République Démocratique Algérienne et Populaire
Ministère de l'éducation supérieure et la recherche scientifique
Université Dr. Yahia Fares
Médéa

Faculté des sciences

Département science de la nature et de la vie

Mémoire du fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en biologie médicale

ETUDE DE L'EFFICACITÉ ENTRE LE SÉRUM D'ORIGINE ÉQUIN ET SÉRUM D'ORIGINE SURICATA SURICATTA CONTRE LE VENIN D'ANDROCTONUS AUSTRALIS HECTOR

Par : Boukhelkhal Walid

Kechafi Oussama

Devant le jury :

Président : MaB. Meddah.b

Promotrice : Dr. Abes Rachida

Co-promoteur: Dr. Hallab (Dr veterinaire , IPA)

Examinateur : MaB. Benhafri.n

2016-2017

Remerciements

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au niveau du laboratoire de purification des sérums thérapeutiques de l'institut pasteur d'Alger (IPA) (Algérie) sous la direction de Dr .HALLAB.

En premier lieu nous tenons à présenter nos vifs remerciements a le directeur de ressource humain DRH au niveau de l'IPA ainsi que le bureau de formation pour l'accord de notre stage.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Dr .HALLAB chef de service de département de sérum thérapeutique, la directrice de l'annexe de l'institut pasteur KOUBA, ainsi que l'ensemble des travailleurs de cette annexe.

Nous tenons également exprimer notre gratitude a MaB.MEDDAH qui a bien voulu accepter de présider ce jury.

Nous remercions également MaB. BENHEFRI pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions Dr .Abbas d'avoir accepté de prise en charge toute au long de notre préparation ainsi que le staffe de biologie chapeauté par monsieur le doyen PR.OUMOUNA.M.

Enfin notre remercions s'adresse a tout les étudiants de la promotion 2016-2017 ainsi que les professeurs de département de biologie.

Dédicaces

A MON DIEU LE TOUT PUISSANT DE M'AVOIR DONNE LA SANTE ET LA VOLANTE D'ENTAMER ET DE TERMINER CE MÉMOIRE.

A MES CHERS PARENTS POUR TOUS LEURS SACRIFICES, LEUR AMOURE, LEUR TENDRESSE, LEUR SOUTIEN ET LEUR PRIÈRE TOUT AU LONG DE MES ÉTUDES.

A MON ÉPOUSE QUE J'AIME BEAUCOUP ET QUI M'A SOUTENUE TOUT AU LONG DE CE PROJET, ET MA TRÈS CHÈRE FILLE ROUDAINA MERIEM LA FLEUR DE MA VIE.

A TOUS MES AMIS.

A MON BINÔME: KECHAFI OUSSAMA

A TOUS CEUX QUI ONT CONTRIBUÉ DE PRÈS OU DE LOIN POUR QUE CE PROJET SOIT POSSIBLE, JE VOUS DIS MERCI

Dédicaces

A MON DIEU QUI MA OFFERT LA SANTÉ ET LE COURAGE D'ACHEVER CE MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE QUI EST DÉDIÉ:

A MES PARENTS POUR LEURS PATIENTE ET LEURS CONSEILS PERMANENTES, ET JE LEUR FORMULE TOUTE MA RECONNAISSANCE ET MON AFFECTION.

A MES FRÈRES : ABDALLAH , AYMEN ,

A MA SŒUR: KAOUTHER MALEK

A MES TRÈS CHÈRES AMIS: DJELLAL MEROUANE ,OTHMAN , ISLAM , RAHIM

A MON BINÔME: BOUKHELKHAL WALID

A TOUS CEUX QUI M'ONT AIDÉ DE PRÉS OU DE LOIN, DANS LA CONTRIBUÉ À LA RÉALISATION DE CE MÉMOIRE

KECHAFI OUSSAMA

Table de matières

Introduction **05**

Chapitre I : partie bibliographique **06**

I .1 .Produit biologique d'origine équine 06

I.1.1 La biothérapie 07

I.1.1.1 définition 07

I.1.2. la sérothérapie 07

I.1.2.1 historique 07

I.1.2.2 définition 08

I .2 le système immunitaire des chevaux 08

I.2.1 le cheval : un animal pas comme les autres 08

I.2.2système immunitaire de cheval 09

I.2.2.1 Système immunitaire de jeune cheval 09

I. 2.2.1.1 définitions 09

I. 2.2.2 Développement de système immunitaire équine 09

I. 2.2.2.1 le système immunitaire de fœtus 09

I.2.2.2.2 transferts passifs d'immunité au nouveau-né 11

I.2.2.3 Le système immunitaire de nouveau-né 12

I. 2.2.3.1 systèmes immunitaire inné 12

I. 2.2.3.2 systèmes immunitaire adaptatif 14

I.3 le système immunitaire des suricates 18

I.3.1 Généralités 18

I.3.2.1 Immunité inné 20

I.3.2.2 Immunité adaptative 20

I.4 le système immunitaire des souris de laboratoire 22

I.4.1 Définition 22

I.4.2 Différence en réponse immunitaire entre l'homme et la souris 23

I.5 généralités sur le venin scorpionique 24

I.5.1 Morphologie des scorpions 24

I.5.1.1 Le corps 24

I.5.1.2 Prosoma ou céphalothorax 24

I.5.1.3 Mésosoma ou préabdomen 24

I.5.1.4 Métasoma ou postabdomen 24

I.5.2 La bio-écologie des scorpions en Algérie 25

I.5.2.1 *Androctonus australis* 25

I.5.2.2 *Androctonus amoreuxi* 25

I.5.2.3 *Buthacus arenicol* 25

I.5.2.4 *Orthocurus innesi* 25

I.5.2.5 *Buthus occitanus tunetanus* 25

I.5.3 Les venins de scorpion 25

I.5.3.1 Collecte de venin 26

I.5.3.1.1 excitations électriques du scorpion 26

I.5.3.1.2 excitations manuelles du scorpion 26

I.5.3.1.3 extractions par broyage des telsons 26

I.5.4 Composition du venin 26

I.5.5 Les toxines et leurs fonctions 27

I.5.5. A toxines logues 27

I.5.5. B toxines courtes 27

I.5.5.1 Les toxines actives sur les canaux de sodium Na+ 27

I.5.5.1.1 toxines actives sur les mammifères 27

I.5.5.1.1. A les toxines de type α 28

I.5.5.1.1. B les toxines de type β 28

I.5.5.2 Les toxines actives sur les canaux de potassium K+ 28

I.5.5.2.1 les toxines très courtes 28

I.5.5.2.2 les toxines courtes 28

I.5.5.3 Les toxines active sur les canaux de clore Cl- 29

I.5.5.4 Les toxines actives sur les canaux de calcium Ca+ 29

I.5.6 Physiopathologie de l'envenimation 29

I.5.6.1 L'action sur le système nerveux central 30

I.5.6.2 Les médiateurs de l'envenimation scorpionique 31

I.5.6.2.1 les médiateurs vasoactifs 31

I.5.6.2.2 les cytokines 31

I.5.6.3 L'action sur les systèmes cardio-vasculaire 31

I.5.7 Généralité sur l'anti-venin : 33

I.5.7.1 Définition 33

I.5.7.2 Immunothérapie anti venimeuse 33

I.5.7.3 Critères de l'anti-venin 33

Chapitre Π : partie pratique 35

Matériels et Méthodes 35

Π 1. Etapes et techniques de production de sérum d'origine équine 35

Π 1.1. Identification des chevaux 35

Π 1.1.1. Un système électronique 35

Π 1.1.2. Un système classique 35

Π 1.2. Suivi des chevaux 36

Π 1.3. Modalités d'immunisation 36

Π 1.4. Récolte du sang et préparation du sérum 36

Π 1.5. Purification des immunoglobulines 37

Π 1.5.1. Protocol de précipitation aux sels d'ammonium 38

Π 1.5.2. Précipitation des fragments d'immunoglobulines 39

Π 1.5.3. Thermo-coagulation 40

Π 1.5.4. 2em précipitation des protéines par sulfate d'ammonium (33%) 40

Π 1.5.5. La dialyse 41

Π 1.5.6. Clarification par le gel de phosphate tricalcique 41

Π 1.5.7. Filtration stérilisante 41

Π 2.1.A. obtention du venin d'*androctonus australis hector* pour les testes 44
Π 2.1.B. récolte des sérums d'origine équins 44
Π 2.1.C. récolte de sérum brut d'origine suricata suricatta 45
Π 2.1.D les souris 46
Π 2.1.1. Détermination de l'efficacité des immun-sérums par séroneutralisation 47
Π 2.1.2. Incubation du complexe (antigène –anticorps) 47
Π 2.1.3. Titrage des immun-sérums et sérum brute 48

Π 2.2. Résultats 48

Π 2.3. Discussion générale 59

Π 3. Conclusion et perspectives 59

Listes des figures

Titre	Page
Figure 1 : le cheval depuis l'ancien	08
Figure2: Tissu lymphoïde périphérique chez le poulain néonatal	11
Figure 3: changements dynamiques des distributions de sous-populations de lymphocytes de poulain	16
Figure 5: physiopathologie de venin de scorpion sur les canaux Na+	31
Figure 6:mécanisme de la toxicité scorpionique (Elatrous S et al 2008)	32
Figure 7 : physiopathologie générale du toxicité scorpionique	32
Figure 8 : Techniques de purification des immunoglobulines : précipitation par les sels	39
Figure 9 : Représentation schématique du clivage d'une immunoglobuline par la pepsine	40
Figure 10 : étapes d'obtention du venin scorpionique	44
Figure 13 : chronologie du prélèvement de sang	46
Figure 16 : histogramme de témoin SASIPA (d'origine équin)	50
Figure 17 : graphe de sérum brut échantillon (E1) et SASIPA	51
Figure 18: graphe de sérum brut échantillon (E2) et SASIPA	52
Figure 19 : graphe de sérum brut échantillon (E3) et SASIPA	53
Figure 20 : histogramme général englobe le témoin (SASIPA) et les sérums bruts.	54

Liste des tableaux

Tableau	page
Tableau 1 : Concentration d'immunoglobulines chez les chevaux adultes, le colostrum et les poulains néonataux	12
Tableau 2 : Cellules du système immunitaire chez les meerkats	21
Tableau 3 : les influences du système immunitaire des souris	23
Tableau 4 : différence en réponse immunitaire entre l'homme et la souris	23
Tableau 5 : propriétés pharmacocinétiques et biologiques des molécules d'IgG et les F (ab') 2 et Fab	33
Tableau 6 : Fiche technique du cheval	35
Tableau 7 : précipitation des protéines sériques au sulfate d'ammonium	38
Tableau 8 : Titrage des immun-sérums et sérum brute d'origine suricata contre le venin scorpionique. DL50 = 25,12µg	48
Tableau 9 : détermination de nombre des souris mortes par le test de séroneutralisation.	49
Tableau 10 : espérance du vie des souris en (%) via la Dl50	49

Liste des photos

Photo	page
Photo 1 : photo d'un suricate vu de face	19

ANNEX

Figure 4 : la morphologie de scorpion (Millot et vachon1949)
Figure 11 : serum brute (plasmaphérèse)
Figure 12 : photo original des suricata destiné en expérience
Figure 14 : préparation du sérum brute de suricata.
Figure 15 : souris blanches de race N.M.R.I
Photo 2 :Androctunus amoeuxi avec ses pullus

Liste des abréviations :

CD : **Classe d'antigène de Différenciation**

TCR : **T – Cell Receptor**

A.a.h* : *Androctonus australis Hector

C.s.s : *Centruroides suffusus suffusu*

AaHIT1 : La toxine 1purifiée du venin d'*Andractonus australis Hector*

LqhIT2 : la toxine 2 isolé de venin de scorpion *leiurus quinquestriatus herbraeus*

Ts VII : la toxine VII du venin de scorpion *Tityus serrulatur*

LTX : toxine de venin de *Leiurus quiquestraitus*

TSK : toxine de venin de *Tityus serrulatus*

CTX : charybdotoxine

NTX : noxiustoxine

KTX : kaliotoxines

Tsk : toxine du venin de *Tityus serrulatus*

IL-1 : L'interleukine 1

IL-2 : L'interleukine 2

IL-6 : L'interleukine 6

PAF: platelet activating factor

TNF: tumor necrosis factor

NO : le monoxyde d'azote

Es : L’envenimation scorpionique

SNA : système nerveux autonome

KDa : kilos Dalton

Ag : antigens

Ac : anticorps

IFN : Les Interférons

GM-CSF: Granulocyte- Macrophage Colony Stimulating Factor

G-CSF: Granulocyte Colony Stimulating Factor

CSP : cellules souches périphériques

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

IgG: immunoglobuline De type G

IgM : immunoglobuline de type M

SCID : l'immunodéficience combinée sévère

SAA : L'amyloïde sérique A

TLR : Les récepteurs Toll-like

PAMP : Pathogen-associated molecular pattern

APC : cellule présentatrice d’antigèn

BALT : le tissu lymphoïde associé aux bronches

BALF : le liquide de lavage broncho-alvéolaire

Fc : fragement constante d’anticorps

PBMC : Les cellules mononucléaires du sang périphérique

ELISA : **Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay**

PBS : **Phosphate buffer saline**

Mg : **Milligramme**

Ml : **Millilitre**

g : **Gramme**

g/l : **Gramme par litre**

µl : **microlitre**

SPF : **Spécific pathogen free**

DL50 : **dose létale pour 50% de population des souris**

SAS : sérum anti scorpionique

SASIPA : **sérum anti scorpionique (institut pasteur d'Algérie)**

E (1 ,2,3) : **échantillon 1,2,3**

TV : témoigne venin

TS : témoigne sérum

NMRI : naval Medical research Institute (souris blanche pour les travaux de recherches et d'enseignements)

Résumé

Les envenimations scorpioniques constituent par leur fréquence et leur gravité un problème majeur de santé publique en Algérie, particulièrement dans les régions désertiques et semi désertique du Sahara. Dont les cas les plus dangereux sont attribués à l'espèce *d'Antroctonus australis hector.*

Le concept de neutralisation de toxines par l'immun -sérum équine est actuellement employé avec succès. En revanche ceci est conditionné par des étapes d'immunisation artificielle du cheval et d'optimisation de son immun- sérum avant utilisation.

La détermination de l'efficacité de sérum brute des *suricata suricatta* contre le venin scorpionique à été résolue par la seroneutralisation dont 9 lots ont été programmé.

Chaque lots est testé par 4 souris de type M.N.R.I. l'injection des dose venimeuses est réalisé de façon croissante (de 1DL50 jusqu'à 5DL50) additionné avec 750µl de sérum brute.

Les résultats obtenu sont encourageantes étant donné que le pouvoir de neutralisation des sérums brute est de 10DL50 de souris, cette conséquence final montre belle et bien la présence des anticorps anti venin (Aah).

L'immunisation artificielle des suricata ainsi la purification de leur sérum brute peut nous révéler le vrai titrage de ses anticorps anti scorpionique. Des études génétiques et immunologiques approfondies doivent avoir lieu pour une meilleure compréhension de cette immunité et une meilleure exploitation de Suricate en sérothérapie.

MOTS Clés : envenimation scorpionique , Aah , Immun-sérum , suricata suricatta , sérum, cheval (équin) , anti-venin ,immunologie , génétique

Introduction

INTRODUCTION

Dans les pays tropicaux et chaud, les envenimations constituent un problème de santé publique fréquent mais négligé en raison d'une sous-estimation de leur incidence et parce qu'elles concernent des populations démunie **(69).**

ce qui est le cas d'envenimation scorpionique en Algérie en raison de sa fréquence et de sa morbidité, l'analyse épidémiologique de l'INSP de l'année 2000 a montré que 47521 cas de piqûre de scorpion ont été déclaré dont 108 cas mort **(50).**

La sérothérapie antivenimeuse représente, le seul traitement spécifique des envenimations scorpionique. Elle est définit par l'utilisation des immun-sérums dans une intention thérapeutique **(83).**

Les immun-sérums utilisé sont purifié selon un protocole bien défini.

Sur le plan éthologique les suricatas présentent une tolérances contre les venins des scorpions,vipéres et cobras.

Certain chercheur évoque la présence d'une immunité partielle chez les suricatas via les neurotoxines des venins scorpionique, d'autre pense que la biodiversité alimentaire et au fur a mesure de la consommation des scorpions leur système immunitaire tolère bien la toxicité du venin**. (81)**

Notre but est de dévoiler la présence de cette couverture et essayé de répondre sur l'existence réale de cette immunisation anti venin scorpionique? Si oui quelle serai son efficacité est-elle similaire ou supérieur à celle produite par les équines après immunisation ?et enfin que peut être l'origine de cette immunité : génétique ou acquise liée à son régime alimentaire ou plutôt

Noter que les individus testés (*suricata suricatta*) issu d'une première génération en captivité au sein du parc zoologique de TUNISIE.

Chapitre I :

Partie bibliographique

I.1. PRODUIT BIOLOGIQUE D'ORIGINE EQUINE

L'historique de l'utilisation des médicaments biologiques d'origine équine en médecine humaine rejoint celle de la sérothérapie. Elle débuta au 17 siècle et connut la participation de plusieurs auteurs à travers leurs expérimentations, les publications de leurs travaux sur ce domaine et l'application des résultats et de leurs produits de recherche.

Dans ce chapitre d'histoire, ces auteurs sont successivement présentés en fonction de la période d'exécution de leurs travaux :

- RICHET et HERICOURT en **1888,** montre que le sérum d'animaux immunisés a un pouvoir préventif chez les animaux d'expérience.
- Pierre Paul Emile ROUX (1853-1933), médecin bactériologiste et immunologiste français, qui fut un des plus proches collaborateurs de Louis PASTEUR (1822- 1895), avec qui il fonda l'Institut Pasteur. Il découvrit en **1891**, le sérum antidiphtérique produit chez le cheval, qui a permis la première thérapie efficace contre la diphtérie.
- Emil Adolf Von BEHRING (1854- 1917), médecin allemand et S. KITASATO, japonais, sont co-auteurs des publications importantes concernant deux maladies graves de l'époque (diphtérie et tétanos) :

• La première publication est parue en **1890** et démontre l'existence d'un facteur humoral chez des animaux immunisés contre la toxine du tétanos ou de la diphtérie ;

• La seconde, publiée en **1892**, démontre que ce même sérum pouvait procurer une immunité ;

• La troisième utilise ce principe pour le traitement de la diphtérie.

- ROUX, MARTIN et CHAILLOUX en **1894** au Congrès de Budapest firent leur communication sur le résultat du traitement de 300 cas de diphtérie par le sérum de cheval. Ce sérum permit de réduire la mortalité de 50 à 25%.

Albert CALMETTE (1861-1933), médecin et biologiste français : en **1894**, il mit au point les premiers sérums antivenimeux contre les morsures de serpent en utilisant des sérums de chevaux vaccinés et immunisés (le sérum de Calmette) . La même année il publie un article : « Contribution à l'étude du venin de serpents. Immunisation des animaux et traitement de l'envenimation ».

- Gaston RAMON (1886-1963), vétérinaire et biologiste français, intervient plusieurs années :

• **1911-1920** : il a été chargé d'immuniser de très nombreux chevaux et de récolter des sérums antitétanique, antidiphtérique, anti gangréneux, destinés au traitement de ces maladies chez l'Homme.

• **1915** : Il a permis de parer au problème de contamination des sérums immunisés en proposant l'utilisation du formol.

• **1921** : Il met au point un procédé de purification des sérums antitoxiques qui va réduire la fréquence et la sévérité des accidents sériques.

• **1925** : Il instaure le principe des substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité, technique qui permet d'obtenir des sérums plus riches en antitoxines en joignant au vaccin une substance irritante pour les tissus.

• **1937-1940** : Il est chargé de coordonner l'ensemble des services assurant la production des sérums et des anatoxines. Entre 1939 et 1940, l'Institut Pasteur fournit sept millions de doses de sérums et vaccins pour les armées

- Jean THOMAS (1902-1977), médecin, dès **1931** il met à profit l'activité immunomodulante des anticorps pour la mise au point de la Sérocytothérapie. Il avait réalisé, dès les années 1940, des travaux de recherche sur l'application thérapeutique des immunsérums spécifiques des tissus de l'organisme. Les premiers médicaments ont été mis au point et produits en France sous le nom de Specyton. Ces médicaments ne sont plus commercialisés de nos jours. En **1958** Jean Thomas a créé le laboratoire Serolab en Suisse afin de mettre à disposition des patients et des médecins des médicaments conformes aux exigences pharmaceutiques, fiables et efficaces

I.1.1 LA BIOTHERAPIE

I.1.1.1 Définition

La biothérapie est une méthode thérapeutique fondée sur l'emploie d'organismes vivants (levures, ferments, certains microbes) ou de substances prélevées sur des organismes vivants (hormones, sérums, extraits d'organes ou de tissus) ; alors que lors de la chimiothérapie, on utilise les substances de synthèse **(89).**

I.1.2 LA SEROTHERAPIE

I.1.2.1 Historique

La découverte de la sérothérapie revient à Emile ROUX (1891) , qui s'est aperçu qu'en injectant à un cheval la toxine de la diphtérie, celui-ci fabriquait des anticorps dans son sang à partir duquel on pouvait préparer un sérum.

On pouvait également injecter au cheval les germes du tétanos, du botulisme et de la gangrène**(2)**. Dès 1984 l'application de la sérothérapie antidiphtérique dans les hôpitaux parisiens fait considérablement diminuer la mortalité infantile, qui passe alors de 45 % à 24 % **(3)**. Du fait de leur nature hétérologue et souvent de leur effet allergisant, les sérums immuns

équins furent progressivement purifiés et modifiés pour obtenir les immunoglobulines (gammaglobulines) **(2).**

Bien que l'utilisation de la sérothérapie pour les maladies bactériennes ait été remplacée par l'antibiothérapie, son utilisation reste d'une grande importance de nos jours, pour lutter contre les envenimations vipérines et quelques maladies infectieuses.

I.1.2.2 Définition

Etymologiquement le terme sérothérapie est issu du latin *serum*, petit lait et du grec *thérapéia*, thérapeutique. C'est l'utilisation thérapeutique du sérum sanguin. Elle se caractérise par l'administration en injection sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire ou intrarachidienne, d'un sérum immun d'origine animale (provenant d'un animal vacciné contre une maladie infectieuse) ou d'origine humaine (sérum de convalescent d'une maladie infectieuse) pour protéger contre cette maladie (sérothérapie préventive) ou pour la traiter (sérothérapie curative). La sérothérapie permet de neutraliser un antigène microbien, une bactérie, une toxine, un virus ou encore un venin. Autrement dit le sérum immunisant est un sérum sanguin contenant un anticorps ayant la capacité de réagir contre un corps étranger à l'organisme (antigène) **(2).**

I.2 le système immunitaire des chevaux :

I.2.1 Le cheval : un animal pas comme les autres :

Le **cheval** (***Equus ferus caballus*** ou ***Equus caballus***) est un grand mammifère herbivore et ongulé à sabot unique, appartenant aux espèces de la famille des Équidés (*Equidae*).



Grotte de Lascaux (Dordogne, France), détail des fresques avec représentation d'un équidé et d'un bovin. Datation: 15 000 av. J.-C. environ.

Figure 1 : le cheval depuis l'ancien (88).

Il est classé:

- Règne : *Animalia*
- Embranchement : *Chordata*
- Sous-embranchement : *Vertebrata*
- Classe : *Mammalia*
- Sous-classe : *Theria*
- Infra-classe : *Eutheria*
- Ordre : *Perissodactyla*
- Famille : *Equidae*
- Genre : *Equus*
- Espèce *Equus cabalus*.

Le monde du cheval est très varié, allant des différentes disciplines jusqu'aux multiples races. Tous les chevaux sont différents, tant dans leur race, leur couleur, leur taille que dans leurs utilisations.

De nos jours, le cheval reste un acteur incontournable dans les régions rurales, particulièrement dans les Hauts plateaux, à l'instar des wilayas de Tiaret, Saida, Naama, Djelfa et Laghouat. Dans ces régions, le cheval vit parmi la population et y occupe une place digne de son rang (**4).**

I.2.2 Système immunitaire du cheval

I.2.2.1 Système immunitaire du jeune cheval

I.2.2.1.1 Définition :

Les nouveau-nés ont la formidable tâche d'élargir rapidement leur système immunitaire face aux agents pathogènes et aux antigènes environnementaux.

Auparavant, les nouveau-nés n'étaient pas considérés comme immunocompétents. Cependant, les études sur les néons à cheval, humains et souris ont révélé que les nouveau-nés sont capables de générer des réponses immunitaires protectrices à certains agents pathogènes ou types de vaccins **(5).**

I.2.2.2 Développement du système immunitaire équine

I.2.2.2.1 Le système immunitaire du fœtus :

Au cours de la gestation équine, une grande partie du développement du système immunitaire survient pendant la vie fœtale. La population lymphoïde du thymus est en développement à environ 80 jours de gestation, les lymphocytes circulants sont observés à120 jours de gestation, et les tissus lymphoïdes secondaires (en particulier la rate) sont peuplés peu après **(5).** Les centres germinatifs primaires sont évidents au jour 200 de la rate du fœtus, de la rate

néonatale pré-succion et du ganglion lymphatique mésentérique, avec des foyers de cellules IgM + parmi les lymphocytes T CD3 +, CD4 + ou CD8 + **(5).**

Sur la base des données moléculaires, la différenciation des lymphocytes B atteint le stade mature de la cellule B et la commutation isotypique de l'immunoglobuline est activé au milieu de la gestation. Le fœtus fœtal, la moelle osseuse et les tissus de la rate, à environ 100 jours de gestation, transcription express pour tous les gènes de cellules B testés (CD20, CD21, CD22, CD27, CD40, CD45, B220, CD79A, CD79B et gènes de recombinaison d'immunoglobulines RAG- 2 et TdT), indiquant une lymphopoïèse B réussie **(5).** À 100 jours de gestation, l'expression de l'ARNm non seulement de l'IGHM et de la chaîne légère lambda (IGLC) peut être détectée dans la moelle osseuse, mais aussi les isotypes IGHD, IGHG1, IGH3, IGHG5, IGHG6, IGHG7 et IGHA indiquant la capacité de commutation d'isotype d'immunoglobuline pendant le développement. L'expression du gène de l'immunoglobuline est similaire dans la moelle osseuse néonatale pré-succion, bien que l'expression du gène IGHG4 soit active dans la rate néonatale pré-succion **(5).**

Le large répertoire de la spécificité de l'antigène de l'immunoglobuline est dérivé de l'utilisation de divers segments de gènes (V), de diversité (D) et de jointure (J) de la chaîne lourde de l'immunoglobuline et de la diversité dans le contenu de la séquence d'immunoglobulines en ajoutant des nucléotides non-modélisés ou une hypermutation somatique . Les limites de l'utilisation du segment de gène de l'immunoglobuline fœtale et de la diversité des séquences ont été rapportées chez les humains et les souris **(6).** Cependant, dans le fœtus équine, le complément de la chaîne lourde de l'immunoglobuline, de la diversité et de l'union des segments de gènes utilisés et des longueurs de CDR3H sont comparables à ceux des séquences d'immunoglobulines de cheval néonatal, poulain et adulte **(6).** De façon inattendue, la diversité de la teneur en séquence d'immunoglobulines (c'est-à-dire la variation entre les transcrits d'immunoglobulines et les séquences de la lignée germinale) augmente significativement entre 100 jours de gestation et de naissance, tout comme les longueurs d'insertions de nucléotides non planifiées **(6).**

Avant 200 jours de gestation, les protéines IgM et IgG sont évidentes dans le sérum fœtal. Les réponses antigéniques au cours de la vie fœtale ont été identifiées histologiquement et par la production d'anticorps spécifiques de l'antigène, y compris le changement d'isotype IgG spécifique d'antigène **(5).** À la naissance, les poulains ont des quantités élevées, mais détectables, d'IgM sériques et d'IgG, et des titres élevés d'anticorps Pré-succion contre *Neospora hughesi* ont été détectés chez des poulains issus de juments naturellement infectées **(6).**

Ensemble, ces résultats indiquent que le répertoire du système immunitaire humoral fœtal subit une expansion et une diversité limitée d'une manière indépendante de l'antigène pendant la gestation et peut répondre aux agents pathogènes lorsqu'ils sont présents, avec une production de petits niveaux d'anticorps de différents isotypes **(6).**

I.2.2.2.2 Transfert passif d'immunité au nouveau-né :

Le placenta épithélio-chorial du cheval empêche le transfert d'anticorps maternels contre le fœtus dans l'utérus; Ainsi, les poulains naissent avec de petites quantités non protectrices d'IgM et IgG de sérum endogène **(6).** La génération de réponses immunitaires primaires nécessite environ 10-15 jours, et peut-être 3-4 mois pour les niveaux de protection, laissant le poulain vulnérable aux agents pathogènes dans cette fenêtre. Le colostrum fournit un transfert passif d'anticorps **(6).**

Le colostrum fournit beaucoup de facteurs solubles pour le poulain néonatal, y compris les protéines immunitaires innées telles que les composants du complément (C3, l'amyloïde sérique A), les cytokines (TNF-alpha c'est-à-dire facteur de nécrose tumorale alpha), IL-6), lysozyme, La ferritine et les anticorps absorbés par le poulain **(7).**

Dans les espèces de mammifères, le colostrum contient également des lymphocytes maternels, des neutrophiles, des macrophages et des cellules épithéliales (Le Jan, 1996). Dans le cheval, les lymphocytes T de colostrum CD4 + et CD8 + ont montré qu'ils réagissent aux mitogènes in vitro et produisent des cytokines inflammatoires IL-17 et IFN-gamma **(7).**

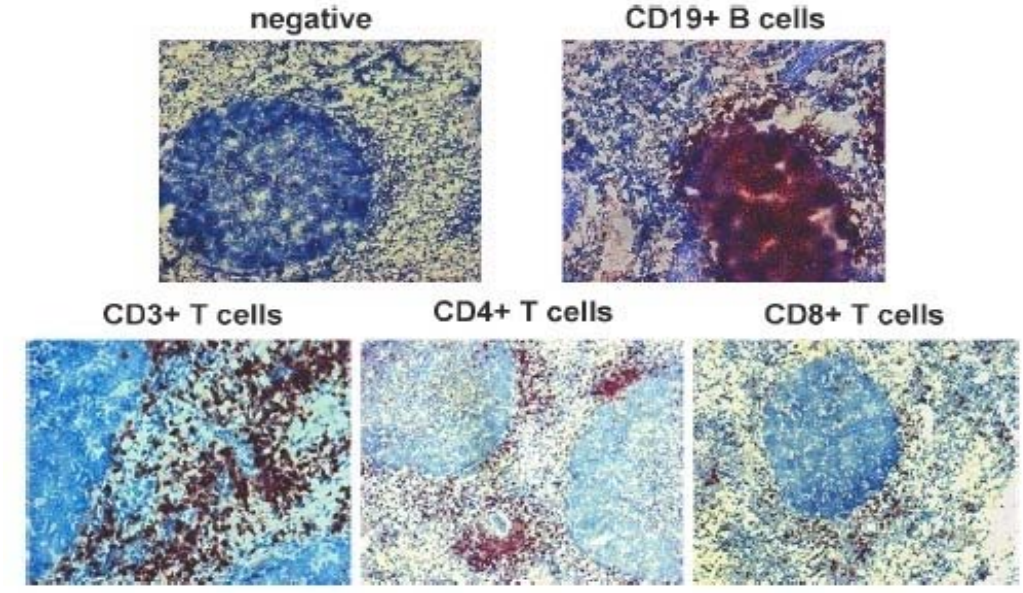


Figure2: **Tissu lymphoïde périphérique chez le poulain néonatal (5).**

Les isotypes d'IgG maternels et de petites quantités d'anticorps IgM, IgA et IgE sont absorbés dans l'intestin grêle par le colostrum dans les premières 24 heures de vie **(7)**. De manière

impressionnante, l'absorption du colostrum peut protéger les poulains atteints de l'immunodéficience combinée sévère ou SCID qui se manifeste par le manque en soi de lymphocytes T et B et ceci pendant les premiers quatre mois de vie **(5)**.

Le transfert d'anticorps spécifique de l'antigène par colostrum a été démontré pour *Clostridium perfinges, clostridium difficile, Pseudomonas aeruginosa, streptococcus equi, Rhodococcus equi, Actinabacillus spp,* Virus de l'artérite équine, virus du Nil occidental,*Theileria equi , Neopora hughesi , Strongylus vulgaris ,* entre autres **(9).**

Les anticorps dérivés du colostrum devraient conférer une protection non seulement après la mise en poupe, mais pendant les trois premiers mois de vie, lorsque la production d'anticorps endogènes chez les poulains normaux atteint des niveaux proches de protection (par exemple,> 500 mg / dL) **(5) .**

I.2.2.3 Le système immunitaire du nouveau-né :

I.2.2.3.1 Système immunitaire inné :

Un système immunitaire inné fonctionnel composé de défenses préexistantes ou rapidement induites est essentiel pour les poulains nouveau-nés, en particulier lorsque les réponses immunitaires spécifiques de l'antigène nécessitent une exposition et un temps de développement après la naissance. En effet les cellules du système immunitaire inné ont été testées chez le nouveau-né , et l'activité de la cellule de destruction activée par les lymphokines a été documentée pour être présente à la naissance **(10).**

Immunoglobulin	Original designation	Adult serum	% Adult serum	Colostrum	Pre-suckle foal serum	Post-suckle foal serum	Half-life (days)	Complement fixation
IgM	IgM	103		86–123	16–32	34–54	5	yes
IgG_1	IgGa	340	15.2	8200	3–5.4	1000	17.6	yes
IgG_2								no
IgG_3	IgG(T)	363–400	16.8	4400	ND	480	21	yes
IgG_5	IgG(T)							no
IgG_4	IgGb	1114–1960	65.1	18,300	ND, 8	2900	32	yes
IgG_7	IgGb							yes
IgG_6	IgGc	20	0.7	30	ND	ND		no
Total IgG		1913		8000–46,000	5–7.5	300–4600		
IgA	IgA	40–225		900–957	ND	40–58	3.4	poor

Ig concentration units are mg/dL; ND – not detectable.
Data compiled from Perryman, 1980; Siegel, 1980; Kohn, 1989; Lavoie, 1989; Flaminio, 1999, 2000; Sheoran, 2000; Lewis, 2008; Secor, 2012; and Tallmadge, 2009.

Tableau 1 Concentration d'immunoglobulines chez les chevaux adultes, le colostrum et les poulains néonataux **(5).**

Les activités d'éclatement oxydatif sont présentes dans les phagocytes néonatals à la naissance et les neutrophiles de poulain expriment plus de molécules d'intégrine CD18 au cours de leur première période de vie initiale par rapport aux chevaux adultes **(10)**. Néanmoins, la phagocytose et l'abattage bactérien dépendent de l'opsonisation synergique du pathogène par la circulation du complément et des anticorps **.** Avant l'ingestion de colostrum, le sérum du poulain à significativement moins de facteurs chimiotactiques et opsoniques, par rapport au sérum du poulain après l'ingestion de colostrum ou de sérum adulte. En conséquence, l'administration de plasma adulte à des poulains d'une semaine augmente de manière significative la capacité opsonique, en particulier en présence d'une septicémie

La capacité opsonique chez les poulains devient comparable à celle des adultes de 3 à 4 semaines de vie, et il existe une augmentation de la concentration de complément dans le sérum **(11)**.

L'amyloïde sérique A (SAA), une protéine de phase aiguë produite dans le foie et également présente dans le colostrum (SAA3), induit la chimiotaxie, la dégranulation des cellules, l'opsonisation, la phagocytose et l'abattage des agents pathogènes **(10).** Les niveaux maximaux de SAA3 sont détectés au deuxième jour de vie chez les poulains ce ci indiquent le transfert de colostrum**.** Les niveaux de SAA augmentent de façon spectaculaire chez les poulains atteints de septicémie ou d'infection focale, et sont plus élevés chez les poulains atteints d'infections bactériennes que chez ceux qui ont des infections non bactériennes **(11).**

Les récepteurs Toll-like (TLR) sont des composants clés du système immunitaire inné, car ils reconnaissent les motifs moléculaires associés aux pathogènes structuraux conservés (PAMP) et initient des cascades de signalisation lors de la liaison du ligand pour activer les cellules immunitaires. Le TLR-8 reconnaît les ARN monocaténaires et joue un rôle dans la réponse immunitaire antivirale innée. Les neutrophiles de poulain de tous les âges expriment l'ARNm de TLR-8 de façon constitutive, et la stimulation de la voie de signalisation TLR-8 avec un agoniste synthétique (R848) induit l'expression d'ARNm de cytokines pro-inflammatoires IL6 et IL-8 **(5)** TLR-9 détecte l'ADN bactérien, qui se distingue par des motifs CpG non méthylés **(9).** La signalisation TLR-9 favorise l'activité fonctionnelle des neutrophiles, y compris une activité phagocytaire améliorée des neutrophiles; Induction d'IL-6, d'IL-8 et de TNF-alpha; Augmentation de la production d'espèces réactives d'oxygène; ce qui retarde l'apoptose **(5)**

Les neutrophiles chez les nouveau-nés et les poulains de deux mois expriment les niveaux d'ARNm de TLR-9 comparables à ceux des neutrophiles de chevaux adultes et la stimulation des neutrophiles de poulain et d'adulte avec CpG induit l'expression de l'ARNm de l'IFN-gamma, de l'IL-8 et de l'IL-12, alors que l'ARNm du TNF-alpha diminue **(4).** La stimulation in

vitro des neutrophiles avec un agoniste CpG ou *Rhodococcus equi* induit une dégranulation à deux jours **.**Les cellules et les macrophages dendritiques de poulain expriment des niveaux d'ARNm de TLR-9 comparables aux cellules de cheval adultes **.**Les neutrophiles en poulain expriment des niveaux élevés d'ARNm de cytokines (IFN-gamma, TNF-alpha, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p35, IL-12p40, IL-17, IL-23p19) en réponse à la stimulation in vitro de *Rhodococcus equi,* qui stimule probablement TLR-2 et TLR-4 **(13).**

Ces exemples illustrent que le système immunitaire inné du poulain néonatal est capable de reconnaître et de répondre aux agents pathogènes par la phagocytose, la dégranulation, la modulation des cytokines et les tuer au début de la vie. Néanmoins, ces mécanismes dépendent fortement de l'opsonisation avec l'IgG dérivée du colostrum, suivie de l'IgG produite de manière endogène **(13).**

I.2.2.3.2 Système immunitaire adaptatif

Bien qu'une grande partie du tissu lymphoïde se développe pendant la gestation, le système immunitaire adaptatif du poulain est naïf pour les organismes environnementaux à la naissance. L'exposition à une population abondante et diversifiée de pathogènes au début de la vie induit une expansion massive des populations de lymphocytes spécifiques de l'antigène, reflétée par une augmentation de 2 à 3 fois du nombre de lymphocytes circulants et une augmentation de la masse de tissus lymphoïdes secondaires **.**En outre, il y a une augmentation de la circulation des cellules à travers l'intestin et l'apparition des cellules T à orientation intestinale, qui sont probablement entraînées par l'antigène. Le développement du système immunitaire postnatal comprend une augmentation de la taille du compartiment lymphocytaire total **(8).**

Les populations de lymphocytes B et T circulant se développent de manière linéaire au cours des cinq premiers mois de vie, se stabilisant à un nombre supérieur à celui des chevaux adultes pendant quelques mois, avant de tomber vers les valeurs de référence des chevaux adultes. L'expansion de la population de lymphocytes reflète l'exposition à une multitude d'antigènes et de pathogènes environnementaux, avec activation et prolifération des lymphocytes. En effet, l'augmentation du nombre total de lymphocytes et des sous-populations (cellules T CD4 + et CD8 + et cellules B) chez le jeune poulain est un signe souhaitable d'un système immunitaire actif. Les lymphocytes du sang périphérique prolifèrent en réponse à la stimulation des mitogènes, avec des niveaux inférieurs dans les premières semaines de vie, puis atteignant le même taux que chez d'un cheval adulte à quatre semaines **.**Dans les tissus lymphoïdes secondaires, l'augmentation de la densité et l'organisation folliculaire des zones B et T sont évidentes au cours des trois premiers mois de la vie **(8).**

Plusieurs aspects des cellules présentatrices d'antigènes néonatales (APC, cellules dendritiques et macrophages) présentent des changements dépendants de l'âge au cours des trois premiers mois de vie. L'expression réduite du CMH de classe II chez les poulains de moins de trois mois peut limiter la capacité à présenter des antigènes extracellulaires traités aux cellules T. Les APC chez le poulain ne modifient pas l'expression de l'ARNm de la cytokine en réponse à une stimulation de l'agoniste CpG (CpG-ODN 2135) jusqu'à trois mois de vie, bien que cet agoniste CpG puisse induire une prolifération de leucocytes foetons à deux jours **.** Malgré le fait que le marqueur co-stimulant CD86 est présent sur les APC de poulain à des niveaux adultes depuis la naissance, un nombre moindre de cellules dendritiques matures avec le phénotype CD14-CD1b + CD86 + est détecté chez les poulains **(9).** Il est possible que les APC de poulain, comme les nouveau-nés humains, nécessitent des stimuli multiples (par exemple, plus d'une stimulation TLR ou un certain seuil de milieu cytokine) pour une activation compétente.

Alors que le thymus, la rate et certains ganglions systémiques développent leur structure pendant la vie du fœtus, les poulains ne présentent pas de tissu lymphoïde organisé dans les poumons à la naissance. Les lymphocytes T et les cellules plasmatiques sont pratiquement absents dans les tissus pulmonaires au cours de la première semaine de vie et le tissu lymphoïde associé aux bronches (BALT) n'est observé qu'à 12 semaines **(12)**. Par conséquent, il y a une augmentation des populations de leucocytes dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (BALF) avec l'âge **.**Cependant, pour les trois premiers mois, le poulain a une petite population de leucocytes dans le BALF. La distribution de lymphocytes T CD4 + équivalente à celle trouvée dans le BALF pour cheval adulte est atteinte d'ici trois semaines et le nombre de cellules T CD8 + près du cheval adulte à dix semaines. Très peu de lymphocytes B ou de cellules plasmatiques sont identifiés dans BALF jusqu'à huit semaines **(13).** Les lymphocytes BALF provenant de poulains de moins de six semaines ont une expression du CMH de classe II plus faible que celle observée chez les lymphocytes BALF à cheval adulte, compatibles avec les lymphocytes du sang périphérique**.** Peu de macrophages alvéolaires sont récupérés dans BALF jusqu'à deux semaines de vie mais, à la troisième semaine, plus de 70% des cellules récupérées sont des macrophages alvéolaires et ce niveau est soutenu **(14).**

Les isotypes d'IgG sont détectés dans les lavages nasaux du poulain après le transfert passif par colostrum, mais l'IgA n'est pas détectée dans les voies aériennes jusqu'à 28 jours **(5)**. Ainsi, il est suggéré que moins de lymphocytes dans le poumon et le manque d'IgA de la muqueuse peuvent prédisposer les poulains à la maladie des voies respiratoires. Dans l'intestin, les immunoglobulines présentes dans le colostrum et le lait offrent une protection muqueuse passive significative, en particulier l'IgA, qui offre une neutralisation efficace et une

opsonisation de pathogènes et de toxines. Le développement du tissu lymphoïde du tractus intestinal est intense après la naissance, et les patchs de Payer et les ganglions lymphatiques mésentériques deviennent manifestement évidents au-delà des trois premières semaines de vie. Bien que le poulain soit probablement né avec la plupart des ressources pour le système immunitaire muqueux, ce n'est qu'après une exposition aux organismes (c'est-à-dire des PAMP floraux normaux) que l'expansion de la population de lymphocytes se produit. Par conséquent, l'exposition à des organismes pathogènes avant cet amorçage nécessaire causerait une maladie chez le poulain et, en outre, les éléments susceptibles d'affecter la prolifération des bactéries résidentes peuvent affecter ou retarder la réponse immunitaire protectrice **(5).**

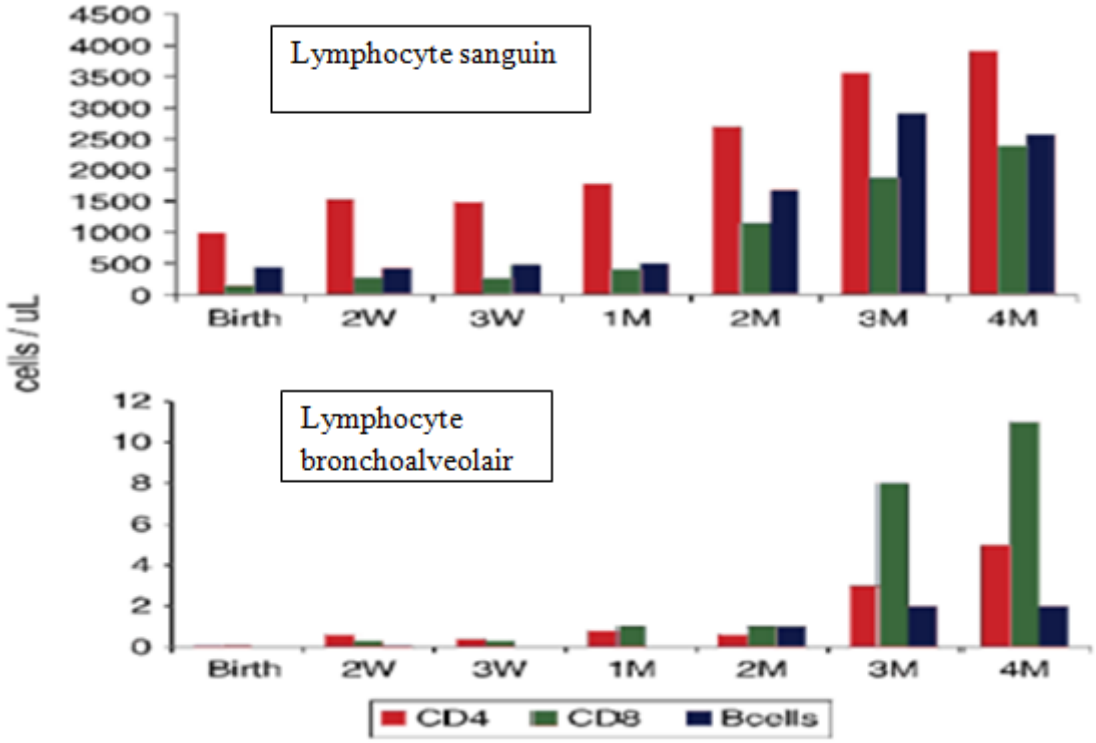


Figure 3: changements dynamiques des distributions de sous-populations de lymphocytes de poulain **(5).**

La production endogène d'immunoglobulines se produit déjà pendant la vie fœtale, bien que les taux d'IgM et IgG sériques soient faibles et ne soient pas protecteurs à la naissance; Des niveaux appréciables d'IgM et d'IgG du sérum endogène sont atteints de 2 à 3 mois, indépendamment de l'ingestion de colostrum **(13)**. Si le transfert passif se produit avec succès, un nadir des taux sériques d'IgM et d'IgG se produit entre 1 et 3 mois, en raison de la décroissance des anticorps dérivés du colostrum, bien que la demi-vie de chaque isotype diffère **(Figure 2. Tableau 1) (7)**. Des concentrations mesurables d'anticorps endogènes ont été

observées autour de deux semaines chez des poulains néo-nés dépourvus de colostrum, avec une synthèse robuste observée de 28 à 42 jours chez les poulains nouveau-nés ayant reçu du colostrum bovin au lieu d'allaiter leurs barrages **(7).**

Un aspect important de cette phase dynamique des anticorps dérivés du colostrum circulant et des anticorps produits de manière endogène est le besoin de protection humorale, non seulement à la naissance, mais aussi dans les premiers mois de vie. Par conséquent, ce qui est considéré comme un transfert adéquat standard des anticorps par le colostrum à la naissance (par exemple, au moins 800 mg / dL), de manière douteuse, en théorie, fournit une protection humorale pendant les deuxième et troisième mois de vie, en considérant une demi-vie d'IgG D'environ 30 jours, et un niveau de circulation minimal de 500 mg / dL. Par conséquent, des niveaux supérieurs à 1000-1200 mg / dL seraient plus sûrs dans les premiers mois de vie. En effet, un transfert adéquat d'immunoglobulines se produit naturellement à des niveaux beaucoup plus élevés que 800mg / dL (> 1200 mg / dL) et varie selon les races **(6)**. Un dosage quantitatif, tel que le dosage de l'immunodiffusion turbidimétrique ou radiale, fournit la concentration réelle d'immunoglobuline sanguine obtenue après le transfert passif, qui pourrait être utilisé pour la planification clinique et la surveillance des poulains à risque de développer des infections.
L'IgG4-7 (IgGb) est l'isotype d'IgG le plus abondant dans le sérum et le colostrum chez les adultes et, fonctionnellement, il est capable de lier le complément et de médiatiser l'éclatement respiratoire chez les phagocytes, mais la production endogène retardée a été rapportée chez les poulains . D'autres études ont révélé l'expression d'IgG4-7 à des points de temps antérieurs: l'expression d'un ARNm IgG4-7 est présente dans la rate néonatale pré-succion, le sang périphérique du poulain jeune et la rate; Les protéines IgG4-7 sont présentes dans le sérum pré-succion et les tissus lymphoïdes de jeunes poulains; Et l'IgG4-7 sérique est produite chez des poulains de moins d'un mois lorsqu'ils sont confrontés à *Rhodococcus equi* **(6)**.

La plupart des IgE liées à la surface des basophiles néonatals sont d'origine maternelle **.**La production endogène d'IgE semble être retardée jusqu'à six mois, avec des taux d'IgE sériques robustes de 9 à 11 mois, malgré la dégradation de l'IgE dérivée du colostrum de quatre mois **(14)**. L'effet de cette fenêtre d'expression d'IgE absente / faible sur les réponses immunitaires aux parasites et aux allergies n'est pas compris.

Certaines études suggèrent que les anticorps transférés passivement ont un effet suppressif sur la production d'immunoglobulines endogènes du poulain. Cette affirmation découle des observations d'un début accéléré de la production d'immunoglobulines dans des poulains et des études de vaccins dépourvus de colostrum **.**Il a été suggéré que les anticorps dérivés du colostrum pourraient interférer, soit en éliminant l'antigène et en empêchant ainsi la détection et la réponse du poulain, soit par l'inhibition de l'activation des cellules B par des signaux médiés par le récepteur Fc-gamma. Cependant, il existe de nombreux exemples qui indiquent que les poulains sont capables de générer des réponses immunitaires spécifiques de l'antigène au début de la vie, malgré les anticorps dérivés du colostrum circulant, peut-être avec une grandeur différente **(13).**

Les cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMC) présentent une production active de cytokines au premier mois de vie, y compris le TNF-alpha, IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL- 12p35, IL15 et IL-18. L'expression de l'IFN-gamma, de l'IL-1alpha et de l'ARNm de TGFbeta1 augmente avec l'âge au cours du premier mois de vie **.**Un petit nombre de PBMC exprimant IFN-gamma, IL-4 et IL-10 peuvent être détectés après la stimulation dès la naissance. La proportion de cellules productrices d'IFN-gamma et d'IL-10 augmente au cours des six premières semaines de vie puis se stabilise; L'expression de l'IFN-gamma atteint les niveaux adultes à trois mois **(15).**

I. 3 le système immunitaire de *Suricata Suricatta*

I.3.1Généralités

Le **suricate** (***Suricatasuricatta***) se nomme en anglais *suricate* ou *meerkat*, surnommé « sentinelle du désert»,est une espèce de mammifères diurnes de la famille des Herpestidae (mangoustes) et la seule du genre ***Suricatta***.

Le suricate est apparu dans les régions arides d'Afrique australe au quaternaire. C'est un carnivore vivant dans le sud-ouest de l'Afrique (désert du Namib). Leur nom scientifique est Suricata suricatta (Classe - Mammalia, Ordre - Carnivora, Famille - Viverridae). Ils ont été nommés pour la première fois en 1776. Il existe trois sous-espèces différentes de Meerkats. On soupçonne qu'il y a une quatrième sous-espèce, mais des recherches supplémentaires sont nécessaires pour prouver cela **(16)**

- ✓ Suricata suricatta siricata - trouvé en Afrique du Sud en couleurs de brun à orange
- ✓ Suricata suricatta majoriae - trouvé en Namibie de couleur blanchâtre et bandé autour des yeux.
- ✓ Suricata suricatta iona - trouvé en Angola (pas beaucoup de détails disponibles)
- ✓ Suricat asuricatta ? - trouvé dans le Cap sud de l'Afrique, les corps d'orange et les têtes grises (d'autres recherches sur l'ADN sont nécessaires pour déterminer la sous-espèce) ; Il est classé comme suit :

- **Règne** : *Animalia*
-**Embranchement** : *Chordata*
- **Sous-embranchement** : *Vertebrata*
- **Classe :***Mammalia*
- **Sous-classe** : *Theria*
- **Infra-classe** : *Eutheria*
- **Ordre** : *Carnivora*
-***Sous-ordre :*** *Feliformia*
- **Famille** : *Herpestidae*
-***Sous-famille :*** *Herpestinae*
- **Genre** : *Suricata*
- **Espèce** : *Suricatasuricatta*
-***Sous-Espèce*** *:non-identifié*



Photo1 : photo d'un suricate vu de face (16).

Le système immunitaire des Merrkats *(suricatasuricatta)* n'est pas bien élucidé jusqu'à maintenant à l'acception de quelque article sur les anticorps monoclonaux (anticorps monoclonaux contre les protéines d'immunoglobuline du Feliformia (furet). Etant donné qu'il appartient au classe des mammifères ; la structure de leur système de défense est presque comme l'être humain il possède ainsi :

Un système lymphatique lié au système cardiovasculaire il aide à maintenir l'équilibre hydrique entre les vaisseaux sanguins et les tissus, il joue un rôle important dans l'immunité. Ce système lymphatique est divisé en deux groupes d'organes , les organes primaires et les organes secondaires **(18).**

Organes primaires: le thymus et la moelle osseuse régulant la production et la différenciation des cellules lymphocytaire et d'autres cellules immunitaire.

Organes secondaires: comprennent les vaisseaux lymphatiques, les ganglions lymphatiques, les tissus lymphoïdes agrégés et la rate **(18).**

L'ensemble de ces organes jouent un rôle important dans l'immunité innée et l'immunité adaptative **(18).**

I.3.2.1 Immunité innée

La première ligne de défense de l'organisme, c'est :

- La barrière anatomique : peau et muqueuses.
- Barrière mécanique : drainage, mucus, péristaltisme, ciliature.
- Barrière microbienne : flore saprophyte.
- Barrière biochimique : lysosome, acide lactique, acide gras, défensensines et PH.
- Barrière inflammatoire : cellules d'alerte, cytokines et complément.
- Barrière phagocytaire : monocytes, macrophages et neutrophiles
- Barrière cytotoxique naturelle : cellules NK **(7).**

I.3.2.2 Immunité adaptative

Elle a pour support les lymphocytes T et les lymphocytes B et donc une barrière immunitaire humorale (Immunoglobulines, Les Anticorps) et une barrière immunitaire cellulaire (lymphocyte T Helper et T cytotoxique) **(7).**

ANTICORPS UTILISE	CELLULE IDENTIFIE	LOCALISATION	Caractéristique
ANTI-CD3	CELLULES T (lymphocyte)	**-Tissue lymphoïde** Les zones de lymphocyte T Des ganglions lymphatiques, Plaque de payer, rate, thymus. **-Tissue non lymphoïde** Zones périphérique du foie, Lamina propria, intra-épithéliale De l'intestin, poumon, cerveau, Les Yeux et muscle.	Noyaux central Rond avec un Cytoplasme étroit
ANTI-CD79α *Clone monoclonal*	CELLULES B (lymphocyte)	**-Tissue lymphoïde** Les zones lymphocytes B Des ganglions lymphatiques (zone medullaire), plaque de payer La rate et moelle osseuse **-Tissue non lymphoïde** les poumons, lamina propre intes--tinale, Zones périphérique Du foie, rein, cerveau et pancréas	Un noyau Central et un bord étroit De cytoplasme Compatible avec Les lymphocytes
ANTI-HLA-DR	➢ Certain type de cellules B ➢ Cellule T, Macrophages, ➢ Cellule Dendritiques	**-Tissue lymphoïde** Ganglions lymphatique, plaque de Payer, rate. Zone médullaire et paracortique, Ainsi le thymus pour les macroph--ages et les dendritiques **-Tissue non lymphoïde** Zones périphérique du foie, Lamina Propre de l'intestin, poumons, rein, Cerveau, les yeux et la peau. Cellules de kuppfer et dans la Lumière et la paroi alvéolaire Pour Les macrophages et les Cellules Détritiques	Cellules positive Petite et rondes Avec un emplacement central du noyau et un bord étroit de cytoplasme
ANTI-CD20 Clone Polyclonique	CELLULE B (lymphocyte)	**-Tissue lymphoïde** Les follicules primaire et Secondaire Dans les ganglions lymphatiques, Plaque de payer, pâte blanches de La rate et le thymus. **-Tissue non lymphoïde** Dans les poumons(les alvéolaires), Le foie (sinusoïdes), les méninges, L'intestin, rein, les yeux et Pancréas. *les macrophages* /de nombreuse cellules positives se trouvaient dans la pulpe rouge de la rate.	-Petites cellules Ronde avec un Cytoplasme Etroit et Un noyau central -autre cellules l'égerment Ronde avec Un cytoplasme Abondant Ressemble au immunoblastes

Tableau 2: Cellules du système immunitaire chez les suricates (87)

MAC387, CD163 et **SWC3.**aucun marqueur positif n'a été détecté dans aucun tissu de furet en utilisant les anticorps anti-Mac387, anti-CD163 et anti-SWC3. La répartition de cellule T et B dans les tissus lymphoïdes des *suricata suricatta* était corrélé à celle décrite chez d'autre espèce de mammifères telle que la souris, le chien, le chat, les suricata, et chez les humains. **(19)**

I.4Système immunitaire des souris

I.4.1 Définition

Les souris sont fréquemment utilisées pour modéliser les états pathologiques humains, pour tester l'efficacité des médicaments et des principes thérapeutiques. Cependant, la traduction directe de données expérimentales murines à des événements pathologiques humains échoue souvent en raison de différences suffisantes dans l'organisation du système immunitaire des deux espèces. Ici, nous donnons un bref aperçu concernant le socle de dépendance du statut de système immunitaire des souris (*la microflore, le fond génétiques*) et des principales différences entre les souris et les humains dans les stratégies de défense contre les agents pathogènes et les mécanismes impliqués dans la réponse aux microorganismes pathogènes et à d'autres activateurs du système immunitaire **(20)**. Alors que dans le sang humain, les mécanismes de résistance immunitaire sont fortement prévalus, les mécanismes de tolérance dominent pour la défense contre les microorganismes pathogènes dans le sang de souris. En outre, les différences liées aux espèces des cellules immunitaires impliquées principalement dans la réponse immunitaire innée ainsi que les différences pour maintenir l'homéostasie oxydante sont également prises en compte**. (20)**

les dépendances du système Immunitaire **II.2** des souris	Les influences
La microflore	-une microflore symbiotique telle que (parasite, bactérie, virus, champignons) Peut façonner les sous-ensembles de cellule T dont leur nombre augmente Par le temps - les antigènes bactériens jouent un rôle essentiel dans la génération des cellules régulatrices EX : filariose (*Brugia Malayi)* -le nombre des cellules plasmatique igA dépend de l'endroit à la loge les souris
Le fond génétique	- La plupart des expériences immunologiques classiques ont été effectuées dans la ligne C57BL / 6j -les souris déficientes en IL-10 ont montre que plus d'un allèle était impliqué dans la gravité différente de la maladie. - le mutant de souris déficiente en IL-10 développera une inflammation chronique spontanée dans l'intestin - une méthode de cartographie loci (QTL) de caractéristique quantitative pour Identifier les loci responsable de ce déficit immunitaire - Le modèle de souris diabétogène STZ induced (*streptozotocine*) est utilisé pour étudier l'auto-immunité ; Le dosage de STZ et la gravité du diabète varient en fonction du fond génétique des souris.

Tableau 3: les influences du système immunitaire des souris (20).

I.4.2 Différence en réponse immunitaire entre l'homme et la souris

Les différences importantes entre l'homme et la souris (principales stratégies) **(21)**

	Réponse chez l'homme	**Réponse chez la souris**
	Reponse induit une resistance	**Reponse in duit une tolerance**
Les récepteurs Toll-like (TLR)	les ligands de TLR provoquent une inflammation provoquant des séquelles dans le but principal et de limiter le fardeau des microorganismes pathogènes. (*résistance*)	Les souris ont développé des stratégies de tolérance contre l'agoniste TLR4 LPS, la lipoprotéine associée à un peptidoglycane TLR2 et d'autres agonistes inflammatoires tels que l'entérotoxine B. *(tolérance)*
Toxine bactérienne (LPS)	une dose de LPS de 2-4 ng / kg de masses corporelles induites la fièvre et les cytokines, et environ 15 µg / kg provoque une maladie déjà grave avec un choc.	la dose létale médiane est de 10 mg / Kg Ainsi, les doses de LPS induisant une maladie grave avec un choc sont plusieurs ordres de grandeur plus élevés chez les souris que chez les humains.
la libération de cytokines	Le sérum humain ajoutée à des cellules Mononucléaires a diminué la libération des cytokines	Lorsque le sérum de souris a été ajouté à des cellules mononucléaires humaine il a diminué la libération de cytokines plus efficacement que le sérum humain.
Remarque	-. Une corrélation inverse entre la sensibilité au LPS et la suppression de la production de TNFα a été trouvée non seulement pour le sérum de souris, mais aussi pour d'autres sérums d'animaux.	le sérum de souris contient un facteur inconnu qui est responsable de cet effet, il a considérablement réduit l'ARNm codé pour le facteur de nécrose tumorale α (TNFα) dans les monocytes
l'interféron γ (IFNγ)	capable de déclencher une réponse immunitaire innée chez les humains - les cellules humaines résistent à Chlamydia trachomatis par l'expression de l'indoleamine 2, 3- dioxygénase (IDO) en réponse à IFNγ ou IFNγ + LPS.	l'IFNγ induit l'expression de 18 gènes différents de GTPases, les protéines de GTPase (IRG) - l'IFNγ induit trois gènes IRG différents pour la résistance contre le principal pathogène humain *Chlamydia trachomatis* (autophagosomes) - La plupart des lignées cellulaires de la souris font face à la stimulation par Chlamydia ou IFNγ par l'expression de l'oxyde nitrique synthéas(iNOS) ou

Tableau 4: la différence en réponse immunitaire entre l'homme et la souris (21).

I.5 **Généralités sur le venin scorpionique**

I.5.1 morphologie des scorpions

I.5.1.1 Le corps

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

L'aspect général d'un scorpion varie peu dans tout l'ordre: cette constance morphologique aide énormément le reconnaître parmi tous les autres arachnides **(53).**

I.5.1.2 Prosoma ou céphalothorax

Le Prosome est dorsalement recouvert d'un bouclier céphalothoracique trapézoïdal et portant 2 yeux médians et 3 à 5 paires des yeux latéraux situés antérieurement, à l'avant une paire de chélicérates, il porte également une paire de pédipalpe et ventralement quatre paires de pattes locomotrices, les sternites et la lèvre **(53).**

I.5.1.3 Mésosoma ou préabdomen

L'abdomen qui compte sept plaques dorsales, les antérieurs, étroites, la postérieure rétréci vers l'arrière en trapèze. Ces plaques, parfois lisses, ont souvent des crêtes granulées utilisées ensystématique **(53).**

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

En avant des cinq plaques ventrales, les deux autres segments sont reconnaissables grâce à leurs appendices ou dérivés d'appendices: *les peignes* et les *opercules génitaux* **(53).**

I.5.1.4 Métasoma ou Postabdomen

En générale, la queue d'un peu plus longue que le tronc. On compte toujours cinq segments ou anneaux pour tous les scorpions. Chaque segment est indéformable par suite de l'absence de chitine pleurale. La forme, l'épaisseur, la longueur des divers anneaux varient beaucoup suivant les genres et même les espèces. Dans quelques cas, l'un des anneaux est nettement différent des autres **(34).**

I.5.2 La bio- écologie des scorpions en Algérie

Selon **VACHON** et **SADINE** il existe jusqu'à maintenant dans l'Algérie les espèces scorpioniques suivantes:

I.5.2.1 *Androctonus australis:*

Grand espèces pouvant atteindre chez l'adulte 10 cm, de teinte brune ou jaune paille avec, des parties du corps (pinces et dernier anneau de la queue) plus ou moins assombries **(53).**

I.5.2.2 *Androctonus amoreuxi:*

C'est une espèce qui ressemble beaucoup à *A. australis* (même couleur, même dimension, même coloration des derniers anneaux de la queue). Sauf que la queue est beaucoup plus fineA partir du 3ème anneau **(53).**

I.5.2.3 *Buthacus arenicola:*

Scorpion avec taille de 5 à 6 cm, de couleur jaune paille à jaune fluorescent, leur queue plus longue et très fine**(53).**

I.5.2.4 *Orthochirus innesi:*

Est un scorpion de petite taille de 3.5 cm, et de teinte sombre allant du fauve rougeâtre au noir, pattes-mâchoires et pattes ambulatoire uniforme**(53).**

I.5.2.5 *Buthus occitanus tunetanus:*

C'est une espèce dont la taille peut atteindre 7.5 cm, de teinture également jaune pâle, avec un abdomen plus sombre et parfois même des bandes, plus sombre **(53).**

I.5.3 Les venins de scorpion

Les venins constituent une véritable ressource naturelle de molécules bioactives telles que les peptides, les protéines et les enzymes, de plus en plus utilisés en recherche biomédicale à des fins de diagnostiques ou thérapeutiques.

Le venin de scorpion se présente sous forme d'un liquide blanchâtre, jaunit et devient Opalescent et visqueux au cours du temps. Il contient des petits granulés insolubles, des débris Cellulaires et des protéines solubles de faible poids moléculaire, peu représentées, qui sont Responsables de manifestations physiopathologiques de neurotoxicité chez les envenimés **(41).**

Le venin de scorpion résiste à la dessiccation sous vide et son pouvoir toxique se conserve pendant plusieurs années **(43).**

I.5.3.1 Collecte du venin :

La collecte de venin se fait par trois méthodes :

I.5.3.1.1Excitation électrique du scorpion :

La traitée des scorpions par excitation électrique consiste à soumettre les scorpions à un courant électrique de 12V, les 2 électrodes doivent être mouillées par une solution conductrice. L'exposition de la partie inférieure du scorpion et les premières anneaux de sa queue à cette excitation provoque une contraction du musculature de glande à venin **(60).**

I.5.3.1.2. Excitation manuelle du scorpion :

La collecte du venin par stimulation manuelle (méthode dangereuse) se rapproche des mécanismes physique, elle consiste à tenir le scorpion entre les mains, tout en tenant sa queue dirigée vers un récipient pour récupérer le venin **(60).**

I.5.3.1.3. Extraction par broyage des telsons:

Après une congélation à -30° des queues, les telsons sont coupés puis broyés et sont mis dans une solution physiologique. Les telsons broyés sont parfois soumis à certains traitements dans un but analytique: fractionnement acétonique, chromatographique etc. Cette méthode donne un faible rendement de venin également en toxicité **(24).**

I.5.4. Composition du venin :

Les toxines de scorpions représentent une famille de polypeptides basiques qui désorganisent la fonction normale des tissus excitables des muscles et des neurones en causant des dommages respiratoires et circulatoires pouvant même aboutir à la mort **(25).**

Le venin est composé de diverses substances comme les phospholipases, L'acétylcholinestérase, l'hyaluronidase, la sérotonine et les neurotoxines. Ces derniers, toutes de nature protéique, vont se retrouver dans les récepteurs cibles des canaux ioniques membranaires des cellules des tissus excitables (système neuromusculaire) **(25)**

I.5.5. Les toxines et leurs fonctions :

Les toxines du venin de scorpion sont des mini protéines basiques, de faible masse moléculaire et faiblement représentés dans les venins (4-5 %) **(26).**

On distingue quatre familles neurotoxiques qui agissent sur les membranes cellulaires des tissus excitables : cellules nerveuses et cellules musculaires et plus exactement sur les Canaux à sodium (toxine longue), les plus abondantes dans le venin, celles qui agissent sur les Canaux à potassium (toxine courtes), celles qui agissent sur les canaux à calcium et celles qui Agissent sur les canaux à chlore **(**26**).**

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

I.5.5. A. Toxines longues:

Ce sont des peptides de 60 à 70 résidus d'acides aminés stabilisés par quatre ponts désulfures. Ces toxines ont généralement une grande affinité pour les canaux Na^+ des cellules excitables. Bien qu'elles présentent de grandes homologies de séquences, ces peptides ont des cibles animales bien spécifiques (mammifères, insectes et crustacés) **(45).**

I.5.5. B. Toxines courtes:

Ces peptides sont constitués de 31 à 39 résidus sont réticulés par trois ponts désulfures. Les toxines actives sur les canaux K^+sont minoritaires dans les venins des scorpions .D'autres petits peptides, réticulés par quatre ponts désulfures sont identifiés tout d'abord comme des petites toxines actives sur les canaux Cl des cellules épithéliales des insectes **(26).**

I.5.5.1. Toxine active sur les canaux Na+ :

Ces toxines se fixent avec une très grande affinité induisent une prolongation du potentiel en bloquant l'inactivation du canal sodique, qui se manifeste par une hyperexcitabilité du système nerveux suite à une augmentation de la perméabilité du sodium et une libération accrue de neuromédiateurs **(26).**

I.5.5.1.1. Les toxines actives sur les mammifères :

Suivant leur fixation spécifique sur les sites 3 et 4 du canal Na^+, elles provoquent deux types de réponses pharmacologiques et ont été classées en toxines α et β **(24).**

I.5.5.1.1. A Les toxines de type α:

En se fixant sur le site 3, elles induisent une prolongation caractéristique du potentiel d'action en agissant sur la phase d'inactivation du canal Na^+**(c à d :** ne modifient pas le potentiel d'ouverture du canal sodium, mais induisent un ralentissement du potentiel de fermeture**)**. Cette fixation est dépendante du potentiel de la membrane par le biais d'un phénomène allostérique. Les toxines de type α sont les éléments responsables de la toxicité de venins. La plus active de ces toxines est la toxine ***A.a.h* II** du scorpion *Androctonus australis Hector* **(52) (23).**

I.5.5.1.1. B Les toxines de type β:

Cette deuxième classe de toxine, se lie au site 4 des canaux Na^+ de manière indépendante du potentiel de la membrane**(c à d :** agissent sur le potentiel d'ouverture du canal sodium**)**, L'activation des canaux se fait alors à des potentiels plus négatifs **(24).**

Ces toxines ont été identifiées dans les venins des scorpions du "nouveau Monde". La toxine **C.s.sII** du scorpion *Centruroides suffusus suffusus*, sert de référence pour cette classe de toxines **(57).**

I.5.5.2. Les toxines actives sur les canaux potassium K+:

Elles sont présentes dans le venin en très faible quantité (< 1 % poids sec).

(42). On les regroupe en deux grandes familles en fonction de leur homologie de structure primaire et de leur spécificité. Une première famille de peptides très courts (29 à 31 résidus d'acides aminés), bloque les canaux de type SK+ (canaux K+ activés par le calcium de petite conductance, dits apamine-sensible).

La seconde famille se subdivise en plusieurs sous familles de peptides de 37 à 39 résidus généralement réticulées par trois ponts disulfure **(42).**

I.5.5.2.1. Les toxines très courtes:

Ces toxines comptent de 29 à 35 résidus acides aminés. Elles possèdent une haute spécificité et une grande affinité pour les canaux potassium k^+ dépendants à faible conductance **(29) (30).**

Les principales toxines de cette famille sont les neurotoxines I (**LTX** ou scyllatoxine) de *Leiurus quiquestraitus*, les toxines **TSK** du *Buthidé* sud américain *Tityus serrulatus* **(49).**

I.5.5.2.2. Les toxines courtes:

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

A. Sous famille de la charybdotoxine (CTX) :

Celle-ci reste encore la toxine de référence des toxines bloqueuses de canaux potassium **(30).** Elle agit sur les canaux potassium K^+ dépendants à large conductance et sur les canaux voltage dépendants de divers tissus (fois, lymphocytes) **(30).**

B. Sous famille de la noxiustoxine (NTX):

Cette toxine agit sur les canaux voltage dépendants et calcium dépendants de nombreux tissus excitables et non excitables **(36).** Ces toxines possèdent 39 résidus acides aminés, c'est deux de plus que les autres toxines courtes.

C. Sous famille des kaliotoxines (KTX) :

Les toxines de ce groupe, kaliotoxines et agitoxines, sont très homogènes. Elles présentent de 70 % de similarité dans leurs séquences .Sont spécifiques des canaux K^+ potassium dépendant **(55).**

D. Sous famille de la Tskα :

Cette toxine extraite du venin de *Tityus serrulatus*. Elle bloque spécifiquement les canaux K^+ potentiel dépendants **(44),** en particulier un ensemble de toxines à quatre ponts disulfures: toxines de *Pandinus imperator* leurs séquences montrent une grande similarité avec les toxines à trois ponts égale au supérieure à 60 % **(35).**

I.5.5.3. Les toxines actives sur les canaux Chlore Cl-:

Les premières molécules de ce type mises en évidence ont été purifiées du venin de Buthus épeus **(47).** Se sont de courts peptides de 135 résidus d'acides aminés très fortement réticulés par quatre ponts disulfure **(45).**

La chlorotoxine est capable de bloquer un canal chlore voltage activé, décrit comme spécifique de cellules humaines **(39).**

I.5.5.4. Les toxines actives sur les canaux calcium:

Le peptide isolé (33 acides aminés, trois ponts disulfure) présente une séquence original, sans analogie avec aucune des séquences de toxines (courtes) déjà identifiées dans les venins de scorpion, ces toxines sont connues comme des bloqueurs des canaux Ca^{++} activés par le voltage de type P **(46).**

I.5.6. physiopathologie de l'envenimation :

Les toxines des venins de scorpion sont donc avant tout *neurotoxiques* et leur mode d'action cellulaire suffit rendre compte de l'essentiel de la symptomatologie. Elles possèdent aussi une *action cardiotoxique* directe d'une part, et indirecte d'autre part, par effet sur le myocarde de l'hypersécrétion de catécholamines consécutive à la stimulation nerveuse périphérique. On

a récemment découvert la présence de toxines peptidiques courtes (PM =1000), actives sur les canaux potassiques (charybdotoxines), qui ne paraissent pas avoir de rôle pathogène important chez l'homme. à l'exception d'une hyaluronidase, les venins de Buthidés paraissent dépourvus d'activités enzymatiques, et celles qui ont été décrites semblent devoir être rapportées au mode de recueil du venin par stimulation électrique, responsable d'une lyse cellulaire brutale de la glande à venin. Les venins de scorpion présentent diverses activités enzymatiques, notamment une activité hémolysante, peut être responsable de très rares accidents de nécrose locale. Des effets perturbateurs sur la coagulation ont parfois été décrits et pourraient être à l'origine d'exceptionnels accidents neurologiques centraux (hémiplégie) **(25).**

I.5.6.1 L'action sur le système nerveux central :

Le venin de scorpion, dont la fraction toxique se compose d'une toxine α et d'une **ß**-toxine ayant un tropisme particulier pour les cellules excitables, a la propriété d'activer les canaux cellulaires sodiques, potassiques et calciques des cellules nerveuses et probablement des fibres musculaires striés, la conséquence directe de cette activation est une libération massive des neuromédiateurs suivis d'un blocage de la transmission des potentiels d'actions **(60).**

Le venin a une action neuromusculaire à la fois pré- et post-synaptique pouvant provoquer des contractures et des spasmes musculaires **(61).**

L'injection expérimentale de venin purifié dans les ventricules cérébraux chez le chat, le lapin et le rat entraîne des manifestations très variées d'excitation du système nerveux: état d'agitation, de lutte, tremblements, mouvements anormaux, convulsions, hyperthermie et troubles respiratoires **(62) (63).**

Le système nerveux autonome semble particulièrement en jeu, ce que certains auteurs appellent l'orage autonome .Il existe une libération massive de catécholamines et D'acétylcholine **(64)**

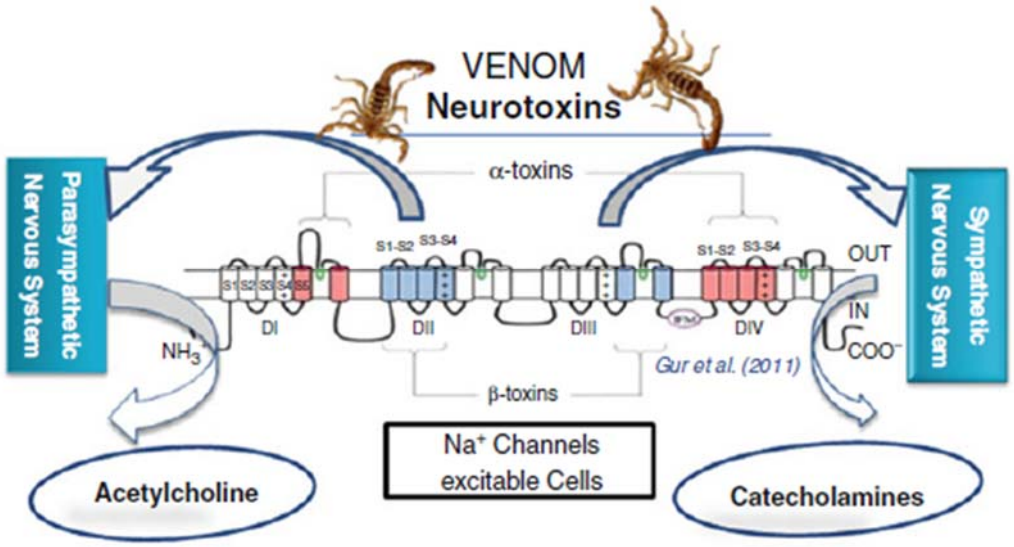


Figure 5: physiopathologie de venin de scorpion sur les canaux Na+ (59)

I.5.6.2 Les médiateurs de l'envenimation scorpionique :

I.5.6.2.1 Les médiateurs vasoactifs :

Ce sont essentiellement les catécholamines, le neuropeptide Y, l'endothéline et le facteur atrial natriurétique. Tous ces médiateurs sont libérés au cours del'envenimation scorpionique grave. Toutefois le rôle des catécholamines parait majeur et on parle d'orage adrénergique. Le venin agirait directement sur les cellules surrénaliennes chromaffines. Cette sécrétion de catécholamines est proportionnelle à la concentration de venin **(65).**

I.5.6.2.2 Les cytokines :

Il s'agit surtout de : l'interleukine 1 (IL-1), l'interleukine 6 (IL-6), le «platelet activating factor» ou PAF, le «tumor necrosis factor» ou TNF et le monoxyde d'azote (NO).

Il existe une corrélation étroite entre les principales conséquences hémodynamiques de l'Es et les neurotoxines circulantes **(65).**

I.5.6.3 L'action sur le système cardio-vasculaire :

Le venin provoquant initialement la stimulation transitoire du système cholinergique, suivie d'une hyperactivité adrénergique soutenue **(66).**

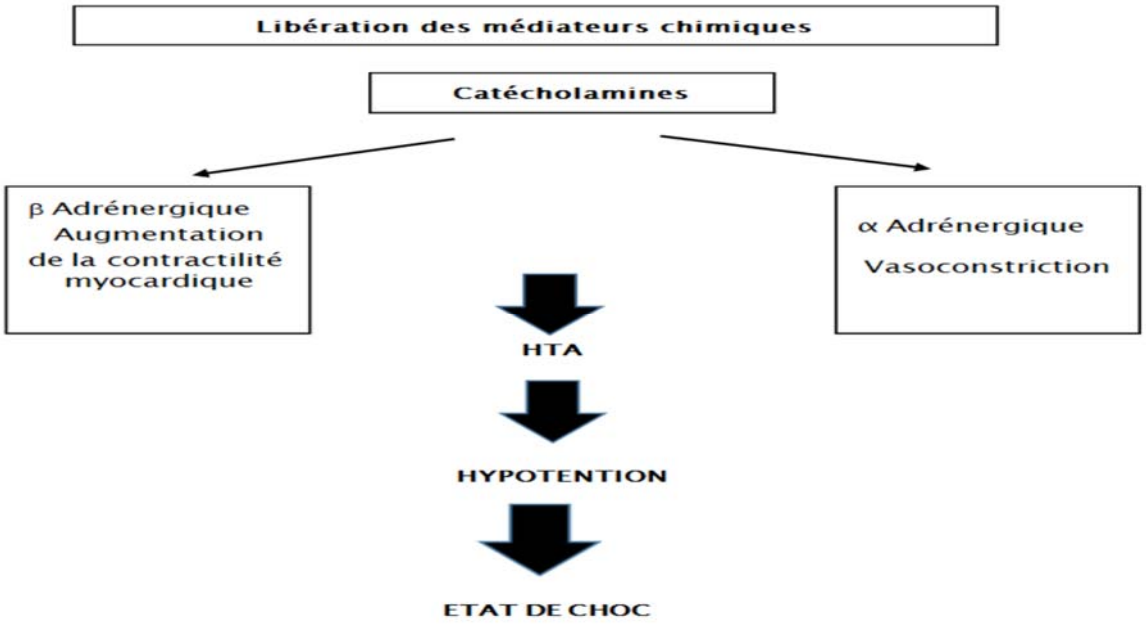


Figure 6:mécanisme de la toxicité scorpionique (67).

La stimulation du SNA sympathique est responsable de la tachycardie, d'hypertension artérielle, mydriase, sueurs profuses et de rétention urinaire, alors la stimulation du SNA parasympathique entraine une hypersécrétion bronchique, hyper-salivation, bradycardie, hypotension artérielle, priapisme et un myosis. Un des effets sympathiques ou parasympathiques peut prédominer mais le plus souvent les effets sont mixtes **(68).**

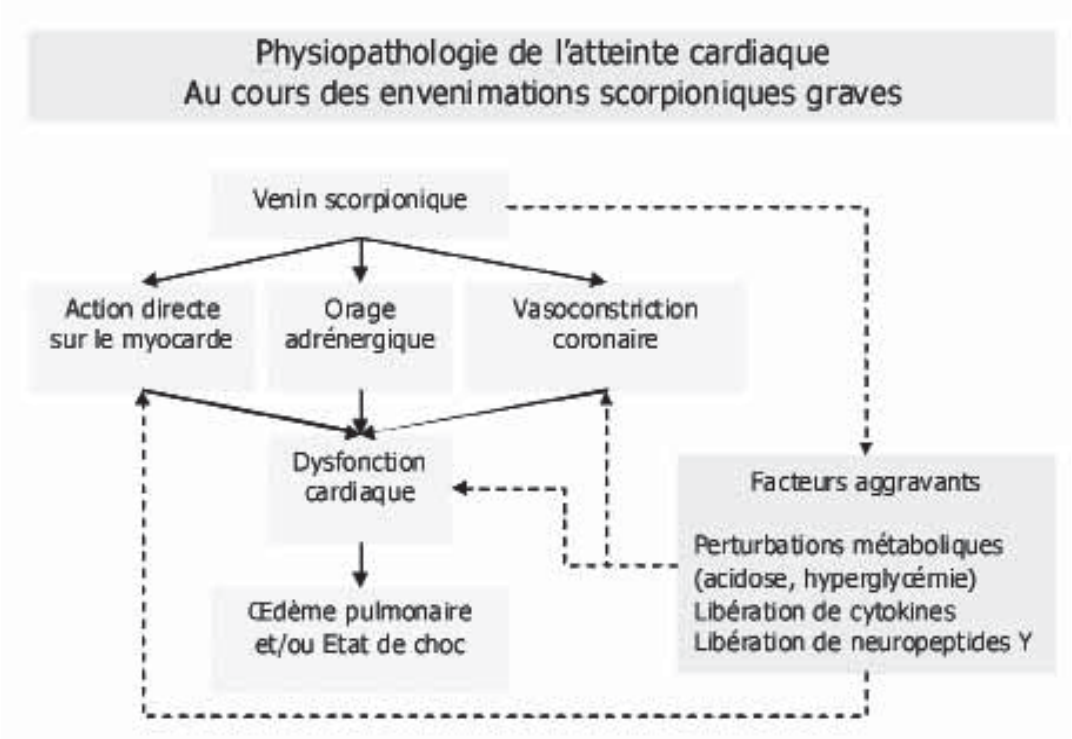


Figure 7:physiopathologie générale de la toxicité scorpionique (65).

I.5.7. Généralité sur Anti-venin:

I.5.7.1. Définition:

Un siècle après les travaux de Calmette, ainsi que ceux de PHISALIX et BERTAND, les anti-venins se sont toujours préparés de plasma ou de sérum d'animaux, généralement le cheval, hyperimmunisé avec le venin correspondant **(48).**

L'immunisation par voie sous-cutanée ou intraveineuse stimule la production d'anticorps sériques, l'ensemble de ces anticorps circulant dans le sang constitue « l'immunosérum » **(48).**

I.5.7.2. Immunothérapie antivenimeuse :

Du point de vue thérapeutique, l'immunothérapie reste un traitement spécifique indispensable pour neutraliser directement l'action des toxines du venin. Son efficacité dépend en grande partie de l'anti venin (la pharmacocinétique des fragments d'anticorps constituant l'antivenin), mais également des conditions de son application (le délai, la dose et la voie d'administration) **(22).**

I.5.7.3 Critères de l'anti-venin:

L'anti-venin doit atteindre les différents tissus cibles des toxines du venin, il doit complexer la toxine en provoquant une redistribution de celle-ci depuis les tissus vers le compartiment vasculaire. Le complexe ainsi constitué doit rapidement être éliminé par le système réticulo-endoplasmique ou rénal **(54).**

Les paramètres pharmacocinétique des anticorps de sérums antivenimeux ont été étudiés chez l'animal. Après administration intraveineuse, les IgG restent localisées dans les vaisseaux et ne sont pas distribuées dans les tissus alors que les fragments F (ab')2 et les fab se distribuent dans l'espace extravasculaire**.** Le volume de distribution des IgG est égal à celui du compartiment vasculaire tandis que F(ab')2 et Fab ont un volume de distribution 1,5 à 3 fois plus élevé que le volume plasmatique **(37).**

Propriétés d'anticorps	**IgG**	**F(ab')2**	**Fab**
Poids moléculaire	150KDa	100KDa	50KDa
Affinité aux tissus	+++	++	+
Temps de distribution dans l'organise	>6h	3h	1h
Temps d'élimination (demi-vie)	>100h	60h	10h
Effet indésirable	>30%	<5%	>5%

Tableau 5 : propriétés pharmacocinétiques et biologiques des molécules d'IgG et les

F (ab') 2 et Fab (58).

Les IgG et les fragments F (ab') 2 de masse moléculaire plus élevé, de 150KDa et 100KDa respectivement, sont éliminés par les cellules du système immunitaire. Alors que Les fragments Fab de poids moléculaire plus faible 50KDa inférieur au seuil de filtration glomérulaire permet leur excrétion par la voie rénale et donc une élimination plus rapide que les fragments F (ab') 2 **(48).**

Les anticorps IgG, F (ab') 2 et Fab sont équivalents concernant leur efficacité à neutraliser les antigènes spécifiques **(54).** Cependant certains auteurs préconisent l'utilisation de fragment Fab (monovalents) à la place des fragments F(ab')2 (bivalents).or les Fab incapables de former des complexes immun de haut poids moléculaire pouvant être responsable de maladies sériques **(48).** D'autres travaux suggèrent que la fréquence élevée des remontées de la toxicité après un traitement par fragment Fab se devait à un dépôt important de venin non neutralisé dans les tissus qui continue d'être absorbé pendant une période dépassant le temps d'élimination des fragments Fab. Néanmoins, l'étude de **(54)** explique pourquoi les anti-venins F(ab')2 restent la meilleur option de traitement en raison de leur extravasion rapide, de leur vaste distribution au sien de l'espace extracellulaire et leur temps moyen de résidence prolongée. Leur étude indique également que la capacité prolongée de neutralisation d'un anticorps est plus importante que l'élimination par voie rénale du complexe Ag-Ac

Partie pratique

Matériels et Méthodes

Π .1 Etapes et techniques de production de sérum d'origine équine

Π .1.1. Identification des chevaux

Pour assurer une traçabilité des produits issus de chevaux, deux systèmes d'identification sont utilisés :

Π 1.1.1. **Un système électronique :** consistant à mettre en place un transpondeur sur le côté gauche de l'encolure dont le numéro figure sur la fiche d'identité de l'animal.

Π 1.1.2. **Un système classique :** qui consiste à décrire les caractéristiques de l'animal sur sa fiche d'identité en lui attribuant un numéro. Ce numéro figure sur une médaille autour de son cou. La fiche d'identité de chaque cheval comporte plusieurs données relatives au sexe, race, couleur et autres (voir tableau ci-dessous).

Il est ouvert également un dossier pour chaque cheval dans lequel toutes les manipulations, les dates des manipulations et le numéro de lot des antigènes administrés sont enregistrés. Ce dossier est transmis au service de contrôle qualité **(89).**

- numéro attribué - numéro du transpondeur - nom de l'animal - spécialité qu'il produit - année de la première immunisation et années pendant lesquelles il a été traité - sexe - année de naissance - date d'achat - nom et adresse de l'ancien propriétaire - la race - couleur de la robe - remarques éventuelles - signalement descriptif du corps de l'animal - signalement descriptif de la tête et du museau - signalement descriptif des membres antérieurs - signalement descriptif des membres postérieurs - autres particularités. - photo de l'animal	

Tableau 6 : Fiche technique du cheval (par boukhelkhal, kechafi)

Π 1.2Suivi des chevaux

Les chevaux sont généralement stationnés dans une ferme expérimentale dont l'accès est sous contrôle permanent et limité aux professionnels. Les chevaux sont régulièrement vaccinés contre la grippe équine, le tétanos et la rage **(89).**

Π 1.3Modalités d'immunisation

L'immunisation se fait selon les recommandations suivantes :

- L'administration des antigènes (venin scorpionique) de faible volume et de façon répétée (injection sous-cutanée)
- Le couplage de l'antigène et l'albumine augmente l'immunogenicité
- Utiliser l'adjuvant de freund pour améliorer la réaction immunitaire
- Les injections peuvent être pratiquées à des intervalles plus grands (2-3mois) de repos
- Préférable d'injecter l'antigène dans des zones riches en ganglions lymphatique ex (cou. pates...)

L'immunisation se pratique en 2 étapes :

- *Immunisation primaire*

Elle consiste à administré au cheval des doses de venin (de 1mg jusqu'à 25mg) avec des intervalles de repos entre 3 à 7 jours mené à la fin d'un titrage des anticorps.

Cette immunisation primaire exige l'administration d'un adjuvant (ex :freund)

- *Immunisation secondaire*

Un protocole similaire de l'immunisation primaire sans adjuvent avec un titrage d'anticorps précoces (à15mg) **(89).**

Π 1.4 Récolte du sang et préparation du sérum

Les anticorps apparaissent lentement (10-30 jours) avec une faible concentration et avidité.

L'avidité peut être bonne dans la 2éme injection avec un plateau maximum pour la 3iéme et la 4iéme injection.

Le volume de sang récolté dépend du poids corporel de l'animal ainsi de leur données hématologiques. L'opération est réalisée à l'aide de plasmaphérèse selon les étapes suivantes :

1) Localisation et ponction à l'aide d'une aiguille longue menée d'un cathéter
2) Récolte du sang et centrifugé à flux continue pour séparer le sang total du plasma
3) Récupération du plasma avec l'anticoagulant (citrate de sodium) dans des poches spéciales
4) Restitué les éléments figuré de sang à l'animal

La conservation du sérum s'effectué dans des chambre froide à une température inférieure ou égale à (+4).

Pour assurer l'efficacité des produits et la sécurité des patients des analyses biochimiques, microbiologique sont établi sur le sérum brut **(89)**

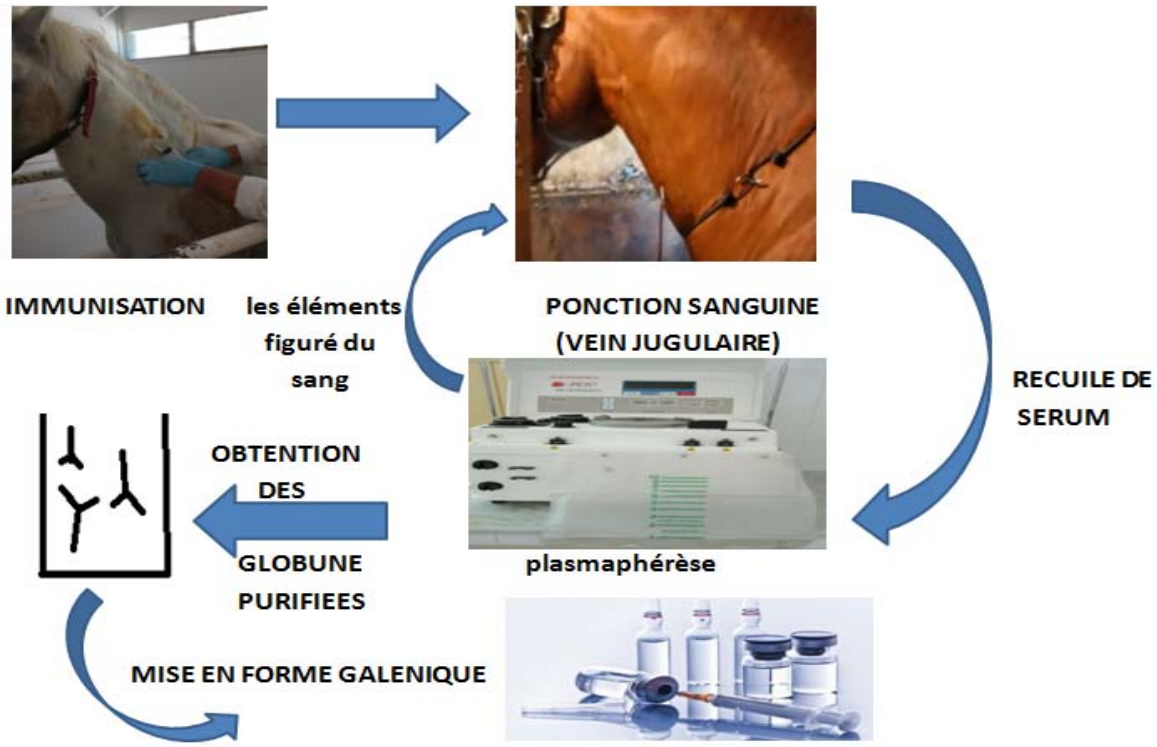


Schéma général de production des sérums thérapeutiques (boukhelkhal, kechafi)

Π 1.5 Purification des immunoglobulines

Le sérum recueilli contient une panoplie de protéines et compte tenu des objectifs thérapeutiques de production des sérums, la nécessité d'obtention des immunoglobulines purifiées s'impose. Ainsi l'étape de purification consiste dans un premier temps, à précipiter les Igs dans le sérum obtenu en se débarrassant de l'albumine. Secondairement, au cours de cette purification, les techniques ont été adaptées pour assurer en même temps l'inactivation et/ou l'élimination virale totale **(90).**

Parmi les différents protocoles de purification des immunoglobulines la plus étudiées et élaboré c'est la précipitation (*première précipitation*) par les sels d'ammonium utilisé actuellement à l'institut pasteur d'Algérie.

En effet les immunoglobulines précipitent quand on augmente la force ionique du milieu à l'aide de sels. En présence de 30-70 % de sulfate d'ammonium les globulines précipitent alors que l'albumine reste en solution. Le culot de globulines est repris dans un peu d'eau distillée et dialysé **(69).**

Mais il existe aussi un autre protocole basé sur la précipitation par l'acide caprylique, plus utilisé et décrit par **Redwan el-RM** comme étant plus efficace que le premier.

Les étapes de purification sont les suivantes :

-**la première précipitation** des Ig au sulfate d'ammonium à 74%

-le clivage (digestion) enzymatique des Ig par un enzyme protéolytique : la pepsine

-la thermo-coagulation différentielle par le charbon et le kaolin

-**la deuxième précipitation** au sulfate d'ammonium à 33%

-la dialyse

-la clarification (traitement avec le phosphate trisodique)

-la filtration stérilisante

Π 1.5.1 Protocole de précipitation aux sels d'ammonium(74%)

Cette méthode est basé sur la propriété de précipiter les protéines on augmentant avec certain sel, la force ionique du milieu. Cet effet s'explique par une déshydratation des groupes hydrophiles des protéines et par conséquent une diminution de leur solubilité

Le sel le plus usuel est le sulfate d'ammonium et par précipitation successive d'un sérum, on obtient des fractions protéiques différentes.

L'opération s'effectué a un ph =7, après la filtration en récupère la pate (précipite) et en élimine le filtrat pour but de garder les globulines et éliminer les albumines **(90).**

Sulfate d'ammonium saturé Vol/vol%	Protéines totales précipitées (%)	Nature des protéines précipitées
25	3	Fibrinogène
33	20	IgG
40	15	IgG – IgA- IgM
50	14	α et β Globulines
70	46	albumines

Tableau7 : précipitation des protéines sériques au sulfate d'ammonium (90)

Pour obtenir une fraction d'IgG très pure, on travaille à 33% de saturation en sulfate d'ammonium, mais pour obtenir une fraction d'albumine, il est préférable d'utiliser une concentration de 70% de saturation **(90).**

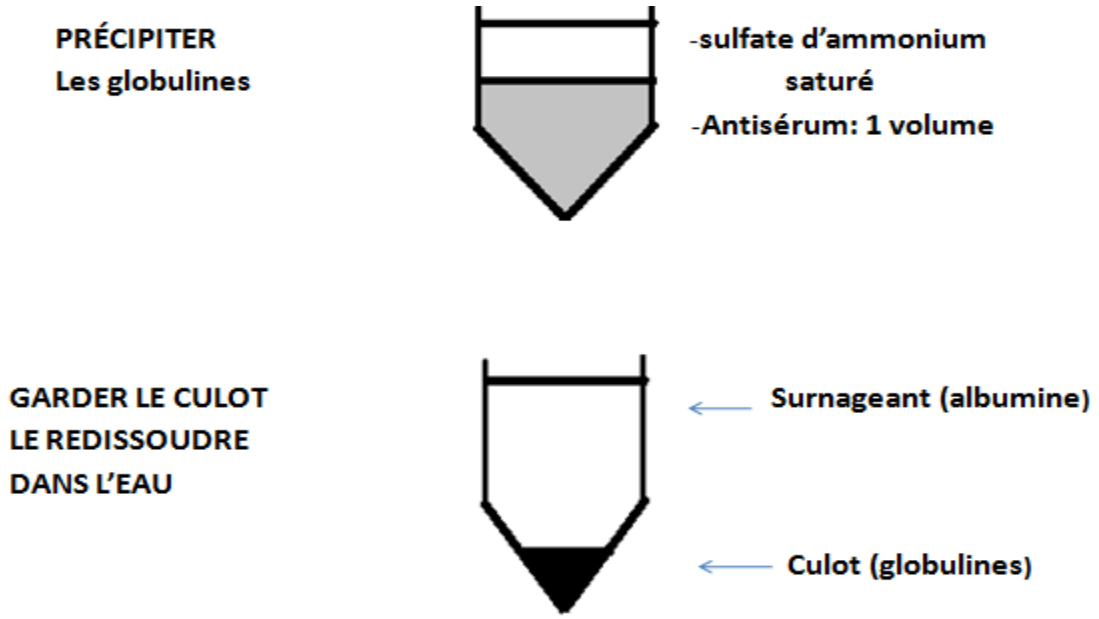


Figure 8 : Techniques de purification des immunoglobulines : précipitation par les sels (boukhelkhal, kechafi)

Π 1.5.2 Précipitation des fragments d'immunoglobulines

Après la première précipitation, on procède à l'étape de la digestion des immunoglobulines en présence de la pepsine (enzyme protéolytique) qui aboutit à l'obtention des fragments F (ab') 2 bivalents de taille réduite 100 000 da et des fragments Fc totalement digérés en petits polypeptides ;Cette digestion enzymatique déroula pendant 30minute à un ph =3,2 et à une température de 31°**(90)**

Le but de la fragmentation des immunoglobulines d'origine animal c'est d'éviter des réactions allergiques indésirables comme le choc anaphylactique, fièvre, douleur thoracique,……
Certain étude en montre que La partie Fc de la molécule d'anticorps est responsable de certains effets biologiques, tels que la liaison aux récepteurs Fc sur les cellules, la médiation de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps et la fixation du complément. On pense également que c'est la partie la plus immunogène de la molécule in vivo. Pour des expériences concernant des effets médiés par une liaison spécifique de l'anticorps aux cellules in vitro ou

la localisation d'anticorps contre certains organes in vivo, il peut être nécessaire d'éliminer les effets non spécifiques de la liaison au récepteur Fc **(90).**

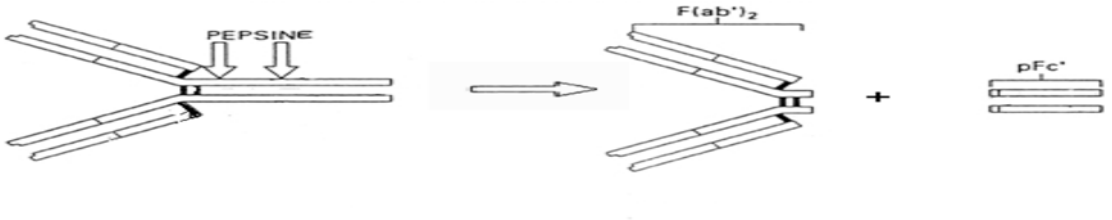


Figure 09 : Représentation schématique du clivage d'une immunoglobuline par la pepsine (90).

Π 1.5.3 Thermo-coagulation

Apres la digestion enzymatique (pepsination, 31°, ph= 3,2 pendant ½ heure) et âpres avoir cliver le fragment constant (FC) du fragment variable F (ab') 2, en achemine ver une étape qui s'appelle *la thermo- coagulation* **(90).**

La thérmocoagulation est basé sur la capacité de l'hémoglobuline et d'autres protéines inertes à coaguler et à former un complexe avec le charbon actif à une température relativement élevée. Les Ig par contre à cette température restent solubles et n'ont aucune affinité pour le charbon, ce dernier renforce l'élimination des fragments Fc, les protéines coagulées sont séparées par filtration sur toiles filtrantes et les graisse sont absorbé par le kaolin.

Le charbon et le kaolin (2g par litre de solution à traiter pour chaque composé) sont ajoutés au mélange précédent (solution contenant les Ig + pepsine), le tout est agité dans le bain marie à une température de **48C°** pendant 30minutes, ajuster le PH à 7,5 avec une solution d'ammoniaque, le mélange est ensuite filtré sur 10 toiles, le précipite est éliminé et le filtrat est retenu **(90).**

Π 1.5.4 Deuxième précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium (33%)

La deuxième précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium à 33% de saturation a pour effet de précipiter la fraction d'immunoglobulines de classe G (IgG).

Le sulfate d'ammonium (33g par litre de volume initial) est ajouté à la solution à précipiter, le mélange est mis sous agitation dans une cuve, ajuster le pH à 7,4 et laisser 30 minutes sous agitation, la solution est ensuite filtrée sur 10 toiles, le filtrat est éliminé et le précipité (contient la fraction d'IgG pure) est récupéré le précipité peut être congelé à -20 pour un

traitement ultérieur, si la dialyse est programmée immédiatement après la seconde précipitation, le précipité est dilué dans l'eau distillée **(91).**

Π 1.5.5 La dialyse

La dialyse est une technique qui permet de séparer des substances en utilisant leur capacité respective de franchir les pores d'une membrane appelée membrane de dialyse

Cette capacité de franchir les pores met en jeu la taille des molécules à séparer et par la suite leur poids moléculaires **(91).**

Sur la base de ce principe des solutions protéiques peuvent être dessalés en les dialysant contre de l'eau pure ou une solution tampon **(91).**

Le dialyse est effectuée sur des cartouches de dialyse utilisés dans le cadre de l'hémodialyse. ce procédé a été mis au point puis en application dans le service des sérums thérapeutique depuis les années 90, il a subit un certain nombre d'amélioration notamment en ce qui concerne les cartouches utilisées qui ont actuellement des surfaces de contact de **1.6m².** par ailleurs leur montage en sérié permet de multiplier aisément cette surface. Nous travaillons avec six cartouches en sérié soit prés de **10m²** de surface d'échange **(91).**

Au cour de cette opération, le sulfate d'ammonium qui se trouve dans le SAS est éliminé pour atteindre le taux recommandé par la pharmacopée ainsi pour garder la stabilité de concentration du sérum **(91).**

Π 1.5.6 Clarification par le gel de phosphate tricalcique

L'utilisation du gel de phosphate tricalcique permet d'absorber quelques protéines inertes qui risqueraient de provoquer une légère opalescence, et même un léger trouble.

Cette opération se déroule dans un PH=8,5 à une température de 48C° et se termine par une étape de prefiltration du gel (élimination du gel) **(91).**

La solutions de SAS dialysée, placée dans un bain marie à une température déterminer, est mélangée au gel de phosphate tricalcique sous agitation pendant une heure, le ph est ajusté et maintenu à une valeur définie durant toutes l'opération. La préparation est enfin filtrée sur des toiles, le retentât est éliminé et le filtrat est récupéré **(91).**

Π 1.5.7 La filtration stérilisante

Le sérum est un produit biologique thermolabile, n'étant pas produit dans des conditions d'asepsie absolue, il est nécessaire de le stériliser a la fin du processus de fabrication.

La seule méthode de stérilisation qui ne dénature pas les protéines est la filtration stérilisante.

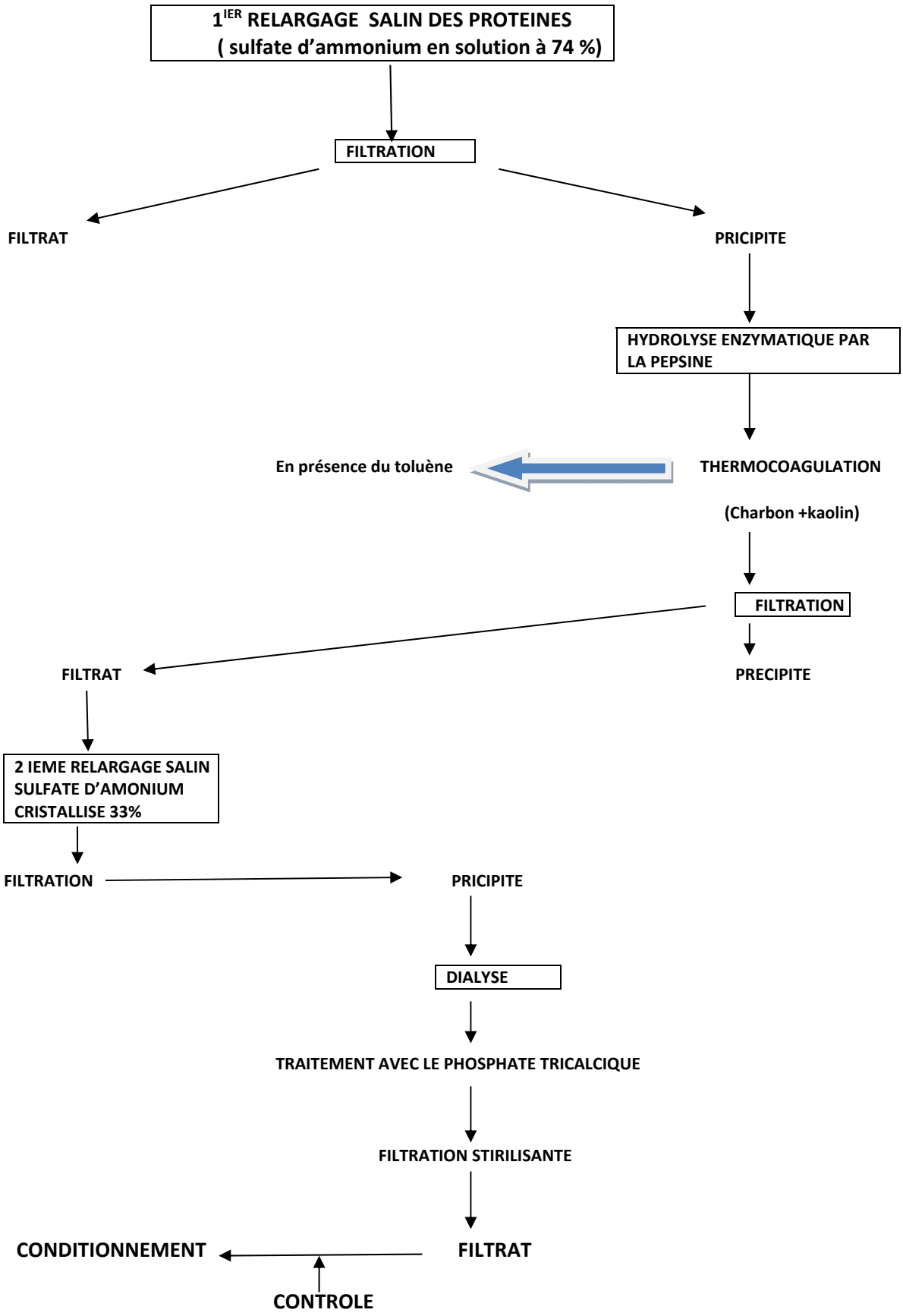
Le principe consiste à la séparation de particules en suspension dans un fluide ou un gaz par passage de celui-ci à travers un corps perméable **(90).**

Après différentes opérations sur le sérum (purification, dialyse…..) on procède à la filtration qui consiste à faire passer le mélange obtenu à travers des filtres de différents calibres disposés en cascade dans un support filtre

-la pre-filtration est effectuée avec des filtres de (1.2, 3, 5.3, et 8.6) µm

-dans un deuxième temps seront utilisé des filtres stériles de plus petit calibre : (0.22, 0.45, 1.2) µm. C'est la filtration stérilisante qui permet d'éliminer tous les micro-organismes dont la taille est supérieure à 0.22µm

Tout le dispositif de filtration est relié par des tuyaux en caoutchouc stériles qui aboutissent dans des conteneurs ou va être stocké le sérum avant sa répartition **(91).**



DIAGRAME GENERALE ENGLOBE LES PRINCIPALE ETAPE DE PURIFICATION (90)

Π 2.1.A .Obtention du venin *d'androctonus australis hector* pour les testes

Le venin de scorpion d'*Androctonus australis hector* utilisé dans cette étude est obtenu par stimulation électrique, suivie d'une dessiccation.

On peut obtenir le venin par stimulation manuelle du métasome des scorpions gardés en captivité au scorpionarium de l'unité animalière de l'institut pasteur d'Algérie. Le venin collecté à partir d'un grand nombre de scorpion est centrifugé (après dessiccation) à 3500 tour/min pendant 15min pour éliminer les débris cellulaires. **(82)**

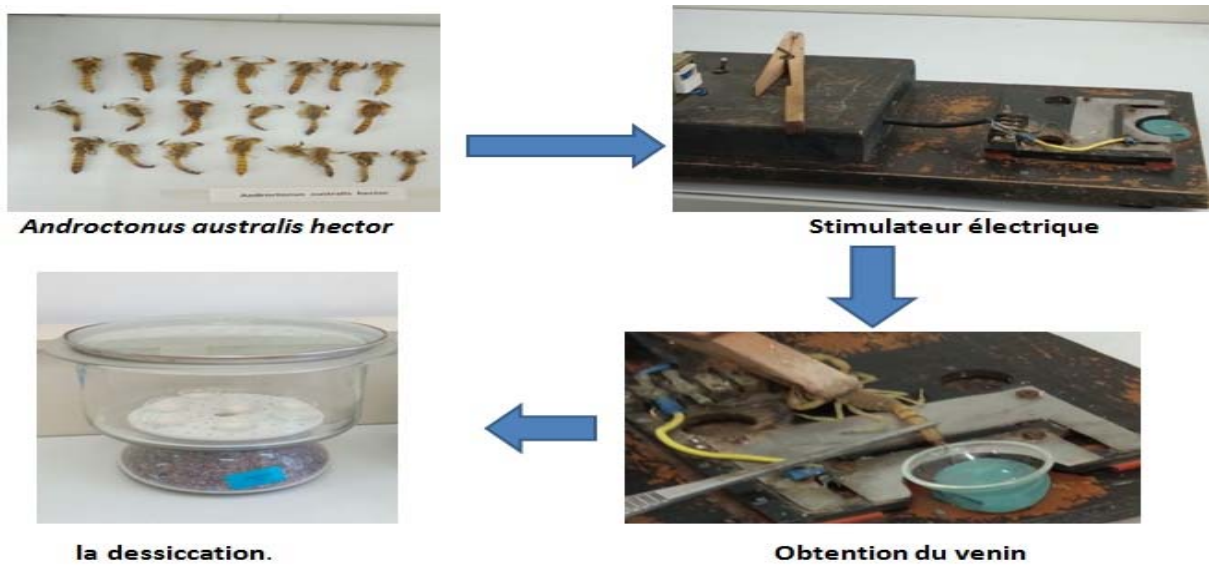


Figure 10 : étapes d'obtention du venin scorpionique **(boukhelkhal, kechafi)**

Π 2.1.B. récolte des sérums d'origine équins

-Les immun-sérums utilisés sont obtenus par plasmaphérèse après immunisation des chevaux (chevaux hyperimmunisé) avec le venin de scorpion selon un procès bien défini. Il est strictement obligatoire après l'obtention des immunes-sérums d'origine équin de transférer les éléments figurés de sang (transfusion sanguine) obtenu au cour de la centrifugation du sang pure au niveau de la plasmaphérèse **(90).**

cette procédure évitera l'anémie pancytopinique chez les équins de production ainsi de garder la stabilité de la langue duré de rendement**(90).**

Π 2.1. C.recolte de sérum brutes d'origine suricta suricatta

Les serums bruts d'origine Meerkat sont obtenus par plusieur prises de sang à l'aide d'un materiele standart au sein de clinique véterinaire du parc zoologique de TUNISIE . Le nombre de suricata utilisé pour ce test est de 3 individus parmi 6 , pour des raisons médicales nous avons choisix les individus adulte qui sont présenté dans ce tableau

ECHENTILLON	SEXE	AGE	PIOD CORPOREL
E1	MAL	5ANS	1352G
E2	FEMEL	4ANS	992G
E3	MAL	4ANS	1643G

.la prise de sang

du fait de sa petit taille, la réalisation d'une prise de sang chez le Meerkat est soumise à diverses contraintes. Il faut tout d'abord déterminer la quantité maximal de sang que l'on peut prélever sans dommage. En effet, le volume sanguin d'un animal est proportionnel à son poids. De plus, il faut localiser les sites de prélèvement sanguins et connaître les techniques à mettre en œuvre **(92).**

Le poids moyen d'un suricata est très variable selon le sexe : les mâles présent en moyenne entre 900 à 1100g et les femelles entre 700 à 1000g. Le volume sanguin moyen est estimé à environ 7 à 9 % du poids vif du sujet, soit chez un suricata de 1kilogramme, environ 70 Millilitres de sang **(92).**

On peut prélever au maximum 20% du volume sanguin soit presque 14ml par kilogramme en une seul prise. En pratique, on peut prélever à notre 3 individus un volume de sanguin intercalé entre (20 à 14 ml) en une seul prise. Noter que n'a besoin entre 40 à 35 ml de sang pour avoir un taux de serum brute varie entre 20 à 17 ml , chaque teste de seroneutralisation peut consommer environ 9 ml de serum brute **(92).**

.Réalisation pratique d'une prise de sang

Le prélèvement est réalisé par le médecin vétérinaire du parc zoologique avec une aide expérimenté des techniciens animaux. En cas de difficultés, une anesthésie générale injectable de courte durée peut être nécessaire

Les sites de ponction veineuse le plus couramment utilisés sont :

- La veine céphalique (le site que n'a utilisé) - La veine cave antérieur
- La veine jugulaire **(92).**



Figure 13 : chronologie du prélèvement de sang (boukhelkhal ,kechafi)

Les échantillon de sang sont conserver et transporter dans les normes (-20°c) dans une polystyrène qui porte du carboglace , acheminer directement au laboratoire pour centrifugé et récolter le sérum brute.

Le sérum est prélevé à l'aide d'une pipette en faisant bien attention à ne pas aspirer les globules rouges., la suspension pipetée est mise dans un nouveau tube et centrifugée pour éliminer les globules rouges **(92).**

Π 2.1.D. les souris

Souris blanches de race N.M.R.I (18±20g) provenant de l'animalerie de l'Institut de Pasteur d'Alger (annexe Kouba-Algérie) .

La souris **NMRI**, élevée selon le statut SPF (Spécific pathogen free), possède un système immunitaire peu sollicité. Par conséquent, cette souche, très sensible à toute contamination,

est un outil de choix dans l'élaboration des plans de contrôles utilisant des animaux sentinelles **(95).**

Π 2.1.1 Détermination de l'efficacité des immun –sérums par séroneutralisation :

La seroneutralisation :

Le teste de seroneutralisation permet de quantifier le titre d'anticorps neutralisant contre un antigène. L'échantillon de sérum au la solution d'anticorps à testé est dilué est mélanger à une suspension d'antigène ; le tout est ensuite incubé à fin de permette à l'anticorps de réagie avec l'antigène.

Le but de la seroneutralisation dans notre travail est de tester la capacité des anti-venin à neutralisé in vitro la toxicité des venins scorpioniques contre lesquels ils sont dirigés **(85).**

Des dilutions de venin sont ajoutées à des quantités contenant des sérum brute, chaque mélange est inoculé à des lots de 4souris. L'injection est réalisée par voie intra-péritonéale à raison de 0,5 ML par souris.

Après 48 heures l'observation de nombre de souris mortes ou de souris vivantes est enregistré **(85).**

-les immun-sérums obtenus après immunisation des chevaux ainsi que les sérum brute d'origine *suricata surisatta*, sont testés pour déterminer leur capacité à neutraliser la toxicité des venins. L'injection à un animal du laboratoire d'une dose déterminée d'antigène toxique(venin) est susceptible de provoquer la mort ,l'administration simultané d'anticorps neutralisants (immun-sérums) exerce, chez la souris un effet neutralisant. La capacité des immun-sérums anti-venin à neutraliser le venin est testée en administrant à des souris par voie intra-péritonéale des doses croissantes de venin allant de 1DL50 à 5DL50 avec des volumes fixes immun-sérums à raison de 150µl par souris . La gamme est préparée en utilisant deux témoins : un témoin positif (injection de 3DL50 de venin) et un témoin négatif (uniquement un volume de 1ml d'immun-sérums) (**85)**

Π 2.1.2 Incubation du complexe (antigène- anticorps)

Le complexe (venin-sérum) préparé pour 9 pallié a l'ordre d'une quantité stagné de sérum en contact avec des valeurs croissante de concentration de venin dont chaque tube une totalité de 2,5 ml de (venin +sérum+eau physiologique).

La préparation est incubée à 37c° durant 90min. Le taux de létalité ou de survie des souris est observé pendant 48 heures. Le tableau suivant explique le protocole de seroneutralisation élaboré chez les souris de laboratoire **(85).**

Π 2.1.3Titrage des immun-sérums et sérum brute

Titre	Nb de souris	Solution B (µl)	Eau physiologique (µl)	Sérum IPA SAS (µl)	Sérum brute (µl)		
					E1	E2	E2
1DL50	4	6.61	1743.39	750	750	750	750
1,5DL50	4	9.91	1740.09	750	750	750	750
2DL50	4	13.22	1736.78	750	750	750	750
2,5DL50	4	16.52	1733.48	750	750	750	750
3DL50	4	19.83	1730.17	750	750	750	750
3,5DL50	4	23.13	1726.87	750	750	750	750
4DL50	4	26.44	1723.56	750	750	750	750
4,5DL50	4	29.74	1720.26	750	750	750	750
5DL50	4	33.05	1716.95	750	750	750	750
TV	4	19.83	1730.17	_	_	_	_
TS	4	_	_	2000	2000	2000	2000

Tableau 8: Titrage des immun-sérums et sérum brute d'origine suricata contre le venin scorpionique. DL50 = 25,12µg , [venin]=19µg/µl (boukhelkhal, kechafi)

TV : témoin venin→ en utilise la dose de 3DL50 (19.83µl+ 1730.17µl de l'eau physiologique) pour les 4 souris

TS : témoin sérum : 2000µl (2ml) pour 2 souris testé

Solution B : Dissoudre 20mg de venin de **Aah** dans 1ml l'eau physiologique agité pendant +4heure. Laisser en contact une nuit a +4C° puis centrifuger à 3500 tour/min pendant 15 minutes **(90).**

Π 2.2 Résultats :

- **Evaluation de la capacité neutralisante des immun-sérums et des sérums de suricates par test de séro-neutralisation :**

La détermination de la capacité neutralisante des immun-sérums antiscorpioniques (cheval hyperimmunisé) et des sérums de suricates est effectuée sur des lots comportant chacun quatre souris. L'évaluation du pouvoir neutralisant est déterminée pour des volumes constants de sérums selon une gamme croissante de venin.

Le test de séro-neutralisation effectué avec les sérums des trois suricates a montré que les souris sont mortes (100%) à partir d'une dose de 2,5 DL50 de venin et qu'un volume fixe d'immun-sérum de 150µl/20mg de souris neutralise 10DL50/ml/20mg de souris pour les trois sérums, alors que la capacité neutralisante de l'immun-sérum témoin (sérum de cheval hyperimmunisé) au même volume fixe est de 20,83 DL50/ml/20mg de souris, nettement supérieure à celle du sérum de suricates .

	Nombre de souris morte			
TITRE	Sérum SAS IPA	Sérum brute E1	Sérum brute E2	Sérum brute E3
1DL50	0	0	1	0
1,5DL50	0	2	2	2
2DL50	0	3	3	3
2,5DL50	0	4	4	4
3DL50	2	4	4	4
3,5DL50	3	4	4	4
4DL50	4	4	4	4
4,5DL50	4	4	4	4
5DL50	4	4	4	4

Tableau 9 : détermination de nombre des souris mortes par le test de séroneutralisation. (boukhelkhal, kechafi)

A la lumière des résultats de la seroneutralisation, des histogrammes sont réalisé et interprété par l'espérance de vie des souri via les dose graduelle des DL50 mentionné dans le tableau suivant :

DL50	**1**	**1 .5**	**2**	**2.5**	**3**	**3.5**	**4**
SASIPA	**100%**	**100%**	**100%**	**100%**	**50%**	**25%**	**0%**
E1	**100%**	**50%**	**25%**	**0%**	**0%**	**0%**	**0%**
E2	**75%**	**50%**	**25%**	**0%**	**0%**	**0%**	**0%**
E3	**100%**	**50%**	**25%**	**0%**	**0%**	**0%**	**0%**

Tableau10 : espérance de vie des souris en (%) via la DL50 (boukhelkhal, kechafi)

2.2.1 Premier graphe (SASIPA)

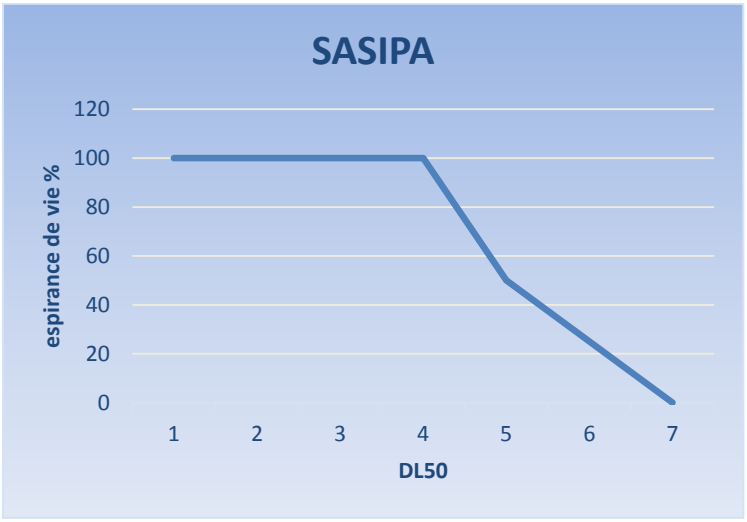


Figure 16 : histogramme de témoin SASIPA (d'origine équin)

-Les résultats du l'immune-sérum (SAS IPA) d'origine équin mentionné dans cet courbe montre son efficacité de neutralisé le venin scorionique jusqu'a (2,5DL50) c'est-à-dire (16,52µl de venin + 1733.48µl de l'eau physiologique + 750µl) administré pour les 4 souris avec une espérance de vie de 100%

-a partir de 3DL50 : en observe la mort de la moitié des souris (2/4) , les immunoglobuline de l'immune-sérum ont put neutraliser le venin avec un pourcentage de 50%.

Cette dose de venin est très importante sur le plan des résultats obtenu étant donné qu'on a utilisé la même dose pour le témoin venin , en effet si un sérum arrive a neutralisé le venin avec une espérance de vie entre 75% à 50% cela prouve que notre sérum est satisfaisant .

-3,5DL50 : la dose du venin utilisé est plus élevé que les immunoglobuline de l'immun-sérum n'arrivent pas à neutralisé tous le venin une preuve que l'espérance de vie est seulement 25% (3/4 nombre des souris mortes)

-4DL50 : l'espères de vie et de 0% ,tout les souris de ce lots sont mort (4/4) a cause des effet toxique de la forte dose du venin administré , ces effet engendre au niveau pulmonaire (des hémorragies et un œdème intra alvéolaire),au niveau du cœur (dégénérescences des fibres musculaires, hémorragie et un œdème interstitiel entre les fibres musculaires) ,au niveau du

foie (des hémorragies interstitielles, une dilatation des espaces sinusoïdes et une infiltration mononuclées) **(82) .**

2.2.2 Deuxième graphe (E1)

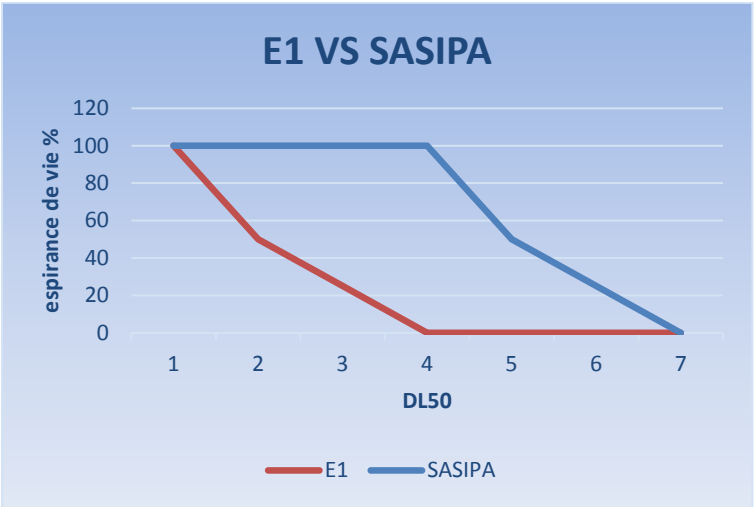


Figure 17 : graphe de sérum brut échantillon (E1) et SASIPA

1DL50 : les résultats de l'échenillions (E1) du sérum brut d'origine *suricata suricatta* montre une espérance de vie de 100% a une dose de 1DL50, une chose qui signifie la présence des anticorps (immunoglobuline) ayant la capacité de neutralisé le venin scorpionique (Aah) administré au souris testé.

A partir de1,5 DL50 : en observe la mort du moitié des souris testé(2/4) avec une espérance de vie égale à 50% inferieur a celle d'immune-sérum (SAS IPA), les immunoglobuline de sérum brute en put neutralisé la moitié de venin administré.

2DL50 : la dose du venin administré est trop élever (2DL50= DL100) que les immunoglobulines n'arrivent pas a neutralisé complètement le venin administré au souris ; l'espérance de vie mentionner et seulement 25% (3/4)

Jusqu'ici les résultats sont satisfaisants pour la présence des anticorps (immunoglobuline) chez les suricata de faite qu'ils lui confient une certaine immunisation contre le venin d'antroctonus australus hector

Du (2,5 à 4) DL50 :la mort quasi total des souris testé a partir de la dose 2,5DL50 a cause de la quantité faible de immunoglobuline par a port au dose graduelle du venin administré

L'espérance de vie de 0% a des doses > 3DL50.

Notez que la purification de l'immunoglobuline issue des sérums bruts augmente leur efficacité de neutralisation.

2.2.3Troisième graphe (E2)

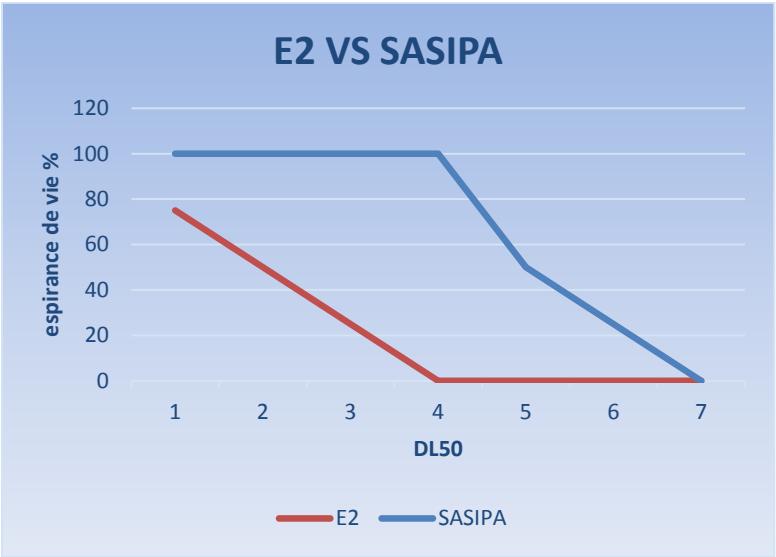


Figure 18 : graphe de sérum brut échantillon (E2) et SASIPA

-1DL50 : les résultat du graphe (E2) du sérum brut d'origine suricata évoque une espérance de vie de 75% pou une dose de 1DL50 de venin administré au souris testé ,ce qui signifie la présence des anticorps spécifiques pour la neutralisation du venin avec un pourcentage inferieur à celle du (SAS IPA) et même de (E1) du suricata, ce la du peut être a plusieurs facteur telle que le sexe (E2 est une femelle) et la théorie des bonnes réserves énergétiques (matières graisseur) et leur effet sur la force du système immunitaire.

-1,5DL50 : a partir de cette dose de venin administré en observe la mort du moitié des souris testé (2/4) avec un pourcentage de 50% nettement inferieur au (SAS IPA 100%), par contre elle signifie la présence des anticorps qui ont pu neutraliser la moitié de venin administré.

-2DL50 : l'espérance de vie marqué est seulement 25% significatif d'un échec pour les anticorps (immunoglobuline) de neutralisé complètement le venin administré au souris testé.

-(de 2,5 à 4) DL50 : la quasi totalité des souris administré avec des dose de venin graduelle (de 2,5 au 4) DL50 sont mort (espérance de vie de 0%), similaire a celle du l'échantillon (E1)

et contrairement au l'immun-sérum (SAS IPA) qui donne un pourcentage de vie de 50% pour une dose de 3DL50.

Globalement en peut dire que les résultat de l'échantillon (E2) décrit 3 critères major :

1) La présence d'une certaine immunité (immunoglobuline) contre le venin scorpionique (Aah).
2) Le sérum brut d'origine suricata suricatta est non satisfaisant pour l'utiliser autant que sérum thérapeutiques
3) Il paré que la théorie de (H. Lutermann & N. C. Bennett 2013) est démontré de faite qu'il y a un lien entre les réserve énergétique et la force du système immunitaire.

2.2.4Quatrième graphe (E3)

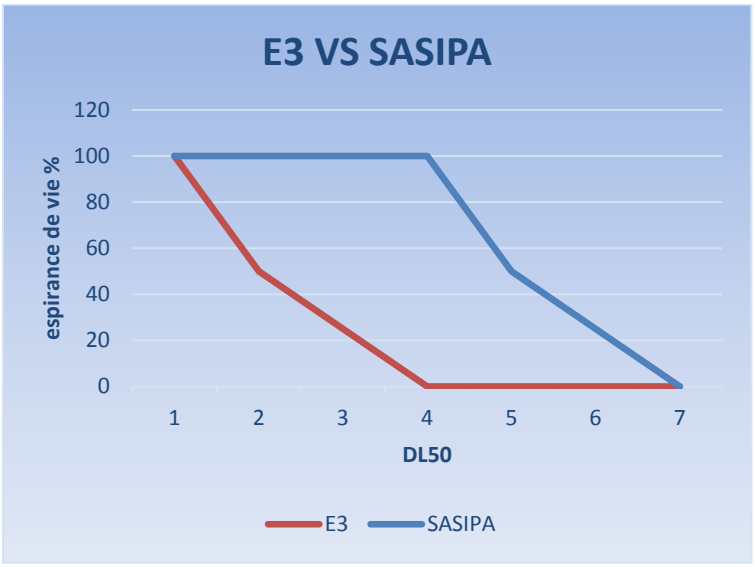


Figure 19 : graphe de sérum brut échantillon (E3) et SASIPA

Les résultats du graphe (E3) sont nettement similaire à celle du graphe d'échantillons (E1), ce la du probablement au sexe (les deux sont des males) en plus de leur bonne réserve énergétique qui donne une faveur de protection équivalente de 10DL50/ml/20mg de souris un peut plus via l'échantillon (E2) 9,18DL50/ml/20mg de souris.

2.2.5 Histogramme de conclusion

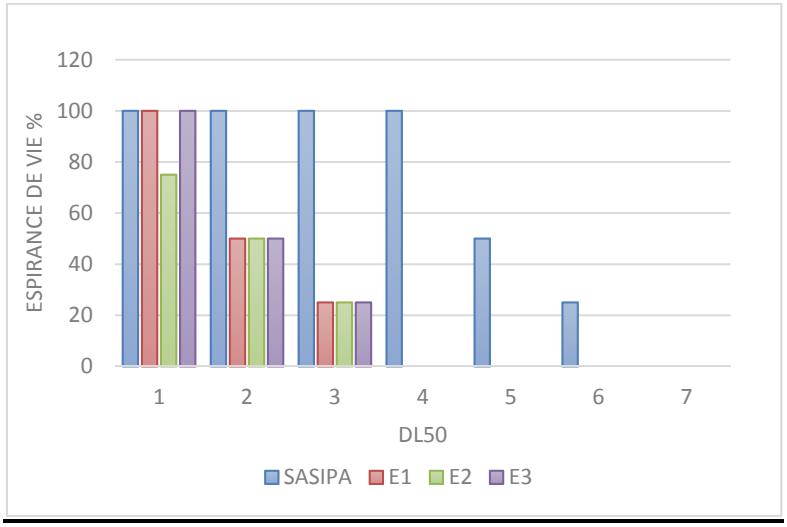


Figure 20 : histogramme général englobe le témoin (SASIPA) et les sérums bruts.

Malgré les résultats présenté dans l'histogramme précédent qui déclare l'efficacité absolue de l'immune-sérum par apport au sérum brute d'origine suricata, il faut noter la présence d'une certaine couverture immunitaire (immunoglobuline) contre le venin scorpionique chez les suricatas où on a utilisé des individué (E1, E2 et E3) issue de la première génération (en captivité) contrairement à l'équin utilisé dans ce test qui est hyper immunisé (cheval de production) et qui présent un excellent rendement de sérum efficace (immunoglobuline) destiné à neutralisé le venin scorpionique.

Il faut notez aussi la déférence des réponses immunitaire au sein du même espèce, ce la du probablement au :

-sexe (le sexe féminin présente un pouvoir neutralisant de 9,18DL50)

- les bonnes réserves énergétiques remarquées chez les deux males

<u>Remarque</u> : les chevaux qui présentent un faible rendement sont écartés de la production.

Π 2.3 Discussion générale

L'incidence des piqures de scorpion est élevée en Afrique du Nord, entrainant encore de trop nombreux décès particulièrement chez les jeunes enfants. En Algérie entre 2005 à 2010 : le nombre de cas de piqûres recensé est de 50 000 cas/ an, avec une mortalité allant de 50 à 100décès ; dont la tranche d'âge est de 15-49 ans, soit la population active. L'envenimation scorpionique coûte 89 millions de dinars par an, soit environ 890.000 euros **(93).**

Si la plupart des piqures de scorpion ne sont suivies que d'une envenimation minime ou modérée, l'action des toxines du venin sur les fonctions vitales, cardiaques, pulmonaires et neurologiques peuvent mettre en jeu le pronostic vital **(94).**

Il est claire que lors de l'envenimation scorpionique, la distribution et la répartition du venin du compartiment sanguin vers les organes est un processus rapide pouvant engendrer des altérations histopathologique et métaboliques très importantes **(84).**

Les toxines responsables de la symptomatologie de l'envenimation agissent essentiellement sur les canaux sodium des cellules excitables **(84)**, selon différents mécanisme :

elle augmentent la perméabilité de la membrane au Na+ avec une dépolarisation intense de la membrane et prolongent le potentiel d'action. Cette action induit l'ouverture des canaux Ca2+ dépendants du potentiel, qui deviennent perméables aux ions Ca2+. Ceci entraîne un influx massif d'ions Ca2+ au niveau du cytoplasme des terminaisons nerveuses. Ces canaux interviennent dans la contraction des muscles squelettique, du muscle cardiaque et des muscles plats, et sont à l'origine des mécanismes régulateurs de la sécrétion d'hormones ou de la libération des neurotransmetteurs ainsi que d'autres médiateurs chimiques (cytokines) **(84).**

Ils agissent également sur l'excitabilité neuronale et sont encore impliqués dans les mécanismes de mort cellulaire. De ce fait, les neurotoxines présentes dans le venin engendre une libération massive des neurotransmetteurs **(84).**

Bien que d'importante différence taxonomiques entre les nombreuses espèces de scorpion, il existe une grande homologie des effets toxiques de leurs venin et de leur propriétés antigénique ce qui explique une grande similitude de réaction immunologique **(84).**

En revanche d'autres études montrent que ces espèces ont la particularité d'un grand polymorphisme biochimique et antigénique empêchant l'élaboration d'anticorps (sérums anti scorpioniques) ou d'anatoxine (vaccins) universels **(70)** A noté que plus de 100 toxines appartenant à différentes espèces de scorpions ont été à ce jour isolées.

Pour mener notre expérience nous avons collaborer avec des docteur vétérinaire travaille dans le parc zoologique du tunisie pour nous fournir quelques échantillons de sérum brut de Suricata suricatta.

Les trois echentillons de sérum suricata ainsi que le sérum (SAS) du cheval ont été testés à volume fixe (750µl), chacun sur un lot de 4 souris, ces souris ont été inoculé par un complexe venin-sérum avec des dose croissente du venin dillué de 1DL50 jusqu'à 5DL50.

Des témoins venins (souris injectées juste avec le venin 3DL50) et témoins sérums (SAS du cheval) et des sérums bruts d'origine *Suricatas* sont également intégrés dans le teste.

Les résultats mentionnent un titrage important d'immunoglobuline chez les sérum brut des suricatas qui neutralisent le venin scorpionique jusqu'à 2DL50, en outre l'immun-sérum (SAS) du cheval marque une efficacité jusqu'à 3DL50 d'une l'espérence de vie de 50% .

Ces consequence final indique que les sérum brut de suricata posséde belle est bien des anticorps antiscorpionique, et dont l'efficacité est de 50% comparée à celle du SAS du cheval.

Cette faible efficacité peut être due probablement à la qualité du sérum étant donné que ce dernier n'a pas été purifié comme dans le cas du SAS du cheval, puisque d'autres paramètres physicochimiques peuvent influencer l'interaction anticorps-antigène et affecter l'efficacité de la neutralisation des toxines. A signaler également que le sérum (SAS) de cheval utilisé dans ce teste est obtenu après une hyper immunisation et à partir d'un cheval qui représente un meilleur rendement de production de l'immun-sérum Outre, les résultats des témoins sérum, ont montré que les sérums bruts *Suricata* et l-immun-sérum d'origine équine ne provoquent aucune réaction allergique ou un choc anaphylactique (maladie sérique) ce qui prouve la fiabilité des immunoglobulines du sérum *Suricatas* **(91).**

Nous pouvons ainsi supposer que l'origine de l'immunité anti venin scorpionique développée chez les suricates est liée à plusieurs facteurs :

Facteur génétique

Des études réalisées par Bettina et al, montrent que le cheval possède onze gènes codant pour les chaines constantes lourdes (IGHC) dont sept sont des gènes à chaines lourdes gamma. Il est suggéré que les sept gènes codant pour les isotypesd'IgG. Egalement l'existence de quatre gènes de l'immunoglobuline lambda constante (IGLC) **(79)**. Parallèlement des études établies sur le modèle animal furet (même famille de *Suricata*) qui consiste à rechercher des immunoglobulines en utilisant des anticorps monoclonaux **(76)**, les résultats indiquent l'existence de huit gènes codant pour les immunoglobulines dont cinq de ses anticorps monoclonaux sont spécifique pour cinq chaines légères d'immunoglobuline de furet.

Cette étude nous pousse à dire qu'il existe probablement une similitude entre les locus des gènes (IGL) du cheval et ceux des furets notamment les *Suricatas.* Ainsi une étude génétique similaire à celle décrite chez le cheval concernant les gènes d'immunoglobuline) est nécessaire afin d'évoquer les déférents loci des gènes responsables des chaines lourdes et légères des immunoglobulines des *suricatas.*

Facteur du régime alimentaire

Des études sur le comportement et la biodiversité nutritionnel des Meerkat **(81)** ont admis que les *Suricatas* ont pu développer une tolérance envers le venin suite à la forte consommation des scorpions. Des études montrent que les chiots (petits des Suricates) au cours de premières semaines de leur développement commencent à ingérer seulement des tranches de scorpions préparées par leurs parents, ensuite des scorpions entiers. Ce comportement nous fait penser que les parents immunisent leur chiots graduellement est avec plusieurs prise de venin. Cette hypothèse est établie sur un socle scientifique, **(80)** qui mentionne que la nutrition affecte directement la réponse immunitaire de trois manières : i) augmentation ou exagération de la réponse, ii) suppression ou limitation de la réponse, iii) modification de la nature de la réponse. L'étude décrit aussi que la tolérance oral est représentée dans le système immunitaire intestinal afin d'empêcher des réactions immunitaire inutile, voire nuisible. Une autre étude sur la nutrition des félines **(83)** montre qu'au cours d'une exposition des antigènes oraux la différenciation complète des cellule T naïves au cellule T effectrice ou de cellule B en plasmocyte peut ne pas avoir lieu sans une deuxième exposition.

Le facteur maternel

Le facteur maternel est incriminé, en effet de la gestation jusqu'à l'allaitement la femelle Suricates transmet ses anticorps à leur chiot (immunité passive).Une étude sur l'efficacité de la vaccination chez les chats conclue que l'immunité passive trop chargée, induit l'élimination et la neutralisation du vaccin Ce qui entraine le chaton dans un état critique. Par ailleurs une étude sérologique réalisée par **(82)** après vaccination de fennec fox et les *Suricatas* contre le Verus canine discompter (CDV) (maladie de carré) montre que le fennec développe des titres d'anticorps anti CDV beaucoup plus important que chez le *Suricata* cela signifie probablement que le sérum *Suricata* est initialement trop chargé d'anticorps et qui considère le vaccin comme étant un antigène ce qui pourrait également explique la souffrance de cette espèce des maladies infectieuses.

Π 3 Conclusion et perspectives:

Notre travail avait pour but de vérifier la possibilité d'utiliser le sérum Suricate contre le venin scorpionique. Cet animal est connu pour être naturellement immunisé contre une grande variété de poisons, et comparer ainsi son efficacité à celle du SAS d'origine équines (artificiellement immunisés). Lorsque l'institut pasteur d'Algérie admit un nouveau cheval sain pour la production de l immun-sérum certain ne supportaient pas la solution immunisante, d'autres offrent un rendement de productions d'immunoglobulines très faible comparé au suricate non immunisé. L'origine de la couverture immunitaire retrouvée chez les Suricates est due probablement à sa tolérance orale au poison. Autres origines ne peuvent être écartées, de ce fait des études immunologiques et génétiques approfondies chez le Suricate sont nécessaires. Ceci afin d'identifier les mécanismes mis en jeux dans cette protection et d'améliorer le rendement de production de l'anti-venin.

Les résultats obtenus dans ce travail sont préliminaires mais très encourageants; indiquant que le Suricate peut être exploité de deux manières :

- l'utiliser tout comme un model de recherche pour produire un anti- venin scorpionique.

- l'utiliser comme un moyen de lutte biologique pour réduire le nombre important des scorpions en Algérie. Ceci devient possible à condition de mettre en place une stratégie d'élevage des Suricates dans le désert algérien.

Annexe :



Figure 8 : appareille de plasmaphérèse



Figure 18 : souris blanches de race N.M.R.I

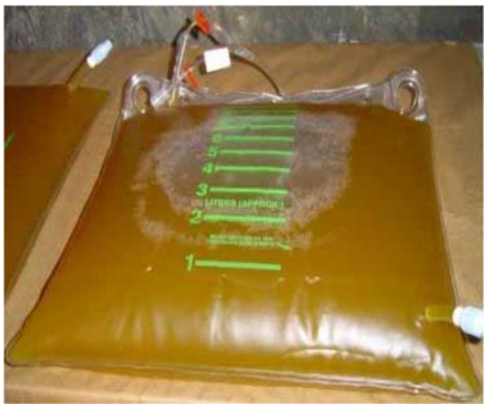


Figure 12 : serum brute (plasmaphérèse)



Figure 15 : photo original des suricata destiné en experience

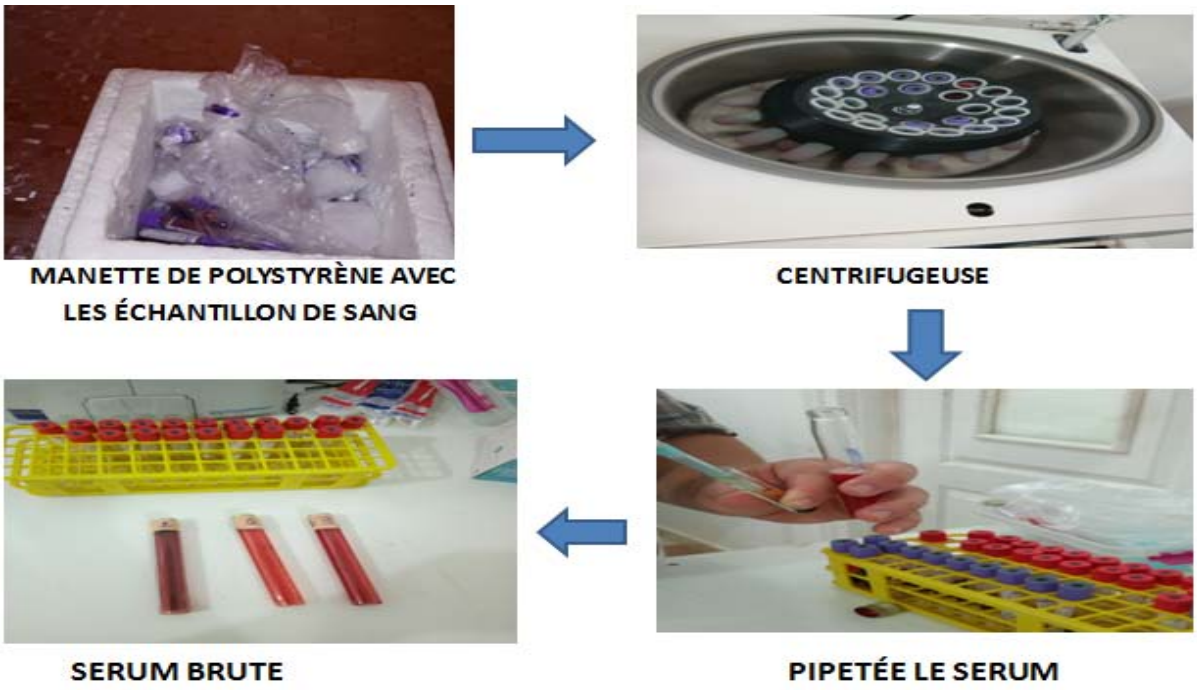
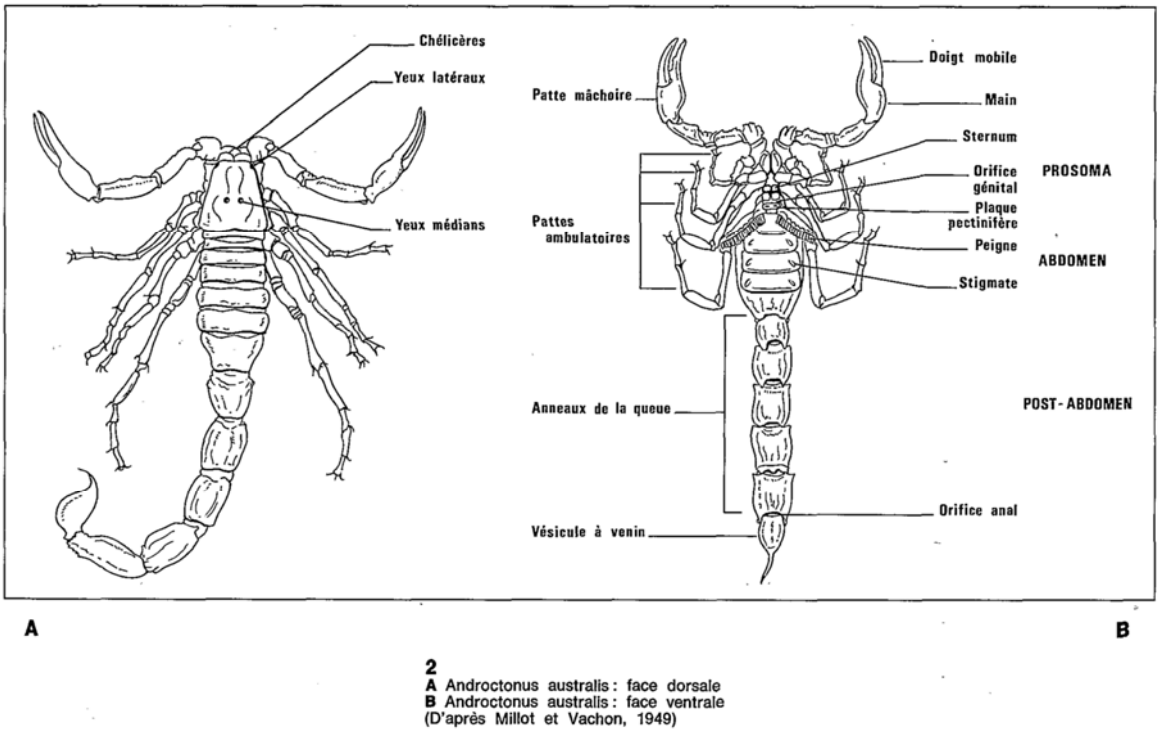


Figure 17 : préparation du sérum brute de suricata.



2
A Androctonus australis : face dorsale
B Androctonus australis : face ventrale
(D'après Millot et Vachon, 1949)

Figure 5 : la morphologie de scorpion (53)



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

Abstract

Scorpion envenomations are a major public health problem in Algeria particullary in desert and semi-arid areas of Sahara. Whose most dangerous cases are attributed to (*Androctunus australis hector)* Aah. Blood serum from immunized horses contains relevant antibodies and has been used successfully as serum therapy to treat many diseases or envenomation events. However, the horses must be immunized against the Aah and the serum collected need to be optimized before using.

The determination of the efficacy of Meerkat serum against scorpionic venom has been resolved by seroneutralization of which 9 batches have been programmed.

Each batch is tested by 4 M.N.R.I. the injection of the venomous doses is increasingly being realized (from 1DL50 to 5DL50) supplemented with 750µl of crude serum .

The results obtained are encouraging since the neutralizing capacity of the crude serum is 10DL50 of mice, this final result shows beautifully the presence of the anti-venom antibodies of Antroctonus australis hector

he artificial immunization of suricata and the purification of their crude serum can reveal the true titration of its anti-scorpionic antibodies. However genetic and immunological studies schould be done In order to more clearly understand the Meerkat's immunity and optmize the Meerkat's serum.

KEY WORDS : scorpion envenomations ,meerkat (suricata suricatta) , Aah, antibodies

Serum, serum therapy, scorpion venom , horses , genetic , immunological , compare

ملخص

في المناطق الصحراوية و الشبه صحراوية تعتبر التسممات العقربية مشكلة رئيسية للصحة العامة في الجزائر حيث الحالات الاكثر خطورة الى النوع *Androctonus australis hector*

ويستخدم مفهوم ابطال السموم بواسطة المصل المناعي للخيول حاليا بنجاح وهذا مرهون من ناحية اخرى بمراحل التطعيم الصناعي للحصان و تحسين مصله المناعي قبل الاستخدام.

استخدام المصل الخام *suricata suricatta* (محصن طبيعي)
في علاج للسموم هو بديل محتمل حيث النتائج الاولية تشير الى وجود اجسام مضادة للسم (Aah)
في مصل *suricata suricatta*

على الرغم من ان فعالية هذه الاجسام المضادة منخفضة مقارنة بتلك التي في المصل المناعي للحصان فإن اثر مضاد السم يبقى معتبرا.

الدراسات الوراثية و المناعية المعمقة مجدولة لفهم افضل لهذه الحصانة و الاستخدام الافضل ل *suricatta* في علاج بالمصل.

الكلمات المفتاحية:

التسممات العقربية ، ،المصل المناعي للخيول ، سوريكاتا ،أجسام مضادة ،السم ،الوراثية ، المناعية ،العلاج بالمصل

Aah

Références bibliographiques:

1 Hervé Watier,2014 :
Article : Biothérapies, immunothérapies, thérapies ciblées, biomédicaments…De quoi faut-il parler

2. mary louise turgeon 2009 :

Immunology & Serology in Laboratory Medicine (fifth edition)

3 - Hervé Watier, 2009 :

Article : De la sérothérapie aux anticorps recombinants « nus » Plus d'un siècle de succès en thérapie ciblée

4 Klaus-Dieter Budras W.O. Sack · Sabine Röck 2005 :

Anatomy of the Horse (Free University of Berlin)

5 M.julia , B. felippe 2016:

Equine clinical immunology (first edition 2016

6 Gerald N. Callahan and Robin M. Yates 2014:

Basic Veterinary Immunology (University Press of Colorado 2014**,)**

7, **Michael J. Day**:

Veterinary Immunology (Second Edition taylor & francis group)

8 IAN TIZARD:

Veterinary Immunology (ninth edition ELSEVIER 2013,)

9, **N.Ramdani Bouguessa, M.Seghier :**

Manuel de Microbiologie (edition OPU 2009)

10 Peter parham :

Le systéme immunitaire (edition de boeck 2003,)

11, **Abul k.Abbas :**

Les bases de l'immunologie fondamentale (edition ELSEVIER 2010)

12 Claire-Anne Siegrist :

Vaccine immunology (ELSEVIER 2010**,)**

13 mary louise turgeon:

Immunology & Serology in Laboratory Medicine (fifth edition,2009)

14 Aung Naing ; Joud Hajjar:

Immunotherapy (edition SPRINGER FIRST PUBLICATION 2017)

15 G.duverlie ; S.furnel :

Immunobiologie (2ieme edition de boeck 2001)

16 americain association of zoo veterinarians, 2014:

The thoracic limbe of the suricat

17 university of zurich 2011:

Groupe decision making in Merkeet (Suricata suricatta)

18 johannaF.Neilsen :

Biochemical and physiological observation in Meerkats

19 Charlene Clarke, Stuart James Patterson 2017:

-Development and evaluation of a diagnostic cytokine-release assay for Mycobacterium suricattae infection in meerkats (Suricata suricatta)

20, **J.hans ,2012:**

The laboraty mouse (second edition)

21 J.zeickaler,D.schlorke 2015:

diferrence in innate immune response betwen man and mouse

22. **BERNARD J., (2001)-** Le technicien d'analyses biologique guide théorique et pratique, Ed Lavoisier, paris ; pp 1903.

23. **CASTILE S. QU. Y., ROGERS JROCHAT H., SCHENER T. et CATTERALL W, (1998)-** Neurone 21.pp 919 - 931.

24. **CATTERALL W. A.,(1988)-**Structure and function of voltage sensitive ion channel science 242,pp 50-61.

25. **CHIPPAUX J. P. et GOYFFON M., (1990)-** Animaux venimeux terrestres, EMS, Tome2, .p-4 et pp 88-94.

26. **COURAUD F. et JOVERE**., DUBOIS J M., ROCHAT H, 1982- Two types of scorpion toxin receptor sites, one related to the activation, the ather to the inactivation of the action potential sodium channel.Toxicon 20,p 9.

27. **DELIMA M. E., MARTIN M. F., DINIZ. C. R. et ROCHAT. H., (1986)-** Biochem, Biophys. Res .Comm, 139 (1) pp 296-302.

28. **DIANANS S., HOARO F. et ROCHAT H., (1987)-** Toxicon 25 (4), pp 411-417.

29. **DREYER F., (1990)-** Peptide toxins. And palassinn channels, Rev physiol .Biochem. Pharmacol 155,pp 94- 136

30. **GARCIA M. L., KMUS H. G., MANUJAS P., SLAUGHTER R. S. et KACZOROWSKI G. J., (1995) -** charybdotoxin and its effaecti on Palassium channels, Am J. Physiol p. 269.

31. **GENETET., (2002)-** immunologie, Ed Lavoisier, France, pp 165-771.

32. **GORDON D., MASKOWITZ H., WARMER C., CATTERALL W. A. et ZLOTKIN E.,(1992)-** Biochemistsy 31,pp 7662-7628 .

33. **GRANDGEORGE M., VERON j. L., LUTSCH C., MAKULA M .F., RIFFARD P. PEPIN S. Et SCHERMANN. J. M., (1996) -** preparation of improved $F(ab')_2$ antivenoms. An example: New polyvalent European viper anti-venom (equine) .Envenoming and their treatments.Eds Bon C,;Goyffon ,M.Fan edition Marcel Mèriex,pp 161-172.

34. **GRASSE P. P. (1949)-** Traité Zoologie, Ordre de Scorpions, Edit Muséum National D'historique Naturelle, Paris, Tome 6, P.P.386, 436

35. **GRISHIN E. V., VOLKOVA T. M. et SOLDATOVA L. N., (1982)-** Bioorganika Rhim. 8.pp 155 -164.

36. **GURRALA G. B., MALINA., RODE R., SITGES M., BAYON A. et PASSANI D., (1989)-** Synthetic peptides corresponding to the sequence of noxiustoxin indicate that the active site of this 15+ channel blacker is located an its amino-terminal portion, J Neural .Transm .77, 11-20.

37. **HAMMOUDI-TRIKI D., (2004)-** Effets physiopathologiques et pharmaco distribution du venin *d'Aah* avant et après immunothérapie pp1-48. (Thèse).

38. **HARLOW E. D.** et **LANE. D., (1991)-** Anticorps, Ed pardel, Paris, pp 648.

39. **JULES B., (1998)-** Biologie cellulaire et moléculaire, De Boeck Université S.A, Paris –pp 88 91.

40. **KOPEYAN C., MANSUELLE P., EAUCLAIRE M. E., ROCHAT H. et MIRAND F.,(1993)-**Natural toxines 1,pp 38 -312.

41. **KRIFI M., CHAUMET V., BON C. et ELAYEB M., (2001)-**Immunothérapie antiscorpionique
: faits et perspectives.Edition scientifique et médicales.El sérier, pp 253-265.

42. **LOURENT F., MICHEL A., BOUNNET P. A., BOMPART. J., CHAPAT J. P. et BAUCARD. M., (1993)-** Effets de toxines, opamine, charybdotoxine et iberiotoxine sur la relaxation de la fibre musculaire line induite par un dérivé de l'imidazole (1.2a) apyrozine, C.R .soc . Biol. 187, pp 526-535

43. **LUCIEN. B., (1955)-** venins des scorpions et sérum anti-scorpionique, Archive .IPA, Tom.33 (2), pp 90.92.

44. **NAWELLO J. C., ARANTES E. C., VARANDA W. A., OLIVEIRA B. et GIGLIO J. R., (1999)-** Marangoni ,S.Ts Tx –IV . A short chain four disulfide bridged neurotoxin from

Tityus Serrulatus venom which acts on. Ca^{++} activated K^{+} Chanels, Toxicon. 37,pp 651-660

45. PASSANI L. D., MARTIN B. M. et SWENDSEN. I., (1982)- the primary structure of maxiustoxin: AK^{+}, channel bloking peptide, purified from the venom of the scorpion centruroides toxins Hoffman .Carlsberg .Res.Comm.47,pp 285-289.

46. **RACHAT H., (1964)-** Thèse de doctorat d état en pharmacie, Marseille.

47. **RASSO J. P., et ROCHAT H., (1985)-** Toxicon.23, pp 113-125.

48. **RIVIERE G. et BON C., (2000)-** Immunothérapie antivenimeuse vers une nouvelle approche rationnelle d'un traitement empirique –Annales de l'institut pasteur/actualités, Ed.Elsevier, Paris, pp 53-55.

49. **SABATIER J. M., FRÉMANT V., MABROUK K., GVEST M., DARBON H., ROCHAT H., RIETSCHATEN J. et EAUCLAIRE M. F., (1994)-** scorpion toxin specific for Ca^{++} activated K^{+} channels : structure – activity , analysising synthetic analogs .Int .J. Peptide protein Res .43,pp 486-495.

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

51. **SOULAYMANI, R, SKALL, S et SEMLALI, 1998-**Rapport scorpionisme au Maroc et **état** des connaissance, pp 6-7.

52. **THOMEN, W, J et CATTERALL, W, A., (1989) -** Pnoc, Natl Acad . Sci, USA, 86, pp 10161-10165.

53. **VACHAN M., (1952) :**

Etude sur les scorpions, P'IPA, Alger.

54 .**VAZQUEZ H., CHEVEZ –HARO A., GARCIA–UBBELOHD W., MANCILLA NAVA R., PANIAGUA-SOLIC J., ALAGON A. et SEVEIK. C., (2005)-** Pharmacocinétique d'un anti-venin de scorpion F(ab')2 chez un group de volontaires humains sains, Toxicon 46,pp 797-805.

55. **WERKMAN T. R., GUSTAFSON T. A., ROGOWSKi. R. S., BLAUSTEIN M. P., RAGAWSKI M A. et TIYWTAXIN K. A**., **(1993)-** structurally nowvel and highly patent K^{+} canal peptide toxin , interacts with α-dendrotoxin binding site on the. Cloned KV1-2K^{+} channel, Mal, Pharmacal .44-pp 430 - 436.

56. **ZLOTKIN E., KADOURI D., GORDON D., PELHATE M., MARTIN M F et ROCHAT H., (1985)-** Archive. Biochimie .Biophysique .240(2) pp ,877-887.

57. **ZLOTKIN E., MIRANDA F. et ROCHAT H., (1972)-** Toxicon10, pp 211-216.

(**Bawaskar HS, Bawaskar PH** Management of the cardiovascular manifestations of poisoning by the Indian red scorpion (Mesobuthus tamulus)
British Heart Journal (1992), 68(5):478–80)

58. Aubry 2004 :
Engineering of recombinant Fab from a neutralizing IgG directed against scorpion neurotoxin AahI, and functional evaluation versus other antibody fragments. Toxicon. 2004;43(3):233–41.

59 Gur M, Kahn R, Regev-Bar-Ilan N, Wang J, Catterall WA, Gordon D, Gurevitz M: Elucidation oft he molecular basis of selective recognition uncovers the interaction site for the core-domain of scorpion alpha-toxins on sodium channels. J Biol Chem. 2011; 286:35209–17.

60 Rochat C et al 1967 :
Purification and some properties of the neurotoxins of *Androctonus australis hector*. Biochemistry 1967; 6: 578-85.

61 Benoit PR, Mabrini J 1967 :
Action du venin de scorpion sur la jonction neuromusculaire de la grenouille. J. Physiol. (Paris) 1967; 59: 348.

62 Osman OH, lsmall M, Wenger T :
Hyperthermie response to intraventricular injection of scorpion venom: role of brain monoamines. Toxicon 1973; I 1: 361-8. /.

63.Almedia HO,Lima EG Freire-Maia L :
Mechanism of acute pulmonary oedema induced by intra cerebra-ventricular injection of scorpion toxin (tityus toxin) in the unanaesthetized rat.Toxicon 1976 ;14: 435—40.

64.Freire-Maia L. Diniz CR :
Pharmacological action of purified scorpion toxin in the rat. Toxicon 1970; 8: 132.

65 Chokri H et Ben salah N 2010 :
article :envenimations scorpionique en Tunisie ,med emergency -2010 n5

66 .Bawaskar HS, Bawaskar PH :
Management of the cardiovascular manifestations of poisoning by the Indian red scorpion (Mesobuthus tamulus) British Heart Journal (1992), 68(5):478–80

67 Elatrous S et al 2008 :

Les envenimations scorpioniques graves. Médecine tropicale 2008, 68(4), 359-366.

68 Attalah T.Marghil S :

Effets du sérum anti scorpionique sur les perturbations hémodynamiques induites par le venin de scorpion : Etude animale. Réanima Urgences 1999 ;8 :178 S

69Chippaux JP2012:

Emerging options for the management of scorpion stings. Drug Design, Development and Therapy ; 6 : 165-73.

70 Nouira S. et al.:

A clinical score predicting the need for hospitalization in scorpion envenomation. Am J Emerg Med 2007; 25 : 414-9.

71 Chavez-Olortegui, C., Ait-Amara, D., Rochat, H., Diniz, C. et Granier, C. (1991):

In vivo protection against scorpion toxins by liposomal immunisation. Vaccine: 9, 907-910

72 **Couraud, F.; Jover, E.; Dubois, J. M.; Rochat H;**

(1982). Two types of scorpion toxin receptor sites, one related to the activation, the other to the inactivation of the action potential sodium channel. Toxicon 2 0, 9-16.

73 H. KAABI, R. KHARRAT, M. EL AYEB :

ETUDE DE LA CAPACITE PROTECTRICE DU VENIN DU SCORPION BUTHUS OCCITANUS TUNETANUS (BOT) POLYMERISE AU GLUTARALDEHYDE CHEZ DES SOUCHES DE SOURIS D'HAPLOTYPES DIFFERENTS

74 Gaudreault P 2000 :

- Qu'est-ce qui m'a piqué ' Un scorpion... - Bulletin d'Information Toxicologique,; 2, p. 3-4.

75 Broglio N., Goyffon M :

- Les accidents d'envenimation scorpionique. - Conc Méd, 1980 ; 38, p. 5615-522.

76 Greg A. Kirchenbaum1 and Ted M. Ross 2017:

Generation of Monoclonal Antibodies against Immunoglobulin Proteins of the Domestic Ferret, 14 February 2017 Journal of Immunology Research page 13

77 **Nouira S., Haguiga H., Touzi N., Jaafoura M., Abroug F., Bouchoucha :**

- Etude contrôlée de l'efficacité de l'hémisuccinate d'hydrocortisone (HSHC) dans le traitement de l'envenimation scorpionique. - Réanim Urgences, 1993 ; 6, p. 710.

78 EL AMIN E.O , Berair R (2009) :

piqure de scorpion chez l'enfant .experence saoudienne,Arch .pediatre 2 :766-773

79 Bettina Wagner:

Immunoglobulins and immunoglobulin genes of the horse , Developmental and Comparative Immunology 30 (2006) 155–164)

80 nicholas j cave et al 2008 :

NUTRITION ET Immunité DES FELINES, royal canine

81 Josh Clark et al 2008 :

Are meerkats immune to poison? University of Arizona , 14 May 2008

82 Rob L. et al 2005

Modification histopathologique après envenimation scorpionique expérimentale chez la souris , , *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 36(2): 326–330, 2005)

83vincent biourge,2008 :

SEROLOGIC RESPONSES AFTER VACCINATION OF FENNEC FOXES (*VULPES ZERDA*) AND MEERKATS (*SURICATA SURICATTA*) WITH A LIVE, CANARYPOX-VECTORED CANINE DISTEMPER VIRUS VACCINE , Encyclopidie de la nutrition clinique féline

84 N.Oukkache ;I.Malih, 2009 :

revue medicopharmaceutique n°53 P 48 – 52

85 H. Lutermann 1 & N. C. Bennett 2013 :

Strong immune function: a benefit promoting the evolution of sociality?, Department of Zoology and Entomology, **University of Pretoria**, Pretoria, South Africa

85 Moulmien 1986 :

immunotherapie des envenimation ophidiennes (IP PARIS)

86 Jan Reed-Smith 2011 :

Mongouse,Meerkat and fossa care manuelle (association of zoo)

87 B.vidana, n.majo2014:

Immune systéme cells in healthy Ferrets : an immunohistochimiecal Study

88 - Canton de vaud 2010:

Le cheval la plus noble conquête de l'homme?

89- Serolab:

Disponible sur www.serolab.ch/f/who.htm

90- Mm Brahimi Fatima 2002

Mise en point d'un protocol de purification des serums thérapeutiques

91-Mm Benabbou imene

Mise au point et evaluation d'un protocol de purification à l'échelle industrielle du produit de rinçage des caillots issus du sérum antiscorpionique

92- Dr.Vanessa Lefevre 2010
hematopathologie et pathologie des organes hematolymphopoietiques chez le furet (*mustela putorius furo).*

93- El moudjahid 2013
Envenimation scorpionique : Les décès en baisse, la population exposée aux piqûres en hausse

94- Jean-Philippe Chippaux 2012
Emerging options for the management of scorpion stings

95- www.janvier-labs.com 2017

Souris NMRI