARI Nadjia,

CHELGHOUM Hayet et ami (e)s de la post graduation, pour l'aide qui m'ont apporté, mais aussi pour les moments inoubliables qu'on a passé ensemble.

Je remercie tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse.

Enfin, je remercie du fond du cœur mes parents, mes frères et mes sœurs.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, pour leurs amour et sacrifices,

À mes adorables frères, sœur pour leur patience.

À mes belles sœurs, mes beaux frères, mes nièces et mes neveux.

À ma très chère amie Razika, son marie et ses enfants

À toute ma famille et mes amies

Wassila.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Introduction.....	1
I-Données Bibliographiques.....	3
I-1 Le scorpion.....	3
I-2 Le venin de scorpion.....	3
I-2-1 Toxines actives sur les canaux Na ⁺	4
I-2-2-1 Toxines de type	4
I-2-2-1 Toxines de type	5
I-2-2 Les toxines actives sur les canaux K ⁺	5
I-2-3 Les toxines actives sur les canaux Cl ⁻	6
I-2-4 Les toxines actives sur les canaux Ca ²⁺	6
I-2-2-2 Les peptides du venin de scorpion dépourvus de ponts disulfures.....	6
I-3Toxico-cinétique du venin de scorpion.....	6
I-4 Polymorphisme des gènes des toxines de scorpion.....	7
I-5 L'envenimation scorpionique.....	9
I-5-1 Épidémiologie.....	9
I-5-2 Symptômes et gradation clinique de l'envenimation scorpionique.....	9
I-6 Physiopathologie de l'envenimation scorpionique.....	10
I-6-1 Réponses toxicologiques induites par le venin de scorpion.....	10
I-6-1-1 Perturbations cardiovasculaires.....	12
I-6-1-2 Perturbations respiratoires.....	13
I-6-1-3 Modifications métaboliques.....	14
I-6-2 La réponse inflammatoire induite par le venin de scorpion.....	15
I-6-2-1 La réaction d'hypersensibilité immédiate.....	18
I-6-2-1-a La réaction anaphylactique	18
I-6-2-1-b La réaction anaphylactoïde	19

I-6-2-2 La myeloperoxydase.....	21
I-6-2-3 La peroxydase de l'éosinophile	22
I-6-2-4 Le monoxyde d'azote.....	23
I-6-2-5 La peroxydation des lipides.....	23
I-7 Traitement de l'intoxication scorpionique.....	25
I-7-1 Traitement spécifique	25
I-7-2 Traitement symptomatique de l'envenimation scorpionique.....	26
I.MATERIEL ET METHODES.....	27
-1-1 Matériel biologique	27
-1-1-1 Sérums de patients envenimés.....	27
-1-1-2 Sérums témoins.....	27
II-1-1-3 Le venin.....	27
II-1-1-4 Anticorps.....	27
II-1-1-5 Peroxydase.....	27
II-1-1-6 Souche bactérienne.....	27
-2 Méthodes.....	28
II-2-1 Etude des dossiers des patients envenimés.....	28
II-2-2 Quantification d'antigènes toxiques dans le sérum de patients envenimés.....	28
II-2-2-1 Détermination du titre en anticorps par ELISA simple.....	28
II-2-2-2 Préparation d'un conjugué spécifique anti- Aah.....	29
II-2-3 Etude de la réponse inflammatoire induite par l'envenimation scorpionique.....	29
II-2-3-1 Détermination du taux des immunoglobulines E sériques.....	29
II-2-3-2 Détermination de l'activité myeloperoxydase (MPO).....	30
II-2-3-3 Détermination de l'activité peroxydase de l'éosinophile (EPO).....	30
II-2-3-4 Dosage des nitrites et des nitrates.....	30
II-2-3-5 Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	32
III Résultats et discussion.....	33

III.1 Étude des dossiers des patients envenimés.....	33
III.1.1 Les caractéristiques épidémiologiques des patients envenimés.....	33
III.1.1.1 Age.....	33
III.1.1.2 Sexe.....	33
III.1.2 Caractéristiques cliniques des patients envenimés.....	35
III.1.2.1 Sièges de piqûre.....	35
III.1.2.2 Gravité de l'envenimation.....	35
III.1.2.3 Temps post piqûre.....	35
III.1.2.4 Signes cliniques.....	37
III.2 Quantification d'antigènes toxiques dans le sérum de patients envenimés.....	37
III.2.1 Détermination du titre en anticorps par ELISA simple.....	37
III.2.2 Préparation et détermination du titre en conjugué par ELISA simple.....	39
III.2.3 Quantification d'antigènes toxiques dans le sérum de patients envenimés par ELISA Sandwich.....	39
III.3 Evaluation de la réponse inflammatoire dans le sérum de patients envenimés.....	39
III.3.1 Dosage des IgE sériques ..	41
III.3.2 Détermination de l'activité myeloperoxydase (MPO).....	43
III.3.2.a Variation de l'activité myeloperoxydase de la MPO en fonction du temps post piqûre.....	43
III.3.2.b Variation de l'activité myeloperoxydase en fonction du grade.....	44
III. 3.2.c Variation de l'activité myeloperoxydase en fonction du siège de piqûre.....	45
III. 3.2.d Variation de l'activité peroxydase en fonction de l'âge.....	46
III.3.3 Détermination de l'activité peroxydase de l'éosinophile.....	47
III.3.3.a Variation de l'activité peroxydase de l'éosinophile en fonction du temps post piqûre (TPP).....	48
III.3.3.b Variation de l'activité sérique de l'éosinophile peroxydase en fonction de la gravité de l'envenimation.....	48
III.3.3.c Variation de l'activité de l'éosinophile peroxydase en	

fonction du siège de piqûre.....	50
III.3.3.d Variation de l'activité éosinophile peroxydase en fonction de l'âge.....	50
III.3.2.4 Corrélation entre la concentration des IgE sériques et les activités Myeloperoxydase et peroxydase éosinophilique.....	51
III.3.5 Détermination du taux du monoxyde d'azote.....	53
III.3.5.a Détermination du taux du NO en fonction du temps post pique.....	54
III.3.5.b Détermination de la variation du taux du NO selon la sévérité de l'envenimation...	54
III.3.5.c Variation de la concentration sérique du NO total en fonction du siège du piqûre.....	55
III.3.5.d Détermination de la variation de la concentration du NO et relation avec l'âge du patient.....	55
III.3.6. Etude de la peroxydation lipidique	58
III.3.6.a Variation de la concentration sérique en MDA en fonction de la gradation clinique.....	58
III.3.6.b Variation de la concentration sérique en MDA en fonction du siège de piqûre.....	58
III.3.6.c Variation de la concentration sérique en MDA en fonction de l'âge.....	58
III.3.7 Effet du traitement sur les activités mueloperoxydase, peroxydase éosinophilique et sur la concentration du NO	61
Discussion générale.....	63
Conclusion.....	70
Références Bibliographiques.....	72
-Annexe.	
-Résumés.	

Introduction

Introduction

Les piqûres de scorpions constituent dans de nombreux pays un accident fréquemment rencontré causant des risques graves. Chaque année, il est enregistré 40 000 cas de piqûres et une centaine de décès.

De nos jours, et malgré, le développement et la variété des méthodes et moyens de prise en charge, l'envenimation scorpionique est toujours considérée comme un véritable problème de santé publique. L'Algérie comme d'autres pays du Maghreb, du moyen orient et d'Amérique du sud est l'une des régions très touchée par ce fléau.

Selon les données épidémiologiques établies par l'Institut National de Santé Publique, la population exposée à l'envenimation scorpionique n'a cessé de croître particulièrement lors de la décennie écoulée (elle est estimée à 71,9% en 2010 alors qu'elle n'était que de 29,6% en 1997). Les régions touchées sont les 26 Wilaya du Sud (54,5%) avec 35 497 cas de piqûres de scorpions en 1997 (INSP, 1997), Au courant de l'année 2010, 38 Wilaya ont déclaré 49 574 cas de piqûres. Cependant La létalité par l'envenimation scorpionique, est passée de 0,36% à 0,14% entre 1997 et 2010, probablement due à une meilleure prise en charge.

Près de 1500 espèces de scorpions sont décrites à travers le monde, quelques unes seulement sont dangereuses pour l'homme. En Algérie, les espèces les plus dangereuses sont *Androctonus australis hector* (Aah) et *Buthus occitanus tunetanus* (Bot). Ces espèces induisent lors d'une piqûre l'apparition de symptômes divers tels que: douleur, sudation, hypotension, hypertension, fièvre. Une aggravation de l'état général de l'envenimé se traduit par un œdème pulmonaire suivi de troubles cardiaques (Hammoudi-Triki *et* Laraba-Djebari., 2003).

Les venins de scorpions responsables de l'apparition de ces symptômes sont des mélanges complexes de molécules, dont la plupart sont des peptides doués de différents types d'activités biologiques. Certains de ces peptides se lient à une variété de cibles pharmacologiques, en particulier les canaux ioniques résultant des effets neurotoxiques (Oukkache *et al.*, 2007)

Les venins de scorpions sont capables de stimuler les axes neuroendocrino-immunologiques par leur capacité à libérer les catécholamines, les corticostéroïdes, les bradykinines et les

prostaglandines. Tous ces agents induisent la libération des médiateurs immunologiques comme l'IL-1b et l'IL-6 (Chaudry *et al.*, 1989).

Le traitement de l'envenimation scorpionique est principalement basé sur l'immunothérapie associée à un traitement symptomatique, qui demeure le seul moyen utilisé pour combattre ce grave problème de santé publique.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à établir une étude épidémiologique sur 220 cas de piqûres de scorpions sur lesquels nous avons tenté à comprendre les mécanismes immunologiques déclenchés suite à une envenimation scorpionique et cela par :

- ✚ Une étude de la réponse inflammatoire induite après piqûre de scorpion, en évaluant des marqueurs immunologiques (IgE, les activités de la myeloperoxydase et de la peroxydase de l'éosinophile, le monoxyde d'azote et le malondealdehyde) chez des patients envenimés.
- ✚ Une corrélation entre les taux des marqueurs immunologiques et la gradation clinique des patients.
- ✚ Une corrélation entre les taux des marqueurs immunologiques et les facteurs de risque (temps post piqûre, siège de piqûre et l'âge du patient).
- ✚ une évaluation de l'efficacité des traitements administrés aux patients et leur impact sur les modifications immunologiques causés par l'envenimation scorpionique.

Données
bibliographiques

I-Données bibliographiques

I-1 Le scorpion

Les scorpions appartiennent au vaste ensemble des arthropodes, sous embranchement des chélicérates, de la classe des arachnides et de l'ordre des Scorpionidés. Les zoologistes tendent à distinguer deux sous-ordres de scorpions, les Buthoides (une seule famille les *Buthidae*) et les Chactoides (cinq familles). Les scorpions de la famille des *Buthidae* sont tous potentiellement dangereux (Martin-Eauclaire., 1999).

En Algérie, deux espèces sont responsables d'une morbidité élevée : *Androctonus australis hector* et *Buthus occitanus tunitanus*. Ces deux espèces diffèrent par leurs couleurs et leurs tailles (Laraba-Djebari., 1996). *Androctonus australis*, est un scorpion de couleur jaune ou brune, sa taille peut atteindre jusqu'à 10 cm (Legos et Avani., 1997). *Buthus occitanus*, est d'une teinte jaune paille, avec un abdomen légèrement plus sombre et une taille moyenne de 4 à 7cm (Vachon., 1952)

I-2 Les venins de scorpions

Le venin de scorpion est un liquide visqueux et opalescent, stable à pH acide et thermorésistant

Les venins de scorpions sont des mélanges biochimiques complexes (Martin-Eauclaire et Crest., 1995). Il contient une fraction non toxique comprenant des mucopolysaccharides, de faible quantité de phospholipases et hyaluronidases, des inhibiteurs de protéases et également de petites molécules actives comme la sérotonine et de l'histamine (Simard et Watt., 1990; Mueller., 1993). La fraction toxique est constituée essentiellement de peptides neurotoxiques.

Les premières neurotoxines caractérisées ont été purifiées en 1960 à partir des venins de deux espèces de l'Afrique du nord, *Androctonus australis hector* et *Bothus occitanus* (Miranda *et al.*, 1964)

Selon leur séquences en acides aminés, les toxines de venin de scorpions sont classées en toxines longues ou toxines courtes (Jover *et al.*, 1980; Couraud *et al.*, 1982; Laraba-Djebari., 1996)

En fonction de leur cible, quatre grande familles de toxines des venins de scorpions se distinguent: celles qui agissent sur les canaux Na^+ voltage dépendants, celles qui agissent sur les canaux K^+ , celles qui agissent sur les canaux Ca^{2+} et celles qui agissent sur les canaux Cl (Martin-Eauclaire *et Couraud.*, 1995; Cao-Zhijian., 2006).

I-2-1 Toxines actives sur les canaux Na^+

Les neurotoxines actives sur les canaux Na^+ voltage dépendant sont responsables de la quasi totalité de la symptomatologie induite lors d'une envenimation scorpionique (Possani *et al.*, 1999; Devaux *et al.*; 2002). Ces toxines sont constituées de 60 à 70 résidus d'acides aminés réticulés par quatre ponts disulfures.

Les neurotoxines sont capables d'exercer deux effets sur les canaux Na^+ : un effet diminuant l'inactivation et un autre prolongeant l'activation. En plus deux sites séparés ont été identifiés sur les canaux Na^+ , qui ont été responsable des deux effets différents trouvés. (Romey *et al.*, 1975; Bernard *et al.*, 1977; Catterall., 1979; Meves *et al.*, 1982; Wang *et Strichartz.*, 1982; Couraud *et al.*, 1982; Jaimovich *et al.*, 1982; Pelhate *et Zlotkin.*, 1982; Barhanin *et al.*, 1983; Carbone *et al.*, 1984)

Suivant leur fixation spécifique sur les sites 3 et 4 du canal Na^+ , les neurotoxines provoquent deux types de réponses pharmacologiques et sont classées en toxines α et β (Jover *et al.*, 1980 ; Couraud *et al.*, 1982)

Les toxines de type α

Les toxines de type α induisent une prolongation du potentiel d'action des nerfs et des muscles en ralentissant la phase d'inactivation des canaux Na^+ . Leur liaison au site 3 dépend du potentiel membranaire (Naharshi *et al.*, 1974 ; Romey *et al.*, 1975 ; Jover *et al.*, 1980; Martin-Eauclaire *et al.*, 1999)

Les toxines de type α peuvent être divisées en trois sous groupes selon leurs effets pharmacologiques: les toxines α classiques, les toxines α -like et les toxines α spécifiques des insectes (Bosmans *et al.*, 2007)

Les toxines α classiques sont très toxiques pour les mammifères. La plus active de ces toxines est la toxine *Aah II* du venin de scorpion *Androctonus australis hector* (Martin-Eauclaire *et al.*, 1999)

La toxine *Aah II* représente 50% de l'activité létale du venin, elle se fixe sur le site 3 du canal Na^+ voltage dépendants des cellules excitables (Jover *et al.*, 1980).

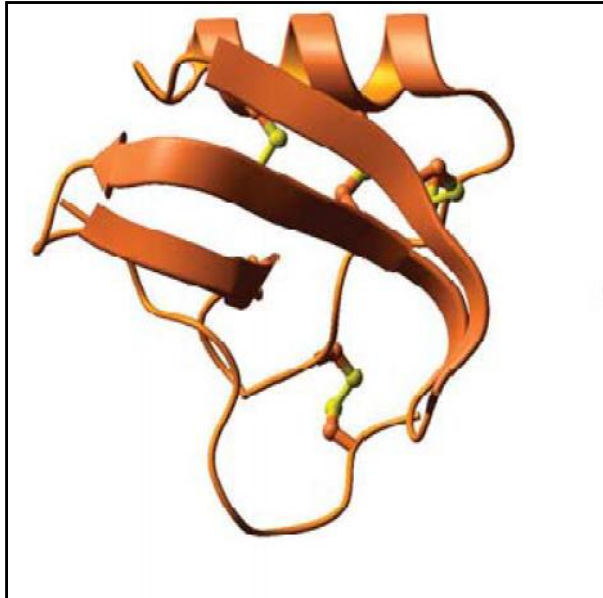


Figure 1: Structure tridimensionnelle de la toxine AaH II, toxine classique. Elle est composée d'une seule chaîne, possède un noyau très conservé, formé par une hélice et 3 feuillets stabilisés par quatre ponts dissulfures. Les résidus impliqués dans la région toxique sont: les cinq résidus autour de la région N terminale, la région C terminale et des résidus dans le feuillet (environ 40 résidus) (Housset *et al.*, 1998 ; Wang *et al.*, 2003).

Les toxines de type :

Les neurotoxines de type font partie de la classe de toxines qui change le potentiel membranaire en affectant l'activation des canaux Na^+ et cela suite à leur fixation sur le site 4 du canal (Jover *et al.*, 1980).

Les toxines de type ou présentent un effet synergique en se fixant sur les 2 sites du canal Na^+ (Bosmans *et al.*, 2007).

I-2-2 Toxines actives sur les canaux K^+ :

Les toxines de venins de scorpions actives sur les canaux K^+ sont composées de 20 à 70 résidus d'acides aminés (Jover *et al.*, 1980). Ces toxines sont présentes dans le venin en faible quantité (< 1 % du poids sec), et ne sont toxiques que par voie cérébro-ventriculaire. Ces sont de puissants agents convulsivants (Martin-Eauclaire *et al.*, 1999 ; Goyffon., 1999).

Plusieurs toxines actives sur les canaux K^+ ont été caractérisés à partir de nombreux venins (Legros *et al.*, 1998; Martin-Eauclaire *et al.*, 1999). La KTX2 et la KAaH1 sont les toxines

actives sur les canaux K^+ purifiées à partir du venin d'*Aah* (Laraba-Djebari *et al.*, 1994 ; Srairi-Abid., 2002).

I-2-3 Toxines actives sur les canaux Cl^- :

Les toxines de venins de scorpions actives sur les canaux Cl^- sont des polypeptides de faible masse moléculaire, composés de 35 à 38 résidus d'acides aminés réticulés par quatre ponts disulfures (Zhijian *et al.*, 2006).

I-2-4 Les Toxines actives sur les canaux Ca^{2+}

Plusieurs toxines actives sur les canaux Ca^{2+} ont été isolées à partir des venins de scorpions. Elles présentent une faible masse moléculaire et activent la libération du calcium intracellulaire.

I-2-5 Peptides de venins de scorpions dépourvus de ponts disulfures:

Les peptides de venins de scorpions sans ponts disulfures sont de nouveaux types de polypeptides bioactives comparés à ceux riches en ponts disulfures.. Ils sont formés de 13 et 50 résidus d'acides aminés présentant une faible homologie de séquences (Luo *et al.*, 2005; Zeng *et al.*, 2005). A ce jour, environ 26 peptides de ce type ont été décrits. Ce type de toxines représente une classe très importante de peptides bioactifs, caractérisées par des fonctions différentes (potentialisation de la bradykinine, activité antimicrobienne, initiation de la signalisation moléculaire et modulation immunitaire).

I-3 Toxicocinétique du venin de scorpion

La distribution du venin dans le compartiment extravasculaire est rapide, expliquant l'apparition précoce des symptômes.

Une étude sur la toxicocinétique et la toxicodynamique du venin d'*Aah* a montré une cinétique de distribution très rapide chez le rat avec une demi-vie d'élimination d'environ 13 minutes après injection intraveineuse et entre 35 et 53 minutes après injection sous-cutanée. Cette bio-distribution diffère selon la voie d'injection (intraveineuse ou sous-cutanée) (Hammoudi-Triki *et al.*, 2007).

Le venin injecté par voie intramusculaire se résorbe rapidement avec une forte constante d'absorption (K_a), le pic sérique maximal (T_{max}) est atteint au bout de quelques minutes avec une concentration sanguine maximale (Hmimou, 2004).

Le venin d'Aah a une cinétique très rapide et un temps d'élimination d'environ 13 minutes après injections par voie intraveineuse et entre 35 et 53 minutes après injection sous cutanée.

L'injection du venin par voie intraveineuse, permet aux composants du venin de se lier étroitement aux protéines plasmatiques et par conséquent avoir un faible volume de distribution alors que suite à l'injection par voie sous cutanée, la distribution des composantes du venin s'effectue en plus à travers le système lymphatique pour atteindre leurs cibles cellulaires à savoir les canaux Na^+ des cellules nerveuses (Hammoudi-Triki *et al.*, 2007).

Les toxines disparaissent plus rapidement de la circulation sanguine que les autres composants du venin (Devaux *et al.*, 2004).

I-4 Polymorphisme des gènes des toxines de scorpion :

Le polymorphisme et les variations quantitatives des toxines du venin d'Aah ont été étudié il y a déjà plus d'une vingtaine d'année à l'aide des techniques radio-immunologique et par RP-HPLC (El ayeb *et* Rochat, 1985; Martin *et al.*, 1987).

Une comparaison des séquences des toxines après leur alignement a été effectuée en utilisant l'algorithme de VectorNTI (Possani *et al.*, 1999, 2000; Alami *et al.*, 2003; Ali *et al.*, 2006; Arnon *et al.*, 2005; Chai *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2003; Corzo *et al.*, 2001; del Rio-Portilla *et al.*, 2004; Gong *et al.*, 1997; Goudet *et al.*, 2002; Hamon *et al.*, 2002; Jalali *et al.*, 2005; Sampaio *et al.*, 1996; Srinivasan *et al.*, 2001) (Figure 2). Toutes ces toxines possèdent un motif structurel commun composé d'une hélice et d'un feuillet (Fontecilla-Camps *et al.*, 1988). La conséquence de la variabilité de séquences est en faveur d'un large polymorphisme antigénique dans cette famille de protéines.

Dans le cas des deux espèces les plus dangereuses, *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) et *Androctonus australis hector* (Aah), les toxines sont classées en trois groupes antigéniques, représentés par AahI, AahII et BotI (Delori *et al.*, 1981).le second groupe antigénique contient les peptides les plus toxiques.

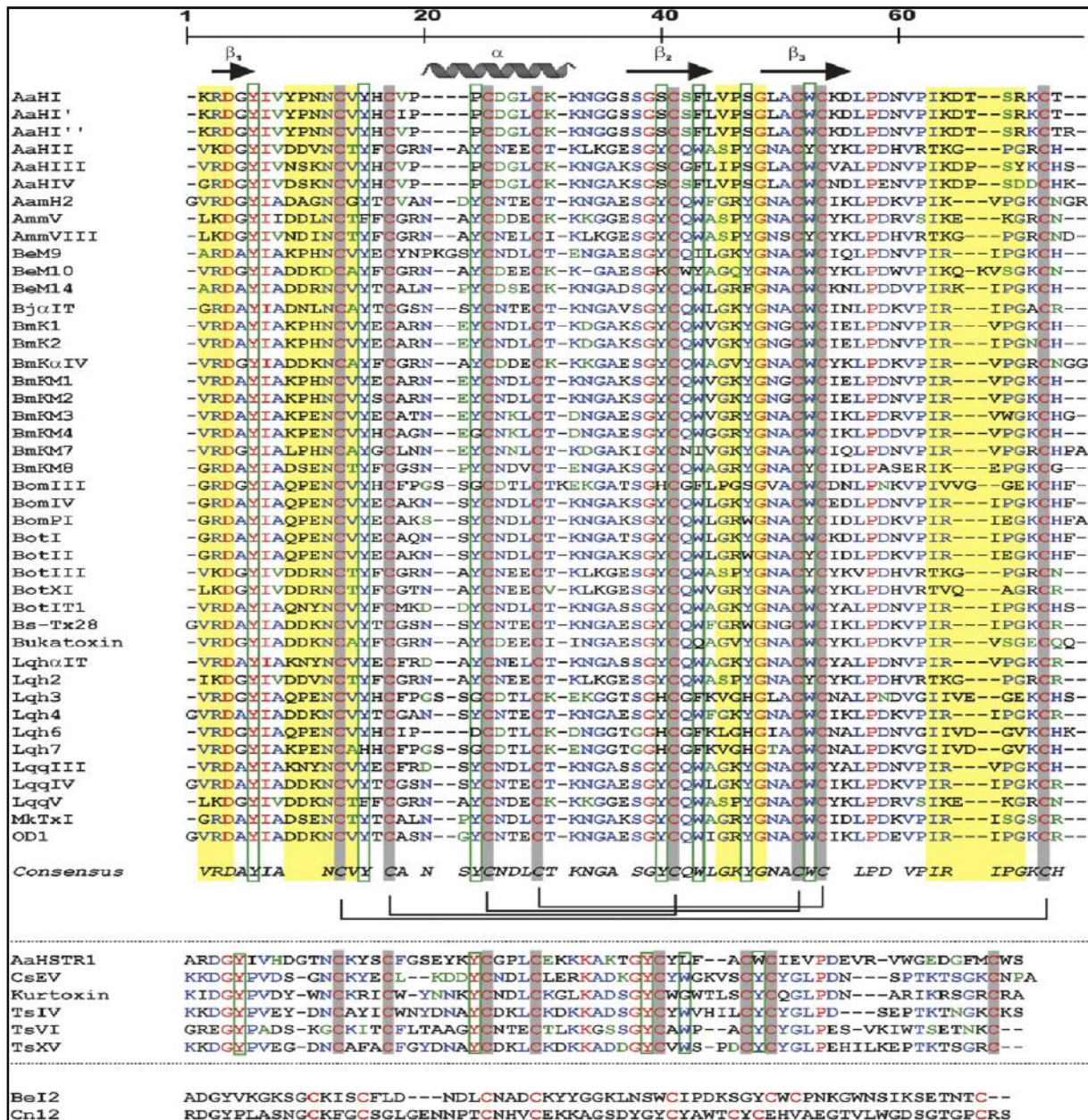


Figure 02 : Comparaison des séquences des différentes toxines des scorpions.

L'alignement montre que les toxines ont des séquences homologues, les ponts cystéines sont indiqués en bas du premier panneau (en dessous de la séquence consensus). Les résidus cystéines sont indiqués en rouge avec un fond gris. Les résidus hydrophobes qui sont important pour la structure/ fonction des toxines sont indiqués avec des cases vertes. Les zones jaunes affichent les trois régions importantes pour la fonction des toxines alpha de scorpion : La région N-terminale, le domaine RT-CT et la boucle entre les feuillets b2 et b3 ainsi que la glycine adjacente. La structure secondaire générale des toxines est indiquée en haut de ce panel. Le panneau du milieu et le panneau inférieur montre les toxines moins similaires.

I-5 Envenimation scorpionique

I-5-1 Epidémiologie

Les accidents par piqûres et leur corollaire l'intoxication scorpionique restent encore un problème de santé publique préoccupant en Algérie, en particulier dans les Wilayas du Sud et des Hauts plateaux. Ces accidents surviennent tout au long de l'année, prennent plus d'ampleur pendant la saison estivale (Juin, Juillet, Août et Septembre) avec 74 % des cas (INSP., 2010).

L'incidence annuelle est de 139 piqûres de scorpion pour 100,000 habitants avec une létalité de 0,14%. La répartition des cas de piqûre varie entre 49,3% dans les hauts plateaux, 44,7% dans le sud et 6% dans le tell. Les quatre wilayas Biskra, El oued, M'sila et Adrar sont les plus touchés (INSP., 2010).

La majorité des victimes sont des adultes cependant la létalité est quatre fois plus élevée chez l'enfant de moins de 15 ans (INSP., 2009).

I-5-2 Symptomatologie et gradation clinique de l'envenimation scorpionique

Lors d'une piqûre, une très petite quantité du venin est inoculée, elle est responsable de l'apparition de symptômes divers tels que sudation, salivation, hypertension et accélération du rythme cardiaque. Une aggravation de l'état général se traduira par des vomissements, des diarrhées, une torpeur, une baisse de la pression sanguine et du rythme cardiaque. Un œdème pulmonaire puis un arrêt cardiaque et pulmonaire peuvent survenir et aboutir à une issue fatale (Martin-Eauclaire., 1999).

Les symptômes de l'envenimation scorpionique sont en général la conséquence des effets combinés des différents composants contenus dans le venin de scorpion (Laraba-Djebari., 1996).

La symptomatologie générale est en rapport avec une action directe ou indirecte sur le système nerveux centrale (SNC) et autonome (SNA). Une stimulation du SNC donne des symptômes divers (irritabilité, rigidité musculaire, nystagmus, hyperthermie, hypothermie, altération de la vigilance, convulsion). La stimulation du SNA sympathique est responsable de la tachycardie, de l'hypertension, de mydriase, de sueurs profuses et de rétention urinaire. La stimulation du SNA parasympathique entraîne une hypersécrétion, un priapisme et myosis.

Un des effets sympathique ou parasympathique peut prédominer mais le plus souvent les effets sont mixtes.

Les facteurs de gravité d'une piqûre chez l'homme sont fonction de l'espèce de scorpion mise en cause (*Androctonus australis hector* étant l'espèce la plus dangereuse en Algérie), de sa taille (faible risque si inférieure à 3 cm), de sa nutrition, de la quantité de venin injecté, du site de piqûre, de l'âge de la personne piquée et enfin du délai de prise en charge (gravité significative pour un délai supérieur à 2 h 30) (Devaux *et al.*, 2004 ; Laïd *et al.*, 2009).

Une nouvelle classification des signes cliniques et des symptômes observés après piqûres de scorpions a été établie par un groupe d'experts de l'envenimation scorpionique. Afin de classer les patients sans ambiguïté, un consensus de classification a permis de regrouper tous les signes et les symptômes en trois classes (Tableau I) (Khattabi *et al.*, 2011).

Le terme de "Classe" a été retenu par les experts après analyse des fiches du consensus (Khattabi *et al.*, 2011).

I-6 Physiopathologie de l'envenimation scorpionique

La plupart des composants des venins de scorpions sont des peptides qui induisent à la fois des réponses toxicologiques et immunologiques (Martin-Eauclaire *et* Rochat., 1986; Isbister *et al.*, 2003 ; Adi-Bessalem *et al.*, 2008; 2011).

I-6-1 Réponses toxicologiques induites par le venin de scorpion :

Les manifestations toxiques après une exposition au venin de scorpion sont expliquées par la capacité des toxines du venin d'agir sur les canaux sodium ou potassium des terminaisons nerveuses, conduisant à la libération de neuromédiateurs qui peuvent stimuler plusieurs organes (Catterall, 1976; Romey *et al.*, 1975; Mozhayeva *et al.*, 1980; Barhanin *et al.*, 1982; Meves *et al.*, 1982; Carbone *et al.*, 1984 ; Freire-Maiaa *et al.*, 1989). Pour le scorpion *Androctonus australis hector*, plus de 90% de la toxicité du venin est due à trois neurotoxines. Ces neurotoxines interfèrent avec l'inactivation des canaux sodium voltage dépendant localisés sur les cellules excitables neuronales et myocardiques, elles provoquent une hyperexcitabilité membranaire entraînant ainsi la libération excessive de divers neurotransmetteurs (Catécholamine et acétylcholine) (Martin-Eauclaire *et* Rochat., 1986 ; Miranda *et al.*, 1970; Freire-Maia., 1989 ; Martin-Eauclaire *et al.*, 1999).

Tableau I : Classification des signes et symptômes de l'envenimation scorpionique.

Classe	Symptômes
Classe I Manifestations locales	Eruption bulleuse, Sensation de brûlure, Ecchymoses, Erythème, Hyperesthésie, Démangeaisons, Nécrose, Paresthésie, Douleur, Purpura, Pétéchies, Enflure, Fourmillement.
Classe II Manifestations mineures	Ballonnement abdominal, Agitation/ nervosité / excitation, Anisocorie, Arthralgie, Ataxie, Confusion, Convulsion, Diarrhée, Bouche sèche, Dystonie, Encéphalopathie, Fasciculation, Hémorragie gastro-intestinale, Hématurie, Maux de tête, Hypertension, Hyperthermie, Hypothermie, Lacrimation, Crampes musculaires locales, Myosis, Mydriase, Myoclonies, Nausées, Nystagme, Odinophagie, Pâleur, Pancréatite, Paresthésie générale, Priapisme, Ptose, Rhinorrhée, Salivation, Somnolence/ léthargie, Stridor, Transpiration, Tachycardie, Soif, Rétention urinaire, Vomissement, Sifflement.
Classe III Manifestations sévères. Présence au moins un des signes suivants.	<p>Défaillance cardiogénique: Hypotension, Arythmie ventriculaire, Bradycardie, Collapsus cardiovasculaire.</p> <p>Défaillance respiratoire : Cyanose, Dyspnée, Oedème pulmonaire.</p> <p>Défaillance neurologique : Score de Glasgow 6 (en l'absence de sédation), Paralyse.</p>

Cela perturbent les systèmes cardiovasculaires et respiratoires, ce qui pourrait conduire à la mort (Goyffon *et al.*, 1982).

I-6-1-1 Perturbations cardiovasculaires

La sévérité de l'envenimation scorpionique et le nombre élevé de mortalité spécialement chez les enfants, sont attribués principalement au dysfonctionnement cardiovasculaire.

Les effets cardiovasculaires induits par le venin de scorpion sont médiés par la stimulation du système nerveux autonome, avec prédominance de la stimulation sympathique et la libération des catécholamines tissulaires et médullaires (Ismail., 1995).

La réponse cardiovasculaire consécutive à l'envenimation se produit en deux phases : une première phase vasculaire périphérique, caractérisée par une augmentation de la pression artérielle (doublement de la pression artérielle moyenne) conduisant à des modifications structurelles et morphologiques altérant la performance du myocarde et une deuxième phase caractérisée par une hypotension tardive prolongée et qui pourrait conduire finalement à la mort (Abroug *et al.*, 1994). L'hypotension est probablement due aux effets cholinergiques du venin, à l'hypovolémie secondaire à la perte de liquide, et/ ou à la présence probable d'un grand nombre de substances vasodilatatrices, comme le monoxyde d'azote, les kinines, les prostaglandines et/ou les cytokines (Ismail., 1995; Sofer *et al.*, 1996; Barraviera., 1996; Magalhaes *et al.*, 1999; D'Suze *et al.*, 2003; Meki *et al.*, 2003; Fukuhara *et al.*, 2004; Abdel-Haleem *et al.*, 2006).

Sur le plan physiopathologique, l'induction du dysfonctionnement cardiaque résulterait probablement par trois types de mécanismes : une myocardite adrénérergique, une myocardite toxique et l'ischémie myocardique.

I-6-1-1-a La myocardite adrénérergique :

La myocardite adrénérergique est secondaire à un effet stimulant direct du venin sur les terminaisons nerveuses sympathiques et adrénérergiques. L'augmentation des catécholamines circulantes est une des hypothèses la mieux décrite. Elle a été confirmée par des études cliniques et expérimentales (Gueron *et al.*, 1969 ; Yarom *et al.* 1970; Zeghal *et al.*, 2000 ; Mazzei *et al.*, 2002 ; De Da'vila *et al.*, 2002 ; Abroug *et al.*, 2003).

Les effets toxiques des catécholamines sur le système cardiovasculaire sont dus à l'accumulation du Ca²⁺ intracellulaire avec une augmentation du rythme cardiaque, de la

pression artérielle et de la consommation d'oxygène cardiaque (Gueron *et al.*, 1970). L'effet hypertenseur est si prononcé et de longue durée qu'il est considéré comme le facteur étiologique majeur responsable au développement de l'insuffisance cardiaque et de l'œdème pulmonaire induits par le venin de scorpion (Gueron *et al.*, 1980, 1992; Gueron *et al.*, 1987; Freire-Maia *et al.*, 1974, 1978; Freire-Maia et Campos., 1989).

Parmi les conséquences de la myocardite adrénérgique après envenimation scorpionique, l'ischémie myocardique et qui peut être expliquée par l'effet des catécholamines qui augmentent la consommation d'oxygène (par augmentation de la force contractile et de la fréquence cardiaque au point de causer l'hypoxie myocardique) (Ismail *et al.*, 1976 ; Rahav *et al.*, 1990 ; Gueron *et al.*, 1990 ; Sofer., 1991 ; Bahloul *et al.*, 2005 et 2011).

I-6-1-1-b L'atteinte directe des cellules myocardiques

Plusieurs études ont montré l'effet direct du venin sur le myocarde (myocardite scorpionique) (Yarom *et al.*, 1971 ; Santhanakrishnan *et al.*, 1986 ; Wang *et al.*, 1994 ; Adi-Bessalem *et al.*, 2003).

L'action directe serait en rapport avec l'action du venin sur les canaux sodiques des cellules myocardiques entraînant une dépolarisation intense de celles-ci et changeant ainsi leurs perméabilités et leurs propriétés électriques (Teixeira *et al.*, 2001 ; Bahloul *et al.*, 2005).

I-6-1-2 Perturbations respiratoires

Le syndrome de détresse respiratoire secondaire à une piqûre de scorpion est l'une des causes conduisant à la mort de plusieurs patients, elle est le résultat d'un œdème pulmonaire aigu (OAP).

La genèse de l'OAP a fait l'objet de nombreuses publications défendant deux hypothèses, l'une hémodynamique liée à l'augmentation de la pression artérielle et à un dysfonctionnement ventriculaire gauche aigu (Azevedo *et al.*, 1979, 1983; Gueron *et al.*, 1980, 1990; Rahav *et al.*, 1990; Abroug *et al.*, 1991; Abroug *et al.*, 1995; Gueron *et al.*,

1996; Karnad., 1998 ; Teixeira *et* Teixeira., 2003; Petricevich., 2004). L'autre hypothèse humorale liée à l'augmentation de la perméabilité vasculaire suite à la libération de médiateurs inflammatoires tels que le facteur activateur des plaquettes (PAF), les leucotriènes et les prostaglandines (Freire-Maia *et al.*, 1978, 1994; Freire-Maia *et* De-Matos., 1993; Amaral *et al.*, 1993, 1994; De-Matos *et al.*, 1997; Amaral *et* Rezende., 1997; D'Suze *et al.*, 1999; De-Matos *et al.*, 2001; Andrade *et al.*, 2002, 2004). Certaines études soulignent la possibilité d'une origine mixte hémodynamique et lésionnelles (RahavG *et* Weisst., 1990; Sofers *et al.*, 1996).

Plusieurs facteurs sont souvent associés avec le diagnostic de l'œdème pulmonaire : le jeune âge, la tachypnée, l'agitation, les sueurs où la présence de concentrations protéiques plasmatiques élevées représentant un signe prédictif de survenue de l'œdème pulmonaire chez les patients piqués par le scorpion (Bahloul *et al.*, 2011).

I-6-1-3 Modifications métaboliques

La perturbation biologique principale, observée dans des phases précoces et pendant toutes les phases de l'envenimation scorpionique, est l'hyperglycémie (2 à 2.5 g /l). Cette hyperglycémie est due soit à l'effet stimulant des catécholamines, du glucagon et du cortisol, sur la glycogénolyse, soit à la stimulation des récepteurs alpha par les toxines conduisant à une réduction de la sécrétion d'insuline, la libération des acides gras et l'accumulation des radicaux libres (Sofer *et al.*, 1992 ; Meki *et al.*, 2003). L'hyperglycémie joue un rôle important dans la genèse de l'atteinte cardiaque dans le cas d'envenimation scorpionique (Bahloul *et al.*, 2005).

D'autres modifications métaboliques ont été également observées lors des envenimations accidentelles et expérimentales. Des variations d'activités enzymatiques (CK, PAL et LDH), conséquence de la libération de neuromédiateurs et/ou de lésions tissulaires chez des souris envenimées par le venin d'Aah, ont été rapportées (Adi-Bessalem *et al.*, 2003). Des taux élevés de CPK, CPK-MB, LDH et de la Troponine cardiaque I (cTn I) ont été aussi trouvés chez des enfants envenimés (Meki *et al.*, 2003). Des troubles électrolytiques généralement modérés, une hyponatrémie, une hyperkaliémie et une hypocalcémie, des perturbations des transaminases sont également notés (Bahloul *et al.*, 2004).

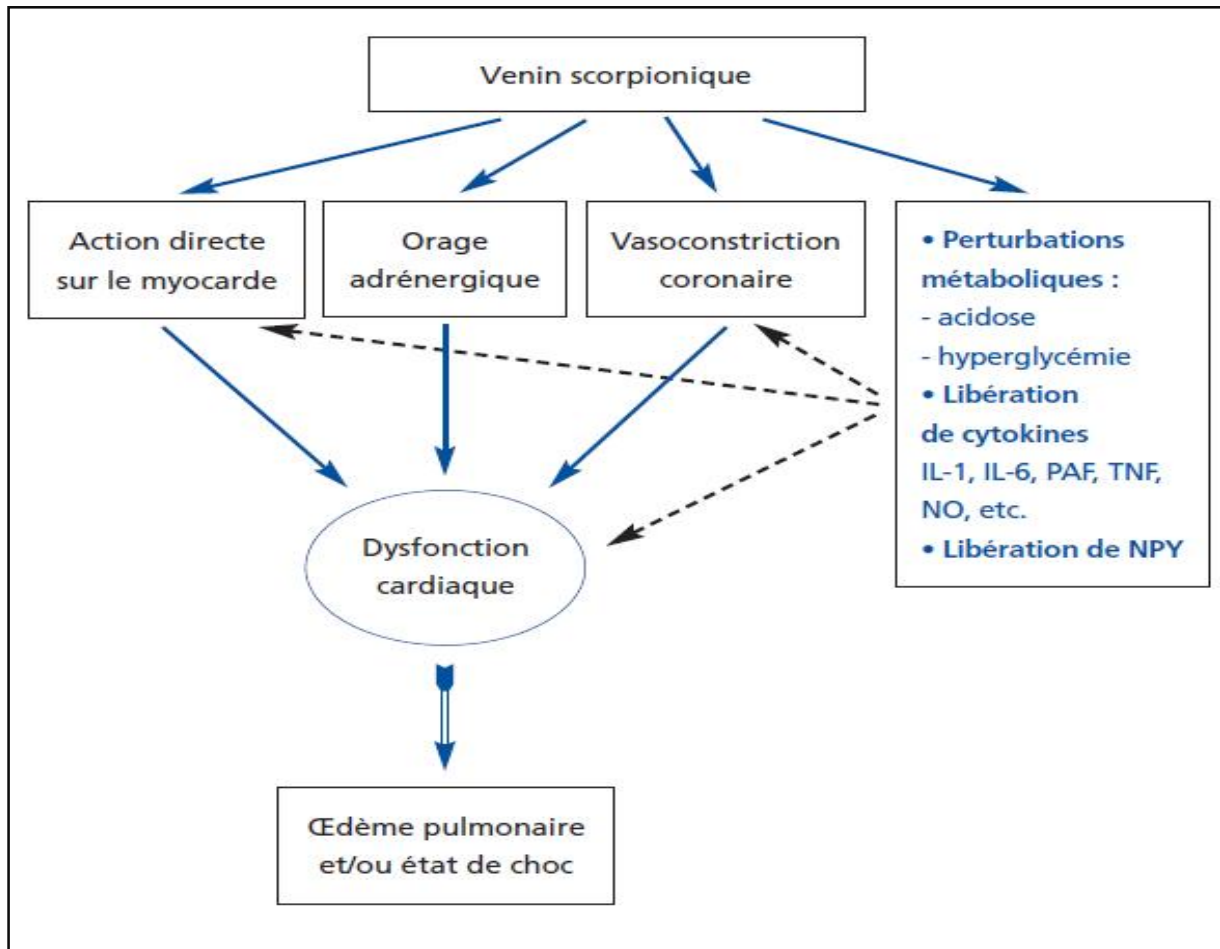


Figure 03: Physiopathologie de l'atteinte cardiaque lors des envenimations scorpioniques graves (Bahloul *et al.*, 2005).

I-6-2 La réponse inflammatoire induite par le venin de scorpion :

La sévérité de l'envenimation scorpionique et le nombre élevé de mortalités notamment chez les enfants, a été attribué principalement au dysfonctionnement cardio-respiratoire, cependant il semble que l'envenimation scorpionique est l'un des processus non infectieux pouvant entraîner un syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS) ce qui pourrait conduire à une défaillance multi-viscérale (MOF) (D'Suze *et al.*, 1999; Novoa *et al.*, 2003).

Plusieurs auteurs suggèrent que le venin de scorpion affecte le système immunitaire par la mobilisation des leucocytes et la stimulation de la libération de plusieurs médiateurs inflammatoires tels que le facteur activateur des plaquettes (PAF), les leukotriènes, les prostaglandines, les cytokines (Magalhaes *et al.*, 1999; De Matos *et al.*, 2001; Sofer *et al.*,

1996; Meki et Mohey El-Dean, 1998; Matos *et al.*, 1999; Petricevich *et* Pena., 2002; Petricevich., 2002, 2004; D'Suze *et al.*, 2003; Fukuhara *et al.*, 2003; Hammoudi-Triki *et al.*, 2004 ; Adi-Bessalem *et al.*, 2011). Les études ont rapporté la corrélation entre la sévérité du syndrome clinique, les manifestations systémiques et la réaction inflammatoire massive et précoce due à la sécrétion de taux élevés de cytokines (IL-1, IL-8, IL-6, TNF-alpha, INF gamma et IL-1-alpha) (D'Suze *et al.*, 2003; Hammoudi-Triki *et al.*, 2004).

Les médiateurs inflammatoires notamment les cytokines (l'IL-6, l'IL-10 et le TNF-) sont libérés suite à la stimulation du système nerveux autonome par les toxines de scorpion (avec une prédominance de la stimulation du système nerveux sympathique) et la libération massive des catécholamines, des corticoïdes et des prostaglandines (Ismail *et al.*, 1994 ; Ismail *et al.*, 1999 ; Krifi *et al.*, 1998 ; Hammoudi-Triki *et al.*, 2004).

L'apparition de symptômes (la fièvre, la tachycardie, la douleur, les perturbations métaboliques, l'hyperleucocytose, l'hyperglycémie,...) peut être attribuée au rôle des médiateurs inflammatoires dans la genèse ou l'aggravation des manifestations systémiques (Fukuhara *et al.*, 2003 ; Scharf *et al.*, 2002 ; Meki *et al.*, 2003; Hammoudi-Triki *et al.*, 2004).

Les cytokines jouent un rôle important du fait de l'activation d'un certain nombre de cellules telles que les cellules endothéliales, les myocytes et les monocytes macrophages. Les cellules endothéliales et les myocytes activés synthétisent le monoxyde d'azote, mais aussi les chémokines, responsables de l'activation et de l'attraction des leucocytes (D'Suze *et al.*, 2003).

De nombreuses études cliniques et expérimentales suggèrent le rôle des cytokines (TNF-alpha, IL-1, IL-2, IL-6, et Platelet Activating Factor) dans les troubles cardiovasculaires par leur action directe sur les myocytes cardiaques en diminuant leur contractilité (Brady *et al.*, 1992 ; Hering *et al.*, 1993 ; Parillo *et al.*, 1993 ; Cain *et al.*, 1999). En plus de leur rôle dans l'atteinte cardiaque, les cytokines sont aussi impliquées dans la formation de l'œdème pulmonaire. Des études expérimentales ont montré que l'altération de la fonction pulmonaire et l'augmentation de la perméabilité vasculaire sous l'action du venin d'Aah, sont accompagnées par un œdème protéique alvéolaire, des concentrations élevées de cytokines (IL-1, IL-6, et TNF) et une infiltration des cellules inflammatoires dans le sang périphérique (Adi-Bessalem *et al.*, 2008; Sami-Merah *et al.*, 2008).

Ces données confirment l'induction de la réponse inflammatoire par les constituants du venin cependant les mécanismes qui sous-tendent son l'activation de la cascade inflammatoire reste encore à élucider.

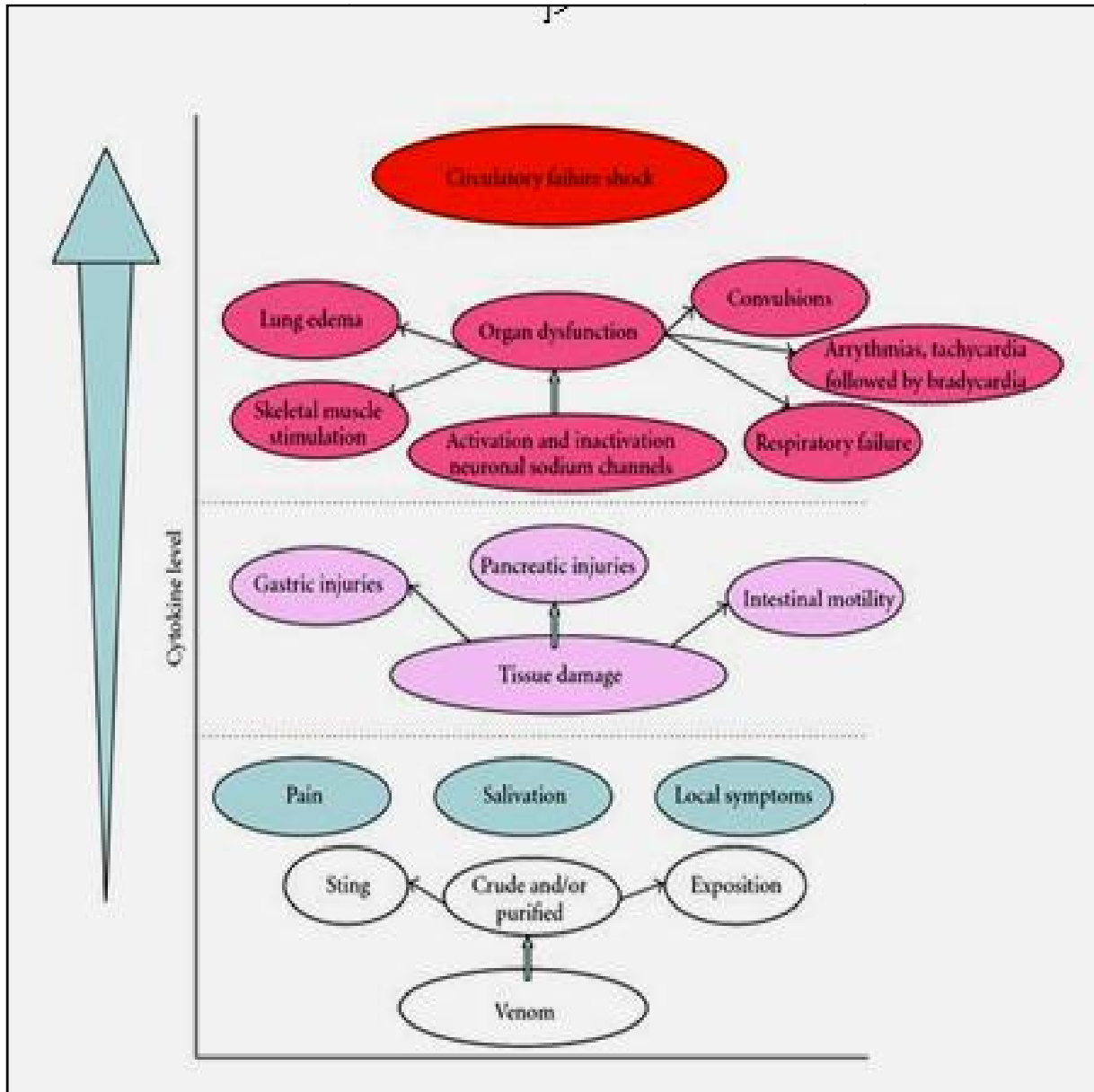


Figure 04: Implication des cytokines dans la physiopathologie de l'envenimation scorpionique (Petricevich *et al.*, 2010).

I -6-2-1 La réaction d'hypersensibilité immédiate:

L'apparition d'une réaction inflammatoire de type allergique est la conséquence d'un état d'hypersensibilité dont le but initial est de lutter contre une agression spécifique, mais cette réaction de défense échappe au contrôle des mécanismes immuno-physiologiques. Le rôle de l'immunoglobuline E (IgE) dans les phénomènes allergiques, comme seul marqueur du mécanisme de la réponse allergique n'est manifestement pas compatible avec les connaissances actuelles. Parmi les réactions d'hypersensibilité immédiate, il y a la réaction anaphylactique et la réaction anaphylactoïde.

I -6-2-1-a La réaction anaphylactique

Le choc anaphylactique est une réaction d'hypersensibilité immédiate exacerbée, entraînant dans la plupart des cas de graves conséquences engageant le pronostic vital. Le choc anaphylactique met en jeu les immunoglobulines E (IgE) qui induisent la dégranulation des mastocytes tissulaires (ou des basophiles sanguins) et la libération de différentes molécules effectrices tels que l'histamine, les protéases, les cytokines ou les leucotriènes (LT) (Robinson *et al.*, 1998; Ponvert., 2000).

Différentes cytokines sont impliquées dans le contrôle de la synthèse des IgE en agissant comme agoniste ou antagoniste (Bernard *et al.*, 1998) (Figure 05).

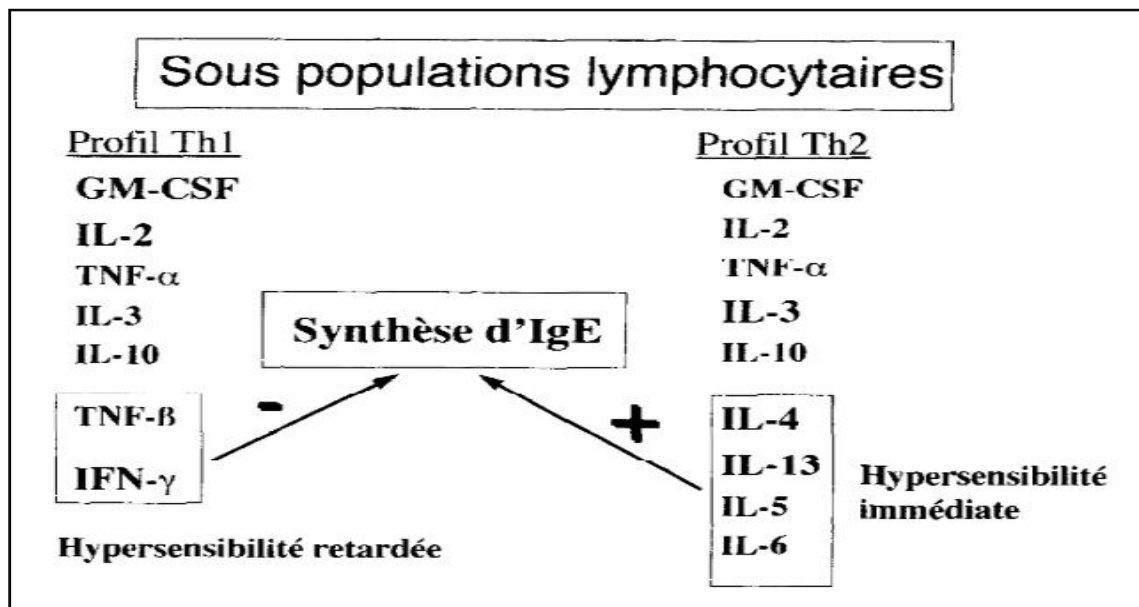


Figure 05: Régulation de la synthèse des IgE par les cytokines (Bernard *et al.*, 1998).

Une étude de sur des patients envenimés par *Androctonus australis Hector* montre que les réactions d'hypersensibilités médiées par les IgE peuvent se produire chez certains patients (Leynadier *et al.*, 1997).

I -6-2-1-b La réaction anaphylactoïde

Le choc anaphylactoïde est une réaction qui présente le même tableau clinique de la réaction anaphylactique mais sans implication des IgE. Il est médié par les complexes immuns solubles, mettant en jeu les IgG, les IgM et les éléments du complément. Un mastocyte ou un polynucléaire basophile seul peut donner ce type de réaction allergique et ce, dès le premier contact avec l'allergène entraînant des destructions tissulaires pouvant être localisées ou généralisées (Ponvert., 2000 ; Robinson *et al.*, 1998) (Figure 06).

Les réactions anaphylactique et anaphylactoïde associent plus ou moins complètement, et selon une chronologie, des signes cutanés (urticaire et angio-œdème), respiratoires (bronchospasme et/ou œdème laryngé) et cardiovasculaires (hypotension plus ou moins profonde, tachycardie réactionnelle et, parfois, arrêt cardiaque). Des troubles neurologiques (confusion, crises convulsives, parfois coma), résultant de l'anoxie cérébrale, peuvent être observés dans le cas de chocs sévères (Robinson *et al.*, 1998).

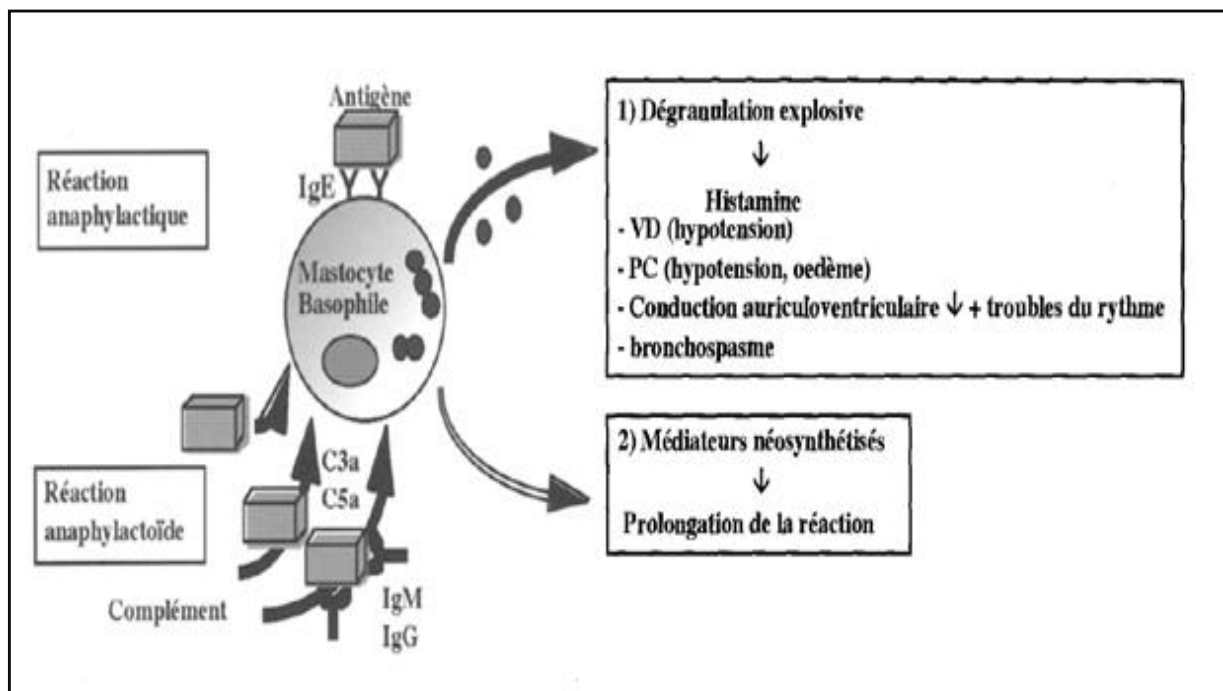


Figure 06: Schéma des mécanismes de réactions anaphylactique et anaphylactoïde (Ponvert., 2000).

Les mastocytes et les basophiles, sous stimulation par un allergène, déchargent des médiateurs préformés stockés dans les granules cytoplasmiques (dégranulation), synthétisent et secrètent de médiateurs néoformés, essentiellement de nature lipidique et dérivés de membrane cytoplasmique (Dessaint *et al.*, 1993). Ces médiateurs primaires ont différentes actions qui peuvent être regroupées en trois catégories :

-Vasodilatation et œdème induits par les activateurs inflammatoires (histamine, tryptase et bradykinines).

-Contraction des muscles lisses bronchiques causée par les spasmogènes (histamine, prostaglandine D2, leucotriènes LTC4 et LTD4).

-Activation et recrutement d'autres cellules inflammatoires comme les neutrophiles et les éosinophiles et cela par la libération des facteurs chimiotactiques. Les neutrophiles et les éosinophiles activés libèrent aussi des médiateurs secondaires de l'anaphylaxie comme le HRF (histamine-releasing factor) et un certain nombre d'enzymes provoquant inflammation et destruction cellulaire (Robinson *et al.*, 1998) (Figure 07).

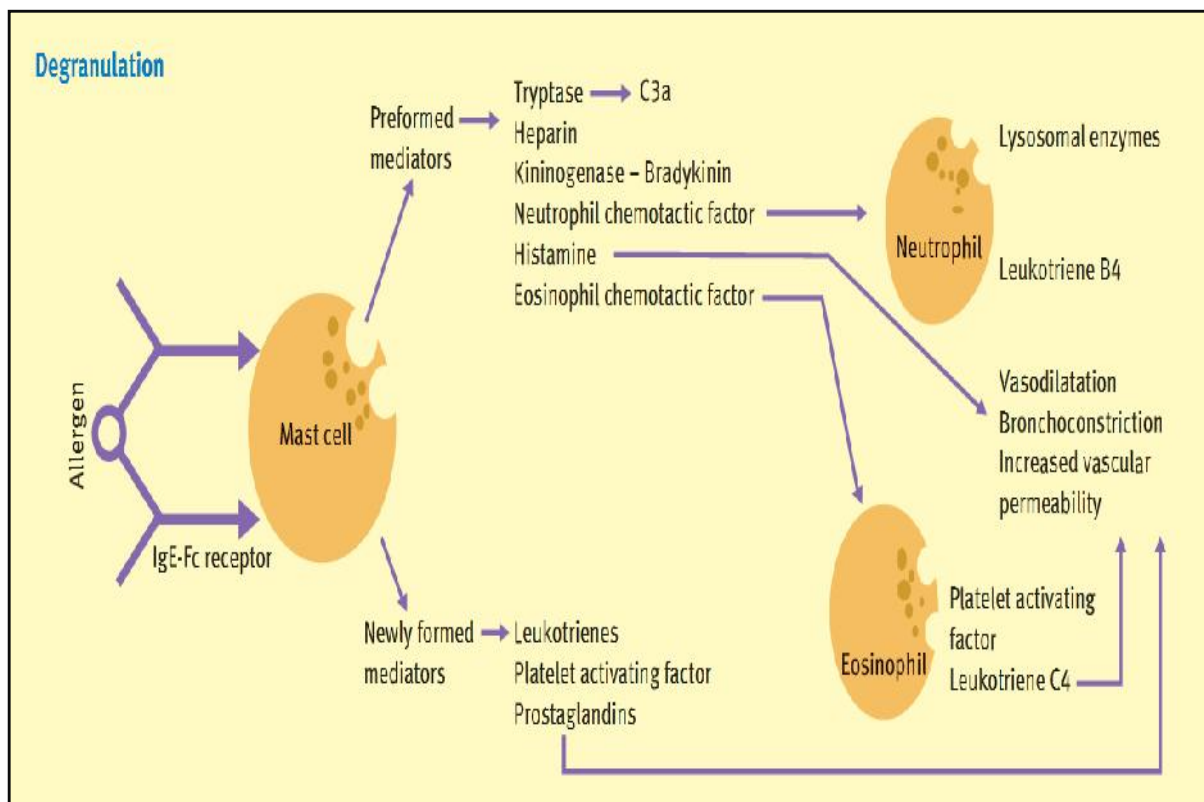


Figure 07: Dégranulation massive des IgE-dépendants des mastocytes et libération rapide et brutale de médiateurs divers (Robinson *et al.*, 1998).

Parmi les enzymes libérées par les neutrophiles et les éosinophiles activés, il y a la myeloperoxydase et la peroxydase de l'éosinophile. Des études expérimentales ont montré l'implication de ces deux enzymes dans la réponse inflammatoire induite par le venin de scorpion (Adi-Bessalem *et al.*, 2011).

I-6-2-2 La myeloperoxydase (MPO)

La MPO est une peroxydase hémique, présente en concentrations importantes (2 à 5 % en poids) dans les granules primaires des cellules polymorphonucléaires neutrophiles (PNN) (Tobler *et* Koeffler, 1991 ; Borregaard *et* Cowland, 1997 ; Klebanoff, 1999). Elle se trouve également en concentration plus faible dans les monocytes, mais sa présence devient indétectable lors de la maturation en macrophages (Mathy-Hartert *et al.*, 1996).

La MPO présente une activité de chloration, utilisant le peroxyde d'hydrogène et les ions chlorures pour former l'acide hypochloreux (HOCl), un oxydant fort, capable de chlorer les molécules (Serteyn., 2003).

Au cours d'une activation normale des polynucléaires neutrophiles, l'activité de la MPO s'exerce dans les vacuoles intracellulaires et seules des quantités limitées de MPO sont libérées dans le milieu extracellulaire (Eiserich *et al.*, 1998). Lorsque la réaction inflammatoire devient incontrôlée, la dégranulation massive et la mort des neutrophiles relâchent la MPO et des enzymes protéolytiques dans le milieu extracellulaire ou au contact d'autres cellules avec un risque de lésion locale (Serteyn., 2003).

Les propriétés pro-inflammatoires de la MPO sont liées à plusieurs rôles :

- La MPO est capable d'affecter le recrutement des neutrophiles par ses propriétés chimiotactiques. Elle semble être capable de faciliter la migration cellulaire soit en diminuant les interactions électrostatiques entre la surface des neutrophiles et la surface des cellules endothéliales (Marcie *et al.*, 2011) , soit en exerçant un effet cytotoxique sur les cellules endothéliales ou sur les fibroblastes et cela en produisant en présence du peroxyde d'hydrogène un afflux local d'espèces actives de l'oxygène (agression oxydante) entraînant des lésions des parois vasculaires (Weiss *et al* 1989 ; Klinke *et al.*, 2011).
- La MPO en présence du HOCl active le facteur nucléaire NF- κ B ce qui peut augmenter l'expression de médiateurs de l'inflammation (Schoonbroodt *et al.*, 1997 ; Nys *et al.*, 2002).

- Libérée par la dégranulation des neutrophiles au site inflammatoire, la MPO produit localement des espèces oxydantes diffusibles qui vont influencer les fonctions des cellules voisines (Serteyn *et al.*, 2003).
- Le système MPO/H₂O₂/Cl⁻ perturbe les fonctions de prolifération et de production d'anticorps des lymphocytes B, et les fonctions cytolytiques des lymphocytes T et du Naturel Killer (El-Hag *et Clark.*, 1987).
- La MPO est cytotoxique pour les hématies, elle active la stimulation des plaquettes et peut oxyder les neutrophiles (Klebanoff., 1999 ; Serteyn *et al.*, 2003).

I-6-2-3 La peroxydase de l'éosinophile (EPO):

L'éosinophile activé est une cellule plurifonctionnelle complexe. En tant que cellule effectrice inflammatoire, ses fonctions cytotoxiques sont liées à sa capacité à libérer des médiateurs inflammatoires protéiques préformés ou des médiateurs lipidiques néosynthétisés (Couissinier., 2006).

Sous l'effet de stimulis solubles ou particuliers, l'éosinophile va libérer au sein des tissus qu'il infiltre, des médiateurs inflammatoires contenus dans ses granules intra-cytoplasmiques (protéines toxiques telles que la protéine cationique éosinophilique (ECP), la peroxydase éosinophilique (EPO), la protéine basique majeure (MBP), la neurotoxine (EDN) et des médiateurs lipidiques néosynthétisés, etc... (Couissinier., 2006)

L'EPO fait partie de la famille des haloperoxydases, elle est constituée de 2 chaînes polypeptidiques, une chaîne lourde et une chaîne légère. Elle génère en présence de peroxyde d'hydrogène et d'halogénures ou de bromures, des acides hypohalogènes et de l'oxygène singulet. Ces radicaux libres sont extrêmement instables et oxydants, ce qui explique son activité bactéricide et cytolytique.

L'EPO est un médiateur caractérisé par des propriétés pro-inflammatoires et cytotoxiques.

- ✓ Elle stimule la production des interleukines 6 et 8 et du GM-CSF par les cellules épithéliales bronchiques humaines (Ponvert., 2000).

- ✓ L'EPO comme d'autres enzymes (MBR, EDN et ECR) exerce des effets cytotoxiques (Lésions des épithéliums cutané et muqueux), pro-inflammatoires (chimiotactisme et activation des mastocytes, des basophiles et d'autres cellules effectrices) et neurotoxiques (activation des terminaisons nerveuses parasympathiques) (Ponvert., 2000).

I -6-2-4 Monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote est un radical libre synthétisé à partir de l'acide aminé L-arginine par une famille d'enzymes, les NO synthases. Le monoxyde d'azote est un médiateur, un modulateur et une entité physiopathologique (Moncada., 1992). La forme inductible de la NO synthase libère des taux élevés de NO en réponse à une endotoxine et à des médiateurs inflammatoires telles que l'IL-1b et l'IL-6 (Endo *et al.*, 1996).

Le NO joue un rôle central dans la physiopathologie de plusieurs systèmes, y compris l'envenimation scorpionique. Des taux élevés de NO ont été déterminés dans les sérum de patients envenimés par le scorpion *L. quinquestriatus* et chez des souris exposées au venin de *T. serrulatus*, et dans le surnageant des macrophages traités par le venin de *T. serrulatus* (Petricevich *et al.*, 2002 et 2004).

Le NO est impliqué dans plusieurs phénomènes vasculaires durant l'inflammation et il est impliqué dans la fonction effectrice des lymphocytes (Stuehr *et Nathan.*, 1989; Di *et al.*, 1990; Radomski *et al.*, 1990; Karupiah *et al.*, 1993). Certaines manifestations cliniques notamment cardiovasculaires paraissent liées à la production endogène de monoxyde d'azote induite par l'histamine ou par les cytokines (Mitsuhata *et al.*, 1995; Kumar *et al.*, 1996).

I -6-2-5 La peroxydation des lipides

Le stress oxydatif peut être la cause ou la conséquence de la réponse inflammatoire (Pasquier *et al.*, 1995). Il est caractérisé par une surproduction des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des espèces réactives de l'oxygène radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique.

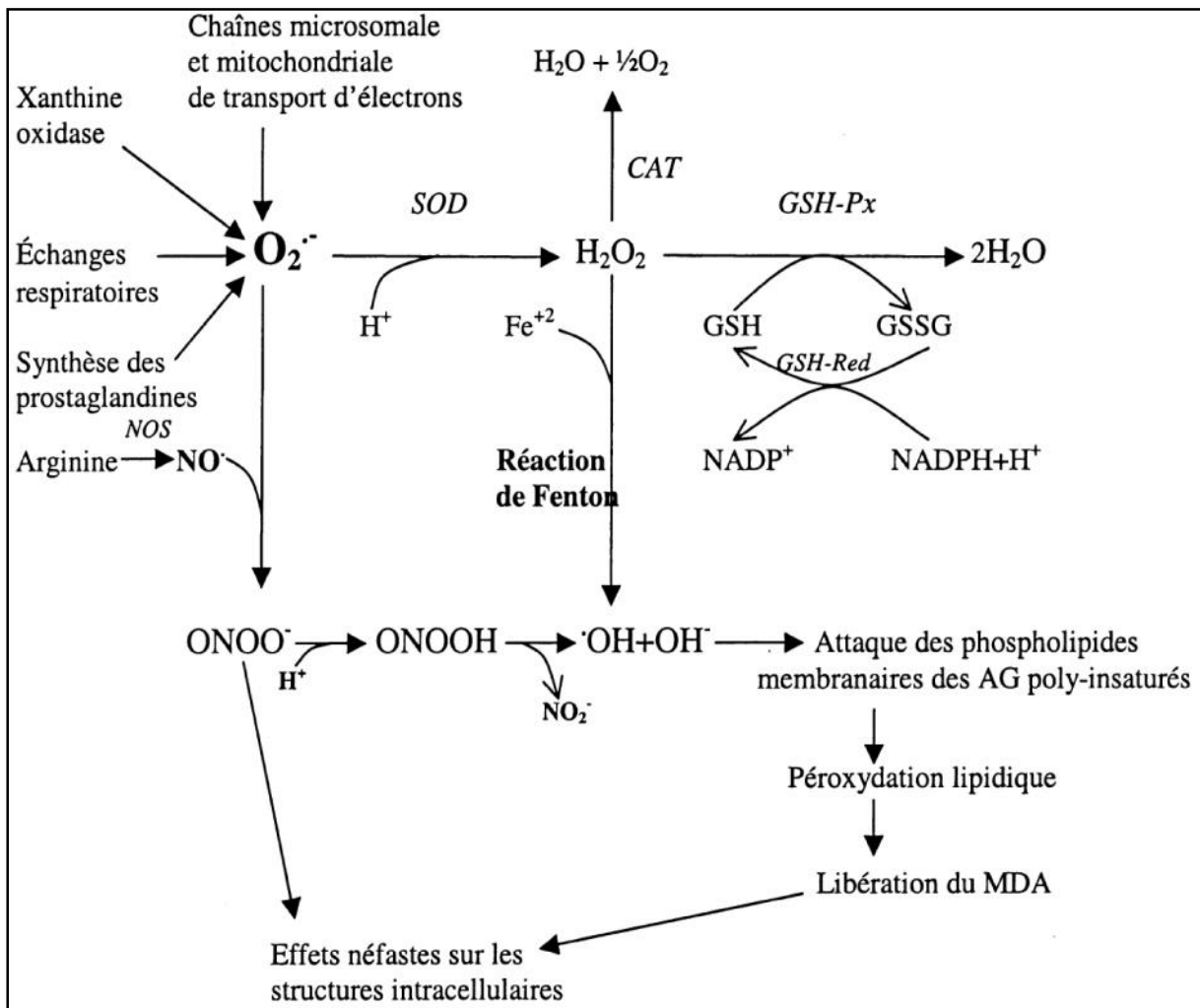


Figure 08: Représentation schématique du système des enzymes anti-oxydantes et de la chaîne de la peroxydation lipidique (Marnett., 1999).

$O_2^{\bullet-}$: anion superoxyde, O_2 : molécule d'oxygène, H^+ : ion hydrogène, H_2O : eau, SOD : superoxyde dismutase, CAT : catalase, H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène, GSH-Px : glutathion peroxydase, GSH : glutathion réduit, GSSG : glutathion oxydé, GSH-Red : glutathion réductase, NADPH+ H^+ : adenine dinucléotide phosphate nicotinamide réduit, NADP $^+$: adenine dinucléotide phosphate nicotinamide, Fe^{+2} : ion ferreux, OH^- : ion hydroxyle, $\bullet OH$: *radical hydroxyl* (le plus puissant des radicaux oxygénés libres), NOS : *nitric oxide synthetase*, NO : monoxyde d'azote, $ONOO^-$: peroxyde nitrique, MDA : malondialdéhyde (le dernier produit de la peroxydation lipidique des phospholipides de la membrane), NO_2^- : nitrite, AG : acides gras.

La peroxydation de lipides fournit une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur (Marnett., 1999).

En tant que dialdéhyde, le MDA entre dans les réactions croisées avec des protéines, réagit avec l'ADN, inactive la ribonucléase et induit des abérations chromosomiques (Garait., 2006 ; Michel *et al.*, 2008 ; Yaacoub., 2009). La peroxydation lipidique induit une modification de l'excitabilité des membranes (Garait., 2006).

I-7 Traitement de l'intoxication scorpionique

Le traitement de l'envenimation scorpionique consiste en l'administration de plusieurs traitements symptomatiques. L'immunothérapie demeure l'approche la plus spécifique et la plus utilisée (Ismail, 1994; Dehesa-Davila *et Possani*, 1994; Rezende *et al.*, 1998 ; Krifi *et al.*, 1999).

I-7-1 Traitement spécifique

La sévérité de l'envenimation scorpionique et la diffusion rapide des toxines du venin nécessite un traitement spécifique par l'immunothérapie, elle demeure le seul traitement des envenimations scorpioniques sévères.

La sérothérapie ou immunothérapie passive est un traitement consistant en l'administration d'anticorps spécifiques d'origine équine qui vont se combiner aux molécules du venin entraînant ainsi leur neutralisation. La plupart des sérums anti-scorpioniques sont des fragments d'immunoglobulines purifiés F(ab')₂ (100KDa), qui réduisent les effets indésirables.

Les fragments Fab sont de petits fragments d'anticorps monovalents de faible poids moléculaire (50KDa), caractérisés par une cinétique rapide, un large volume de distribution ainsi qu'une élimination plus rapide que l'anti-venin conventionnel F(ab')₂ (Russell *et al.*, 1985 ; Consroe *et al.*, 1995). Des études expérimentales ont montré que l'association des fragments d'anticorps F(ab')₂ et Fab améliore l'efficacité du traitement anti-scorpionique comparé à l'administration des fragments d'anticorps F(ab')₂ ou des Fab (Sami-Merah *et al.*, 2008).

La dose du sérum administré dépend de la symptomatologie et de la capacité neutralisante du sérum (Chippaux *et* Goyffon., 2008). Le sérum anti-scorpionique doit être administré le plus tôt possible. La voie veineuse est préconisée dans les cas sévères. Les études expérimentales et cliniques confirment la neutralisation rapide du venin après l'injection d'un sérum anti-scorpionique efficace (Ismail., 1994 ; Ghalim *et al.*, 2000; Hammoudi-Triki *et al.*, 2004).

L'efficacité de l'immunothérapie est limitée par plusieurs paramètres tels que le polymorphisme structural, antigénique et fonctionnel du venin qui est une handicap pour la préparation d'un anti-venin efficace, le choix et la voie d'administration de l'anti-venin, le pouvoir de neutralisation des différentes préparations d'anticorps, le délai écoulé entre la piqûre et le début du traitement, le site d'injection et la quantité de venins injecté (Delori *et al.*, 1981 ; Abroug *et al.*, 2003 ; Hammoudi-triki., 2004). L'âge et l'état de santé de la victime sont également des facteurs limitant (Hammoudi-Triki., 2004).

I-7-2 Traitement symptomatique de l'envenimation scorpionique

Le traitement symptomatique est important et ne doit pas être négligé. Il vise à atténuer les manifestations cliniques induites par les composants du venin. Ce traitement est administré par le clinicien en fonction de la symptomatologie, il consiste en l'administration des analgésiques (Paracétamol) pour atténuer la douleur, des salicylates et ses dérivés pour leurs effets antalgique ou anti-inflammatoire, des anti-histamiques (prométhazine) pour s'opposer aux effets de l'histamine, des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens (hydrocortisone et pentoxifilline respectivement) afin de réguler la réponse inflammatoire et d'éviter certaines lésions tissulaires, des antihypertenseurs (Nicardipine) en cas de HTA, des analeptiques cardiaques (Dobutamine) dans les états de choc d'origine cardiaque ou des embolies pulmonaires graves, le choc de l'infarctus du myocarde, ...

Pour les cas sévères, la prise en charge dans l'unité de soins intensifs est nécessaire, et pour les enfants moins de 15 c'est une mesure préventive (Chippaux *et* Goyffon., 2008).

Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II-1 Matériel

II-1-1 Matériel biologique

II-1-1-1 Sérums de patients envenimés (n=220)

Les sérums prélevés chez des patients envenimés proviennent de trois régions d'Algérie : Biskra, Mecheria et Ouargla. Ils nous ont été fournis par le Centre National de Toxicologie (CNT).

Pour 11 patients, le prélèvement a été effectué avant et après traitement.

II-1-1-2 Sérums témoins (n=45)

Les sérums témoins prélevés à partir de personnes saines nous ont été fournis par la polyclinique de Hamdi Slimane de Boudouaou, Willaya de Boumerdes.

II-1-1-3 Le venin :

Le venin d'*Androctonus australis hector* obtenu par stimulation électrique est fourni sous forme lyophilisée par le Laboratoire Recherche et de Développement sur les Venins de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA).

II-1-1-4 Anticorps

Les fragments F(ab')₂ de moyenne et de haute affinité, spécifiques du venin d'*Androctonus australis hector* sont fournis par le laboratoire Recherche et de Développement sur les Venins de l'Institut Pasteur d'Alger.

II-1-1-5 la peroxydase

La peroxydase de raiford « horseradish » utilisé pour la préparation du conjugué est de type VI Sigma.

II-1-1-6 La souche bactérienne

La bactérie utilisée pour la réduction des nitrates en nitrites est une souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922, qui nous a été fourni gracieusement par le Laboratoire d'analyses médicales du Docteur O. ALI YAHIA.

II-1-2 Matériel non biologique

Les produits chimiques utilisés dans cette étude sont de nature analytique et proviennent de différentes firmes.

II-2 Méthodes

II-2-1 Etude des dossiers des patients envenimés

Les prélèvements étudiés correspondent à une cohorte de 220 cas de personnes envenimées provenant de trois régions d'Algérie : Ouargla, Biskra et Méchéria.

Les données épidémiologiques et cliniques pour chaque patient piqué sont recueillies et analysés. Dans cette analyse nous avons procédé à l'étude des données :

- Epidémiologiques : âge, sexe, siège de la piqûre et délai de prise en charge.
- Cliniques : symptomatologie et gradation clinique.

II-2-2 Quantification d'antigènes toxiques dans les sérums de patients envenimés

Afin d'évaluer la quantité du venin dans les sérums des patients envenimés, un conjugué anti-venin a été préparé à partir de fragments F(ab)'₂ couplés à la peroxydase à l'aide de la glutardaldehyde.

Deux types d'anticorps de moyenne et de haute affinité ont été titrés par ELISA simple afin de choisir les anticorps adéquats pour la préparation du conjugué.

II-2-2-1 Détermination du titre en anticorps par ELISA simple

Le test ELISA (Enzym linked Immuno sorbent assay) est une méthode immuno-enzymatique quantitative et qualitative qui met en évidence la présence d'Ag ou d'Ac spécifiques dans un liquide biologique (Avraméas 1991).

Cette technique est réalisée sur une plaque de microtitration à fond plat qui est sensibilisée avec une solution de venin total d'*Aah* (5µg/ml) dissout dans un tampon carbonate bicarbonate (0,1M; pH 9,6) à raison de 100 µl/puits et incubée à + 4°C pendant une nuit.

L'excès d'antigènes est éliminé par une série de 4 lavages avec le tampon PBS-Tween 20 à 0,1% (pH 7,4; 0,1M) et les sites de fixation non spécifiques sont saturés avec une solution de

PBS-Lait écrémé (0,5%) à raison de 200 µl /puits. Après une incubation d'une heure et une série de 4 lavages, une gamme de dilutions successives de fragments F(ab')₂ est effectuée dans le tampon PBS (0,1M; pH 7,4) et ré-incuber à 37°C pendant une heure, une série de lavages est effectuée. L'immun-conjugué anti-horse dilué à 1/1000 est déposé à raison de 100 µl/puits.

La réaction immuno-enzymatique se développe à l'obscurité et à température ambiante pendant 15 min après addition de 100 µl/puits de substrat composé de 10 mg d' O-phényllène Diamine dihydrochloride dissout dans 10 ml de tampon phosphate 0,01 M ; pH 7.4, et 10 µl de H₂O₂.

La mesure de l'absorbance à 490 nm est réalisée après addition d'une solution de H₂SO₄ 2N à raison de 50 µl/puits. Le titre en anticorps correspond à l'inverse de la dernière dilution pour laquelle la réaction enzymatique est encore détectable.

II-2-2-2 Préparation d'un conjugué spécifique anti venin d'*Androctonus australis hector* (Aah)

Les fragments F(ab')₂ de moyenne affinité spécifiques au venin d'Aah présentent un bon titre et sont couplés à la peroxydase à l'aide de la glutaraldéhyde selon le protocole établi par Ternyck et Avraméas (1971).

La peroxydase (100mg) est solubilisée dans 500 µl de tampon phosphate de potassium 0,01M; pH 6,8 contenant de NaCl 0,15M et 32 µl de glutardaldehyde (25%). Le mélange réactionnel est incubé pendant 24 heures puis filtré sur une colonne de Sephadex G25. La fraction colorée diluée dans un tampon carbonate de sodium pH 9,5 à raison d'une concentration de 0,1 M est mélangée aux fragments F(ab')₂ (2,5 mg/ml). Après agitation pendant 24 heures à +4°C, la glycine est ajoutée au mélange afin d'obtenir une concentration finale de 0,1 M. La solution obtenue est incubée 2 heures à 4°C puis dialysée contre le tampon PBS pendant 24 heures à 4°C.

Le conjugué obtenu est titré par ELISA simple et congelé à -20°C en présence de glycérol à 50%.

II-2-3 Etude de la réponse inflammatoire induite lors d'une envenimation

II-2-3-1 Détermination du taux des IgE

Afin de déterminer la présence d'une réaction d'hypersensibilité médiée par les IgE qui seraient responsables de l'apparition des symptômes chez des patients piqués par le scorpion, le dosage sérique des IgE est effectué chez 30 patients en utilisant l'automate Mini VIDAS, selon la technique immuno-enzymatique de type ELISA.

II-2-3-2 Détermination de l'activité myéloperoxydase (MPO)

La stimulation des polynucléaires neutrophiles résulte d'une augmentation de la consommation de l'oxygène, avec production des ROS et une libération d'enzymes telles que l'élastase et la MPO (Khotari *et al.*, 2011). Le dosage de la MPO, enzyme hémique ayant une forte activité oxydative, permet la révélation de l'activation des polynucléaires neutrophiles.

L'activité de la MPO a été mesurée dans les sérums des patients envenimés selon la méthode décrite par Bradley (1982). Les échantillons sériques (500 µl) sont mis en présence d'un substrat (500 µl) constitué de H₂O₂ (4 mM) et O-Dianizidine (1,6 mM) préparé dans un tampon Phosphate 0,05M pH 6,6.

L'augmentation de l'absorbance due à l'oxydation de l'O-Dianizidine est mesurée à 460 nm. Les résultats sont exprimés en unité de densité optique par minute (UDO/min).

II-2-3-3 Détermination de l'activité peroxydase de l'éosinophile (EPO)

Le taux de la peroxydase de l'éosinophile dans le sérum de patients envenimés pourrait donner des informations sur l'état d'activation des éosinophiles ainsi que leur implication dans la réponse inflammatoire lors de l'envenimation scorpionique.

L'activité de l'EPO a été évaluée dans les sérums des patients envenimés en utilisant un volume de l'échantillon sérique à tester (50 µl) déposé dans les puits d'une microplaque en « duplicate » en présence du substrat de la réaction (H₂O₂ 4 mM, 20 mg d'OPD dissout dans 10 ml de tampon Tris HCl 0,05 M; pH 8) à raison de 100 µl /puits. La réaction est mise à incuber pendant 1 heure à 37°C.

L'évaluation de l'activité enzymatique est réalisée par lecture de l'absorbance à 490 nm avant et après une heure d'incubation à 37°C.

II-2-3-4 Dosage des nitrites et des nitrates totaux

Dans le but d'étudier le rôle éventuel de la libération du monoxyde d'azote dans la sévérité de l'envenimation scorpionique, le taux du NO dans des échantillons sériques de patients envenimés est évalué en utilisant la méthode du Griess modifiée.

La production du NO est classiquement évaluée de manière indirecte dans les milieux biologiques, par la détermination des concentrations de nitrites (NO_2^-) et de nitrates (NO_3^-), qui constituent les produits de dégradation oxydative du NO.

La réaction de Griess ne permet d'évaluer que le taux des nitrites. Une réduction préalable des nitrates en nitrites peut être effectuée par voie microbiologique afin de déterminer la concentration totale du NO.

Dans un ce cas une préparation de la suspension bactérienne est effectuée en ensemencant des cellules bactériennes (*E.coli* ATCC 25922 nitrate réductase +) sur gélose nutritive, après une nuit d'incubation, l'état des cellules est observé sous microscope. Le maximum de colonies lorsqu'elles sont en phase logarithmique est prélevé à l'aide d'une pipette pasteur, introduit dans une solution contenant 50 ml de bouillon nutritif, ensuite incubé sous agitation à 25°C pendant une nuit. La solution est ensuite centrifugée à 4000g pendant 20 min. Le culot bactérien est ensuite lavé trois fois avec du tampon PBS (1 M ; pH 7,4), remis en suspension dans du bouillon nutritif et ensuite congelé à -45°C en présence de 10 % du glycérol. Avant son utilisation, la suspension bactérienne est décongelée et diluée à 1/10^{ème} dans du bouillon nutritif.

La déprotéinisation des échantillons sériques par passage sur des filtres Ultrafree à 10 000 NMWL (millipore) permet d'éviter l'interférence avec le réactif de Griess. La réduction des nitrates (NO_3^-) en nitrites (NO_2^-) par voie microbiologique est effectuée avec un volume de 50 μl de l'échantillon à analyser (préalablement déprotéinisé) et mélangé à 25 μl de la suspension bactérienne et 25 μl du tampon PBS pH 7,2. Après incubation à 37°C pendant 90 min, la préparation est centrifugée à 220 g pendant 2 min.

L'échantillon à tester (50 μl) est mis en contact avec 25 μl de Griess B (Naphthylethylène diamine dichloride préparé à 0.5% dans du HCL à 20%) et 25 μl de Griess A (sulfanilamide

préparé à 5% dans du HCL à 20%), la réaction dans un volume final de 500µl, ajusté par l'eau distillé, est incubée pendant 20 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à 543 nm.

Les concentrations du NO sont déterminées par extrapolation des DO sur une courbe étalon des nitrites préalablement établie.

II-2-3-5 Dosage du malondialdehyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides polyinsaturés médiée par les radicaux libres.

Les taux du MDA sérique chez les patients envenimés sont évalués selon la méthode d'Ohkawa *et al.*, 1979. Le dosage repose sur la formation entre le MDA et deux thiobarbituriques (TBA), en milieu acide et chaud (95°C), d'un pigment coloré absorbant à 532 nm extractible par les solvants organiques comme le butanol.

La méthode est effectuée en mélangeant le sérum à tester (200 µl), l'acide thiobarbiturique (TBA) à 6% (400 µl) et l'acide orthophosphorique à 1% (1200 µl). Le mélange est chauffé à 95°C pendant 45minutes, refroidi pendant 10 min puis additionné de n-butanol (volume/volume). Après centrifugation à 360 g pendant 20minutes et à +4°C, la lecture de la densité optique du surnageant est effectuée à 532 nm.

Résultats et Discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Étude des dossiers des patients envenimés

Une analyse des caractéristiques épidémiologiques et cliniques est effectuée sur 220 cas de patients envenimés. Ces cas proviennent de trois régions d'Algérie : Ouargla, Biskra et Mechéria ils ont été prélevés durant l'été 2010.

III-1-1 Les caractéristiques épidémiologiques des patients envenimés

III-1-1-1 Age des patients

L'étude des dossiers de personnes envenimées révèle un âge moyen de $29,07 \pm 18,88$ ans avec un âge extrême allant de 3 à 90 ans. Cinq dossiers ne précisent pas l'âge du patient. Cette étude permet de confirmer que la tranche d'âge la plus exposée semble être celle de 13 à 22 ans avec un pourcentage de 30,69 % (Figure 9A).

Cette même fréquence a été trouvée en 2009 par l'institut national de santé publique aussi bien au niveau national que régional.

Les sujets ayant plus de 15 ans sont considérés comme faisant partie de la catégorie des adultes, ceux de moins de 15 ans sont classés dans la catégorie des enfants. Cette étude montre que la tranche d'âge adulte est de quatre fois supérieure à celle des enfants (Tableau II).

Tableau II: Répartition des envenimations scorpioniques en fonction de l'âge

Âge	Nombre de victimes	Pourcentage
Enfant < 15ans	40	18,6%
Adulte > 15ans	175	81,4%

III-1-1-2 Sexe des patients

Les données épidémiologiques montrent que les deux sexes sont touchés avec une prédominance pour le sexe masculin: 53,18 % contre 46,81 % (Tableau III). La même tendance est observée dans toutes les régions géographiques (INSP., 2009).

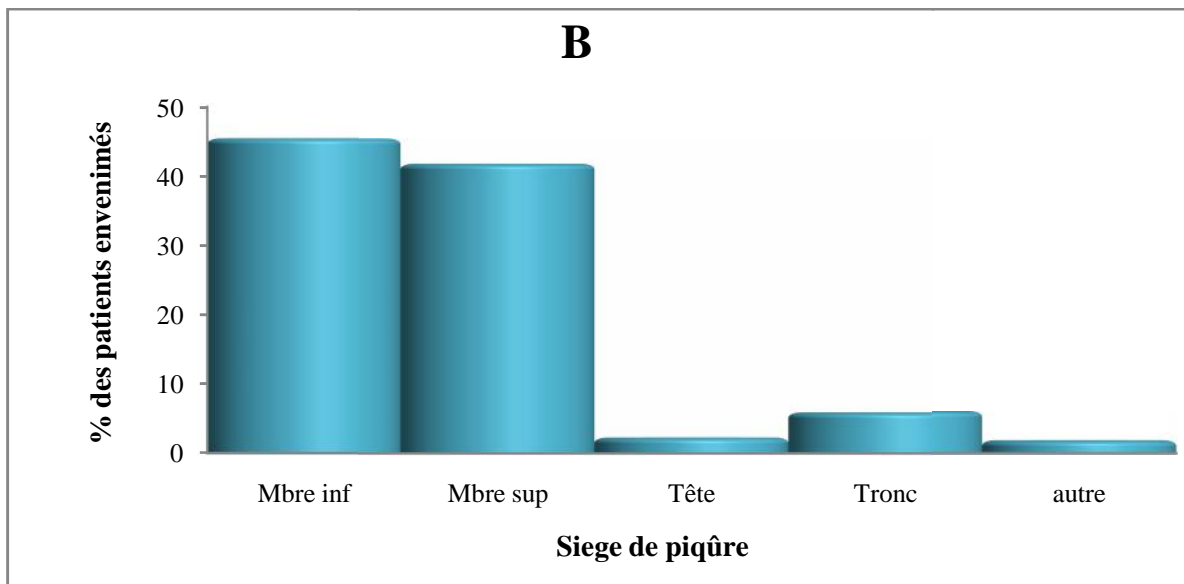
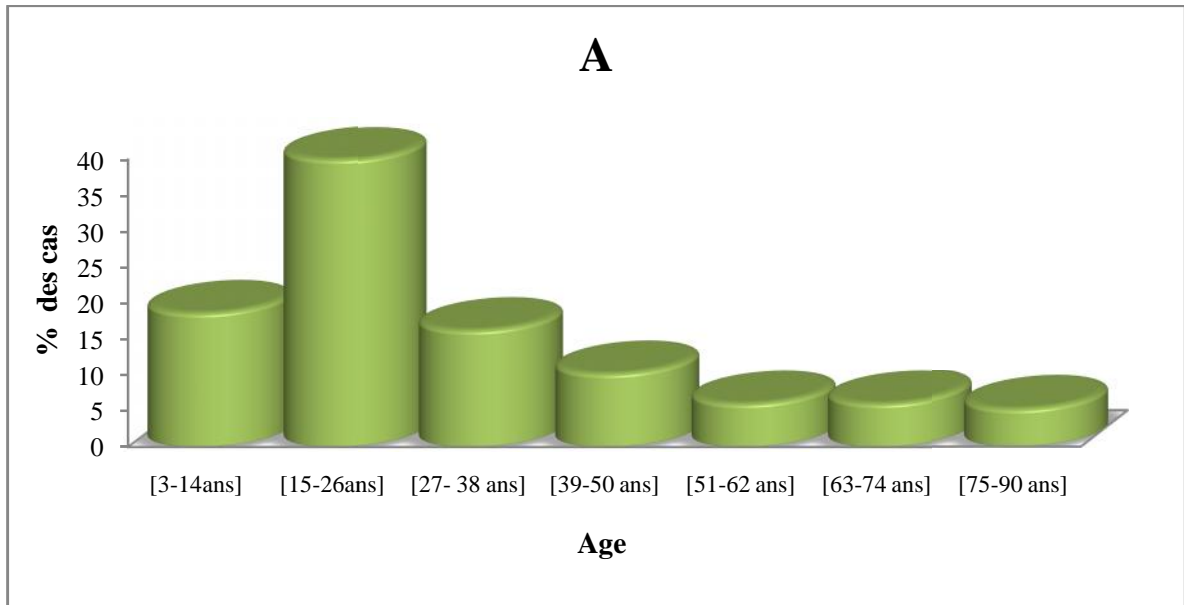


Figure 9 : Répartition des patients envenimés : Selon les tranches d'âge (A).

Selon le siège de piqûre (B).

(Mbres inf : Membre inférieur ; Mbres sup : Membre supérieur).

Tableau III: Répartition des envenimations scorpioniques en fonction du sexe

Sexe	Nombre de victimes	Pourcentage
Masculin	117	53,18
Féminin	103	46,81

III-1-2 Caractéristiques cliniques des patients envenimés

III-1-2-1 Siège de piqûre

Dans cette étude, il semble que toutes les parties du corps sont le siège de piqûre, cependant les membres supérieurs (47%) et inférieurs (43 %) sont ceux qui sont les plus touchés (**Figure 9B**).

Les membres supérieurs et inférieurs sont les sièges de piqûres les plus fréquemment observés dans toutes les régions sanitaires en Algérie (INSP., 2009).

III-1-2-2 Gravité de l'envenimation

Les patients piqués par les scorpions ont été classés en trois grades, en se basant sur la sévérité des manifestations cliniques qu'ils présentent. Cette gradation varie d'un état bénin (douleurs locales) jusqu'à un état très sévère caractérisé par un dysfonctionnement cardiorespiratoire responsable de la mort de la victime.

Dans la cohorte étudiée, le 90 % des piqués sont classés dans le grade I, vient ensuite le 9% sont classés dans le grade II et le 1 % des patients sont classés dans le grade III (Figure 10).

Les patients de grade I ne présentent qu'une douleur isolée au niveau du site de piqûre. Certains patients de grade II présentent des symptômes sans un aucun signe prédictif de gravité tels que l'hypersudation, les vomissements et l'hyperthermie. Les patients de grade III ainsi que certains de grade II présentent au moins un signe prédictif de gravité tel que la dyspnée, la polypnée et la bradycardie.

III-1-2-3 Temps post piqûre (TPP)

Le délai séparant le temps de la piqûre et l'admission dans un lieu de soin a été également analysé. L'étude montre que le temps post piqûre est en moyenne $35,22 \pm 26,87$ min, 63,18 % des patients arrivent sur les lieux de soins avant une demi-heure post piqûre (Tableau IV).

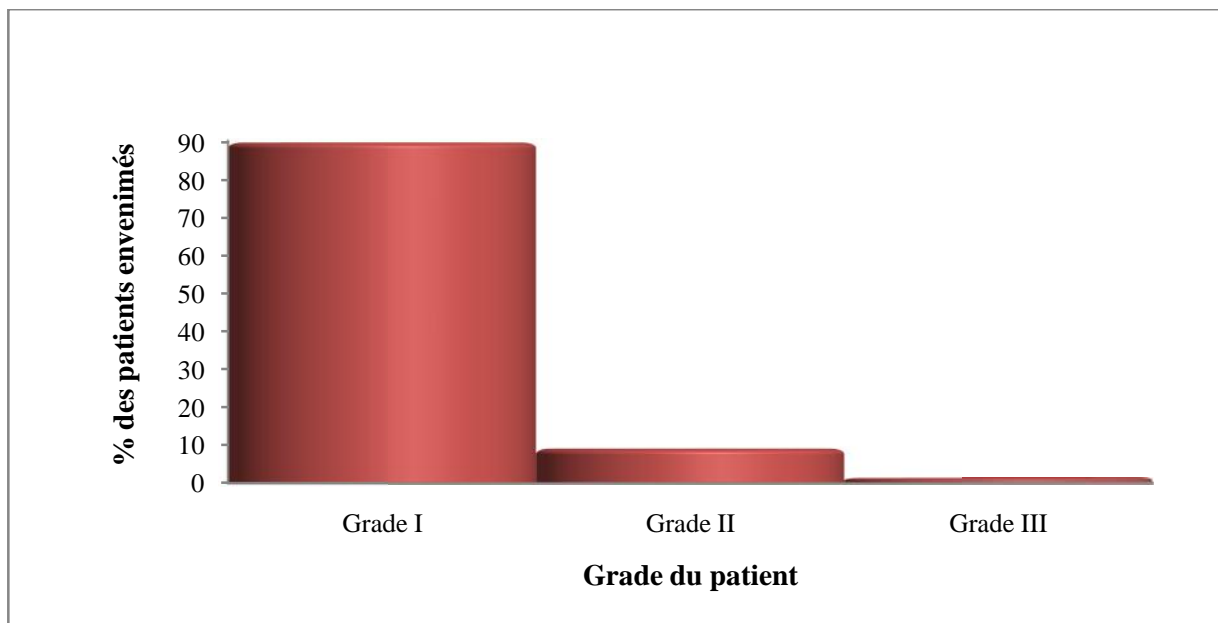


Figure 10: Répartition des patients envenimés selon la gravité.

Tableau IV: Répartition des envenimations scorpioniques en fonction du temps post piqûre

Gradation	Temps post piqûre (min)			
	[0-30]	[31-60]	[61-120]	[>121]
Grade I (n=197)	130 (65,98 %)	51 (25,88 %)	11 (5,58 %)	2 (1,01 %)
Grade II (n=20)	6 (30 %)	12 (60 %)	2 (10 %)	0 (0 %)
Grade III (n=3)	3 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

III-1-2-4 Signes cliniques

Le tableau clinique et symptomatique développé après une piqûre de scorpion est varié, il comprend divers symptômes allant de signes locaux observés au niveau du siège de la piqûre jusqu'au développement des signes généraux.

La douleur au niveau du siège de piqûre est le symptôme observé dans presque la totalité des dossiers étudiés (98,63 %). Il s'agit d'une sensation de brûlure ou de fourmillement au niveau du site de piqûre.

D'autres symptômes sont également décrits par les cliniciens tels que les symptômes cardiovasculaires qui viennent en première position (9,52%), viennent ensuite les signes végétatifs (8,62 %), digestifs (4,54 %), respiratoires (2,71 %) et neurologiques (1,81 %) (Tableau V).

III-2 Quantification d'antigènes toxiques du venin dans les sérums de patients envenimés

III-2-1 Détermination du titre en anticorps de moyenne et de haute affinité par ELISA simple

La détermination du titre des fragments F(ab')₂ de haute et moyenne affinité obtenus après hydrolyse enzymatique des IgG par la pepsine et après purification par chromatographie d'affinité a été effectué par ELISA simple. Les résultats obtenus montrent que le titre des F(ab')₂ de moyenne affinité (16000) est plus élevé que celui des anticorps de haute affinité (2000) (Figure 11).

Tableau V: Répartition des signes cliniques chez les patients envenimés.

Les signes cliniques	n (%)	Type	Nombre	Pourcentage (%)
Signes locaux	217 (98,63)	Douleur	217	98,63
Signes digestifs	10 (4,54)	Vomissement	9	4,09
		Diarrhée	1	0,45
Signes neurologiques	4 (1,81)	Agitation	4	1,81
Signes cardiovasculaires	21 (9,52)	HTA	10	4,54
		Tachycardie	3	1,36
		Bradycardie	2	0,9
		Froideur des extrémités	6	2,72
Signes respiratoires	6 (2,71)	Dyspnée	4	1,81
		Polypnée	2	0,9
Signes végétatifs	19 (8,62)	Hyperthermie	1	0,45
		Hypersudation	15	6,81
		Priapisme	3	1,36

Les anticorps de moyenne affinité présentent un bon titre et seront utilisés ultérieurement dans la préparation d'un conjugué spécifique au venin d'*Aah*.

III.2.2 Préparation et détermination du titre du conjugué

Le conjugué est préparé en utilisant des anticorps de moyenne affinité couplés à la peroxydase par la glutardaldéhyde. La détermination du titre de ce conjugué par le test ELISA simple a montré que le conjugué préparé a un titre de 1000 (Figure 11). Ce conjugué a été préparé au moins trois fois, les titres obtenus sont 100 et 400.

III.2.3 Quantification d'antigènes toxiques dans le sérum de patients envenimés par ELISA sandwich

Une gamme étalon de concentrations du venin diluées dans un tampon PBS 0,1M ; pH 7,4 a été testée en utilisant deux dilutions du conjugué préparé (1/500^{ème} et 1/250^{ème}).

Les résultats que nous avons obtenus ne nous ont pas permis d'obtenir les informations attendues malgré les nombreux essais effectués, nous avons déduit que nous ne pouvons pas utiliser le conjugué préparé dans la quantification du venin dans les sérums de patients envenimés. Ces résultats sont probablement dus à l'état de la peroxydase utilisée dans la préparation des différents conjugués.

Pour cette raison, nous avons procédé à établir une corrélation entre la gradation clinique (selon les symptômes observés chez les patients) et les différents marqueurs inflammatoires dosés dans les sérums de patients envenimés et cela en se basant sur les études cliniques et expérimentales (Krifi *et al.*, 1998; Ghalim *et al.*, 2000; Hammoudi-Triki *et al.*, 2004). Ces travaux montrent que la gradation clinique est fortement corrélée avec la quantité du venin circulante dans le sérum des patients envenimés.

III-3 Evaluation de quelques paramètres de la réponse inflammatoire dans les sérums de patients envenimés

La réponse inflammatoire observée après envenimation scorpionique est caractérisée par l'implication des protéines de la phase aiguë, le système du complément, des Kinines, des prostaglandines, des cytokines et de monoxyde d'azote. Elle est aussi caractérisée par le recrutement des leucocytes (Barbouche *et al.*, 1996; Meki *et al.*, 1998; Magalhaes *et al.*, 1999; De-Matos *et al.*, 2001; Fukahara *et al.*, 2003; Hammoudi-Triki *et al.*, 2004 ; Bertazzi *et al.*, 2005).

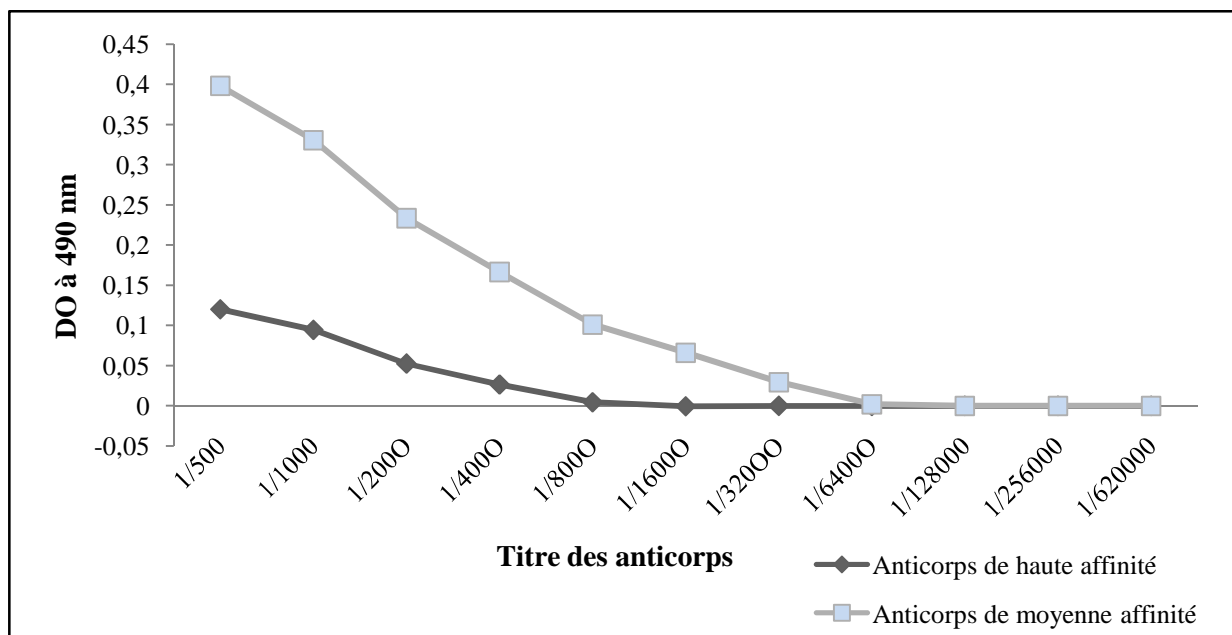


Figure 11: Détermination du titre des fragments $F(ab')_2$ de haute et moyenne affinité par ELISA simple.

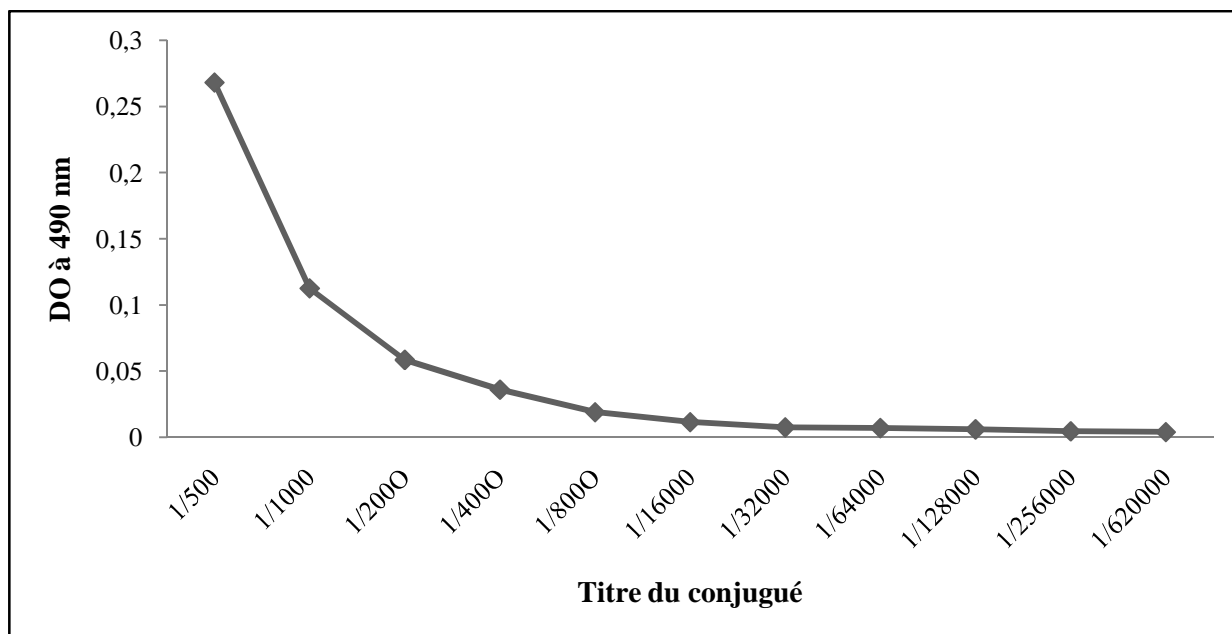


Figure 12: Détermination du titre du conjugué préparé.

Ces différents médiateurs pourraient jouer un rôle important dans la physiopathologie induite par une envenimation scorpionique et pourraient être responsables de certaines manifestations inflammatoires systémiques et d'une défaillance multiviscérale (Petricivich *et al.*, 2010).

Dans cette étude, la réponse inflammatoire induite par l'envenimation scorpionique a été explorée en dosant certains marqueurs immunologiques (les IgE, les activités myeloperoxydase et peroxydase de l'éosinophile, la concentration du monoxyde d'azote et la concentration du MDA) dans les sérums de patients envenimés. Les résultats obtenus ont été corrélés avec la gradation clinique des patients.

III-3-1 Détermination des IgE sériques

Certains cas d'envenimation scorpionique pourraient être dus à une réaction anaphylactique médiée par les IgE. En effet dans plusieurs cas d'envenimation scorpionique, le tableau symptomatique avec, œdème, nausées, réactions cardiovasculaires avec hypotension et état de choc, pourrait être dû soit à un effet toxique du venin soit à un mécanisme immunologique tel que les réactions d'hypersensibilités (Leynadier *et al.*, 1997).

L'implication des réactions d'hypersensibilité dans la physiopathologie de l'envenimation scorpionique a été étudiée en évaluant les IgE sériques de 30 patients (24 patients de grade I, 5 patients de grade II et un patient grade III).

Les résultats obtenus montrent que 33,33 % des cas (10 sur 30) présentent des taux d'IgE sériques élevés. Sur les dix patients dont les sérums présentent une concentration élevée d'IgE sériques, neuf patients sont classés dans le grade I (adultes) et un patient est classé dans le grade II.

Les patients de grade I présentent une concentration sérique des IgE entre 105 et 200 UI/ml (cette concentration est inférieure à 100 chez les sujets sains). Tous ces patients ne présentaient que la douleur comme symptôme. Le seul patient classé en grade II (adulte), présente une concentration sérique élevée des IgE (683,93 UI/ml). Ce patient, présentait en plus de la douleur, une hypersudation, une hypertension artérielle et une froideur au niveau des extrémités (Figure 13).

Ce résultat suggère que certains composants du venin de scorpion pourraient se comporter comme des allergènes provoquant chez certains patients des réponses types allergiques médiées par les immunoglobulines E en plus de la toxicité.

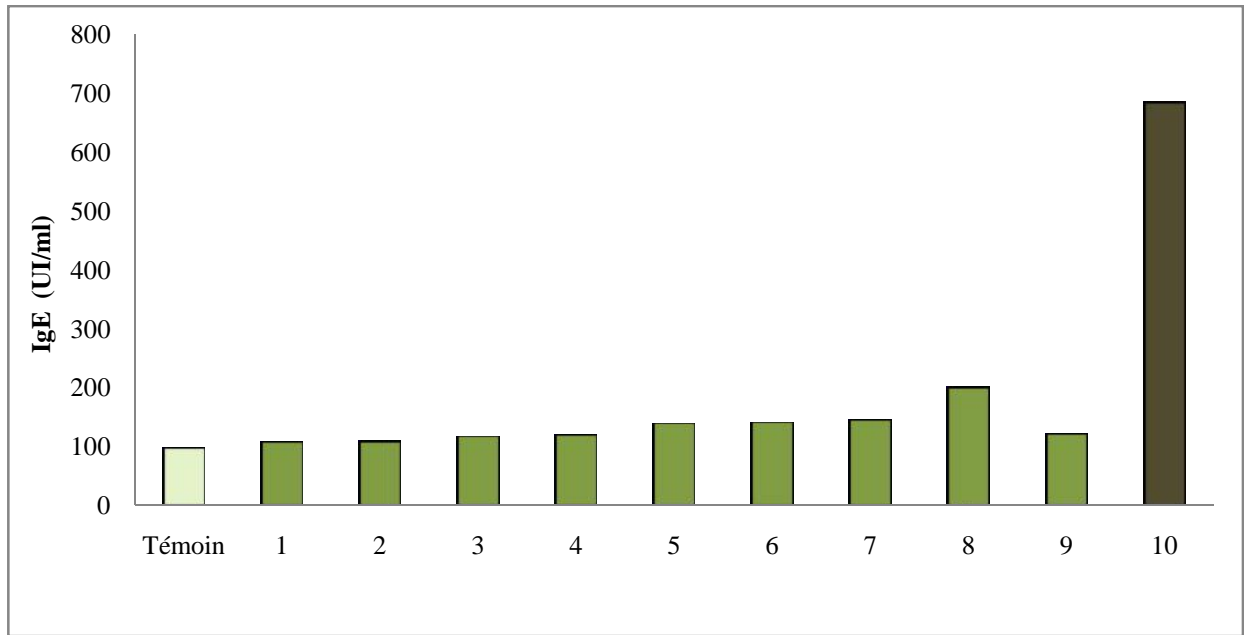


Figure 13 : Taux sérique élevé des IgE chez des patients envenimés.

- Grade I
- Grade II

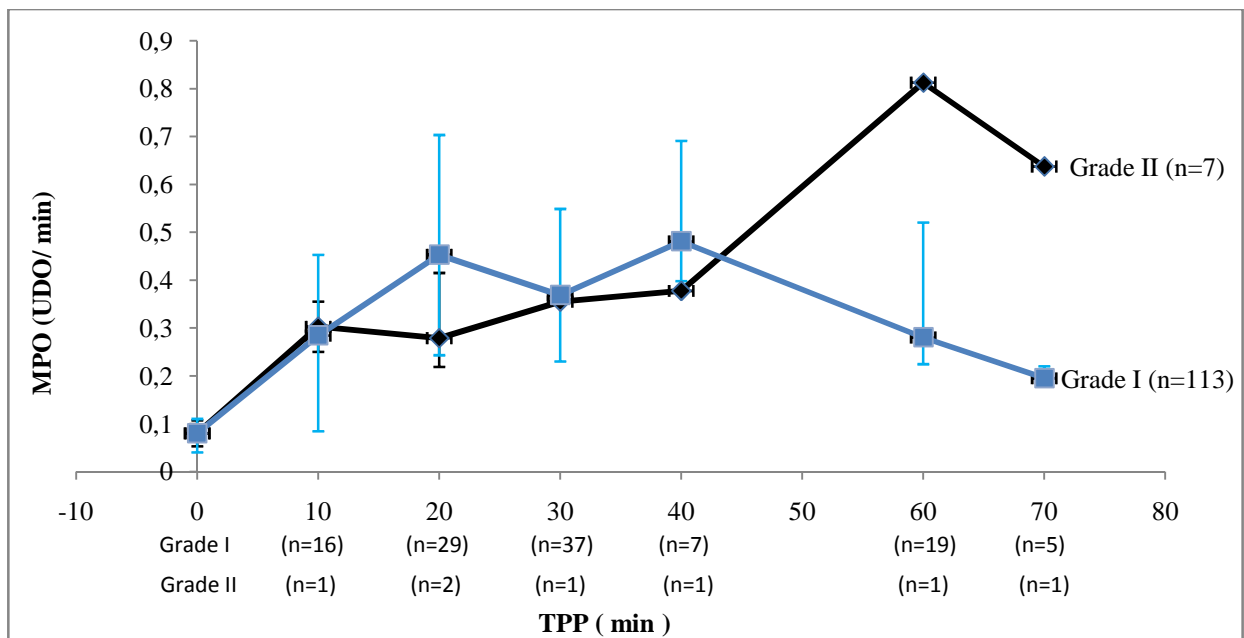


Figure 14: Cinétique de la variation de l'activité sérique de la MPO chez des patients envenimés grade I et grade II.

Ces résultats pourraient être corrélés avec ceux déjà obtenus par notre équipe qui rapportent une élévation des concentrations sériques des IgE après l'injection d'une dose sublétales du venin d'*Androctonus australis hector* chez l'animal (Adi-Bessalem *et al.*, 2011).

D'autres études sur des patients envenimés ont montré l'implication des IgE spécifiques dans les réactions d'hypersensibilité en réponse au venin de scorpion (Jeffrey *et al.*, 1995; Leynadier *et al.*, 1997). La présence des IgE spécifiques au venin d'*Aah* avec des taux significatifs a été rapporté (Leynadier., *et al* 1997).

La présence des taux sériques élevés en IgE dès la première heure de l'envenimation pour le patient grade II, pourrait être due à une réponse d'hypersensibilité immédiate suite à un deuxième contact avec les antigènes du venin de scorpion. Des travaux de Jeffrey *et al* (1995) rapportent deux cas d'envenimation scorpionique pour lesquels la première piqûre de scorpion provoque seulement des signes locaux alors que la deuxième piqûre provoque chez les patients des signes généraux graves dans les premières minutes de l'envenimation.

III-3-2 Détermination de l'activité myéloperoxydase (MPO)

La stimulation des polynucléaires neutrophiles provoque une augmentation de la consommation de l'oxygène avec production des ROS et libération des enzymes telles que l'élastase et la MPO (Malle., 2007). Cette enzyme est considérée comme marqueur de nombreuses pathologies, liées à l'activation des neutrophiles et à leur infiltration tissulaire (Connico *et al.*, 1999 ; Zhang *et al.*, 2001; Hoy *et al.*, 2002). Son augmentation plasmatique est un bon marqueur des réponses inflammatoires systémiques et du choc septique (Khotari *el al.*, 2011).

Les variations de l'activité myéloperoxydase (MPO) sont évaluées dans les sérums de patients envenimés, ainsi que la corrélation entre l'activité myéloperoxydase, le temps post piqûre, le grade, l'âge et le siège de piqûre des patients envenimés.

III-3-2-a Variation de l'activité peroxydase de la MPO en fonction du temps post piqûre

La cinétique de la variation de l'activité de la myéloperoxydase sérique chez les patients grade I en fonction du TPP montre que le venin de scorpion induit une augmentation précoce et significative de cette activité selon un profil bi-phasique, un pic à 20 min (5,66 fois supérieur comparé au témoin) et un autre pic 40 min post piqûre (6,01 fois plus que chez le témoin). Cette activité diminue après 60 minutes (Figure 14).

L'évolution de l'activité myeloperoxydase sérique chez les patients de grade II en fonction du temps est similaire à celle des patients de grade I dans les 40 minutes avec des amplitudes de variation plus faible. Au-delà de 40 minutes, temps post piqûre, une augmentation est observée par rapport à l'activité de la MPO observée chez les patients de grade I, elle atteint au bout de 60 min, une activité 10 fois supérieure à celle du témoin. Cette activité reste encore très élevée après 70 min temps post piqûre.

Ces résultats montrent que le venin de scorpion induit chez les patients une réaction inflammatoire aiguë caractérisée par l'activation des polynucléaires neutrophiles dans le sang périphérique; ce qui a pour conséquence une dégranulation et une libération d'enzymes comme la MPO.

Les expériences réalisées avec le venin d'*Androctonus australis hector* et ses toxines injectées par voie intra-péritonéale, ont montré une augmentation significative de l'activité myeloperoxydase sérique (Boukari., 2008).

Des études cliniques réalisées sur des patients envenimés, indiquent que les venins de scorpions induisent une réaction inflammatoire caractérisée par une leucocytose systémique importante due à une neutrophilie. Cette dernière est considérée comme une caractéristique de l'envenimation sévère causée par le scorpion *Tityus serrulatus* et pourrait contribuer au développement de lésions pulmonaires chez des enfants (Cynthia *et al.*, 2000).

III-3-2-b Variation de l'activité myeloperoxydase en fonction du grade

L'activité sérique de la myeloperoxydase a été déterminée chez les patients envenimés des trois grades de sévérité, les résultats obtenus indiquent une augmentation significative chez tous les patients par rapport aux témoins sains. Les patients du grade II présentent une activité MPO plus importante (grade II : $0,51 \pm 0,2$) comparé au grade I et III (grade I : $0,33 \pm 0,13$; grade III : $0,16$) (Figure 15 A).

Ces résultats montrent une corrélation positive entre l'activité myeloperoxydase et la sévérité de l'envenimation sauf pour le patient de grade III. Le patient de grade III est une femme de 82 ans, l'activité myeloperoxydase relativement faible trouvé chez cette patiente est probablement due à la faiblesse de ses réponses immunitaires due au vieillissement (Lesourd., 2004).

L'adhésion des neutrophiles aux micro-vaisseaux et leur activation augmente la perméabilité vasculaire (He *et al.*, 2000). L'augmentation de l'activité myéloperoxydase chez les patients de grade I indique une activation des neutrophiles qui pourrait être liée à la formation d'œdème au niveau du site de la piqûre. Plusieurs travaux ont montré la formation rapide d'œdème au niveau du site d'injection du venin notamment ceux de la famille des *Buthidae* (Chen *et al.*, 2002; Nascimento *et al.*, 2005; Severino *et al.*, 2009).

Dans le cas d'envenimation sévère, l'activité élevée de la MPO est probablement due à une activation importante des neutrophiles liée à leur infiltration et à la formation d'œdème dans le parenchyme pulmonaire. Les études expérimentales ont montré une infiltration des polynucléaires dans le parenchyme pulmonaires suite à l'injection d'une dose sublétales du venin d'*Aah* (Adi-Bessalem *et al.*, 2003 et 2011).

L'infiltration des polynucléaires neutrophiles dans les voies aériennes conduit à la libération des radicaux libres de l'oxygène et des enzymes (protéases et myéloperoxydase) provoquant des altérations au niveau des cellules endothéliales et au niveau de la matrice sous-endothéliale conduisant à des lésions tissulaires (Borges., 2011).

III-3-2-d Variation de l'activité myéloperoxydase en fonction du site de piqûre

La variation de cette activité en rapport avec le site de piqûre a été étudiée chez des patients de grade I. Les résultats obtenus montrent que les piqûres au niveau du tronc provoquent une élévation de l'activité de la MPO ($0,55 \pm 0,17$ UDO/ min). En revanche, il n'y a aucune différence significative entre les activités obtenues suite à une piqûre au niveau de la tête, les membres supérieurs ou les membres inférieurs (Figure 15 B).

L'activité importante de la MPO observée suite à une piqûre au niveau du tronc pourrait être expliquée par l'absorption rapide du venin à partir de ce site due aux puissantes capacités d'absorption du péritoine, ainsi le tronc est riche en organes lymphoïdes secondaires donc le venin de scorpion pourrait activer rapidement le système immunitaire et avec une grande intensité. La cavité péritonéale normale contient environ 300 cellules/mm³, essentiellement des monocytes/macrophages (45 %), lymphocytes (cellules T 45%, NK 6% et B 2 %), cellules dendritiques (2 %), mastoïdes et cellules mésothéliales desquamées. Ces dernières ont la même origine mésodermique que les cellules endothéliales et possèdent donc les mêmes propriétés dont la capacité de production des médiateurs de l'inflammation, la présentation des antigènes,

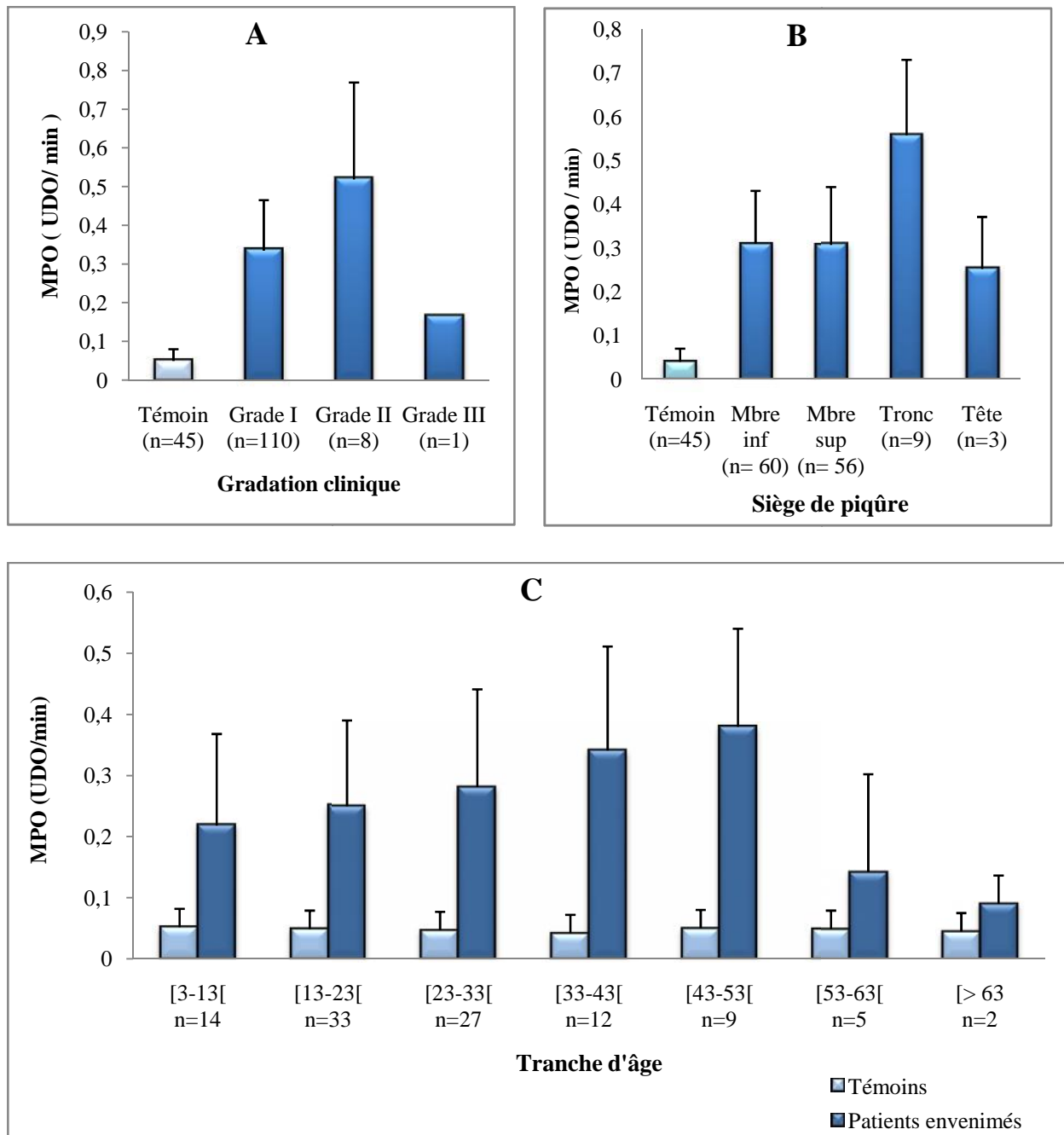


Figure15 : Détermination de l'activité sérique de la MPO :

en fonction de la gravité de l'envenimation (**A**).

en fonction du site de piqûre chez des patients de grade I (**B**).

en fonction de l'âge des patients de grade I (**C**).

(Mbre inf : Membre inferieur ; Mbre sup : Membre supérieur).

la facilitation de la margination et la migration des polynucléaires neutrophiles par l'expression de l'IL-8 conduisant au recrutement et à l'afflux massif de leucocytes neutrophiles dans la cavité péritonéale (Moine., 2007).

III-3-2-c Etude de la variation de l'activité myeloperoxydase en fonction de l'âge

L'activité MPO a été également comparée avec les tranches d'âge des patients envenimés.

Les résultats obtenus pour les patients de grade I montrent que l'activité sérique de la MPO est élevée chez toutes les tranches d'âge par rapport aux témoins, cette activité augmente progressivement en fonction de l'âge pour atteindre une valeur maximale ($0,38 \pm 0,16$ UDO/min) chez les personnes dont l'âge est entre [43-53 ans], suivie d'une diminution chez les personnes plus âgées (Figure 15C).

L'activité myeloperoxydase relativement faible chez les enfants par rapport aux adultes est probablement due à la différence de la formule leucocytaire qui est caractérisée par une prédominance lymphocytaire chez les enfants (de moins de 6 ans) contrairement aux adultes qui présentent une prédominance des polynucléaires neutrophiles.

Une diminution de l'activité myeloperoxydase chez les personnes plus âgées est observée; les études *in vitro* indiquent que le vieillissement exerce des effets déterminants significatifs sur les cellules de l'immunité innée ; la capacité phagocytaire et la synthèse des ROS sont affaiblies chez les personnes âgées. En plus, il y a une diminution du chimiotactisme des neutrophiles suivant la stimulation par le GMCSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor) (Fulop *et al.*, 2004).

III-3-3 Détermination de l'activité peroxydase éosinophilique

L'éosinophile humaine est une cellule pro-inflammatoire avec un certain potentiel modulateur, son activité est médiée par la sécrétion de quatre protéines cytotoxiques bien caractérisées : ECP, EPO, EDN et MBP (protéine cationique éosinophilique, peroxydase éosinophilique, neurotoxine et la protéine basique majeure respectivement), en plus à des médiateurs lipidiques comme les leucotriènes (LTC₄), le facteur activateur des plaquettes (PAF) et les métabolites toxiques de l'oxygène (Venge., 1990). La libération de ces médiateurs dans le milieu extracellulaire se fait par la dégranulation de l'éosinophile lorsque celui-ci est activé (Guilpain *et al.*, 2006). Le taux de ces métabolites dans les fluides biologiques (sérum, lavage broncho-alvéolaire,...) a été utilisé fréquemment comme indicateur de l'état d'activation des éosinophiles.

Dans cette étude nous avons procédé à la détermination du taux de l'activité de l'éosinophile peroxydase sérique chez des patients envenimés. Les résultats obtenus sont corrélés en avec le TPP, la gravité de l'envenimation, l'âge des patients et le siège de piqûre.

III-3-3-a Variation de l'activité peroxydase éosinophilique en fonction du temps post piqûre (TPP)

L'activité de la peroxydase éosinophilique sérique des patients de grade II en fonction du temps montre une augmentation rapide juste après 10 minutes d'envenimation ($0,25 \pm 0,024$ UDO par rapport au témoin $0,05 \pm 0,03$ UDO), elle atteint un maximum à 40 min ($0,36$ UDO) puis une légère diminution est observée à 70 min d'envenimation.

L'évolution de l'activité sérique de l'EPO chez les patients grade I est voisine de celle des patients grade II dans les premières 20 min où elle atteint une valeur maximale ($0,26 \pm 0,04$ UDO), suivie d'une diminution progressive après 70 min post piqûre mais elle reste toujours élevée par rapport au témoin (Figure 16).

L'augmentation de l'activité de l'EPO est probablement due à l'activation et à la dégranulation des éosinophiles. Ces derniers sont activés par le processus inflammatoire aigu caractérisé par la libération de plusieurs médiateurs tels que les cytokines (IL-3 et IL-5), les fractions du complément (C3a et C5a) et les immunoglobulines E.

Lors d'une envenimation expérimentale, l'activité peroxydase élevée dans les surnageants pulmonaires montrent clairement une séquestration des éosinophiles dans les poumons (Hammoudi-triki *et* Laraba-Djebari., 2005 ; Adi-Bessalem *et al.*, 2011).

III-3-3-b Variation de l'activité sérique de l'éosinophile peroxydase en fonction de la gravité de l'envenimation

Les taux de l'activité de l'EPO en fonction de la gravité de l'envenimation sont similaires à ceux observés pour l'activité MPO. Tous les patients présentent une activité peroxydase éosinophilique supérieur à celle des témoins sains ($0,05 \pm 0,03$ UDO). Le patient de grade III présente une activité ($0,205$ UDO) voisine à celle des patients de grade I ($0,2 \pm 0,09$ UDO), tandis que les patients de grade II présentent une activité plus importante ($0,34 \pm 0,1$ UDO) (Figure 17 A).

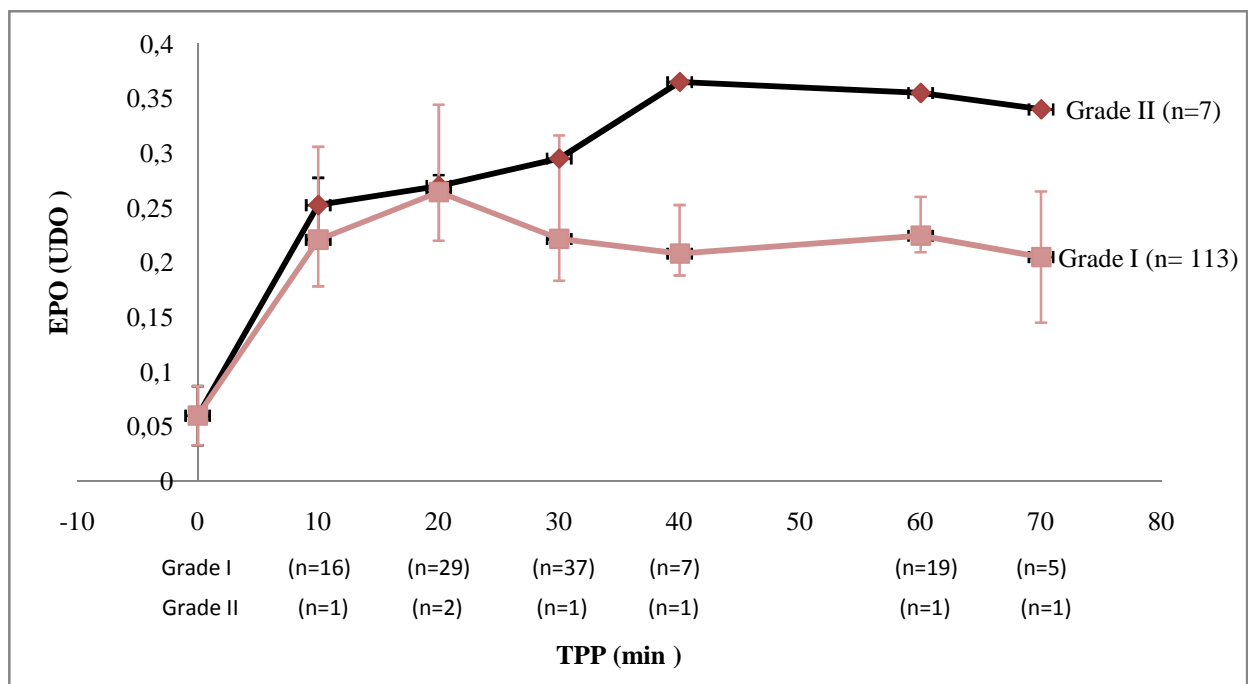


Figure 16: Cinétique de variation de l'activité sérique de l'EPO des patients envenimés de grade I et de grade II.

III-3-3-c Variation de l'activité de l'éosinophile peroxydase en fonction du siège de piqûre :

L'activité de peroxydase éosinophilique tout comme celle de la MPO semble élevée lorsque le siège de piqûre est le tronc ($0,258 \pm 0,1251$ UDO), cependant le même taux est observé pour les sièges de piqûre au niveau des membres supérieurs et au niveau des membres inférieurs ($0,217 \pm 0,127$ UDO et $0,223 \pm 0,115$ UDO respectivement). La piqûre au niveau de la tête induit une activité de l'éosinophile peroxydase plus faible ($0,093 \pm 0,038$ UDO) mais élevée par rapport au témoin ($0,05 \pm 0,03$ UDO) (Figure 17 B).

III-3-3-d Variation de l'activité éosinophile peroxydase en fonction de l'âge

L'activité de l'éosinophile peroxydase sérique des patients envenimés de grade I montre une activité élevée chez les enfants moins de 13 ans ($0,19 \pm 0,072$ UDO) par rapport au témoin ($0,06 \pm 0,04$ UDO), cette activité augmente pour atteindre un taux maximal chez les patients entre 33 et 43 ans ($0,29 \pm 0,145$ UDO), elle diminue pour atteindre un taux plus faible chez les patients de plus de 63 ans ($0,16 \pm 0,087$ UDO) (Figure 17 C).

La comparaison des activités MPO et l'EPO en fonction de l'âge chez les patients de grade II montre qu'il n'y a aucune relation entre les activités MPO ou EPO et l'âge du patient. La variation de cette activité est surtout liée au temps post piqûre. Le patient de grade II âgé de 55 ans présente l'activité myeloperoxydase la plus élevée, il présente aussi une concentration des IgE sériques très élevée (Figure 18).

III-3-4 Corrélation entre les IgE sériques et les activités myeloperoxydase et peroxydase éosinophilique

Afin de vérifier si les IgE sériques sont impliquées directement ou indirectement dans l'activation des polynucléaires éosinophiles et neutrophiles, des corrélations entre la concentration sérique des IgE totales, et l'activité de l'EPO et de la MPO ont été effectuées.

Les résultats obtenus indiquent qu'il y a une relation linéaire, positive et significative entre les concentrations élevées des IgE sériques et l'activité de l'EPO avec un coefficient de corrélation $R= 0,62$. Cela est probablement dû à la capacité des IgE d'entraîner la dégranulation des éosinophiles et la libération de différents médiateurs comme l'EPO en se fixant sur des récepteurs membranaires spécifiques (Guilpain., 2006) (Figure 19 A).

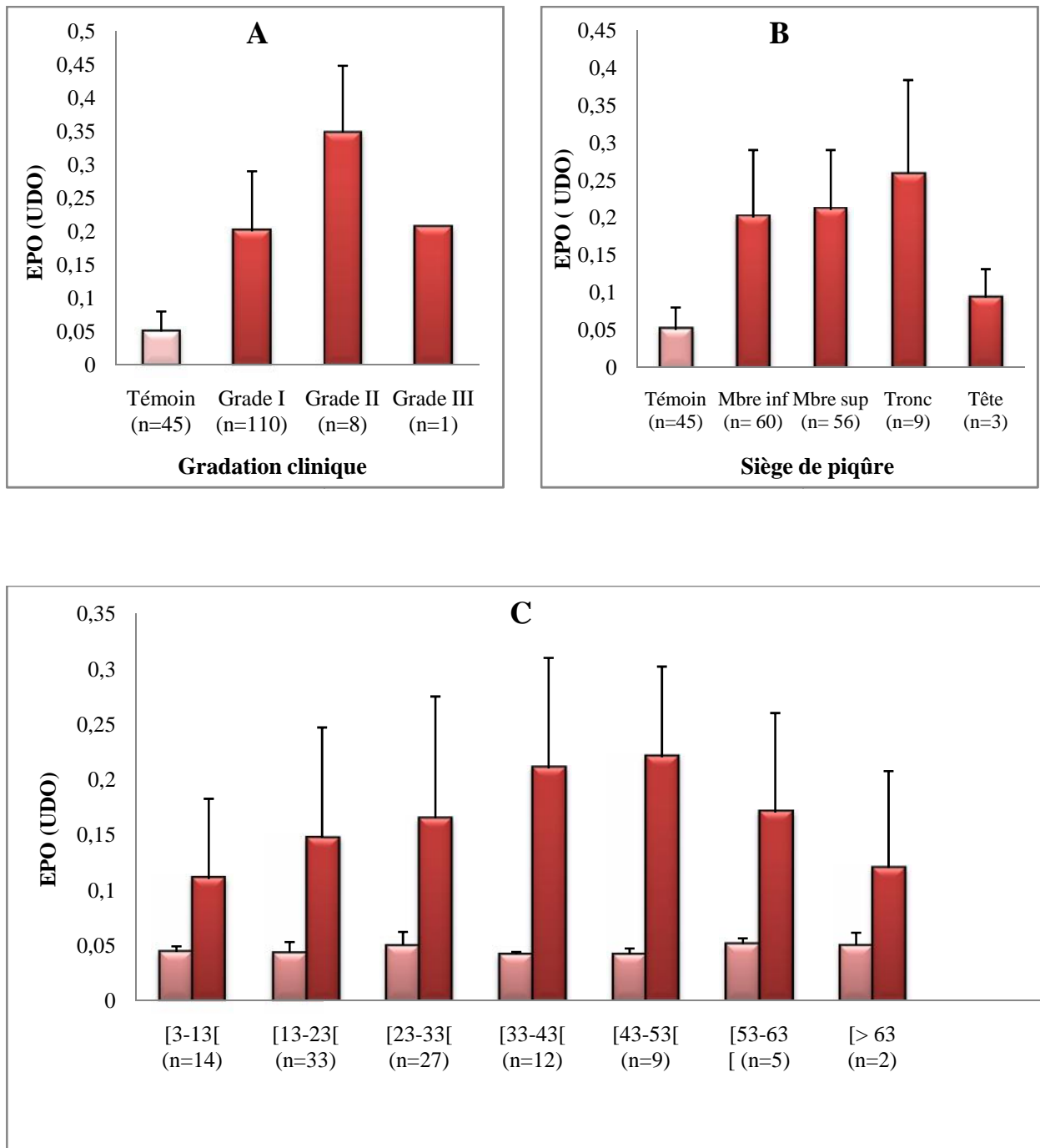


Figure 17 : Activité sérique de l'éosinophile peroxydase des patients envenimés :
en fonction de la gravité de l'envenimation (A).

en fonction du site de piqûre chez des patients envenimés de grade I (B).

en fonction de l'âge chez des patients envenimés de grade I (C).

(Mbre sup : membre supérieur ; Mbre inf : membre inférieur).

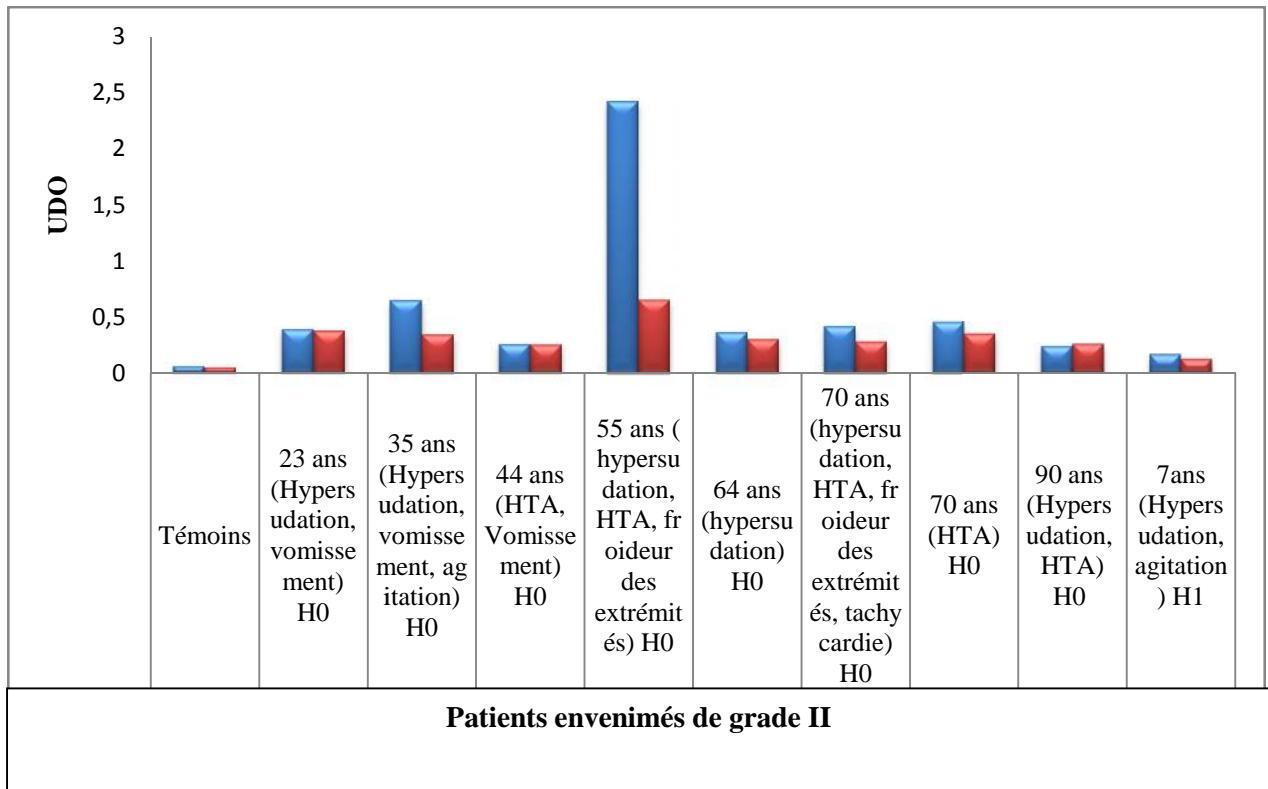


Figure 18 : Variation des activités myeloperoxydase et peroxydase éosinophile en fonction de l'âge chez les patients de grade II.

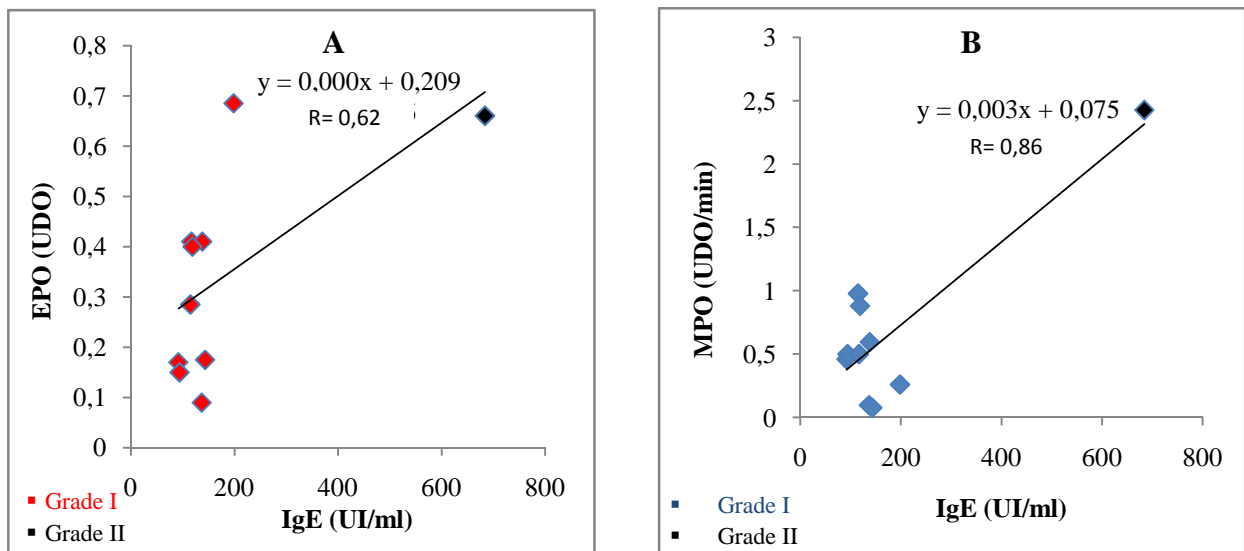


Figure 19 : Corrélation entre la concentration sérique des IgE, l'activité de l'EPO (A) et l'activité de la MPO (B) chez les patients envenimés ayant une concentration des IgE sérique élevée.

Cependant aucune corrélation significative n'a été trouvée entre les concentrations sériques des IgE qui sont dans les normes et l'activité de l'EPO.

Dans cette étude nous avons essayé d'établir une corrélation entre les IgE et de l'activité myeloperoxydase. Le résultat obtenu montre une corrélation positive très forte entre les concentrations élevées des IgE sériques et l'activité de la MPO, avec un coefficient de corrélation $R= 0,86$ (Figure 19 B). Par ailleurs, aucune corrélation significative n'a été constatée entre les concentrations des IgE totales qui restent dans les normes et l'activité de la MPO.

Cette corrélation positive entre les concentrations élevées IgE totales et l'activité de la MPO pourrait être due à la présence des récepteurs de haute affinité pour les IgE à la surface des neutrophiles chez ces patients.

Les travaux effectués sur des patients avec un asthme allergique mais non pas les individus non allergiques ont montré que les neutrophiles expriment le récepteur Fc RI, un récepteur de haute affinité pour les IgE (Gounni *et al.*, 2001).

III-3-5 Détermination du taux du monoxyde d'azote dans les sérums de patients envenimés

En cas d'envenimation scorpionique, la concentration des toxines dans les organes est généralement faible (Devaux *et al.*, 2004), et ne peut pas expliquer la nécrose ou bien la cytolysse souvent observées dans plusieurs organes, la génération des radicaux libres dans le plasma et dans les organes pourrait expliquer ces modifications physiopathologiques (Douset *et al.*, 2005).

Le monoxyde d'azote est un radical libre qui joue le rôle d'un médiateur paracrine synthétisé par les cellules endothéliales et par de nombreux autres types cellulaires. Il est à la fois un puissant vasodilatateur nitré endogène, un neuromédiateur, une molécule cytotoxique et cytostatique, et un agent oxydant (Moncada *et al.*, 1993 ; Collin *et al.*, 2008). La surproduction du NO est induite par des processus de type ischémie.

Au cours d'une réponse inflammatoire, les cellules inflammatoires produisent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui interagissent avec le NO pour former des oxydants inflammatoires dérivés du NO qui provoquent des dommages tissulaires (Folkerts *et al.*, 2001).

La détermination du taux du monoxyde d'azote (nitrites + nitrates) chez des patients envenimés a été effectuée, les variations du NO en fonction du temps post piqûre, du grade, de l'âge et en fonction du site de piqûre ont été étudiées.

III-3-5-a Détermination des taux du NO chez des patients envenimés en fonction du temps post piqûre

La détermination du taux du monoxyde d'azote chez les patients de grade I, montre que l'envenimation scorpionique induit une augmentation précoce et significative dans la production du NO.

Les résultats obtenus sont des concentrations importantes entre 80 et 100 min temps post piqûre chez les patients de grade I ($25,18 \pm 5,32 \mu\text{M}$ et $25,35 \pm 3,45 \mu\text{M}$ respectivement) plus de quatre fois le taux obtenu pour le témoin ($5,4 \pm 2,4 \mu\text{M}$) (Figure 20A).

L'envenimation expérimentale des souris avec une dose sub létale du venin d'*Aah* ainsi que ces toxines potentialisent une production importante du monoxyde d'azote (Boukari., 2006).

Des études cliniques et expérimentales ont également montré une augmentation des concentrations sériques du NO dans les cas d'envenimations scorpioniques (Mekki *et al.*, 1998 ; Petricevich *et al.*, 2002).

Ces taux élevés de NO sérique chez les patients envenimés pourraient être expliqués par la libération des cytokines, notamment l'IL-1, qui active la forme inductible de la NO synthase. Les formes constitutives de la NO synthase peuvent être activées sous l'effet de la libération de l'acétylcholine et des bradykinines libérés en grandes quantités après piqûres de scorpion (Meki *et al.*, 1998). Les catécholamines pourraient induire également la génération des radicaux libres (Khorchode *et al.*, 2002).

III-3-5-b Détermination de la variation du taux du NO selon la sévérité de l'envenimation

Les taux sériques de NO chez les patients envenimés sont élevés en comparaison avec les témoins chez les patients de grade I et II. L'unique patient de grade III présente un taux de NO comparable à celui du témoin (Figure 20B).

Les patients de grade II présentent des concentrations significativement élevées ($31 \pm 10,41 \mu\text{M}$) par rapport à celles des patients du grade I et III ($18 \pm 7,08 \mu\text{M}$ et $7,97 \mu\text{M}$ respectivement) par rapport au témoin ($5,34 \pm 2,65 \mu\text{M}$).

Des résultats similaires ont été trouvés par Meki et collaborateurs (1998) chez des patients de grade I et II avec des concentrations de NO élevées par rapport à celles des témoins.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Doughty *et collaborateurs* (1996) qui ont montré dans des conditions de septicémie notamment l'intoxication et les lésions tissulaires la présence de concentrations élevées de cytokines et de NO dans les cas de septicémie avec une relation directe avec le score de défaillance d'organe (Doughty *et al.*, 1996).

Des inhibiteurs de NO ont été utilisés pour mieux comprendre le rôle du NO dans la physiopathologie de l'envenimation scorpionique, cela montre que ces derniers ne font qu'aggraver la symptomatologie de l'envenimation scorpionique suggérant que la libération du NO n'est pas impliquée dans la toxicité du venin, mais pourrait participer dans la vasodilatation ce qui compenserait l'augmentation de la pression artérielle induite par les catécholamines (Dousset *et al.*, 2005).

III-3-5-c Variation de la concentration sérique du NO total en fonctions du siège de piqûre

La concentration sérique du NO varie en fonction du siège de piqûre, elle est plus importante quand il s'agit d'une piqûre au niveau du tronc chez les patients de grade I ($19,3 \pm 9,5$). Les concentrations plus faibles ont été enregistrées suite à une piqûre au niveau de la tête (NO = $10,6 \pm 1,56 \mu\text{M}$) comparé aux témoins ($5,34 \pm 2,65 \mu\text{M}$) (Figure 20 C).

III-3-5-d Détermination de la variation de la concentration du NO et relation avec l'âge du patient

Les concentrations du NO des patients envenimés du grade I en fonction de l'âge sont augmentés chez tous les patients quelque soit l'âge comparé aux témoins. Il semblerait qu'il y a une différence dans la production du NO entre les différentes tranches d'âges, elle semble être plus faible chez les patients âgés (Figure 21A).

Chez les patients de grade II, les enfants du semblent être plus susceptibles au venin de scorpion que les adultes. Les taux du NO semblent être plus élevés chez les enfants bien que l'un d'eux a été prélevé après une heure d'envenimation et le deuxième enfant le prélèvement a été effectué après trois heures d'envenimation et après traitement (Figure 21B).

Plusieurs études suggèrent que les signes et les symptômes de l'envenimation scorpionique sont plus sévères chez les enfants (Mohey-Eldeen *et Meki.*, 1996).

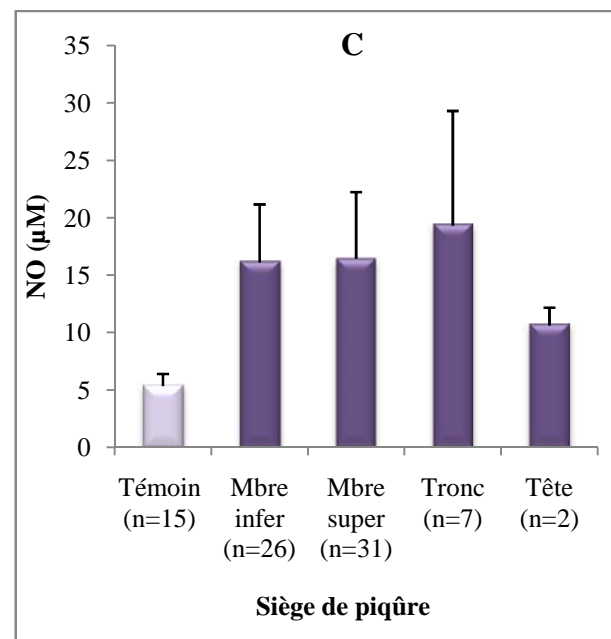
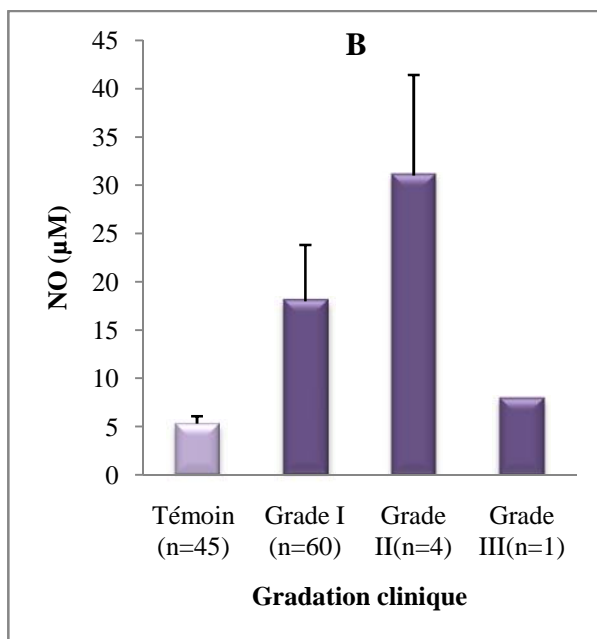
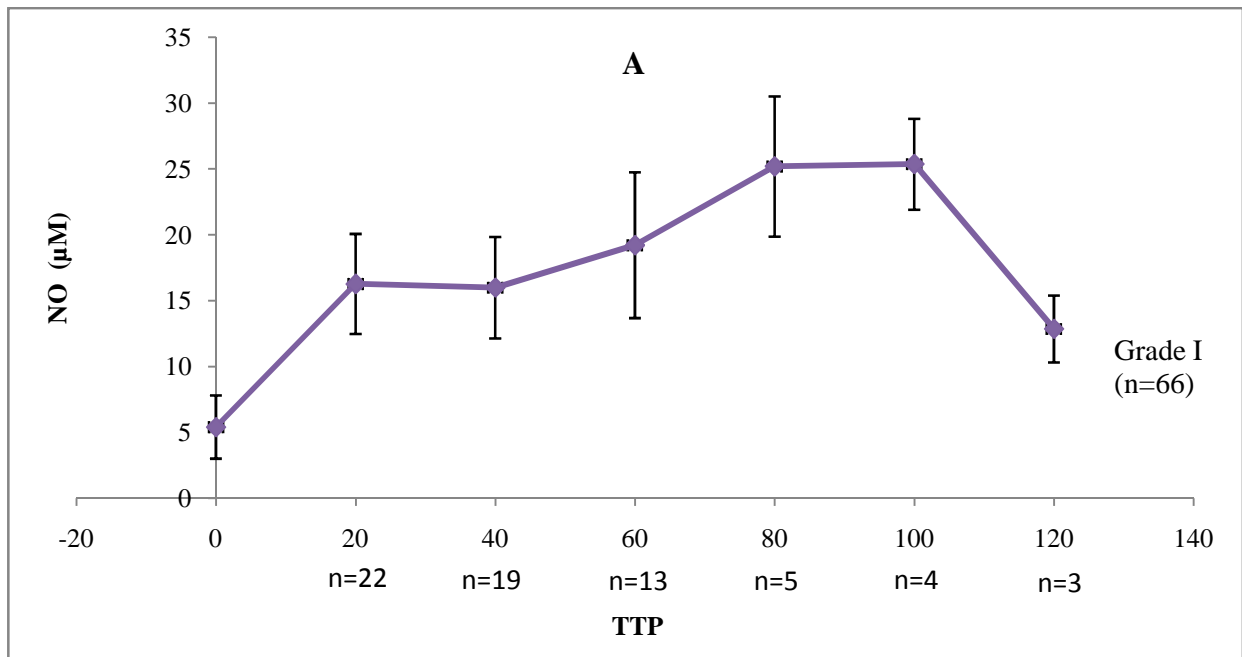


Figure 20 : Variation des concentrations sériques du NO chez des patients envenimés :

en fonction du TPP chez des patients de grade I (A).

en fonction du grade (B).

en fonction du siège de piqûre chez des patients envenimés de grade I (C).

(Mbre sup : Membre supérieur ; Mbre inf : Membre inférieur).

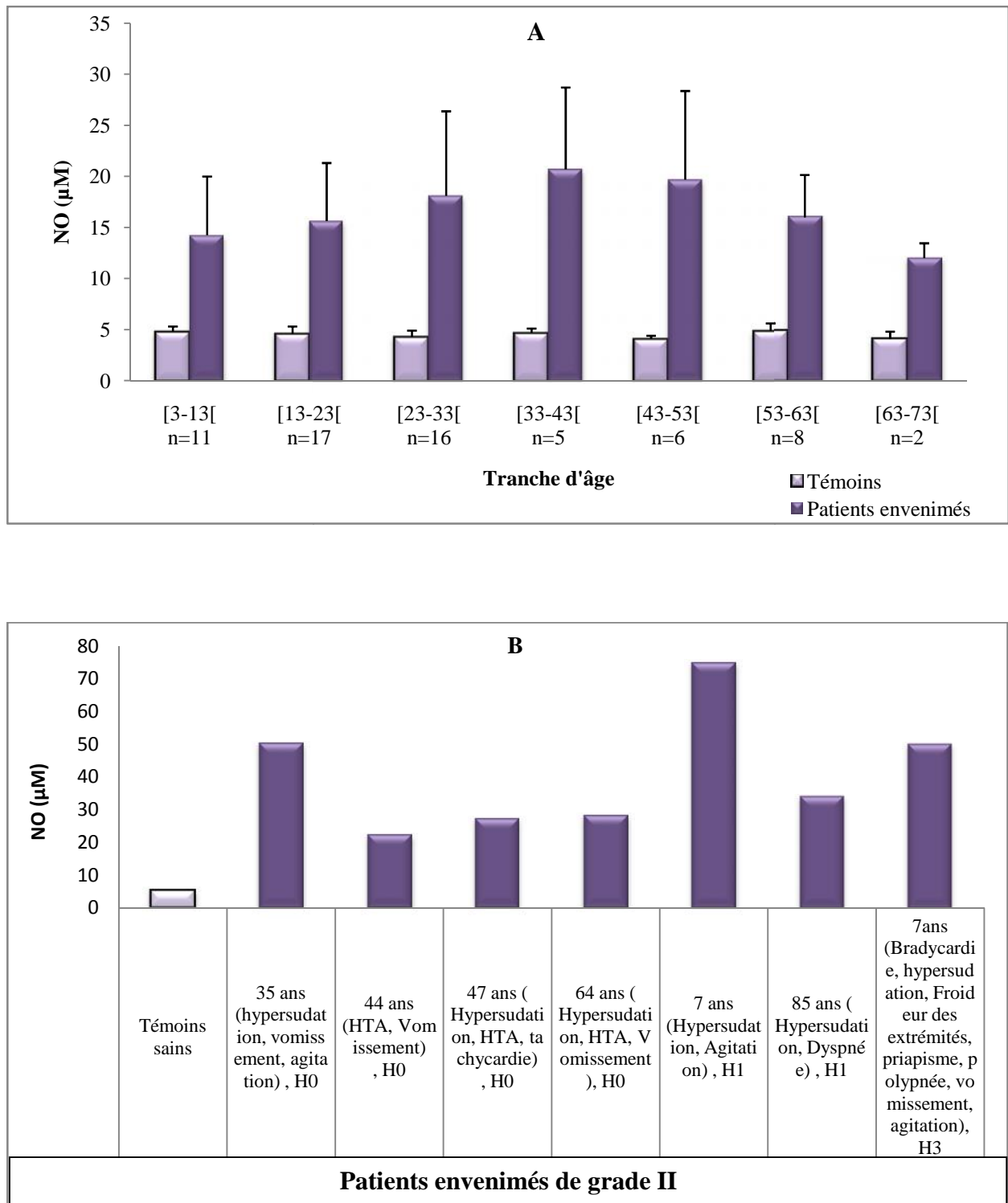


Figure 21: Variation de la concentration sérique du NO en fonction de l'âge :

A : chez les patients de grade I. **B :** chez les patients de grade II.

(H0 : prélèvement effectué dans la première heure de l'envenimation. H1, H3 : prélèvement effectué après une heure et après trois heures).

Parmi les patients de grade II, ceux qui présentent des signes d'agitation sont ceux dont les concentrations de monoxyde d'azote les plus élevées. Il semble qu'il y a une relation entre l'apparition de ce signe et le taux du monoxyde d'azote.

III-3-6 Etude de la peroxydation lipidique chez les patients envenimés

La peroxydation lipidique est un mécanisme général de la destruction tissulaire par les radicaux libres qui sont connus être responsables de la destruction cellulaire pouvant induire des effets pathologiques. Le produit final de la peroxydation des lipides est le malondialdéhyde (MDA), qui réagit avec l'acide thiobarbiturique.

III-3-6-a Variation de la concentration sérique en MDA en fonction de la gradation clinique

La variation du stress oxydant au cours de l'envenimation scorpionique a été étudiée par le dosage du MDA. Les taux des produits de la peroxydation lipidique malondialdéhyde (MDA) augmentent significativement chez tous les patients par rapport aux témoins. Cette augmentation est 2,6 fois chez les patients de grade I et de 4,5 fois chez les patients de grade II par rapport aux témoins sains (Figure 22 A).

De nombreux auteurs ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après envenimation scorpionique par *Buthus occitanus*, *Leiurus quinquestriatus* et *Scorpiomaurus palmatus* (Meki *et al.*, 2003 ; Dousset *et al.*, 2005 ; Fatani *et al.*, 2006).

III-3-6-b Variation de la concentration sérique en MDA en fonction du siège de piqûre

Les piqûres au niveau des membres supérieurs et inférieurs provoquent la même augmentation dans la peroxydation des lipides, tandis que les piqûres au niveau du tronc et au niveau de la tête présentent des taux plus faibles (Figure 22B).

III-3-6-c Variation de la concentration sérique en MDA en fonction de l'âge

Les taux sériques en MDA augmentent significativement chez tous les patients de toutes les tranches d'âge. Cependant il n'existe aucune différence entre les taux sériques en MDA chez les patients de grade I (Figure 23A). Chez les patients de grade II, une différence significative semble exister entre les différents patients mais sans aucune corrélation avec l'âge (Figure 23B).

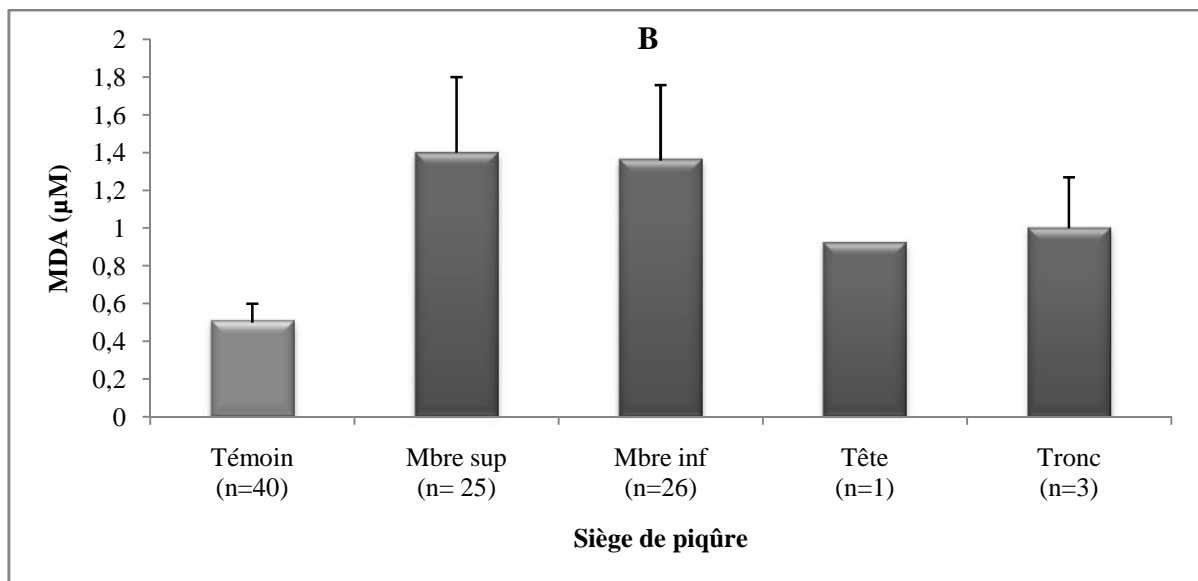
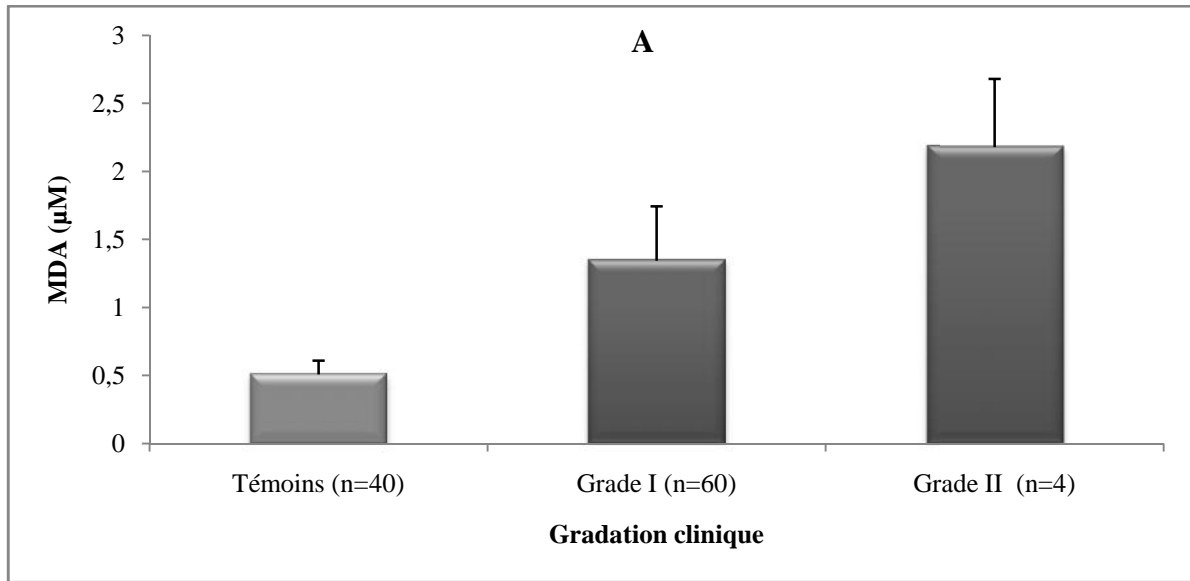


Figure 22 : Variation de la concentration sérique en MDA chez des patients envenimés

A: en fonction du grade.

B : en fonction du siège de piqûre chez des patients envenimés de grade I.

(Mbre sup : Membre supérieur ; Mbre inf : Membre inférieur).

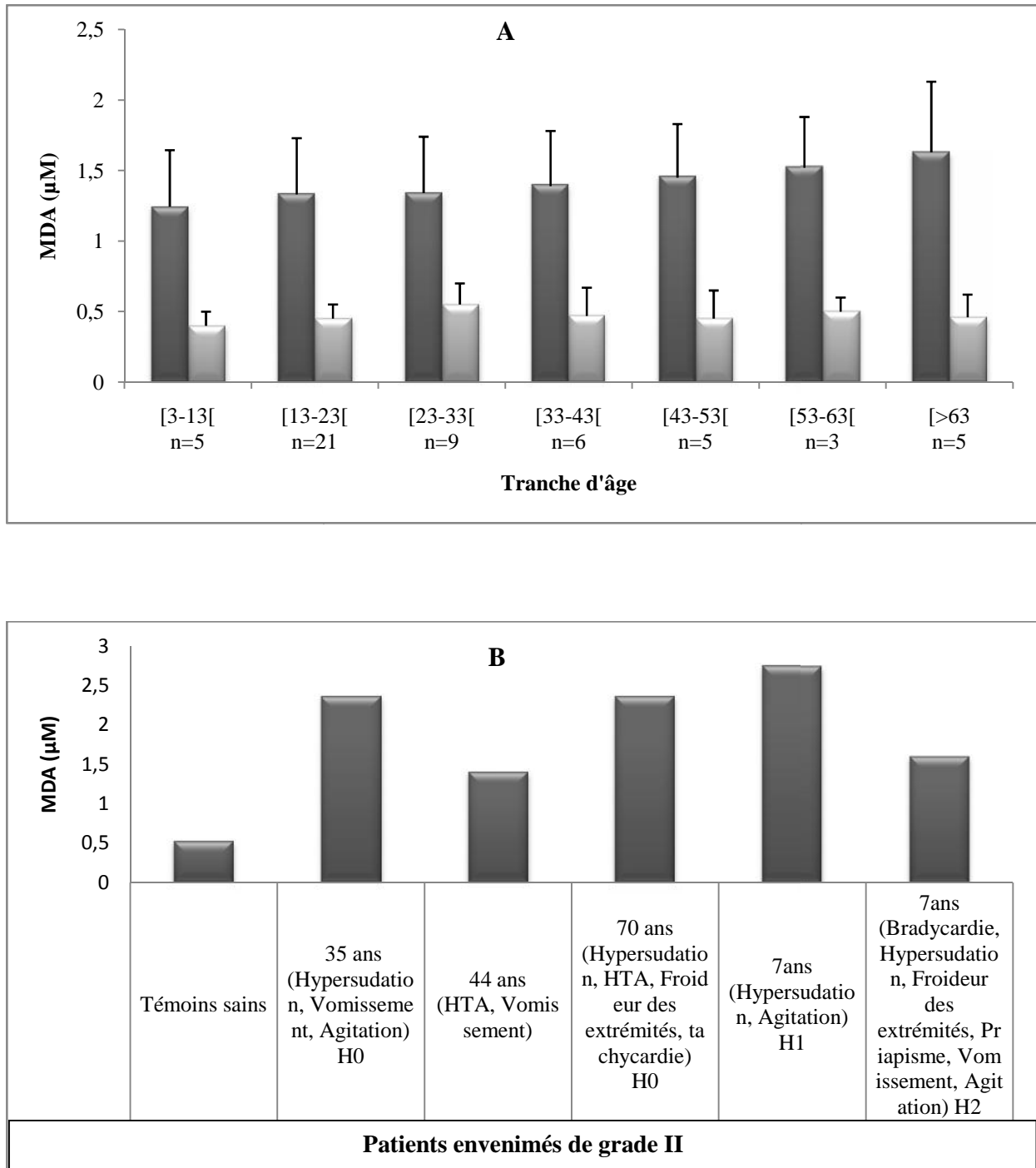


Figure 23 : Variation de la concentration sérique en MDA chez des patients envenimés en fonction de l'âge.

A : Patients de grade I

B : Patients de grade II.

III-3-7 Effet du traitement sur les activités myeloperoxydase, éosinophile peroxydase et la concentration du NO chez des patients envenimés

L'efficacité du traitement spécifique et symptomatique à neutraliser l'inflammation induite par l'envenimation scorpionique a été étudiée chez quelques patients et cela en comparant les activités de la MPO et de l'EPO ainsi que les concentrations du NO avant et après traitement.

Les résultats indiquent un rétablissement des activités myeloperoxydase et peroxydase éosinophilique chez tous les patients dès la première heure de l'administration du traitement. Ainsi chez les patients de grade I, les activités de la MPO et de l'EPO diminuent de façon significative et deviennent comparables à celle du témoin au bout de trois heures, cependant ces activités restent toujours élevées par rapport au témoin chez les patients de grade II et III (Figure 24 A).

Les résultats du dosage du NO avant et après traitement révèlent qu'après une heure, le traitement n'induit pas une diminution dans le taux sérique du NO chez deux patients de grade I, cependant une nette diminution de cette concentration est observée après trois heures du traitement pour deux patients adultes (grade I et grade II) (Figure 24 B). Ces résultats permettent de suggérer que le traitement administré aux patients provoque une réduction significative des activités peroxydase de la MPO et de l'EPO ainsi qu'une diminution de la concentration du NO diminuant probablement les effets délétères de ces médiateurs inflammatoires.

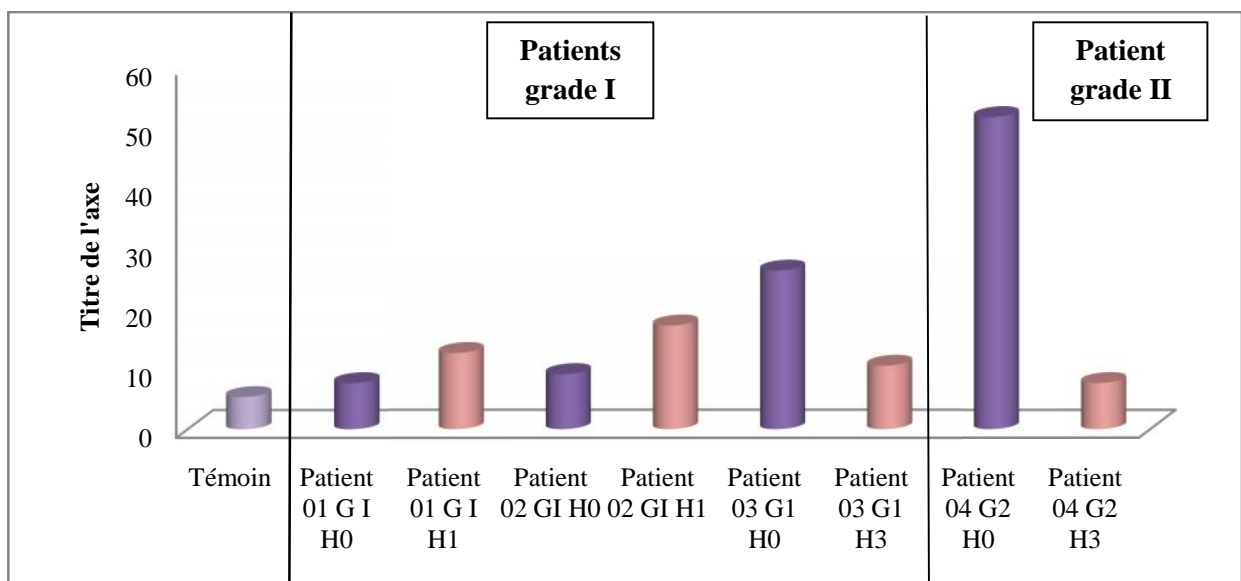
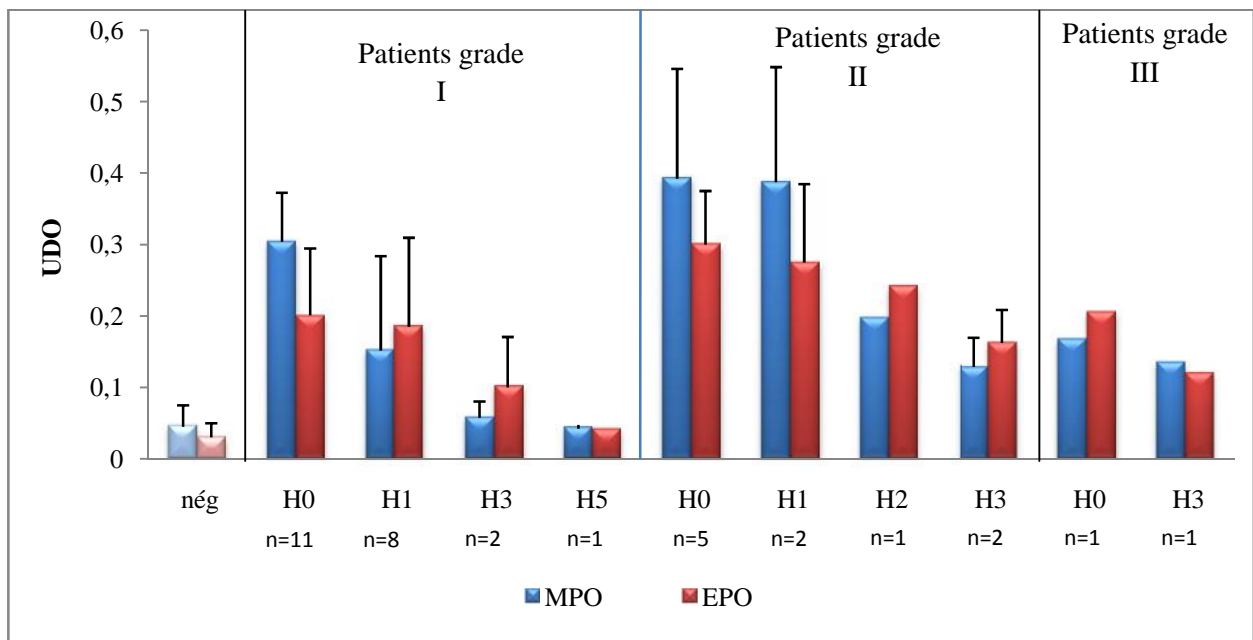


Figure 24: Variation des paramètres inflammatoires sériques des patients envenimés avant et après traitement

A : Variation des activités de la MPO et de l'EPO.

B: Concentration sérique du NO avant et après traitement chez certains patients envenimés.

(G1, G2, G 3: gradeI, II et III. H0 : prélèvement effectué avant une heure d'envenimation et avant traitement H1, H2, H3, H4, H5 : prélèvements effectués après une heure, deux heures, trois heures, quatre heures et cinq heures d'envenimation respectivement et après traitement.).

Discussion Générale

Discussion Générale

Les manifestations cliniques de l'envenimation scorpionique semblent être secondaires à l'activation du système sympathique et parasympathique. Bien que les venins de certaines espèces induisent apnée, bradycardie hypotension, l'activation du système nerveux sympathique conduit fréquemment à une hypertension et à un œdème pulmonaire. Les envenimations scorpioniques sévères, caractérisées par les manifestations cardiovasculaires, pulmonaires et neurologiques sont parfois mortelles suite à des complications tels que le dysfonctionnement myocardique, l'état de choc, l'œdème pulmonaire et l'encéphalopathie hypertensive. Les toxines des scorpions induisent également des manifestations sévères au niveau du système nerveux central avec une irritabilité marquée et une perte de la conscience (Ismail *et al.*, 1995).

Dans cette étude, les signes prédominants chez les patients de grade II et III impliquent le système cardiovasculaire avec une hypertension artérielle, une tachycardie, une bradycardie et une froideur des extrémités. La stimulation des récepteurs alpha par les toxines de venins de scorpions joue un rôle majeur dans la physiopathologie, elle résulte en une hypertension, une tachycardie, un dysfonctionnement myocardique, un œdème pulmonaire et une froideur des extrémités (Murthy *et al.*, 1994). De même, la stimulation des récepteurs alpha conduit à une réduction de la sécrétion de l'insuline, à une hyperglycémie, et à une accumulation des radicaux libres délétère pour le myocarde (Meki *et al.*, 2003 ; Ozkan *et al.*, 2006 ; Mahadevan., 2000).

Le choc cardiogénique et l'œdème pulmonaire sont les principales causes décès après une envenimation scorpionique (Ismail M., 1995; Gueron *et al.*, 2000).

Les venins de scorpions par leur action sur le système nerveux central (SNC) et/ou sur le système cardiovasculaire induisent chez certains des patients des signes respiratoires (polypnée et dyspnée). Des études antérieures sur l'envenimation scorpionique rapportent le dysfonctionnement ventriculaire gauche, la myocardite, la défaillance respiratoire et l'œdème pulmonaire chez les victimes piqués par le scorpion (Amaral *et al.*, 1994 ; Das *et al.*, 1995).

Les manifestations neurologiques telles que l'agitation sont observées chez certains des patients et qui pourraient être expliquées par l'encéphalopathie hypertensive ou par l'ischémie cérébrale (Bahloul *et al.*, 2004). La présence des manifestations dues à une stimulation cholinergique (hypersudation, hyperthermie, priapisme, vomissements et diarrhée) est également observée.

Les effets systémiques de l'envenimation scorpionique sont dus non seulement à la libération massive des neurotransmetteurs mais aussi à l'activation du système inflammatoire avec la libération et l'activation de cytokines pro-inflammatoires, de médiateurs chimio-attractants, de l'infiltration cellulaire et d'autres médiateurs vasoactifs (Magalhaes *et al.*, 1999; Petricevich, 2004).

L'activation du système inflammatoire et sa cascade d'événements joue un rôle majeur dans la pathogénèse de l'envenimation et sa symptomatologie (Magalhaes *et al.*, 1999; Petricevich, 2004).

Les résultats de cette étude suggèrent que l'envenimation scorpionique affecte le système immunitaire conduisant à la libération de médiateurs inflammatoires tels que les IgE, la MPO, l'EPO, le NO et le MDA. Les médiateurs inflammatoires libérés interagissent dans l'organisme avec d'autres protéines et récepteurs, ce qui est déterminant de l'effet inflammatoire induit par le venin.

Des corrélations ont été établies afin de déterminer les marqueurs de pronostic chez les patients piqués.

Les polynucléaires neutrophiles sont les premières cellules activées dans la défense immunitaires contre les agressions. L'activation et le recrutement des polynucléaires neutrophiles circulants au niveau du site de la blessure représentent la phase précoce de défense de l'hôte et de la réponse aux dommages tissulaires. Cette réponse est commune à tous les tissus et les organes. Cliniquement, l'augmentation du nombre des polynucléaires neutrophiles dans le sang est généralement utilisée pour déterminer le développement d'une inflammation (Cinel *et al.*, 2007). Une approche pratique et quantitative consiste en un dosage biochimique de l'activité enzymatique de la myéloperoxydase associée aux polynucléaires neutrophiles. Cette enzyme est présente dans les granules azurophiles des polynucléaires neutrophiles recrutées dans les tissus endommagés (Stehr *et al.*, 2007).

L'évaluation de l'activité myeloperoxydase plasmatique des neutrophiles chez les patients envenimés pourrait aider à déterminer l'état d'activation des neutrophiles et leur fonctionnement.

Dans cette étude nous rapportons la relation qui pourrait exister entre la sévérité de l'envenimation scorpionique et l'activité enzymatique myeloperoxydase plasmatique. Cette activité myeloperoxydase augmente chez les patients envenimés, et notamment chez les patients de grade II par rapport aux patients de grade I et de grade III.

La MPO libérée dans la circulation sanguine semble avoir un rôle important dans la régulation de la réponse inflammatoire et immunitaire, notamment dans l'infiltration leucocytaire et dans le recrutement d'autres cellules du système immunitaires (Marcie *et al.*, 2011). Elle joue aussi un rôle dans l'augmentation de l'expression de certains médiateurs amplifiant ainsi la réponse inflammatoire (Schoonbroodt *et al.*, 1997 ; Nys *et al.*, 2002 ; Kothari *et al.* 2011)

Les résultats que nous avons obtenus semble être en accord avec les études expérimentales réalisées par notre équipe qui ont montré une augmentation du nombre de polynucléaires neutrophiles ainsi que leur infiltration dans la branche broncho-pulmonaire après injection du venin de scorpion (Adi-Bessalem *et al.*, 2011).

Les neutrophiles activés semblent infiltrer les poumons et migrer vers les voies aériennes conduisant à la libération des radicaux libres de l'oxygène et des enzymes (protéases et myeloperoxydase). La MPO est responsable de la production des oxydants HOCl qui pourraient endommager des structures biologiques tels que les protéines, les carbohydrates, les lipides et les acides nucléiques, exacerbant ainsi des dommages au niveau des cellules endothéliales et des protéines de la matrice sous-endothéliale se traduisant par des lésions tissulaires (Boletini-Santos *et al.*, 2008 ; Borges *et al.*, 2000 ; Borges *et al.*, 2011 ; Nikhil Kothari *et al.*, 2011). Les neutrophiles sont considérés comme des marqueurs des dommages tissulaires qui surviennent dans les maladies inflammatoires.

Les éosinophiles sont une sous-population de granulocytes impliqués dans diverses réponses inflammatoires, ils sont capables de phagocyter et de sécréter des médiateurs toxiques (Halbwachs-Mecarelli., 2004).

Dans cette étude, les résultats indiquent que les toxines du venin de scorpion semblent induire une stimulation des éosinophiles dans la circulation sanguine. L'activation de ce type de cellules immunitaires a conduit à la libération de plusieurs composants granulaires notamment l'EPO. Cette activation semble être en corrélation avec la sévérité de l'envenimation.

L'EPO libérée dans la circulation sanguine pourrait donner des effets pro-inflammatoires, cytotoxique et neurotoxique (Ponvert., 2000 ; Halbwatchs-Mecarelli., 2004)

La corrélation positive entre l'activité de la MPO, l'EPO et la sévérité de l'envenimation scorpionique chez les patients grade I et grade II permet de suggérer que les réponses physiopathologiques sont dues à des dommages oxydatifs dépendants de la MPO et de l'EPO. Ces médiateurs sont impliqués dans la phase précoce de la réaction inflammatoire induite par le venin de scorpion.

Le venin de scorpion contient des protéines antigéniques et potentiellement allergiques. Certains patients pourraient présenter des réactions immunologiques immédiates à l'envenimation (Jeffrey *et al.*, 1995). Nos résultats révèlent que certains patients présentent des taux d'IgE élevés par rapport aux témoins ce qui suggère que la réaction d'hypersensibilité médiée par les IgE pourrait survenir chez certains patients. Certains cas d'envenimation scorpionique fatal pourrait être dû à l'anaphylaxie (Leynadier *et al.*, 1997).

Les IgE sont capables d'activer les mastocytes et les basophiles, le résultat de cette activation est la libération d'une grande variété de médiateurs pro-inflammatoires, de facteurs chimiotactiques ainsi qu'un grand nombre de cytokines (Blank *et al.*, 1998).

Au cours de cette étude nous avons trouvé une corrélation positive entre le taux élevé des IgE et les activités peroxydase des neutrophiles et des éosinophiles, il semblerait que le venin de scorpion induit chez certains patients une réaction anaphylactique caractérisée par la dégranulation IgE dépendante des polynucléaires neutrophiles et des éosinophiles, avec libération rapide de médiateurs divers notamment la MPO et l'EPO.

Les IgE semblent participer au recrutement et à l'activation des neutrophiles car les complexes immuns allergène/IgE sont plus puissant que l'allergène seul pour déclencher une inflammation respiratoire chez la souris, et notamment l'afflux des neutrophiles dans le liquide broncho-alvéolaire (Zuberi *et al.*, 2000). Il a été observé une activation des

neutrophiles de patients allergiques par leurs allergènes mettant en jeu les IgE qui se traduit par la libération d'élastase et de myeloperoxydase (Monteseirin *et al.*, 2001 ; 2003).

La stimulation IgE-dépendante des éosinophiles par exposition à l'allergène spécifique entraîne la libération rapide et sélective de la peroxydase EPO, de la protéine basique majeure (MBP), du PAF et de LTC₄ (Dessaint *et al.*, 1990).

L'étude de l'implication du stress oxydatif dans l'évolution de l'envenimation scorpionique a montré que le venin de scorpion semble induire la production de NO ainsi que la libération du MDA.

Les résultats obtenus montrent que le venin de scorpion stimule la production du NO probablement par l'induction de l'iNOS des cellules inflammatoires. Certaines cytokines comme l'INF-gamma, le TNF-alpha et l'IL-1 induisent la Inos.

Le NO joue aussi un rôle dans la synthèse et la libération de médiateurs pro-inflammatoires telles que les cytokines, les espèces réactives de l'oxygène et les prostaglandines (Santebin *et al.*, 1995 ; Marcunkiewicz *et al.*, 1995). Ainsi, plusieurs études suggèrent que le NO provoque une dilatation des vaisseaux sanguins (Gardiner *et al.*, 1990) et favorise la perméabilité vasculaire se traduisant par la formation d'œdème.

Par ailleurs, le NO réagit avec l'anion superoxyde pour former le peroxyde nitrite, qui est une espèce oxydante potentielle capable de produire une peroxydation lipidique et des lésions tissulaires (Backman *et al.*, 1990 ; Radi *et al.*, 1991 ; Rubbo *et al.*, 1994)

Les résultats sur le dosage du NO obtenus dans cette étude pourraient expliquer le rôle vasodilatateur potentielle du monoxyde d'azote NO dans l'hypotension terminale généralement observée chez les patients et le modèle murin après envenimation et qui peut être fatale. Ces résultats sont en accord avec plusieurs autres travaux qui ont démontré l'élévation des taux de cytokines IL1, IL6, IL8, IL10, TNF et/ou du NO chez des patients envenimés (Meki *et* Mohey El-Deen, 1998; D'Suze *et al.*, 2003; Fukuhara *et al.*, 2003).

La peroxydation lipidique représente un marqueur clé du stress oxydatif, le dosage du MDA peut être utilisé comme marqueur du stress oxydatif (Limaye *et al.*, 2003).

Une augmentation significative des taux sériques en MDA est observée chez tous les patients étudiés, elle est en corrélation avec la sévérité de l'envenimation.

La peroxydation lipidique est un mécanisme général de la destruction tissulaire par les radicaux libres pouvant induire des effets pathologiques. Dans le cas de l'envenimation scorpionique, plusieurs études cliniques et expérimentales rapportent l'augmentation sérique d'enzymes intracellulaires, ce qui indique la lyse cellulaire, pouvant être lié à la peroxydation des lipides membranaires par les radicaux libres conduisant ainsi à la lyse cellulaire et à la libération du contenu cellulaire.

L'augmentation des taux sériques en MDA reflète l'augmentation des concentrations des espèces réactifs de l'oxygène, pouvant être due, soit à l'augmentation de leur production, soit à la réduction de leur élimination suite à l'épuisement des systèmes antioxydants piègeurs (Cho *et al.*, 2002).

L'augmentation de la peroxydation lipidique affaibli le fonctionnement des membranes par la baisse de la fluidité membranaire et par la diminution de l'activité des enzymes et des récepteurs liés aux membranes (Pallavi *et al.*, 2003).

L'ensemble des résultats montrent une bonne corrélation entre la gradation clinique et l'intensité de la réponse inflammatoire. Cependant, les patients de grade III devraient avoir les concentrations des médiateurs inflammatoires les plus élevés, mais il a été observé que la réponse inflammatoire est plus ou moins faible chez ces patients. Cela est probablement lié soit à l'âge du patient et à la faiblesse des réponses immunitaires due au vieillissement, soit à un état de choc septique caractérisé par une véritable immunosuppression systémique (Fumeaux *et al.*, 2002 ; Lesourd., 2004).

La détermination des facteurs de risques qui pourraient influencer sur la sévérité de l'envenimation scorpionique a permis d'obtenir des résultats qui montrent que les piqûres au niveau du tronc sont les plus dangereuses car elles provoquent une stimulation importante du système immunitaire, l'âge du patient ainsi que le temps post piqûre pourraient également constituer des facteurs de risque dans le développement de réactions sévères de l'envenimation scorpionique.

Actuellement, l'immunothérapie est le seul traitement utilisé pour contrecarrer les effets de venin, cependant il doit être administré dans des délais rapides après envenimation (Bessalem *et al.*, 2003).

Dans cette étude, le traitement des patients par les fragments F(ab')₂ spécifiques au venin de scorpion en plus du traitement symptomatique a montré une neutralisation partielle de l'inflammation induite par la piqûre de scorpion. L'administration du sérum anti-scorpionique pourrait diminuer la sévérité de l'envenimation scorpionique et cela par la neutralisation des toxines du venin ainsi que par la diminution de la durée de stimulation du système immunitaire.

Conclusion

Conclusion

Le travail que nous avons réalisé a eu pour objectif d'étudier la réponse inflammatoire déclenchée suite à une envenimation scorpionique.

Les résultats des signes cliniques observés chez les patients de grade II et de grade III montrent que les complications cardiovasculaires sont les premières causes de la sévérité de l'envenimation scorpionique en ce qui concerne la cohorte étudiée, par conséquent le système cardiovasculaire semble alors être parmi les premières cibles du venin de scorpion.

Les résultats de cette étude montrent que les polynucléaires neutrophiles et les éosinophiles sont impliqués dans les phases précoces de la physiopathologie de l'envenimation scorpionique. Les polynucléaires neutrophiles et les éosinophiles activés par le processus inflammatoire aigu libèrent des protéines toxiques comme la MPO et l'EPO, qui pourraient participer à la physiopathologie de l'envenimation scorpionique.

Le venin de scorpion par ses constituants antigéniques et potentiellement allergiques pourrait induire chez certains patients des réactions d'hypersensibilité caractérisées par l'implication des IgE sériques.

La NO synthase inductible semble également être activée par le venin de scorpion et cela par l'augmentation du taux sérique du NO chez tous les patients quelque soit le grade. Plusieurs études suggèrent son implication dans plusieurs manifestations cliniques notamment les manifestations cardio-vasculaires.

Le stress oxydatif semble être impliqué dans la physiopathologie de l'envenimation scorpionique et cela par la peroxydation des lipides membranaire.

L'administration du traitement spécifique plus le traitement symptomatique ont permis de montrer une réduction des taux sériques des différents médiateurs libérés.

L'ensemble des résultats obtenus dans ce travail suggèrent que les médiateurs inflammatoires (IgE, MPO, EPO et NO) sont impliqués dans les phases précoces de la physiopathologie de l'envenimation scorpionique et que le traitement donné à ces patients semble être efficace.

En perspective, ce travail pourrait être compléter par :

- le dosage des antigènes du venin afin d'établir la corrélation entre la quantité du venin circulante et l'intensité de la réponse inflammatoire.
- L'étude de d'autres mécanismes des réactions anaphylactiques notamment ceux impliquant le système du compliment, les IgG et les IgM.
- Déterminer le status antioxydant surtout chez les patents avec une envenimation sévère

Références Bibliographiques

A

Abdel-Haleem, A., Abdel-Raheim, M.A., Mekki, H.A., Noaman, A., Zaghoul, T. M., (2006) Serum levels of IL-6 and its soluble receptor, TNF- and chemokine RANTES in scorpion envenomed children: Their relation to scorpion envenimation outcome, *Toxicon* 47, 437-444.

Abia, A., Lobaton, C.D., Moreno, A., Garcia-Calvo, J., (1986) Leiurus quinquestriatus venom inhibits different kinds of Ca⁺⁺-dependent K^f channel, *Biochim.Biophys. Acta* 856 , 403-407.

Abroug, F., Boujdaria, R., Belghith, M., Nouira, S., Bouchoucha, S., (1991) Cardiac dysfunction and pulmonary edema following scorpion envenomation, *Chest* 100, 1057–1059.

Abroug, F., Nouira, S., Saguiga, H., (1994) L'envenimation scorpionique. Avancées cliniques, Physiologiques et thérapeutiques. Paris : Édition Arnette - Blackwell, , p 68. Monographie, la Société de Réanimation.

Abroug, F., Ayari, M., Nouira, S., Gamra, H., Boujdaria, R., Elatrous, S., Ben Farhat, M., Bouchoucha, S., (1995) Assessment of left ventricular function in severe scorpion envenomation: combined hemodynamic and echo-Dopplerstudy, *Intense Care Med.* 21, 629–635.

Abroug, F., Elaltrous, S., Nouira, S., (1999) Serotherapy in scorpion envenomation: a randomised controlled trial, *Lancet.* 354 (9182): 906-9.

Abroug, F., Nouira, S., El Atrous, S., Besbes, L., Boukef, R., Boussarsar, M., Marghli, S., Eurin, J., Barthelemy, C., El Ayeb, M., Dellagi, K., Carayon, A. (2003). A canine study of immunotherapy in scorpion envenomation. *Intensive Care Med.* 29, 2266– 2276.

Adi-Bessalem, S., Hammoudi-Triki, D., Laraba-Djebari, F (2003) Effet de l'immunothérapie sur les modifications métaboliques et histopathologiques après envenimation scorpionique expérimentale, *Manuscrit n°2431. "Thérapeutique"*.

Adi-Bessalem, S., Hammoudi-Triki, D., Laraba-Djebari, F., (2008) Pathophysiological effects of *Androctonus australis hector* scorpion venom: tissue damages and inflammatory respons, *Experimental and Toxicologic Pathology* 60(4–5): 373–380.

Adi-Bessalem, S., Mendil, A., Hammoudi-Triki, D., Laraba-Djebari, F., (2011) Lung Immunoreactivity and Airway Inflammation: Their Assessment After Scorpion Envenomation, *Inflammation* .10.1007/s10753-011-9338-0.

- Alami, M., Vacher, H., Bosmans, F., Devaux, C., Rosso, J.P., Bougis, P.E., Tytgat, J., Darbon, H., Mart Eaucloire, M.,** (2003) Characterisation of Amm VIII from *Androctonus mauretanicus mauritanicus*: a new scorpion toxin that discriminates between neuronal and skeletal sodium channels. *Biochem. J.* 375, 511-560.
- Ali, S.A., Wang, B., Alam, M., Beck, A., Stoeva, S., Voelter, W., Abbasi, A., Duszenko, M.,** (2006). Structure-activity relationship of an alpha toxin Bs-Tx28 from scorpion (*Buthus indicus*) venom suggests a new alpha toxin subfamily. *Arch. Biochem. Biophys.* 445, 81-94.
- Amaral, C.F., Rezende, N.A.,** (1997) Both cardiogenic and non-cardiogenic factors are involved in the pathogenesis of pulmonary oedema after scorpion envenoming. *Toxicon* 35, 997-998.
- Amaral, C.F., de Rezende, N.A., Freire-Maia, L.,** (1993) Acute pulmonary edema after *Tityus serrulatus* scorpion sting in children, *Am. J. Cardiol.* 71, 242-245.
- Amaral, C.F., Barbosa, A.J., Leite, V.H., Tafuri, W.L., de Rezende, N.A.,** (1994) Scorpion sting-induced pulmonary oedema: evidence of increased alveolocapillary membrane permeability, *Toxicon* 32, 999-1003.
- Andrade, M.V., Souza, D.G., Cunha-Melo, J.R., Teixeira, M.M.,** (2002) Evidence for a role of capsaicin-sensitive sensory nerves in the lung edema induced by *Tityus serrulatus* venom in rats, *Toxicon* 40, 283-287.
- Andrade, M.V., Carames, M.P.R., Abreu, E.M.N.N., Dolnikoff, M., Omar, E.D., Velasco, I.T., Cunha-Melo, J.R.,** (2004) Lung compliance, plasma electrolyte levels and acid-base balance are affected by scorpion envenomation in anesthetized rats under mechanical ventilation, *Comp. Biochem. Physiol., C* 138, 97-104.
- Arnon, T., Potikha, T., Sher, D., Elazar, M., Mao, W., Tal, T., Bosmans, F., Tytgat, J., Ben Arie, N., Zlotkin, E.,** (2005) BjalphalT: a novel scorpion alpha toxin selective for insects unique pharmacological tool. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35, 187-195.
- Asano, M., Masuzawa-Ito, K., Matsuda, T., Suzuki, Y., Oyama, H., Shibuya, M., Sugita, K.,** (1994) Functional role of charybdotoxin-sensitive K⁺ channels in the resting state of dog basilar artery, *J. Auton. Nerv. Syst.* 49, 151-155.
- Azevedo, A.D., Cunha-Melo, J.R., Freire-Maia, L.,** (1979) Arterial hypertension and pulmonary edema induced by catecholamines in unanesthetized rats, *Pharmacol. Res. Commun.* 11, 157-167.

Azevedo, A.D., Silva, A.B., Cunha-Melo, J.R., Freire-Maia, L., (1983) Cardiovascular and respiratory effects induced by a purified scorpion toxin (tityustoxin) in unanesthetized rats, *Toxicon* 21, 753–759.

B

Backman, JS., Beckman, TW., Chen, J., Marshall, PA., Freeman, BA., (1990) Apparent hydroxy radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:1620-4.

Bahloul, M., Hamida, CB., Chtourou, K., (2004) Evidence of myocardial ischaemia in severe scorpion envenomation myocardial perfusion scintigraphy study, *Intensive Care, Med.*30.461–467.

Bahloul, M., Hatem Kallel, H., Nouredine Rekik, N., Ben Hamida, C., Chelly, H., Bouaziz, M., (2011) Atteinte cardiovasculaire lors d'envenimation scorpionique grave Mécanismes et physiopathology, Service de réanimation médicale, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie.

Bahloul, M., Rekik, N., Chabchoub, I., (2005) Neurological complications secondary to severe scorpion envenomation, *Med Sci Monit.*11.196–202.

Bahloul, M., Chaari, A., Dammak, H., Samet, M., Chtara, K., Chelly H., Ben Hamida, C., Kallel, H., Bouaziz, M., (2011) *International Journal of Cardiology* review in press.

Barbouche, M., R., Haguiga, H., Noura, S., Krifi., M.N. Abroug, F., Bouchoura, S., Dellagi, K (1996). Inflammatory cytokines and scorpion envenomation : analysis of serological levels in 46 tunisian patients. *Toxicon* 34, 156.

Barhanin, J., Giglio, J.R., Leopold, P., Schmid, A., Sampaio, S.V., Lazdunski, M., (1982) Tityus serrulatus venom contains two classes of toxins. Tityus gamma toxin is a new tool with a very high affinity for studying the Na⁺ channel, *J. Biol. Chem.* 257, 12553–12558.

Barhanin, J., Pauron, D., Lombet, A., Norman, R., Vijverberg, P., Giglio, J., Lazdunski, M., (1983). Electrophysiological characterization, solubilization and purification of the *Tityus* γ toxin receptor associated with the gating component of the Na⁺ channel from the rat brain. *The EMBO Journal* 2, 915—920.

Barraviera, B., (1996) Systemic inflammatory response syndrome in envenoming. *Toxicon* 35, 13–14.

- Benhabyles.,** (1990) l'envenimation scorpionique en Algérie, REM N°1, Janvier 1990, INSP Alger.
- Benguedda, A.C., Laraba-Djebari, F., Ouahdi, M., Hellal, H., Griene, L., Guerenik, M, Laid, Y.,** (2002) Experience de quinze années de lutte contre l'envenimation scorpionique en Algérie C.N.L.E.S., Bull. Soc. Pathol. Exot. 95, 205–208.
- Bernard, P., Couraud, F., Lissitzky, S.,** (1977) Effects of a scorpion toxin from *Androctonus australis* venom on action potential of neuroblastoma cells in culture, Biochem. Biophys. Res. Commun. 77, 782–788.
- Bernard, D., mécheri, S.,** (1998) Allergie et cytokines, Annales de l'institut Pasteur, actualités 9,2,141-161.
- Bertazzi, D. T., de Assis-Pandochi, A. I., Tlhaferro, V.L., Caleiro, A.E., Azzolini, S., Simon, L., Carott, P., Candiani Arantes, L.,** (2005) Activation of the complement system and leukocyte recruitment by *Tityus serrulatus* scorpion venom. International Immunopharmacology, Volume 5, Issue 6, June 2005, Pages 1077-108.
- Blank, U., David, B.,** (1998) Agrégation des récepteurs à IgE et activation membranaire, Rev. Fr. Allergol 38. (10) 878-885.
- Boletini-Santos, D.E., Naname Komegae, S.G., Figueiredo, V., Haddad, Jr., Lopes-Ferreira, M., Lima, C.,** (2008) Systemic response induced by *Scorpaena plumieri* fish venom initiates acute lung injury in mice, Toxicol. 51. 585–596.
- Borges, C.M., Silveira, M R., Aparecida, C.L., Beker, L., Freire-Maia, and Teixeira M.M.** (2000) Scorpion venom-induced neutrophilia is inhibited by a PAF receptor antagonist in the rat, Journal of Leukocyte Biology 67(4). 515–9.
- Borges, A., Op den Camp, H.J.M., De Sanctis, J.B** (2011) Specific activation of human neutrophils by scorpion venom: a flow cytometry assessment, Toxicology in vitro 25(1). 358–367.
- Borregaard, N., Cowland, J.B.,** (1997) Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte, Blood, 89, 3503-3521.
- Bosmans, F., Tytgat, J.,** (2007) Voltage-gated sodium channel modulation by scorpion α -toxins, Toxicol 49, 142-158.
- Boukari, R.,** (2008) Réaction inflammatoire locale et systémique induite par le venin d'*Androctonus*

australis hector , ses fractions toxiques et ses toxines purifiées : Mécanisme d'action. USTHB Page31-34.

Bradley, R.H., Kelleher, K.J., (1992). Childhood morbidity and mortality: the growing impact of social factors. *Presented at Conf. Social Sci. Health Policy: Building Bridges Between Research and Action.*

Bradley, R.H., Whiteside-Mansell, L., (1997). Children in poverty. In Handbook of Prevention and Treatment With Children and Adolescents, *Ammerman, MHersen*, 13–58.

C

Cain, B.S., Meldrum, D.R., Dinarello, C.A., Meng, X., Joo, K.S., Banerjee, A., (1999) Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta synergistically depress human myocardial function, *Crit Care Med* 27: 1309-18.

Carbone, E., Prestipino, G., Franciolini, F., Dent, M.A., Possani, L.D., (1984) Selective modification of the squid axon Na currents by *Centruroides noxius* toxin II, *J. Physiol.* 79, 179–184.

Catterall, W.A., (1976) Purification of a toxic protein from scorpion venom which activates the action potential NaC ionophore. *J. Biol. Chem.* 251, 5528–5536.

Catterall, W.A., (1979) Binding of scorpion toxin to receptor sites associated with sodium channels in frog muscle. Correlation of voltage-dependent binding with activation. *J. Gen. Physiol.* 74, 375–391.

Chai, Z., Zhu, M., Bai, Z., Liu, T., Tan, M., Pang, X., Ji, Y., (2006) BmK alphaIV, a novel modulator of sodium channels : from genomic organization to functional analysis. *Biochem. J.* 399 (3), 445-453.

Chaudry, I.H., Stephan, R.N., Harkema, J.M., Dean, R.E., (1989) Immunological alterations following simple hemorrhage. In: Faist, F., Ninneman, J., Green, D. (Eds.), *Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis*, Springer, Berlin, pp. 363–373.

Chen, C., Folan, R., Kwok, H., O’Kane, Ed., J, Bjourson A.B and Shaw, C., (2003) Isolation of scorpion (*Androctonus amoreuxi*) putative alpha neurotoxine and parallel cloning of their respective c DNAs from a single sample of venom. *Regulatory peptides* 115:115-121.

Chippaux, J.-P and Goyffon, M., (2008) Review Epidemiology of scorpionism: Aglobal appraisal. *Acta Tropica* 107:71-79.

Cho, N.K., Keyes, L., Johnson, E., Heller, J., Ryner, L., Karim, F., Krasnow, M.A., (2000). Developmental control of blood cell migration by the *Drosophila* VEGF pathway. *Cell* 108(6): 865-876.

Cinel, I., Dellinger, R.P., (2007) Advances in pathogenesis and management of sepsis, *Curr Opin Infect Dis.*20.345-52.

Collin, S.,Levy B (2008) Pathophysiological mechanisms of vascular hyporesponsiveness in shock states

Corzo, G., Villegas, E., Nakajima, T., (2001). Isolation and structural characterization of a peptide from the venom of scorpion with toxicity towards invertebrates and vertebrates protein peptide *Lett.* 8, 385-393.

Couissinier-Paris, P (2006). Activated eosinophils: techniques to characterize them. *Jan*;35 (2):125-34.

Couraud, F., Jover, E., Dubois, J. M., Rochat, H., (1982) Two types of scorpion toxin receptor site one related to the activation, the other to the inactivation of the action potential sodium channel. *Toxicon* 20 (1) 9-16.

Cynthia, M., Borges, M R., Silveira, M., Aparecida, C. L., Beker, Lineu Freire-Maia, et Mauro M. Teixeira., (2000) Scorpion venom-induced neutrophilia is inhibited by a PAF receptor antagonist in the rat. *Journal of leukocyte Biology.* Volume 67, April 2000.

D

D'Suze, G., Comellas, A., Pesce, L., Sevcik, C., Sanchez-de-Leon, R., (1999) *Tityus discrepans* venom produces a respiratory distress syndrome in rabbits through an indirect mechanism, *Toxicon* 37, 173–180.

D'suze, G., Moncada, S., Gonzalez, C., Sevcik, C., Aguillar, V., Alagon, A., (2003) Relationship between plasmatic levels of various cytokines, tumour necrosis factor, enzymes, glucose and venom concentration following *Tityus* scorpion sting. 2003; *Toxicon.* Vol 41 (3) pp: 367-75

D'Suze, G., Moncada, S., Gonzalez, C., Sevcik, C., Aguillar, V., Alagon, A., (2005) Relationship between plasmatic levels of various cytokines, tumor necrosis factor, enzymes, glucose and venom concentration following *Tityus* scorpion sting, *Toxicon* 41:367-75.

Da Vila, C.A.M., Da Vila, D.F., Donis, J.H., (2002) Sympathetic nervous system activation, antivenin

administration and cardiovascular manifestations of scorpion envenomation, *Toxicon* 40. 1339–1346.

De Matos, I.M., Rocha, O.A., Leite, R., Freire-Maia, L., (1997) Lung oedema induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom in the rat, *Comp. Biochem. Physiol., C* 118, 143–148.

De Matos, I.M., Talvani, A., Rocha, O.O., Freire-Maia, L., Teixeira, M.M., (2001) Evidence for a role of mast cells in the lung edema induced by *Tityus serrulatus* venom in rats, *Toxicon* 39, 863–867.

Dehesa-Davila, M., Possani, L.D., (1994) Scorpionism and serotherapy in Mexico, *Toxicon* 32, 1015 – 1018.

Del Rio - Portilla, F., Hernandez – Martin, E., Pimienta, G., Coronas, F.V., Zamudio, F.Z., Rodriguez de la vega, R.C., Wanke, E., Possani, L.D (2004). NMR solution structure of Cn12, a novel peptide from a Mexican scorpion *Centroides noxius* with a typical beta-toxin sequence but physiological activity. *Eur. J. Biochem.* 271, 2504-2516.

Delori, P., Van Rietschoten, J., Rochat, H., (1981) Scorpion venoms and neurotoxins: an immunological study, *Toxicon* 19, 393–407.

De-Matos., Tavani, A., Freira, L., Teixiera, MM., (2001). Evidence for the role of mast cells in the lung oedema induced by *Tityus serrulatus* venom. *Toxicon.* 2001; 39861-7.

Dessaint, J.P., Capron, M., (1990) An Immunoglobulin E-stimulated release of mediators from mononuclear phagocytes, eosinophils, and platelets. In: Metzger H., Fc receptors and the action of antibodies, Washington, American Society for Microbiology 260-287.

Dessaint, J.P., Labalette, M., Capron, A., (1993) L'immunoglobuline E : d'une cible cellulaire unique à une multiplicité de cibles et de fonctions, *Rev.fr.Allergol.*, 33(1), 1-11.

Devaux, C., Rochat, H., (2002) Bases thérapeutiques et expérimentales du traitement des envenimations scorpioniques ; *Bull Soc Path exot*, vol95, pp : 197-1 99.

Dousset, E., Carrega, L., Steinberg, J.G., Clot-faybesse, O., Jouirou, B., Sauze, N., Devaux, C., Autier, Y., Jammes, Y., Martin-Eauclaire, M.F., Guieu, R (2005). Evidence that free radical generation occurs during scorpion envenomation. *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.* 140,221-226.

Doughty, L.A., S.S. Kaplan, Caricillo. J.A.(1996) Inflammatory cytokine and nitric oxide responses in pediatric sepsis and organ failure.*Crit. Care Med.*, 24 (7) (1996), pp. 1137–1142

Drakopoulou, E., Cotton, J., Virelizier, H., Bemardi, E., Schoofs, A.R., Partiseti, M., Choquet, D., Gurrola, G., Possani, L.D., Vita, C., (1995) Chemical synthesis, structural and functional characterisation of noxiustoxin, a powerful blocker of lymphocyte voltage-dependent K⁺ channels, *Biochem. Biophys.* 213, 901-907.

D'Suze, G., Comellas, A., Pesce, L., Sevcik, C., Sanchez-de-Leire, R., (1999). Tityus discrepans venom produces a respiratory distress syndrome in rabbits through and indirect mechanism. *Toxicon* 37, 173-180.

D'Suze, G., Moncada, S., Gonzalez, C., Sevcik, C., Aguilar, V., Alagon, A., (2003) Relationship between plasmatic levels of various cytokines, tumour necrosis factor, enzymes, glucose and venom concentration following Tityus scorpion sting, *Toxicon* 41, 367-375.

E

Eiserich, J.P., Hristova, M., Cross, C.E., Jones, A.D., Freeman, B.A., Halliwell, B., and van der Vliet, A., (1998) Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature*. 391:393-397. doi:10.1038/3492.

El Ayeb, M., Hervé, R., (1985) Polymorphism and quantitative variations of toxins in the venom of the scorpion *Androctonus australis Hector*. *Toxicon, Volume 23, Issue 5, 1985, Pages 755-760*.

EL-Hag, A., Clark, R.A., (1987) Immunosuppression by activated human neutrophils, *J. Immunol.*, 1987, 139, 2406-2413.

Endo, S., Inada, K., Nakae, H. A., Rakawa, N., Takauwa, T., Yamada, Y., Yoshida, M., (1996) Nitrite/nitrate oxide (NOX) and cytokine levels in patients with septic shock, *Res. Commun. Molec. Pathol. Pharmac.* 91(3), 347-356.

F

Fatani, A. J., Al-zuhair, H. A., Yaquob, H. I., Abbdel-fattah, A. A., El-sayed, M.I., El-sayed, F.A (2006) Protective effects of the antioxidant *Ginkgo biloba* extract and the protease inhibitor aprotinin against *Leiurus quinquestriatus* venom induced tissue damage in rats. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* V.12, n.2, p.255-275, 2006. Original paper - ISSN 1678-9199.

Fontecilla-Camps, J.C., Habersetzer-Rochat, C., Rochat, H., (1988) Orthorhombic crystals and three-dimensional structure of the potent toxin II from the scorpion *Androctonus australis Hector*, *Proc. Natl.*

Acad. Sci. USA 85, 7443–7447.

Folkerts, G., Kloek, J., Muijsers, R.B., Nijkamp F.P., (2001). Reactive nitrogen and oxygen species in airway inflammation. *Eur. J. Pharmacol* : 429:251–262.

Freire-Maia, L., Pinto, C.I., Franco, I., (1974) Mechanism of the cardiovascular effects produced by purified scorpion toxin in the rat, *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 188, 207–213.

Freire-Maia, L., Almeida, H.O., Cunha-Melo, J.R., Azevedo A.D., Barroso, J., (1978) Mechanism of the pulmonary edema induced by intravenous injection of scorpion toxin in the rat, *Agents Actions* 8, 113–118.

Freire-Maia, L., De Matos, I.M., (1993) Heparin or a PAF antagonist (BN-52021) prevents the acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom in the rat, *Toxicon* 31, 1207–1210.

Freire-Maia, L., Campos, J.A., (1989) Pathophysiology and treatment of scorpion poisoning. In: Gwnby, C.L., Gdell, G.V. (Eds.), *Natural Toxins*, Pergamon Press, Oxford, 130–159.

Freire-Maia, L., Campos, J.A., Amaral, C.F.S., (1994) Approaches to the treatment of scorpion envenoming *Toxicon* 32: 09–14.

Fukuhara, Y.D., Reis, M.L., Dellalibera-Joviliano, R., Cunha, F.Q., Donadi, E.A., (2003) Increased plasma levels of IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF-alpha in patients moderately or severely envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting, *Toxicon* 41, 49–55.

Fukuhara, Y.D., Dwlalibera-Joviliano, R., Cunha, F.O., Rwis, M.L., Donadi, E.A., (2004) The kinin system in the envenomation caused by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicol. App. Pharmacol.* 196 (3), 390–395.

Fukuhara, Y.D.M., Dellalibera-Joviliano, R., Cunha, F.Q.C., Reis, M.L., Donadia, E.A., (2004). The kinin system in the envenomation caused by the *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicology and Applied Pharmacology* 196 (2004) 390– 395.

Fulop, T., Larbi, A., Douziech, N., Fortin, C., Guerard, KP., Lesur, O., Khalil, A., Dupuis, G., (2004) Signal transduction and functional changes in neutrophils with aging. *Aging Cell* 2004, 3:217-226.

Fumeau, T., Pugin, J., (2002) Role of interleukin-10 in the intracellulaire sequestration of human leucocyte antigen-DR in monocytes during septic choc, *Am.J.Respir. Crit. Care Med.* 166: 1475-1482.

G

- Garait, B.**, (2006) Le stress oxidant induit par voie métabolique (régime alimentaire) et par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin. Thèse de doctorat de l'université Joseph Fourier, P34-70.
- Garcia-Calve, M., Leonard, R.J., Novick, J., Stevens, SE., Schmalhofer, W., Kaczorowski, G.J., Garcia, M.L.**, (1993) Purification, characterization and biosynthesis of margatoxin, a component of *Centruroides margaritatus* venom that selectively inhibits voltage-dependent potassium channels, *J. Biol. Chem.* 268 , 18866-18874.
- Gardiner, SM., Compton, AM., Bennett, T.**, (1990). Regional hemodynamic effects of endothelin-2 and sarafotoxin-S6b in conscious rats. *Am J Physiol.* 1990 Apr;258(4 Pt 2):R912–R917.
- Ghalim, N., El-Hafny, B., Sebti, F., Heikel, J., Lazar, N., Moustanir, R., Benslimane, A.**, (2000) Scorpion envenomation and serotherapy in Morocco. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62, 277–283.
- Gong, J., Kini. R.M., Gwee, M.C., Gopalakrishnakome, P., Chung, M.C.**, (1997). Makatoxin I, a novel toxin isolated from the venom of the scorpion *Buthus martensi* Karsch, exhibits nitregic actions. *J. Biol. Chem.* 272, 8320-8324.
- Goudet, C., Chi, C.W., Tytgat, J.**, (2002) An overview of toxins and genes from the venom of the Asian scorpion *Buthus martensi* Karsch. *Toxicon* 40, 1239-1258.
- Gounni A.S., Lamkhioued B., Koussih L., Ra C., Renzi P.M., Hamid Q** (2001) Human neutrophils express the high-affinity receptor for immunoglobulin E (Fc RI): role in asthma, *FASEB J.* 15; 940–949.
- Goyffon, M ., Vachon, M., Broglio, N.**, (1982) Epidemiology and clinical characteristics of scorpion envenomation in Tunisia, *Toxicon.*20.337–44.
- Gueron, M., Yarom, R.**, (1970). Cardiovascular manifestation of severe scorpion sting, Clinic pathologic correlations., *Chest* 57, 156–162.
- Gueron, M., Adolph, R.J., Grupp, I.L., Gabel, M., Grupp G., Fowler, N.O.**, (1980) Hemodynamic and myocardial consequences of scorpion venom, *Am. J. Cardiol.* 45, 979–986.
- Gueron, M., and Ovsyshcher, I.**, (1987). What is the treatment for cardiovascular manifestations of

scorpion envenomation. *Toxicon*, vol. 25, no. 2, pp. 121-124.

Gueron, M., Margulis, G., Sofer, S., (1990) Echocardiographic and radionuclide angiographic observations following scorpion envenomation by *Leiurus quinquestriatus*, *Toxicon* 28:1005-9.

Gueron, M., Ilia, R., Shahak, E., Sofer, S., (1992) Renin and aldosterone levels and hypertension following envenomation in humans by the yellow scorpion *leiurus quinquestriatus*. *Toxicon* 30: 765-7.

Gueron, M., Ilia, R., (1996) Non-cardiogenic pulmonary oedema after scorpion envenomation: a true entity. *Toxicon* 34, 393–395.

Gueron, M., Ilia, R., (1999) Is antivenom the most successful therapy in scorpion victims. *Toxicon* 37, 1655–1657.

Gueron, M., Illia, R., Margulia, G., (2000) Arthropod poisons and the cardiovascular system, *Am J Emerg Med.*;18:708–714.

P, Guilpain., (2006) la revue de médecine interne 27 ; 406-408.

H

Hammoudi Triki, D., et Laraba Djebari, F., (2003) Application du test ELISA pour la quantification du venin d'*Androctonus australis hector* dans les sérums de personnes et de rats envenimés avant et après immunothérapie. *Bull Soc Pathol Exot*, 2003, 96, 4, 297-301.

Hammoudi-Triki, D., (2004) Effets physiopathologiques et pharmacodistribution du venin d'*Androctonus australis hector* avant et après immunothérapie. Thèse de doctorat présenté à l'USTHB. Alger. P 34-37.

Hammoudi-Triki, D., Robbe-Vincent, A., Bon, C., Choumet, V., Laraba- Djebari, F., (2004) Epidemiological data, clinical admission gradation and biological quantification by ELISA of scorpion envenomations in Algeria, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98, 240–250.

Hammoudi-Triki, D., Bessalem, S., et Laraba-Djebari, F., (2005) Le venin d'*Androctonus australis hector* provoque t'il une réaction de type allergique. Rencontre en Toxinologie, « Toxines et Douleur » Lavoisier Editions TEC et DOC. pp 229 - 230.

Hammoudi-Triki, D., Lefort, J., Rougeot, C., Robbe-Vincent, A., Bon, C., Laraba-Djebari, F., Choumet, V., (2007) Toxicokinetic and toxicodynamic analyses of *Androctonus australis hector* venom in rats: optimization of antivenom therapy, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 218, 205–214.

Hamon, A., Gilles, N., Sautie, P., Martinage, A., Kopeyan, C., Ulen, C., Tytgat, J., Lancelin, J., Gordon, D., (2002) Characterization of scorpion a-like toxin group using two new toxins from the scorpion *Leiurus quinquestriatus hebraeus*. *Eur. J. Biochem.* 269, 3920–3933.

Hering, S.E., Jurca, M., Vichi, F.L., Azevedo-Marques, M.M., Cupo, P., (1993) ‘Reversible cardiomyopathy’ in patients with severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*: evolution of enzymatic, electrocardiographic and echocardiographic alterations, *Ann. Trop. Paediatr.* 13, 173–182.

Hmimou, R., (2004). Profil épidémiologique des piqûres et des envenimations scorpioniques à l’hôpital provincial d’Elkelaa. Mémoire on line présenté pour l’obtention du Diplôme d’Etude Supérieure de Santé à l’Université de Ibn Tofail. P-15.

Hmimou, R., Soulaymani, R., Semlali, I., Eloufir, G., Mokhtari, A., et Soulaymani, A., (2006) : Etude de envenimation scorpioniques dans la province d’Elkelaa Des Sraghna au Maroc (à partir des fiches d’hospitalisations). proceeding : Le Premier Congrès National sur l’Amélioration de Production Agricole, les 16 et 17 Mars 2006 à Settat, nombre de pages :12.

Hotchkiss, R.S., Karl, I.E., (2003) The pathophysiology and treatment of sepsis, *N. Engl. J. Med.* 348 (2003) 138-150.

Housset, M., Fitreman, C., Dufour, B., 1998. Quality of life after combined radiation and chemotherapy with organ sparing for invasive bladder cancer. *Proc ASTRO*.

I

Institut National de Santé publique., (1997) Rapport annuel sur l’envenimation scorpionique, Evaluation du programme national de lutte contre l’envenimation scorpionique.

Institut National de Santé publique., (2010) Envenimation scorpionique , Rapport annuel sur la situation sur la situation épidémiologique en Algérie.

Institut National de Santé Publique., (2011) Envenimation scorpionique, caractéristiques épidémiologiques des décès par envenimation scorpionique en Algérie.

Isbister G.K., Volschenk E.S., Balit C.R., Harvey M.S., (2003) Australian scorpion stings: a prospective study of definite stings, *Toxicon* 41.877–883.

Ismail, M., Osman, O.H., Petkovic, D., (1976) Electrocardiographic studies with scorpion (Buthus Minax, L. Koch) venom, *Toxicon* 14: 79-83.

Ismail, M., (1994) The treatment of the scorpion envenoming syndrome: the Saudi experience with serotherapy, *Toxicon* 32, 1019–1026.

Ismail, M., (1995) The scorpion envenoming syndrome, *Toxicon* 33.825–858.

Ismail, M., Abd-Elsalam, M.A., (1998) Pharmacokinetics of 125I-labelled IgG, F(ab₂) and Fab fractions of scorpion and snake antivenins: merits and potential for therapeutic use, *Toxicon* 36, 1523–1528.

Ismail, A.M., Hall, A.E., Close, T.J., (1999) Allelic variation of a dehydrin gene cosegregates with chilling tolerance during seedling emergence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96, 13566–13570.

J

Jaimovich, E., Barhanin, J., Lazdunski, M., Ildefonse, M., Rougier., (1982). Centruroides Toxin: A selective blocker of surface Na⁺ channels in skeletal muscle. Voltage - clamp analysis and biochemical characterization of the receptor. *PNAS. U.S.A.* 79,3896-3900.

Jalali, A., Bosmans, F., Amininasab, M., Clynen, E., Cuypers, E., Zaremirakabadi, A., Sarboulouki, M.N., Schoofs, L., Vantanpour, H., Tytgat, J., (2005). OD1, the first toxin isolated from the venom of the scorpion *Odonthobuthus doriae* active on voltage-gated Na⁺ channels. *FEBS Lett*, 579, 4181- 4186.

Jeffrey, G., Demain, MD., and David, W., Goetz, MD., (1995). Immediate, late and delayed skin test responses to *Centruroides vittatus* scorpion venom. *J. Allergy clinical immunology*. 1995; 95: 135-5.

Jover, E., Couraud, F., and Rochat, H., (1980) Two types of scorpion neurotoxins characterized by their binding to two separate receptor sites on rat brain synaptosomes. *Biochem. Biophys, Res Commun* 95:1607-1614.

K

Karnad, D.R., (1998) Haemodynamic patterns in patients with scorpion envenomation. *Heart* 79, 485–489.

Khattabi, A., Soulamyemani-Benchikh, R., Achou, S., Salmi, L.R., (2011) For the scorpion consensus expert group. Classification of clinical consequences of scorpion stings: consensus development. *Transactions of the royal society of tropical Medicine and Hygiene* 105 (2011) 364-369.

Kothari, N., Ravi, S., Keshari, MSc., Jaishri, Bogra., Monica, Kohli., Haider, Abbas., Anita, Malik., Madhu, Dikshit., Manoj, K., Barthwal., (2010) *Journal of Critical Care* Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis.

Klebanoff, S.J., (1999) Myeloperoxidase, *Proc. Assoc. Am. Physicians*, 111, 383-389.

Klinke, A., (2011) Myeloperoxidase attracts neutrophils by physical forces, *Blood* 117, 1350–1358.

Khorchid, A., Halwani, R., Wainberg, M. A., Kleiman, L., (2002). Role of RNA in facilitating Gag/Gag-Pol interaction. *J Virol* 76, 4131–4137.

Krifi, M.N., Kharrat, H., Zeghal, K., Abdouli, M., Abroug, F., Bouchoucha, S., Dellagi, K., El Ayeb, M., (1998) Development of an ELISA for the detection of scorpion venoms in sera of humans envenomed by *Androctonus australis garzonli* (Aag) and *Buthus occitanus tunetanus* (Bot): correlation with clinical severity of envenoming in Tunisia, *Toxicon* 36,887–900.

Krifi, M.N., Amri, F., Kharrat, H., El Ayeb, M., (1999) Evaluation of antivenom therapy on children severely envenomed by *Androctonus australis garzonii* (Aag) and *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) scorpion venom. *Toxicon* 30, 523.

Krifi, M.N., Miled, K., Abderrazak, M., El Ayeb, M., (2001) Effects of antivenom on *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) scorpion venom pharmacokinetics: towards an optimization of antivenom immunotherapy in a rabbit model, *Toxicon* 39, 1317–1326.

Krifi, M.N., Savin, S., Debray, M., Cassian, B., El Ayeb, M., Choumet, V., (2005) Pharmacokinetic studies of scorpion venom before and after antivenom immunotherapy, *Toxicon* 45, 187–198.

Krifi, M., Savin, S., Debray, M., Bon, C., El Ayeb, M., Choumet, V (2005) Pharmacokinetic studies of scorpion venom before and after antivenom immunotherapy. *Toxicon* 45, 187–198.

Krifi, M.N., Miled, M., Abderrazek, M., El Ayeb, M., (2001) Effect of antivenom on *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) scorpion venom pharmacokinetics: towards an optimization of antivenom immunotherapy in a rabbit model, *Toxicon* 39, 1317–1326.

L

Laid, Y., Boutekdjiret, L., Oudjehane, R., Bachiri, K., (2009) Rapport annuel sur la situation épidémiologique en Algérie année 2009.

Laraba-Djebari, F., (1996) Etudes des polypeptides pharmacologiquement actifs isolés à partir de la vipère *Cerastes Cerastes* et du scorpion *Androctonus australis hector*. Purification, caractérisation biochimique et pharmacologique, Thèse de doctorat présentée à l'USTHB, Alger, 182p.

Laraba-Djebara, F., Legros, C., Crest, M., Créart, B., Romi, R., Mansuelle, P., Jacquet, G., Van Rietschoten, J., Gola, M., Rochat, H., Bougis, PE and Martin-Eauclaire, M.F., (1994) The Kaliotoxin family enlarged. Purification and characterization, and precursor nucleotide sequence of KTX 2 from *Androctonus australis hector* venom. *J. BiolChem.* 269 (52): 32835-32843.

Laurent, F., Michel, A., Bonnet, PA., Bompard, J., Chapat, JI., Boucard, M., (1993) Effets de toxines, apamine, charybdotoxine et iberiotoxine sur la relaxation de la fibre musculaire lisse induite par un dérivé de l'imidazo(1,2-a) apyrazine, *C.R. Sot. Biol.* 187, 526-535.

Legros, C., Martin-Eauclaire, M.F., (1997) Les toxines de scorpions, *C.R. Sot. Biol:* 191 345380.

Legros, C., Martin-Eauclaire, M., Cattaret, D., (1998) The myth of scorpion suicide: are scorpion insensitive to their own venom. *The journal of experimental biology.* 201-2625 (1998).

Lesourd, BM., (2004) Nutrition: a major factor influencing immunity in the elderly. *Journal of Nutrition, Health and Aging* 8, 28-37.

Leynadier, F., Hassani, Y., Chabane, M.H., Benguedda, A.C., Abadi, M.C., Guerin, L., (1997). Allergic reactions to north African scorpion venom evaluated by skin test and specific IgE. *J. Allergy clin Immunol;* 1997; 99: 851-3.

Luo, F., Zeng, X.C., Hahin, R., Cao, Z.J., Liu, H., Li, W.X., (2005) Genomic organization of four novel nondisulfide-bridged peptides from scorpion *Mesobuthus martensii* Karsch: gaining insight into evolutionary mechanism, *Peptides.*

M

Magalhaes, M.M., Pereira, M.E., Amaral, C.F., Rezende, N.A., Campolina, D., Bucarechi, F., Gazzinelli, R.T., Cunha-Melo, J.R., (1999) Serum levels of cytokines in patients envenomed by *Tityus*

serrulatus scorpion sting, *Toxicon* 37, 1155–1164.

Mahadevan, S., (2000) Scorpion sting, *Indian Pediatr.*37.504–514.

Mallel, E., Furtmuller, PG., Sattler, W., Obinger, C., (2007) Myeloperoxidase: a target for new drug development *British Journal of Pharmacology* 152, 838–854 & 2007 Nature Publishing Group 0007–1188/07.

Marcie, R., Williams, M.R., Azcutia, V., Newton, G., Alcaide, P., Lusinskas, F.W., (2011) Innate immune cell trafficking Emerging mechanisms of neutrophil recruitment across endothelium .Center for Excellence in Vascular Biology, 2011 Elsevier Ltd. *Trends in Immunology*, October 2011, Vol. 32, No. 10.

Marnett, L.J., (1999). Chemistry and biology of DNA damage by malondialdehyde. *IARC Sci. Publ.*, 150, 17-27.

Martin-Eauclaire, M. F., Legros, C., Bougis, P.E., Rochat, H., (1999). Les toxines des venins de scorpion. *Ann. Inst. Past* 10 (2) : 207-222.

Martin-Eauclaire, M.F., Rochat, H., (1986) Large scale purification of toxins from the venom of the scorpion *Androctonus australis hector*, *Toxicon.*24.1131–9.

Martin Eauclaire, M.F., Couraud, F., (1995) Scorpion neurotoxins: effects and mechanisms. In : Chang, L.W., Dyer, R.S., (Eds), *Handbook of Neurotoxicology*. Marcel Dekker, New York, pp. 683-716.

Martin-Eauclaire, M.F., Céard, B., Bosmans, F., Rosso, J.-P., Tytgat, J., Bougis, P.E., (2005) New ‘‘birtoxin analogs’’ from *Androctonus australis* venom. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 333, 524–530.

Matos, I.M., Souza, D.G., Seabra, D.G., Freire-Maia, L., Texeira, M.M., (1999). Effects of tachykinin NK1 or PAF receptor blockade on the lung injury induced by scorpion venom in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 376, 293–300.

Mazzei de Davila, C.A., Davila, D.F., Donis, J.H., de Bellabarba, G.A, Villarreal, V., Barboza, J.S., (2002) Sympathetic nervous system activation, antivenin administration and cardiovascular manifestations of scorpion envenomation *Toxicon* 2002; 40: 1339-46.

Mconnico, R.S., Weinstock, D., Poston, M.E., Roberts, M.C., (1999) Myeloperoxidase activity of the large intestine in an equine model of acute colitis. *Am. J. Vet. Res.*, **60**, 807-813.

Mohey-Eldeen., et Meki., (1996) Serum interleukin-1 , interleukin-6, nitric oxide and α_1 -antitrypsin in scorpion envenomed children. Volume 36, Issue 12, December 1998, Pages 1851–1859.

- Meki, A.R., Mohamed, Z.M., Mohey El-deen, H.M.,** (2003) Significance of assessment of serum cardiac troponin I and interleukin-8 in scorpion envenomed children. *Toxicon* 41: 129-37.
- Meki, A.R., Hasan, H.A., El-Deen, Z.M., Bakkar, S.,** (2003) Dysregulation of apoptosis in scorpion envenomed children: its reflection on their outcome *Toxicon* 42: 229-37.
- Meves, H., Rubly, N., Watt, D.D.,** (1982) Effect of toxins isolated from the venom of the scorpion *Centruroides sculpturatus* on the Na currents of the node of Ranvier, *Pflugers Arch.* 393, 56–62.
- Miranda, F., Rochat, H., Lissitzky, S.,** (1964). Sur les neurotoxines de deux especes de scorpions nord-africains. II. Purification des toxines (scorpamines) d'*Androctonus australis* (L.) et de *Buthus occitanus* (Am.), *Toxicon* 2, 113–121.
- Miranda, F., Kupeyan, C., Rochat, H., Rochat, C., Lissitzky, S.,**(1970). Purification of animal neurotoxins. Isolation and characterization of eleven neurotoxins from the venoms of the scorpions *Androctonus australis hector*, *Buthus occitanus tunetanus* and *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*. *Eur J Biochem.* 16 (3) ,514-523.
- Moncada, S.,** (1992) Nitric oxide gas: Mediator, modulator and pathophysiologic entity, *View Point. J. Lab. Clin. Med.* 120(2), 187-191.
- Moncada, S., Higgs, A.,** (1993). The L-arginine nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 329.
- Monteseirin, J., Bonilla, I., Camacho, M.J., Chacon, P., Vega, A., Chaparro, A.,** (2003) Specific allergens enhance elastase release in stimulated neutrophils from asthmatic patients, *Int Arch Allergy Immunol* 131; 174-81.
- Monteseirin, J., Bonilla, I., Camacho, M.J., Conde, J., Sorbino, F.,** (2001) IgE-dependent release of myeloperoxidase by neutrophils from allergic patients, *Clin Exp Allergy* 31:889-92.
- Mozhayeva, G. N., Naumov, A. P., Nosyreva, E. D.,** (1980). Kinetics of sodium currents decay on repolarization of axonal membrane under normal conditions and in the presence of scorpion toxin. *Neirofiziologiya (Kiev)* **12**, 549—557 .
- Murthy, K.R., Hase, N.K.,** (1994) Scorpion envenoming and the role of insulin. *Toxicon.*32.1041–1044.
- Muller, G.J.I.,** (1993). Scorpion in South Africa. A report of 42 serious scorpion envenomations, *South African Medical Journal*, 83(6), 405-411.

N

Novoa, E., D'Suze, G., Winter, M., Crespo, A., Tortoledo, M.A., Marcano, H., Friedman, E., Sevcik, C., Zabner, J., Sanchez, D.L., (2003) The indirect effect of *Tityus discrepans* on rabbit pulmonary vasculature, *Respir. Physiol. Neurobiol.* 134, 33–41.

Nikhil Kothari, M.D., Ravi, S., Keshari, M.S., Jaishri Bogra, M.D., Kohli, M.D., Haider Abbas, A., Madhu Dikshit, M., Barthwal, M.K (2010) Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis, *Journal of Critical Care*.

Nys, M., Deby-Dupont, G., Habaken, Y., Legrand-Poels, S., Kohnen, S., Ledoux, D., Canivet, J.L., Damas, P., Lamy, M., (2002) Bronchoalveolar lavage fluids of ventilated patients with acute lung injury activate the NF-kappaB transcription factor in a human epithelial alveolar cell line, *Clinical Science* 103, 577-585.

O

Oukkachea, N.,Rossoa, J.R., Alamia, M., Ghalimb, N., Sailec, R., Hassarb, M., Pierre, E., Bougisa, P.E., Martin-Eauclaire, M-F., (2007) New analysis of the toxic compounds from the *Androctonus mauretanicus mauretanicus* scorpion venom, *Toxicon* 10.1016.

Ozkan, O., Adiguzel, S., Yakistiran, S., (2006) *Androctonus crassicauda* (Olivier 1807) scorpionism in the Sanliurfa Provinces of Turkey, *Acta Parasitol Turcica*.30. 239–245.

P

Parillo, J.E., (1993) Pathogenic mechanisms of septic shock. *J Med* 328:1471-7.

Pasquier, C., (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires* N° 276 87-92.

Pelhate, M., and Zlotkin, E., (1982) Actions of insect toxin and other toxins derived from the venom of the scorpion *Androctonus australis* on isolated giant axons of the cockroach (*Periplaneta americana*),” *Journal of Experimental Biology*, vol. 97, pp. 67–77.

Petricevich, V.L., (2002) Effect of Tityus serrulatus venom on cytokine production and the activity of murine macrophages, *Mediators Inflamm.* 11 (1), 23–31.

Petricevich, V.L., (2004) Cytokine and nitric oxide production following severe envenomation, *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy* 3 (3), 325–332.

Petricevich, V.L., (2010) Scorpion venom and the inflammatory response, *Mediators Inflamm.* 2010, 903295.

Ponvert, C., (2000) Mécanismes et conséquences de l'éosinophilie allergique. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2000 ; 40 : 473-80.

Possani, L.D., Becerril, M., Delepierre, J., Tytgat., (1999) Scorpion toxins specific for Na⁺-channels, *European Journal of Biochemistry* 264: 287–300.

Possani, L.D., Merino, E., Corona, M., Bolivar, F., Becerril, B., (2000) Peptides and genes coding for scorpion toxins that affect ion-channels, *Biochimie* 82, 861–868.

R

Radi, R., Turrens, J. F., Chang, L. Y., Bush, K. M., Crapo, J. D. and Freeman, B. A. (1991). Detection of catalase in rat heart mitochondria. *J. Biol.Chem.* 266:22028-22034.

Radomski, M.W., Palmer, R.M.J., and Moncada, S., (1990). Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **87**:10043–10047.

Rahav, G., Weiss, A.T., (1990) Scorpion sting-induced pulmonary edema. Scintigraphic evidence of cardiac dysfunction, *Chest* 97: 1478-80.

Rezende, N.A., Amaral, C.F., Freire-Maia, L., (1998) Immunotherapy for scorpion envenoming in Brazil, *Toxicon* 36, 1507–1513.

Rezende, N.A., Amaral, C.F., Freire-Maia, L., (1998) Immunotherapy For Scorpion Envenoming In Brazil Departamento de Clôânica MeÁdica, Faculdade de Medicina, UFMG, Belo Horizonte, Brazil; and Departamento de Farmacologia, ICB-UFMG, Belo Horizonte, Brazil.

Romey, G., Chicheportiche, R., Lazdunski, M., Rochat, H., Miranda, F., Lissitzky, S., (1975) Scorpion neurotoxin—a presynaptic toxin which affects both NaC and KC channels in axons, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 64, 115–121.

Rubbo, H., Radi, R., Trujillo, M., Telleri, R., Kalyanaraman, B., Barnes, S., Kirk, M., Freeman, B.A., (1994). Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J. Biol. Chem.* 269, 26066_26075.

S

Sami-Merah, S., Hammoudi-Triki, D., Martin-Eauclaire, M.F., Laraba-Djebari, F., (2008) Combination of two antibody fragments F(ab')₂/Fab: An alternative for scorpion envenoming treatment, *Intern. Immuno. Pharmacol.* 8: 1386–1394.

Sampaio, O., Sampaio, B., Bueno, T., Auerswald, F., (1996) plant serine proteinase inhibitors. Structure and biochemical applications on plasma Kallikrein and related enzymes. *Immunopharmacology*, 32 (1996), pp. 62–66

Santhanakrishnan, B.R., Gajalakshmi, B.S., (1986) Pathogenesis of cardiovascular complications in children following scorpion envenoming, *Annals of Tropical Paediatrics* 6:117-21.

Sautebin, L., Ialenti, A., Ianaro, A. and Rosa, M. D. (1995). Modulation by nitric oxide of prostaglandin biosynthesis in the rat. *Br.J.Pharmacol.* 114: 323-328.

Serteyn, D., Grulkes, Frank, T., Mouithys-Mickalad, A., Deby-Dupont, G. (2003). La myeloperoxydase des neutrophiles, une enzyme de defense aux capacités oxydantes. *Ann. Méd. Vét.* 147 : 79-93.

Schoonbroodt, S., Legrand-Poels, S., Besrbelpomme, M., Piette, J., (1997) Activation of the NF-Kb transcription factor in a T-lymphocytic cell line by hypochlorous acid, *Biochem. J.*, 321, 777-785.

Simard, J. M. & D. D., (1990). Venoms and toxins. *In The Biology of Scorpions.* 414-444.

Sofer, S., Shahak, E., Slonim, A., Gueron, M., (1991) Myocardial injury without heart failure following envenomation by the scorpion *Leirus quinquestriatus* in children. *Toxicon* 1991; 29: 382-5.

Sofer, S., Gueron, M., (1992) Cardiovascular effects of scorpion envenomation, *Recent Adv Toxicol Resp* 2: 70-80.

Sofer, S., Gueron, M., White, R.M., Lifshitz, M., Apte, R.N., (1996) Interleukin-6 release following scorpion sting in children, *Toxicon* 34:389-92.

Srairi, N., Kharrat, R., El Ayeb, M., (2002). Données biochimiques et pharmacologiques des venins de scorpions. *Infotox*, 15,15.

Srinivasan, K.N., Nirathanan, S., Sasaki, T., Sato, K., Cheng, B., Gwee, M.C., Kini, R.M., Gopalakrishnakone, P., (2001). Functional site of bukatoxin, an alpha-type sodium channel neurotoxin from the Chinese scorpion (*Buthus martensi* Karsch) venom: probable role of the (52)PDKVP (56) loop. *FEBS Lett.* 494, 145-149.

STOCKMANN, R., et GOYFFON, M., (1995). – Les Scorpions. – In : GOYFFON (Max) & HEURTAULT (Jacqueline), *La fonction venimeuse*, Masson : 88.

Stehr, S.N., Knels, L., Weissflog, C., (2007) Effects of IgM enriched solution on polymorphonuclear neutrophil function, bacterial clearance, and lung histology in endotoxemia, *Shock*.29.167-72.

Stuehr, DJ., Marletta, MA., (1985). Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 82(22):7738–7742

T

Teixeira, A.L., Teixeira, M.M., (2003) Mechanisms involved in myocardial necrosis and pulmonary oedema after *Tityus serrulatus* scorpion envenomation, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 97, 122.

Teixeira, A.L., Fontoura, B.F., Freire-Maia, L., Machado, C.R., Camargos, ER., Teixeira, M.M., (2001) Evidence for a direct action of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the cardiac muscle, *Toxicon* 39: 703-9.

Tobler, A., Koeffler, H.P., (1991) Myeloperoxidase: localization, structure, and function. In: Harris G.R. (ed), *Blood cell biochemistry 3. Lymphocytes and granulocytes*, Plenum Press : New York 255-288.

V

Vachon, M., (1952)- Etude sur les scorpions-Institut Pasteur d'Algérie. Ed. Alger, 1: 487.

W

Wolff, D., Cecchi, X., Spalvins, A., Canessa, M., (1988) Charybdotoxin blocks with high affinity the Ca^{+2} activated K^{+} channel of Hb A and Hb S red cells: individual differences in the number of channels, *J. Membr. Biol.* 106, 243-252.

Wang, G.K., Strichartz, G., (1982). Simultaneous modifications of sodium channel gating by two scorpion toxins. *Biophys. J. Biochem.* 271, 4753-4761.

Wang, X., Inukai, T., Greer, M.A., Greer, S.E., (1994) Evidence that Ca^{++} -activated K^{+} -channels participate in the regulation of pituitary prolactin secretion, *Brain Res.* 662 , 83-87.

Wang, R., Moreau, P., Deschamps, A., de Champlain, J., Sauve, R., Foucart, S., (1994) Cardiovascular effects of *Buthus martensii* (Karsch) scorpion venom, *Toxicon* 32:191-200.

Wang, C.G., Gilles, N., Hamon, A., Le Gall, F., Stankiewicz, M., Pelhate, M., Xiong, Y.M., Wang, D.C., Chi, C.W. (2003). Exploration of the functional site of a scorpion alpha-like toxin by site-directed mutagenesis. *Biochemistry* 42, 4699–4708.

Weiss, L., Orr, F.W., Honn, K.V., (1989). Interactions between cancer cells and the microvasculature: a rate-regulator for metastasis. *Clin. Exp. Metastas.* 7, 127-167.

Y

Yarom, R., Braun, K., (1970) Cardiovascular effects of scorpion venom, morphological changes in the myocardium. *Toxicon* 8: 41-6.

Yarom, R., Braun, K., (1971) Electron microscopic studies of the myocardial changes produced by scorpion venom, *Lab Invest* 24: 21 – 30.

Z

Zeghal, K., Sahnoun, Z., Guinot, M., Richer, C., Giudicelli, J.F., (2000) Characterization and mechanisms of the cardiovascular and haemodynamic alterations induced by scorpion venom in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 14: 351-61.

Zuberi, R.I., Apgar, J.R., Chen, S.S., Liu, F.T., (2000) Role for IgE in airway secretions: IgE immune complexes are more potent inducers than antigen alone of airway inflammation in a murine model, *J Immunol* 164:2667-73.

Zhang, Z., Oliver, P., (2001). "Reactive oxygen species mediate tumor necrosis factor alpha-converting, enzyme-dependent ectodomain shedding induced by phorbol myristate acetate." *Faseb J* 15(2): 303-5.

Zhijian, C., Feng, L., Yingliang, W., Xin, M., Wenxin, L., (2006) Genetic mechanisms of scorpion venom peptide diversification.

Annexe

Annexe

Fiche technique N° 01 :

Test de nitrate réductase :

-Milieu nitraté (bouillon nitraté, Mannitol-Mobilité-Nitrate).

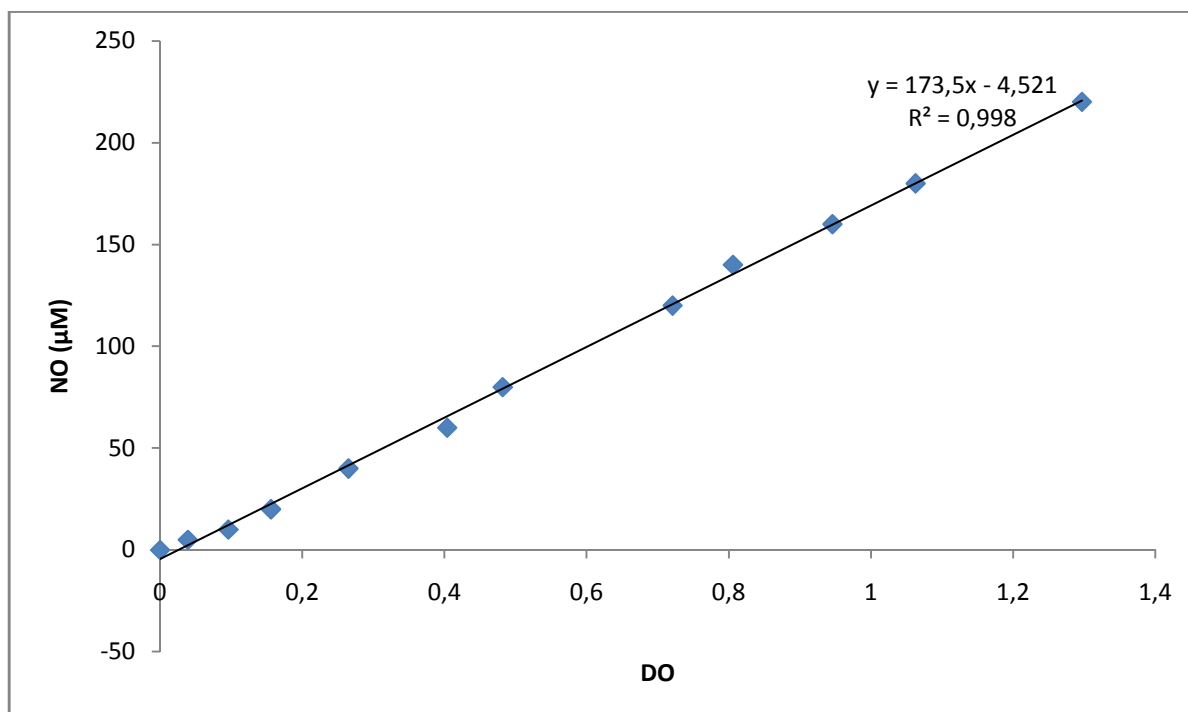
-Suspension bactérienne préparée.

Après incubation d'une heure de la suspension bactérienne dans le bouillon nitrate ajouter :

- Du réactif nitrate réductase 01 (2 gouttes).
- Du réactif nitrate réductase 02 (2 gouttes).

Lecture : Milieu rouge orangé : la bactérie possède l'enzyme nitrate réductase au stade NO₂⁻.

Courbe Standard du NO :



Abstarct

Fatal accidents after scorpion stings remain still a public health problem in Algeria, meanly in the south of the country.

This study is undertaken with 220 patients from three departments. Sera of this patients are analyzed for the induced inflammatory response following a sting of scorpion of envenomed patients. The obtained results showed that the venom of scorpion is able to induce an increase of IgE in a good correlation with the severity of the envenomation. IgE are involved in the degranulation of eosinophils and neutrophils and in the release of various mediators as EPO and MPO.

In this study, it appears a significant increase of MPO and EPO activities in the sera of patients . MPO and EPO activities of the patients of grade II are higher than those of Grade I and III. The envenomed patients present also an early and significant increase in the production of the NO and MDA liberation. This increase is time and age dependent and is in a positive correlation with the severity of the envenomation.

Treatment with immunotherapy associated with other drugs thought manage with this patients seemed to be efficient since all activities are reduced.

In conclusion, our results indicate that IgE, MPO,EPO, MDA and NO are involved in the early phases of the physiopathology of the scorpionic envenomation and that the treatment given to these patients seems to be effective.

يعتبر التسمم العقربي مشكلة صحية عامة في الجزائر لانه يتسبب في اصابة كثيرا من اربعين الف شخص سنويا و موت العشرات
اعراض التسمم العقربي متفاوتة الخطورة تتراوح بين لعلامات الموضعية و حالة الصدمة
دراسة الاستجابة الالتهابية الناجمة عن التسمم العقربي توضح ان السم قادر على تحفيز الجهاز المناعي و يظهر ذلك في ارتفاع معدل
الاجسام المضادة, انزيمات MPO و EPO اضافة الى احادي اكسيد الازوت و MDA .
تشير النتائج المتحصل عليها ان سم العقرب يحدث عند بعض الاشخاص حالات فرط الحساسية الى اضافة استجابة التهابية التي
يمكن ان تلعب دور هام في احداث اعراض التسمم العقربي . العلاج المصلي المعطى و مضادات لالتهابات لها اثر للمرضى ايجابى
في ا نقاص الانشطة الالتهابية كما توضحه النتائج