رقم التسلسلي :

رقم الترتيب:

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

كلية العلوم الدقيقة

مذكرة تخرج

مقدمة من أجل الحصول على شهادة

ماستر أكاديمي في : الكيمياء

تخصص : **كيمياء عضوية تحليلية**

من إعداد: **شايع زهيرة**

الموضوع

تحليل توكسينات بعض العقارب بمنطقة وادي سوف

نوقشت يوم : 2016/05/25

أمـام لجنـة المناقشـة المكونـة مـن:

مصباحي محمد عادل	أستاذ مساعد من الرتبة (أ)	**جامعة الشهيد حمة لخضر-الوادي**	**رئيس**
رغيـــوة عبد الله	أستاذ مساعد من الرتبة (أ)	**جامعة الشهيد حمة لخضر-الوادي**	**مناقش**
حـــوات عمار	أستاذ مساعد من الرتبة (أ)	**جامعة الشهيد حمة لخضر-الوادي**	**مناقش**
منـــصر سهيلة	أستاذة مساعد من الرتبة (أ)	**جامعة الشهيد حمة لخضر-الوادي**	**مؤطر**

الموسم الجامعي : 2016/2015

شكر وعرفان

سبحانك ربي لا نحصي الثناء عليك والحمد لك، اللهم سددت خطاي ويسرت أمري لإنجاز هذا العمل على أحسن ما يرام فنحمدك ربي كما أثنيت على نفسك وبعد:

أتقدم بالشكر الجزيل إلى الوالدين الكريمين صاحبا الفضل العظيم علي و إلى الأستاذة منصر سهيلة لقبولها الإشراف على هذا العمل وتوجيهاتها القيمة التي أفادتني بها طيلة فترة البحث التجريبي كما أتقدم بشكر الجزيل لأعضاء اللجنة المناقشة كما أشكر كل أساتذة الجامعة على مساهمتهم في إثراء رصيدنا العلمي طيلة هذه سنوات.

كما لا يفوتني أن أشكر العمال الذين ساعدوني بمديرية الصحة و السكان كما أتقدم بخالص عبارات الشكر والعرفان لكل الصديقات والأصدقاء الذين ساعدوني من قريب و من بعيد و كل من تذكرني بالدعاء.

الفهـــارس العـــــــامة

فهرس المحتويات

شكر وعرفان	
مقدمة عامة	
مراجع المقدمة	
الجزء النظري	
الفصل الأول: عموميات عن العقرب	
تمهيد	06
1.I. تاريخ العقرب	07
2.I. التركيب الخارجي للعقرب (مورفولوجية العقرب)	07
1.2.I. الجسم	07
1.1.2.I. مقدم الجسم (PROSOMA)	08
2.1.2.I. وسط الجسم أو المنطقة البطنية (MESOSOMA)	09
3.1.2.I. مؤخر الجسم أو منطقة الذيل (METASOMA)	09
2.2.I. الجهاز السام	10
3.I. سلوكيات العقرب	12
1.3.I. البيئة	12
2.3.I. النشاط اليومي	12
3.3.I. الغذاء	13
4.I. التكاثر	13
1.4.I. النوع الإجتماعي	14
2.4.I. عديم الجنس (التوليد البكري)	14
3.4.I. حدوث عملية التناسل عند العقرب	14
5.I. تصنيف العقارب	15
1.5.I. فصائل (العائلات)	15
1.1.5.I. فصيلة البوثيدي (Les Buthoides)	16
2.1.5.I. فصيلة تشاكتيود (Les Chactoïdes)	16
2.5.I. الأنواع الرئيسية من العقارب التي وجدت في منطقة الواد	16

1.2.5.I. العقرب الساحل الشمالي أو عقرب ذات الذيل العريض (A.a.h)	17
2.2.5.I. بوثاكوس أرنيكولا (Buthacus Arenicola)	17
3.2.5.I. بوثيسكوس بيكالكاراتوس(Buthiscus bicalcaratus)	18
4.2.5.I. بوثوس تونتانوس (Buthus tunetanus)	19
6.I.التوزيع الجغرافي للعقارب	19
1.6.I. على مستوى العالم	19
2.6.I. على مستوى الجزائر	20
3.6.I. على مستوى ولاية الوادي	21
خلاصة الفصل	22
مراجع الفصل الأول	24
الفصل الثاني : عموميات عن السم	
تمهيد	29
1.II. سم العقرب	30
1.1.II طرق استخراج السم	30
1.1.1.II. تحت تأثير إثارة كهربائية للعقرب	30
2.1.1.II. تحت تأثير إثارة يدوية للعقرب	30
3.1.1.II. إستخلاص عن طريق طحن الدبير	30
2.1.II.خصائص السم (Venin)	31
1.2.1.II. الخصائص الفيزيائية	31
2.2.1.II. الخصائص الكيميائية	31
3.2.1.II. الخصائص الدوائية	32
3.1.II.تركيب سم (venin) العقرب	32
1.3.1.II. الجزء الغير سام من سم الخام	32
2.3.1.II الجزء السام التوكسين (toxins)	32
1.2.3.1.II. التوكسينات الطويلة	33
2.2.3.1.II. التوكسينات القصيرة	33
3.2.3.1.II. التوكسينات النشطة على قنوات الصوديوم Na^+	34
1.3.2.3.1.II. التوكسينات النشطة على الثديات	34

2.3.2.3.1.II. التوكسينات النشطة على الحشرات	35
3.3.2.3.1.II.التوكسينات المزدوجة الخاصية	36
4.2.3.1.II. التوكسينات الفعالة على قنوات البوتاسيوم K^+	36
1.4.2.3.1.II. التوكسينات القصيرة جدا	36
2.4.2.3.1.II. التوكسينات القصيرة	37
5.2.3.1.II. التوكسينات النشطة على قنوات الكلور Cl^-	37
6.2.3.1.II. التوكسينات النشطة على قنوات الكالسيوم Ca^{++}	38
2.II. مضاد السم "المصل مضاد "	38
1.2.II. المصل المضاد لسم العقرب المستعمل في الجزائر	38
3.II. طرق تحليل السم	39
1.3.II. تحليل الكروماتوغرافي بوسطة الـ HPLC	39
1.1.3.III. تعريف الكراماتوغرافيا السائلة عالية الأداء الـ HPLC	39
2. 1.3.II. مبدأ عمل الكروماتوغرافيا الـ HPLC	40
2.3.II. إختبار الجرعة القاتلة من السم DL 50 (درجة سمية السم)	40
خلاصة الفصل	41
مراجع الفصل الثاني	43
الفصل الثالث: دراسة احصائيات لتسمم العقربي من2005 الى 2015	
تمهيد	48
1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي بولاية الوادي من 2005 إلى 2015	49
1.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب السنوات	49
2.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب البلدية من 2005 إلى 2015	50
3.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب فئة الأعمار	51
4.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب الجنس (ذكور - إناث)	51
5.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب مكان (السكن) اللسع	52
6.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب موقع اللسع في الجسم	52
7.1.III. تقسيم حالات اللسع العقربي على حسب ساعة اللدغ	53
8.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب الشهر	53
2.III. تقسيم حالات الوفيات الناجمة عن لسع العقربي بولاية الوادي من2005 إلى2015	54

1.2.III. تقسيم حالات الوفيات بسبب اللسع العقربي حسب السنة	54
2.2.III. تقسيم حالات الوفيات بسبب اللسع العقربي حسب الجنس(ذكور وإناث)	55
3.2.III. تقسيم حالات الوفيات بسبب اللسع العقربي حسب فئة الأعمار والجنس	55
خلاصة الفصل	56
مراجع الفصل الثالث	58
الفصل الرابع : الجزء العملي	
تمهيد	60
1.IV. المواد وطرق التحليل	61
1.1.IV. المواد البيولوجية	61
1.1.1.IV. العقرب	61
2.1.1.IV. الأرنب	61
3.1.1.IV.السم (venin)	61
2.1.IV. مواد التحليل	62
1.2.1.IV. الأجهزة والأدوات	62
2.2.1.IV. المحاليل (المواد الكيميائية)	63
2.IV. طريقة العمل	63
1.2.IV. إستخراج السم (venin)	63
2.2.IV. كمية السم	64
3.2.IV. طريقة حفظ السموم	64
4.2.IV. تنقية الجزء السام من سموم عقارب A.a.H	64
5.2.IV. التحليل الكروماتوغرافي للجزء السام بواسطة الـ HPLC	65
1.5.2.IV. شروط الحقن للـ HPLC	65
6.2.IV. إختبار الجرعة القاتلة من للجزء السام بنسبة 50%	67
3.IV. النتائج والمناقشة	67
1.3.IV. نتائج و مناقشة التحليل الكروماتوغرافي بالـ HPLC	67
2.3.IV. نتائج و مناقشة إختبار الجرعة القاتلة من الجزء السام DL50	72
مراجع الفصل الرابع	74
الخاتمة	76

الملاحق	78
الملخص	

فهرس الصور

الصورة	العنـــوان	الصفحة
الفـصـل الأول: عموميات على العقرب		
صورة (1.I)	لمستحاثه عقرب في البحر	07
صورة (2.I)	للوجه الظهري للعقرب	08
صورة (3.I)	لعرض باطني للعقرب	10
صورة (4.I)	للأشكال المختلفة لدبير	11
صورة (5.I)	لمقطع عرضي للجهاز السام للعقرب (الدبير)	11
صورة (6.I)	لعقرب تحت لحاء	12
صورة (7.I)	لعقرب تحت الحجر	12
صورة (8.I)	لعقرب يتغذى بالفأر	13
صورة (9.I)	لحض العقرب لي صغارها	14
صورة (10.I)	لحامل النطاف عند العقارب	15
صورة (11.I)	للردب المبيضي عند العقرب	15
صورة (12.I)	لعقربAndroctonu saustralis	17
صورة (13.I)	لعقرب Buthacus arenicola	18
صورة (14.I)	لعقربButhiscus bicalcaratus	18
صورة (15.I)	لعقرب Buthus tunetanus	19
صورة (16.I)	التوزيع الجغرافي للعقرب في العالم	20
صورة (17.I)	للتوزيع الجغرافي لأنواع العقارب في الجزائر	20
صورة (18.I)	للتوزيع الجغرافي أنواع العقارب في ولاية الوادي	21
الفـــصـــل الثـــــانـي: عموميات على السم		
صورة (1.II)	هيكل توكسين سم العقرب محددة بالرنين المغناطيسي	33
صورة (2.II)	التوكسين الخاص بقنوات الصوديوم	34
الفصل الرابع: الجزء العملي		
صورة (1.IV)	العقرب (A.a.H)	61
صورة (2.IV)	سم العقرب (A.a.H)	61

صورة (3.IV)	المحفز الكهربائي للعقرب	62
صورة (4.IV)	التحفيز الكهربائي للعقرب	63

فهرس الأشكال

الشكل	العنوان	الصفحة
الفصل الأول: عموميات على العقرب		
الشكل (1.I)	مخطط العائلات الرئيسية للعقارب	16
الفـــصـــل الثـــالـــث: دراسة إحصائية للتسمم العقربي من 2005 إلى 2015		
الشكل (1.III)	أعمدة بيانية تمثل إحصائيات التسمم العقربي بالنسبة لسنوات	49
الشكل (2.III)	توزيع حالات التسمم العقربي حسب البلديات	50
الشكل (3.III)	أعمدة تبين تقسيم حالات التسمم العقربي حسب فئة الأعمار	51
الشكل (4.III)	دائرة نسبية تمثل نسب حالات التسمم العقربي حسب الجنس	51
الشكل (5.III)	دائرة نسبية تمثل نسب حالات التسمم العقربي حسب مكان اللسع	52
الشكل (6.III)	دائرة نسبية تمثل نسب حالات التسمم العقربي حسب موقع اللسع في الجسم	52
الشكل (7.III)	أعمدة بيانية توزع حالات اللسع العقربي على حسب ساعة اللدغ	53
الشكل (8.III)	منحنى بياني يبين حالات التسمم العقربي حسب الشهر	53
الشكل (9.III)	منحنى بياني يظهر حالات الوفيات الناجمة عن اللسع العقربي حسب السنوات	54
الشكل(10.III)	دائرة نسبية تبين نسب الموتى بسب للسع العقربي حسب الجنس	55
الشكل (11.III)	توزيع حالات الوفيات بسبب التسمم العقربي على حسب فئة الأعمار والجنس	55
الفصل الرابع: الجزء العملي		
الشكل (1 .IV)	المخطط العام لفصل الجزء السام من سم العقرب A.a.H.	66
الشكل (2 .IV)	كروماتوغرام يبين التوكسينات و نسبة تركيزها الموجودة في سم العقرب A.a.H لمنطقة الحمراية	67
الشكل (3 .IV)	كروماتوغرام يبين التوكسينات و نسبة تركيزها الموجودة في سم العقرب A.a.H لمنطقة الرقيبة	68
الشكل (4 .IV)	كروماتوغرام يبين التوكسينات و نسبة تركيزها الموجودة في سم العقرب A.a.H لمنطقة الدبيلة	68
الشكل (5 .IV)	كروماتوغرام يبين التوكسينات و نسبة تركيزها الموجودة في سم العقرب A.a.H لمنطقة حاسي خليفة	69

فهرس الجداول

الجدول	العنوان	الصفحة
الفصل الرابع: الجزء العملي		
الجدول (IV. 1)	أوزان لسم العقارب من مناطق الدراسة	64
الجدول (IV. 2)	شروط الحقن في الـ HPLC	65
الجدول (IV. 3)	زمن ظهور توكسينات سم العقرب A.a.H المتواجدة في المناطق المدروسة	70
الجدول (IV. 4)	نسبة تراكيز توكسينات سم العقرب A.a.H في مناطق الدراسة	71
الجدول (IV. 5)	قيم الـ DL50 لكل منطقة	72

قائمة الرموز

A.am : العقرب Androctonus amoreuxi.

A.a.h :العقرب Androctonus australis Hector.

Ag: المستضد النوعي (أنتوجين)

B.o.t :العقرب Buthus occitanus tunetanus .

Css : العقرب centruroides suffusus suffuses.

$\mathbf{DL_{50}}$: الجرعة المميتة بنسبة 50%.

$\mathbf{DL_{100}}$: الجرعة المميتة بنسبة 100%.

Fab: حطيم ناتج عن هضم هيموغلوبينات من النوع G.

$\mathbf{F_{tox}}$: الجزء السام من سم العقرب.

HPLC: كروماتوغرافيا السائلة العالية الجودة.

IgG: هيموغلوبينات من النوع G.

KDa: وحدة الكيلو دلتون.

SAS: مصل المضاد لسم العقرب.

Tskα: التوكسينات المستخرجة من العقرب البرازيلي Tityus serrulatus.

TFA: Acide Tri fluoro acétique.

Tr: زمن المكوث.

مقدمة عامة

مـقدمـــة عـــامـة

تنتشر ظاهرة التسمم العقربي في العديد من الدول العالم و أكثرها تضررا البرازيل و دول شمال إفريقيا وبالتحديد في المغرب، الجزائر و تونس. وغالبا ما تكون لسعات العقارب قاتلة، لذا تعتبرها وزارة الصحة والسكان في الجزائر مشكلة صحية عامة وخطيرة بسبب تكررها سنويا [1]، ووفقا للبيانات الوبائية التي جمعتها الوزارة سنويا تم إحصاء أكثر من 50000 حالة لدغ العقرب و أكثر من 150 حالة وفاة، كما تصدرت ولاية الوادي قائمة اللسع العقربي سنة 2006 [2]، ووجد أن أعداد تعرض الناس للسع يكون أكثر نسبة خلال الأشهر الساخنة (جوان، جويلية، أوت) [3].

نظرا لشدة التسمم العقربي وسرعة انتشار السم في الجسم وجب إستعمال العلاج المناعي في هذه الحالة. كما رأى بعض الباحثين أن هذا العلاج يكون فعال عند استعماله بعد اللسع مباشرة [4].

من بين 1400 نوع تقريبا من العقارب البعض منها فقط تكون لسعتها قاتله للإنسان و أغلبيتها من فصيلة بوثيدا. وتعتبرالعقرباء Androctonus amoreuxi من بين الأنواع الخطيرة والعقرب Androctonus australis Hector الأكثر خطورة على البشر بسبب إحتواء سمومها على العديد من التوكسينات المسؤولة على قتل الملسوع وذلك حسب أنواعها وتركيزها في السم [5].

كما أن للتوكسين سلبيات له أيضا إيجابيات حيث أثبتت الأبحاث العلمية الحديثة بأن للتوكسين فوائد عديدة في المجال الطبي، أكتشف لبعض أنواعها فوائد تعمل كمضادات حيوية لبعض الفيروسات الخطيرة، كما استعمل حديثا الكلورو توكسين كأنجع علاج لسرطان خلايا المخ [6]، ومن السم نفسه يصنع العلاج المضاد للتسمم العقربي [7].

نظرا لأهمية موضوع التسمم العقربي وخطورته تطرقنا لدراسة مدى اختلاف درجة سمية سم العقرب من نفس نوع من مناطق مختلفة.

تناولنا في هذا البحث المتواضع أربعة فصول أولها عموميات على العقرب من حيث جسمها، سلوكها، تصنيفها، و أنواعها.....إلى آخره، و الفصل الثاني يشمل عموميات على سمها من حيث الطبيعة والتركيب و أنواع التوكسينات الموجودة فيه وطرق تحليلها وغيرها، أما الفصل الثالث فكان عبارة عن إحصائيات وبائية للسع العقربي من سنة 2005 إلى غاية 2015 ومناقشتها.

أما الأخير جزء عملي و فيه قمنا بإستخراج و فصل الجزء السام من سم العقرب Androctonus australis Hector المنتشرة في مناطق مختلفة بالولاية وهي: الحمراية، الرقيبة، الدبيلة وحاسي خليفة

ثم تحليل الجزء السام بالكروماتوغرافيا السائلة العالية الجودة الـ HPLC و اختبار الجرعة القاتلة منه بنسبة 50% من تأثيره.

مراجع المقدمة

- باللغة العربية:

[7]. منشور المصل المضاد للتسمم العقربي. معهد باسور بالجزائر. تاريخ مراجعة الوصفة 2012 ، رمزها F 01130304

- باللغة الفرنسية:

[1]. M. KRIFI, V. CHAUMET, C. Bon et M. El Ayeb, Scorpionisme - Bulettin de la Société de Toxicologie Clinique , N°15, juin 2002. POLIS G.A., 1996 .

[2].Y. LAID ; R. OUDJEHANE ; L. Boutekdjiret ; K. Bachiri. ‘’ENVENIMATION SCORPIONIQUE’’. Journal de «Institut National de Santé Publique Situation épidémiologique de l'envenimation scorpionique en Algérie» (2006).

[3]. SADINE S. E., ALIOUA Y. BRIKI A. & CHENCHOUNI H., 2010- Quelques aspects sur la diversité scorpionique du Parc National de Belezma (Batna, Nord-est Algérie). Journées Nationales de Zoologie Agricole et forestière. Alger. Algérie19, 20 et 21 avril 2010.

[4]. DEROUICHE S., KECHRID Z, Influence of calcium supplements on zinc status.carbohydrate metabolism and the liver activity of detoxifying glutathione enzymatic system in alloxan-induced diabetic rats Journal of Experimental Biology andAgricultural Sciences. V 1(6) ISSN .(2320 – 8694): 425-429, (2013).

[5]. VACHAN M., Etude sur les scorpions, P'IPA, Alger, (1952).

[6]. SONJA SCHMITZER, Toxines : le scorpion tue le cancer, DocCheck Medical Services GmbH, (2015).

الجـــزء النظـــري

الفصل الأول

عموميات عن العقرب

تمهيد:

إن العقرب رغم صغر حجمها فهي تشكل مصدر فزع و خوف للإنسان، كما أنها سامة و مؤذية رغم من أن لسعتها عند البعض منها لا تتعدى لسعة النحلة، و يوجد أكثر من 1400 نوع من العقارب منتشر في جميع أنحاء العالم، البعض منها تشكل خطر على الانسان.

1.I. تاريخ العقرب:

العقارب تنتمي إلى المفصليات الكلابيات و هي معروفة مند قديم العصور، يرجح العلماء أول ظهور لها حوالي 450 مليون سنة ، ممثله في صورة (1)، وذلك خلال العصر سيلوري في البيئة المائية [2,1].

عند التحول الجيولوجي للأرض بين العصر الكاربوني و الديفوني (بين 350 سنة و 380 سنة) [3] استطاعت هذه المفصليات التكيف مع تغيرات الجيولوجية [4] دون التغير في الشكل و قدرة التكيف في مرونة البيئة المائية، الحارة، الرطبة و الصحراوية في جميع أنحاء العالم [5] .

الصورة I.1 *:* مستحاثة عقرب في البحر [6].

2.I. التركيب الخارجي للعقرب (مورفولوجية العقرب) :

للعقرب جسم مستطيل يتراوح طوله بين "2 سم " إلى "12 سم " ولا يتجاوز طوله عند البالغين "25 سم " خاصة في شمال إفريقيا [7]. للعقرب عدة ألوان منها الأصفر وكذلك الأسود ،الأحمر و الأخضر.

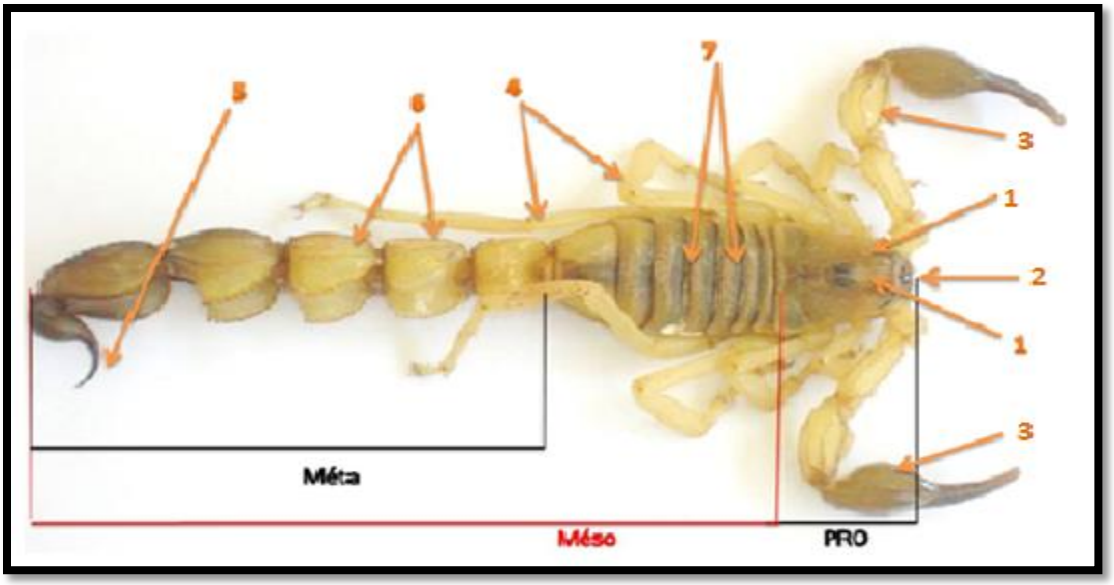
1.2.I. الجسم :

ينقسم جسم العقرب بوضوح إلى ثلاثة أجزاء الصورة (2):

- مقدم الجسم أو المنطقة الرأسPROSOMA.
- وسط الجسم أو المنطقة البطنيةMESOSOMA.

- مؤخر الجسم أو المنطقة الذيل METASOMA.

تشكل أول جزأين مجتمعين يعرف عموما بإسم جذع [8] .



الصورة 2.I *:* الوجه الظهري للعقرب [7] .

1- العيون الجانبية	4- الأرجل المفصلية	7- الحلقات الظهرية للبطن
2- العيون المتوسطة	5- الإبرة السامة	Pro : المقدمة الصدرية
3- القرون الكلابي	6- حلقات الذيل	Méta : منطقة الذيل
		Més : المنطقة البطنية

1.1.2.I. مقدم الجسم (PROSOMA) :

يتكون مقدم الجسم من ستة عقل أو شدف غير واضحة التقسيم، تغطيها من أعلى صفيحة واحدة صلبة تعرف بالدرقة (CARAPACE). ويمكن مشاهدة أثر التقسيم من السطح السفلي حيث تخرج الأطراف أو الزوائد ، ويوجد على سطح الدرقة من الأمام أعين العقرب، وهي زوج من العيون المركبة في الوسط ومجموعتان جانبيتان تتألف كل منهما من عينين إلى خمسة أعين بسيطة وفي أسفل الطرف الأمامي للجسم توجد فتحة الفم [8].

يتصل بهذه المنطقة ستة أزواج من الزوائد أو الأرجل المفصلية، زوج منها لكل عقلة والزوج الأول صغير يتواجد على جانبي فتحة الفم وتتكون كل زائدة من ثلاث قطع، إثنان منها تكونان كلابة أو ملقط ويعرف هذا الزوج بالقرنين الكلابيين، وظيفتهما القبض على الفريسة و تقطيع جسمها، وسطحها مزود بعدد كبير من الشعيرات اللمسية الحساسة، أما الزوج الثاني فهو كبير - أكبر الزوائد جميعا - وتتكون كل زائدة من ست قطع تنتهي بجزء الملقط و وظيفته القبض على الفريسة وتقطيعها [8] .

والزائدتان مزودتان أيضا بشعيرات لمسية عديدة ، ويعرفان باللامسين القدميين ويقعان خلف الفم وقاعدتهما عريضة تساعد على ضغط جسم الفريسة.

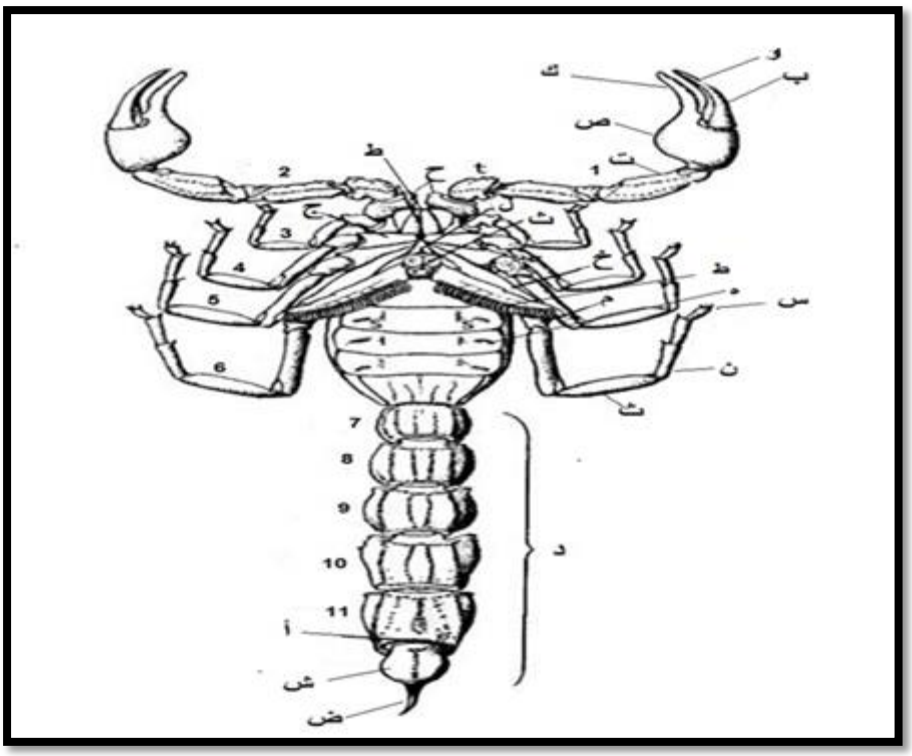
والأزواج الأربعة الأخرى من الزوائد، تستعمل للمشي وتعرف بأرجل السير، ويتركب كل منها من سبع قطع صغيرة تنتهي بمخالب قرنيه وقواعد الزوجين الأماميين منها عريضة و تتجه نحو الفم وتساعد أيضا على ضغط جسم الفريسة و تقطيعه [8].

I.2.1.2. وسط الجسم أو المنطقة البطنية (MESOSOMA):

يتكون وسط الجسم من ست عقل ظاهرة تغطي السطح العلوي والسطح السفلي لكل منها صفيحة صلبة وتتصلان جانبا هاتين الصفيحتين ببعضهما البعض بواسطة غشاء رخو، وفي وسط السطح البطني للعقلة الأولى توجد الفتحة التناسلية وتسمى هذه بالعقلة التناسلية، ويوجد فوق الفتحة التناسلية صفيحة صغيرة تعرف بالغطاء التناسلي ويتصل بالسطح البطني للعقلة الثانية زوج من الزوائد يعرف بالزوائد المشطية. تنتهي حافتها الخلفية بصف من الزوائد الصغيرة الدقيقة تشبه أسنان المشط وتعتبر كأعضاء اللمس حسية، أما العقل الأربعة التالية فلا تتصل بالزوائد ولكن يوجد على جانب السطح البطني لكل منها زوج من الفتحات الطويلة المائلة هي الفتحات التنفسية ،تؤدي كل منها إلى عضو خاص بالتنفس يعرف بالرئة الكتابية ،وتتكون المنطقة لبطنية الأمامية في الظهر من سبع عقل تسمى الأولى منها قبل التناسلية والتي تختفي أثناء النمو [8].

I.3.1.2. مؤخر الجسم أو منطقة الذيل (METASOMA) :

يتكون مؤخر الجسم من ست عقل واضحة لا تتصل بها زوائد والعقلة الأولى منها مخروطية الشكل، وتوجد فتحة الأست على السطح البطني في مؤخر العقلة السادسة، ويلي هذه العقلة جزء منتفخ كمثري الشكل يسمى الدبر له طرف مدبب يعرف بالحمة أو عضو اللدغ، يوجد داخل الدبر غدتان تفتح كل منهما بثقب دقيق قرب طرف اللحمة[8] .

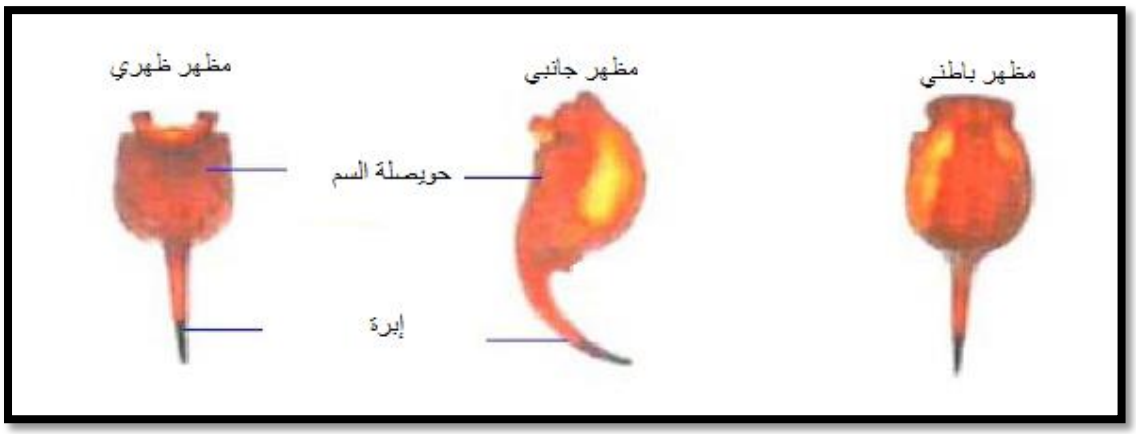


الصورة 3.I *:* عرض باطني للعقرب [9].

1 و 2- الساقين فكي. من 2 إلى 6- أرجل المشي. من 7 إلى 11- حلقات الذيل.
أ - فتحة الشرج. ب- المشبك. ت- عظم الفخذ ذراع.
ث - الفتحة التناسلية. ج ، خ - الوركين الساقين. ح - الوركين الساقين الفك.
د - منطقة الذيل. ط – المشط. ظ - أجزاء الفم.
س - رسغ القدم. ش - حويصل السم. ص - الكماشة.
ض - الإبرة السامة. ك - المخالب المتحركة. ل - القص.
م - المدور. ن – الساق. ه - الفوهة التنفسية.
و- المخالب الثابتة.

2.2.I. الجهاز السام:

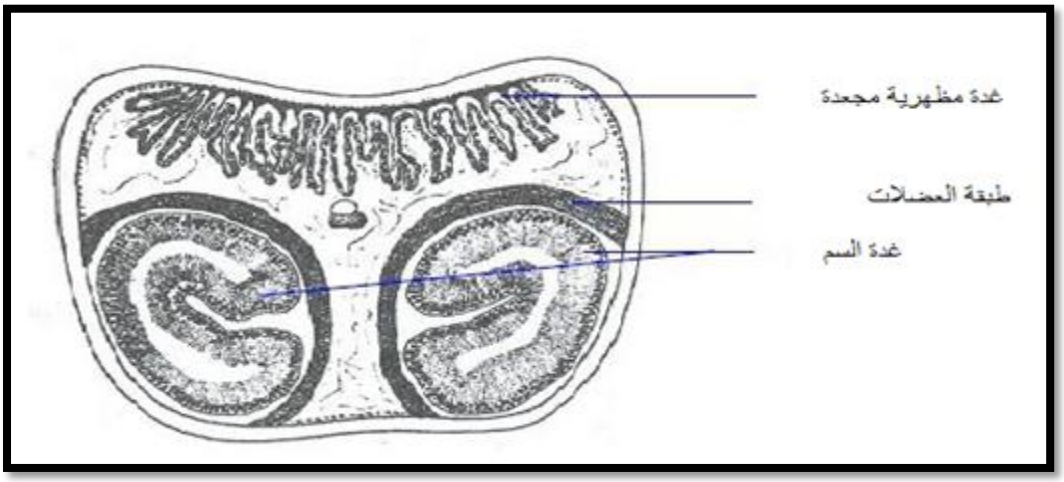
تعرف العقارب بإمتلاكها لكيس السم الموجود في نهاية الذيل الذي يمتد إلى إبرة اللدغ السامة لتلقيح السم و له عدة أشكال موضحة في صورة (04).



صورة 4.I *:* أشكال مختلفة لدبير [13].

يتكون جهاز السمي للعقرب من حويصل و غدتين مستطيلتين ممثل في صورة (5) متناظرتين حول المستوي السهمي الموجود في الجزء الذيلي الذي ينتهي بإبرة صلب ،قوية و حادة ،كل غدة تتصل بقناة خاصة بها و التي تقع قرب نهاية لدغة الإنفتاح .

تتكون كل غدة من الغدد المتعددة المفرزة للسم من خلية عضلية ظهرية و نسيج ضام [10,9] يحيط بجهاز السمي كله. إن الجهاز العضلي للعقرب قوي جدا يمكنها من القذف ثم تلقيح كمية السم المخزن لديها [11]. العقرب تتحكم بعملية إلقاح السم في الحيوان وهذا يعني أنها لا تحقن بضرورة سمها إلا عند الحاجة [12].



صورة 5.I *:* مقطع عرضي للجهاز السام للعقرب (الدبير) [13].

3.I. سلوكيات العقرب:

1.3.I. البيئة :

بشكل عام تعيش العقارب في مجموعات [9]، وهي توجد في مواطن مختلفة تحت الصخور، الأشجار و في النفايات، و هي تحتل كذلك الزوايا الرطبة المظلمة خاصة الحفر، و الظل في الصورة (6 و 7)، كما تحتل أيضا منازل الحي ، داخل الأحذية، المطابخ و الحمامات... إلى آخره [14، 15].

العقرب لها القدرة على الصمود في العوامل البيئية العدوانية لها إما البرد أو الحرارة [16].

صورة 6.I : عقرب تحت لحاء [17].

صورة 7.I : عقرب تحت حجر [17].

للعقارب القدر على الصمود و العيش في وسط به الإشعاعات المتأينة، و يمكنها أن تتلقى حوالي 100 جرعة مميتة خلافا للبشر الذين لا يصمدون من جرعة واحدة [16، 18]، و أكتشف هذا خلال التجارب النووية التي أجريت في صحراء الجزائر سنة 1956 برقان [18]، ويعود ذلك إلى أن ما يدور في أحشائها ليس دما أحمر كالذي يملكه الإنسان بل هو عصير مصل أصفر يقوم بدوره الأساسي في ترميم الخلايا المدمرة من الإشعاعات النووية [19] .

كما أن للعقارب القدرة على مقاومة الإختناق و الإلتهابات الجرثومية، و يمكن أن تحمل ما يصل على 40% من وزنها [18]، لأن لديها طبقات إضافية من الدهون على الهيكل الخارجي التي تقلل من فقدان الماء [20].

2.3.I. النشاط اليومي :

تنشط العقارب ليلا خوفا من أعدائها و العوامل الطبيعية المعادية لها [1]، كما أنها تذهب إلى السبات مبكرا خلال فصل الخريف و الشتاء ويمكن لها الحفاظ على قدرة نشاطها خلال موسم البرد، ومن

العقارب من تدخل في شبه سبات رغم إظطرابات المناخ حتى لا تترك لأعدائها فرصة النيل منها مع الحفاظ على جميع قدراتها و مواردها الكاملة [21]. تسير العقارب ببطئ [9]، و لها ميزة ضعف في الرؤية، وهي من المفصليات المفترسة تكشف عن فرائسها عن طريق لمسها [22].

I.3.3. الغذاء :

تتغدى العقارب على الحشرات، الذباب، اليرقات، العناكب، الفراشات و تفضل فريستها حية أو قتلها حديثا [23]، و نادرا ما تتغدى على المنتجات النباتية [24]، أما العقارب الكبيرة تتغذى على اللافقريات، السحالي الصغيرة، الثعابين و حتى الفئران الصغيرة الصورة (9) [23]. العقارب هي آكلات لحوم البشر كما أنها تتغذى على أنواع مختلفة من بني جنسها الأصغر منها حجما حتى لأم تتغذى على صغارها [9، 25].

الصورة I.8 *:* عقرب يتغذى بالفأر [17].

يمكن للعقارب أن تبقى سنة تقريبا دون طعام و ماء [22]، و يستطيع النوع الممثل في الصورة (A.a.h) من العقارب تحمل الجوع و العطش لمدة 14 شهرا [26] .

I.4. التكاثر:

العقارب حيوانات بيوضة، يستغرق التطور الجنيني خلال فترة حملها ما بين 7 إلى 12 شهرا [27]، و هناك نوعان من التكاثر هما:

1.4.I. النوع الإجتماعي:

يتميز هذا النوع من التكاثر برقصة تسمى (رقصة الخطوبة) أو (رقصة الموت) قبل الإقتران و تتمثل بحركات معينة يجريها الذكر و الأنثى، حيث تكون هذه الرقصة بمثابة النهاية المأساوية لبعض الذكور إذ لا يكاد الذكر يلقح أنثاه حتى يلقى حتفه حيث تقوم الأنثى إلتهامه [29,28,22].

2.4.I. عديم الجنس (التوليد البكري):

تنتج العقرب عدد من البيض الذي يفقس إلى أفراد جديدة من دون ذكر في هذه الحالة فإن عدد سكان العقارب يتكون من الإناث فقط [30]، بحيث إناث العقارب يمكن لها أن تنتج ما بين 14 إلى 100 من العقارب صغيرة [22]، يختلف هذا الرقم باختلاف أنواعها [9]، على سبيل المثال:

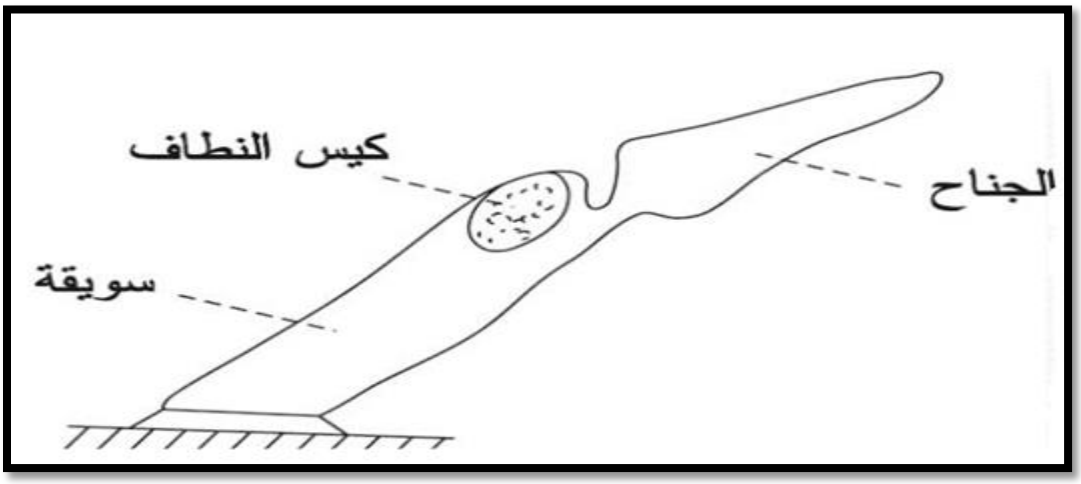
يمكن لنوع A.a.h إنتاج أكثر من 130 عقرب صغير [23]، و بعد الولادة مباشرة يتسلق الأفراد الجديدة التي لا يتجاوز طولها بضع مليمترات ظهر الأم الصورة (09)، التي تحملهم لمدة تتراوح ما بين أسبوع الى ثلاث أسابيع و تبقى هذه الأفراد بدون طعام لعدة أيام، ثم تترك أمها بمجرد فقدانها للشعر الذي يغذي جسدها و تبدأ بالدفاع عن نفسها بمفردها [31]، عندما تبلغ سنة من ولادتها و تصبح هذه العقارب بالغة و قادرة على التكاثر [22].

الصورة I.9 : تمثل حضن العقرب لي صغارها [24,17] .

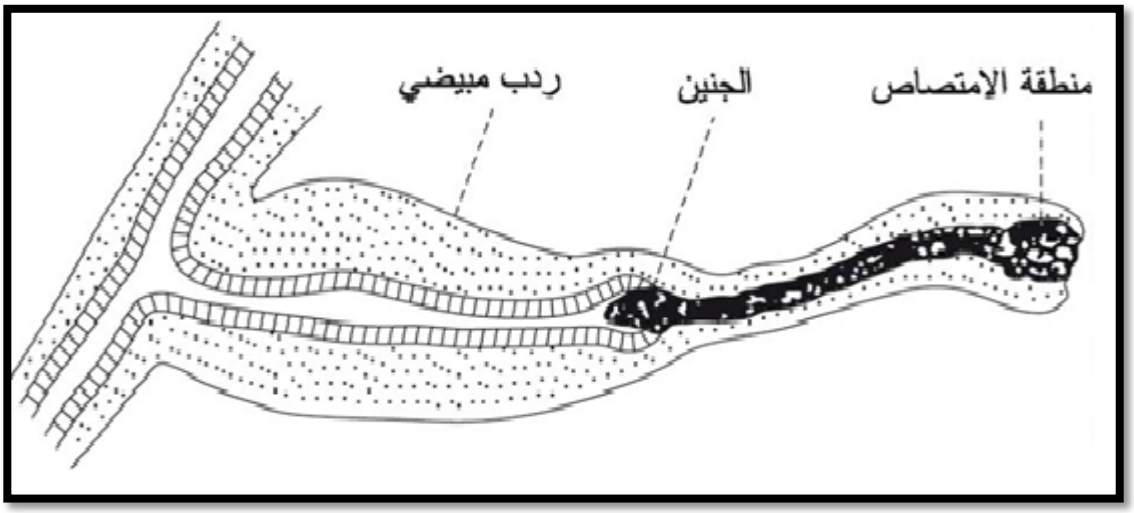
3.4.I. حدوث عملية التناسل عند العقرب :

يتقابل القرينان (الذكر و الأنثى) ويرفعان بطنيهما عالياً، ويتحركان في دوائر، ثم يقبض الذكر على الأنثى بلوامسه القدمية، ويسيران معاً ذهابا و إيابا، و يداعب منطقتها التناسلية بأرجله الأمامية.

تدوم هذه الحركات ساعات، وأحيانا أياماً، بعدها يلقي الذكر نطافه على الأرض في حوامل للنطاف يبرز منها غشاء بشكل الجناح صورة (10)، ثم يحاور الذكر الأنثى حتى تصبح فوهتها الأنثوية فوق حامل النطاف، فيتركها لتضغط بجسمها على الجناح، مما يؤدي إلى تقصّفه ومن ثم تحرر النطاف و تندفع داخل الفوهة الأنثوية [29,28,22].



الصورة I.10 :حامل النطاف عند العقارب[28].



الصورة I.11 : الردب المبيضي عند العقرب [28].

I.5. تصنيف العقارب :

I.5.1. فصائل (العائلات):

تنتمي العقارب إلى 6 عائلات التي تصنف في 70 صنف و يقدر العلماء حوالي أكثر من 1500 نوع منها منتشرة في العالم [32، 7] وهناك نوعان رئيسيان من هذه المجموعات الأكثر شيوعا و التي يشار إليها أحيانا برتبة فرعية وهما:

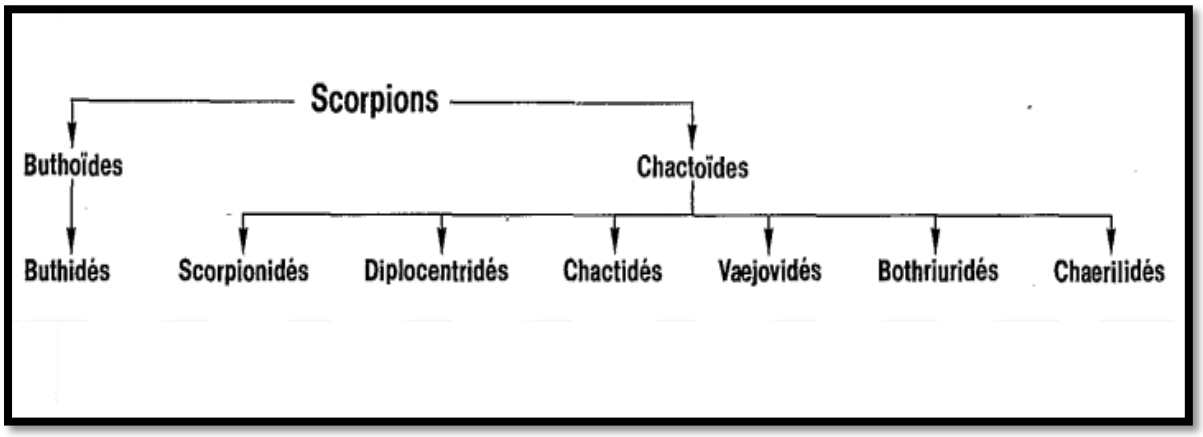
I.1.1.5. فصيلة البوثيدي (*Les Buthoides*):

هي عائلة واحدة لا تحسب مع عائلة البوثيدا buthidés و تشمل على أكثر من 300 نوع و كلها خطيرة [34,33] من بين هذه الأنواع :

Buthus ، Androctonus aeneas ، Androctonus australis ، Androctonus amoreuxi tunetanus، Buthachus arenicola ، Buthiscus bicalcaratus وOrthochirus innesi .

I.2.1.5. فصيلة تشاكتيود (Les Chactoïdes):

وهي مجموعة غير متجانسة تتكون من سبعة(7) عائلات وهي: Chactidés, Scorpionidés, Botriuridés, Diplocentridés Voejovidés, Choerilidés, Ischnuridés وهي تشمل النوع Scorpio maurus [35] موضحة في المخطط.التالي:



الشكل I.1 :مخطط العائلات الرئيسية للعقارب [36] .

تتميز العقارب الأكثر خطورة بكمشتها الدقيقة و ذيلها الثلاثي الواسع [37] و تعيش هذه العقارب في المناطق الجافة مثل شمال إفريقيا [38]، أمريكا الجنوبية و المكسيك [39].

I.2.5. الأنواع الرئيسية من العقارب التي وجدت في منطقة الواد:

حسب العائلة الرئيسية التي وضعها فاشون في سنة 1952 [9]، تنتمي الأغلبية العظمى من العقارب في منطقة الوادي إلى عائلة Buthidae تحتوى Androctonus Buthacus و ButhiscusButhus [40]، نذكر منها الأنواع التالية:

I.1.2.5. العقرب الساحل الشمالي أو عقرب ذات الذيل العريض (A.a.h) :

من الأنواع الكبيرة يصل طوله إلى حوالي 10سم، يتعرف عليه بسهولة من خلال ذيله الطويل و السميك المسنن (به قشور)، و لونه الأصفر الذي يميل أحيانا إلى البني الغامق مع أجزاء جسمه (مقاطع و حلقات الأخير من الذيل) [9]. يتنشر هذا النوع من العقرب في صحراء السينديان (saharo-sindienne) [41] و شمال افريقيا، أستراليا و في المناطق العليا من الواحات الجزائرية و التونسية و يمتد حتى شرق ليبيا [9] .

صورة I.12 : عقرب Androctonu saustralis [42].

I.2.2.5. بوثاكوس أرنيكولا (Buthacus Arenicola) :

حجمه صغير يتراوح ما بين 5 إلى 6 سم لونه أصفر فاتح و يميل أحيانا على بنية مصفرة يتميز بذيله الطويل و الرقيق جدا و يمكن التعرف عليه بسهولة و ذلك بفضل عيونه الكبيرة و الزوائد المتوسطة [9]. و وضح في الأبحاث العديد من الأنواع التي تنتمي إلى هذا الصنف و وجدت منها في الجزائر [47,46,45,44,43,34,28]، و في منطقة الوادي تحديدا في منطقة " الدبيلة" و هي[9] :

B. arenicola, B. arenicola, B. birulai, B. foleyi et B. leptochelysqui.

.

صورة I.13 *:* عقرب Buthacus arenicola [24].

I.3.2.5. بوثيسكوس بيكالكاراتوس (Buthiscus bicalcaratus) [47]:

حجمه يتراوح ما بين 5 الى 6 سم، و لونه يميل إلى الأصفر الفاتح مع كماشته كما يميل إلى الأصفر الداكن، و هذا النوع من العقارب نادرا جدا و ينتشر في الصحراء و يقتصر توزيعها على جنوب الجزائر وجنوب تونس [9]، و ذكر فاشون خلال أبحاثه أنها توجد في منطقة الوادي [9,7] .

الصورة I.14 *:* عقرب Buthiscus bicalcaratus [24].

I.4.2.5. بوثوس تونتانوس Buthus tunetanus:

متوسط الحجم يتراوح طوله ما بين 5 إلى 7 سم ، لونها بين الأصفر والأصفر الداكن كما أن بطنه قاتم نوعا ما (داكنة) [9]، و يتوزع الكثير من هذا النوع B-tunetanus في المغرب [49,48] و في الجزائر [50]، و في تونس [51]، وتنخفض عدد أفراده في منطقة الوادي [50].

الصورة I.15 *:* عقرب Buthus tunetanus [24].

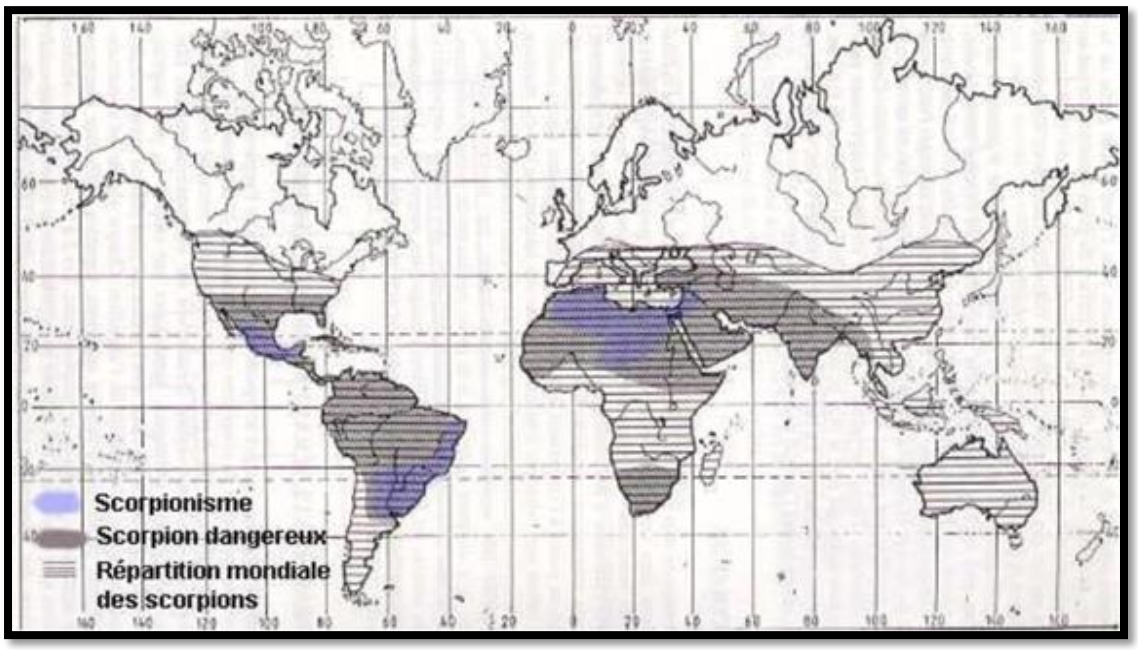
I.6.التوزيع الجغرافي للعقارب :

I.1.6. على مستوى العالم :

العقارب من أقدم الحيوانات على كوكب الأرض [7]، و هي عبارة عن حيوانات بطيئة و لها تنقل منخفض مرتبط بـالبيئة الحيوية، وهذا ما يفسر انتشارها الواسع أفقيا (خط الطول) و عموديا (خط العرض) [9]. أفقيا لا يمكن لأي نوع من العقارب الإنتقال نحو الشمال أو الجنوب، و تكون شروط الحياة لهذه الحيوانات أنها محبة للحرارة (thermophiles) كما يوضح التوزيع في صورة (16) [9].

يمكن للعقارب أن تشغل عدة موائل مختلفة (توزيع عمودي) : سهول، هضاب، وأعالي الجبال حتى إرتفاع 5000 متر(سلاسل الهمالايا) [52].

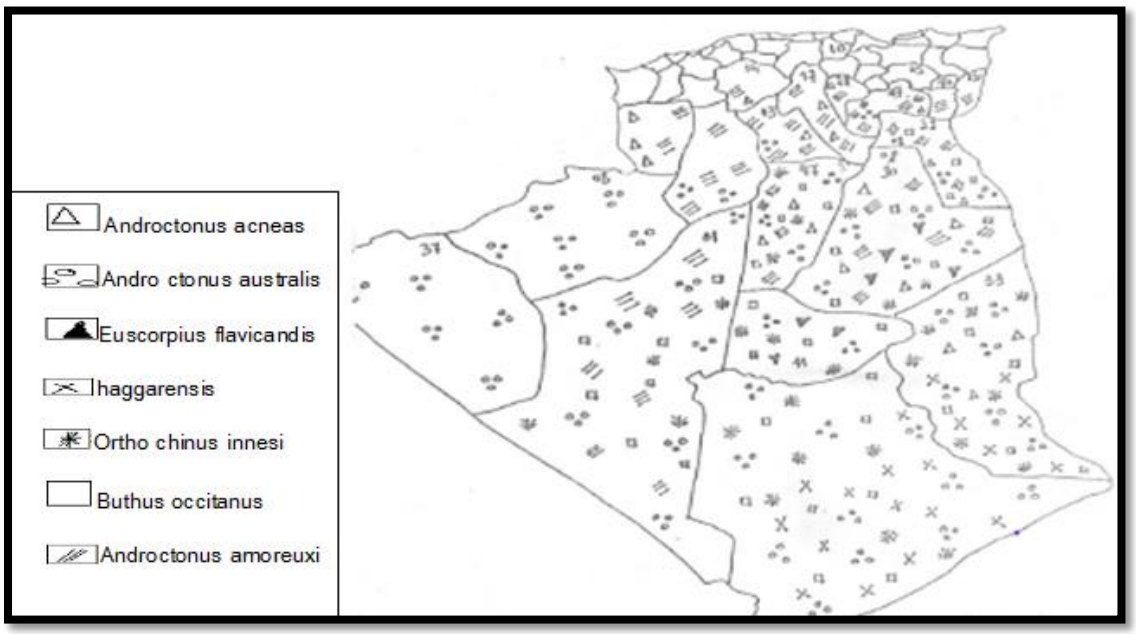
تعتبر العقارب كمثال نموذجي للحيوانات البوادي للمناطق الحارة (صحراء). يمكن أن تعيش أيضا في سهول سافانا (إفريقيا الإستوائية)، كما نجدها وبشكل أساسي في المناطق المعتدلة (إفريقيا الجنوبية) [33].



الصورة I.16 : التوزيع الجغرافي للعقرب في العالم [52].

I.2.6. على مستوى الجزائر :

توزيع العقارب على المستوى المحلي واسع جدا و متنوع، و من أجل دراسة شاملة لذلك من الضروري معرفة التوزيع عرضيا وطوليا. توزيع العقارب يوضح في صورة (17) وتبين تواجد أو غياب لبعض الأنواع في الشمال و في الجنوب [9].

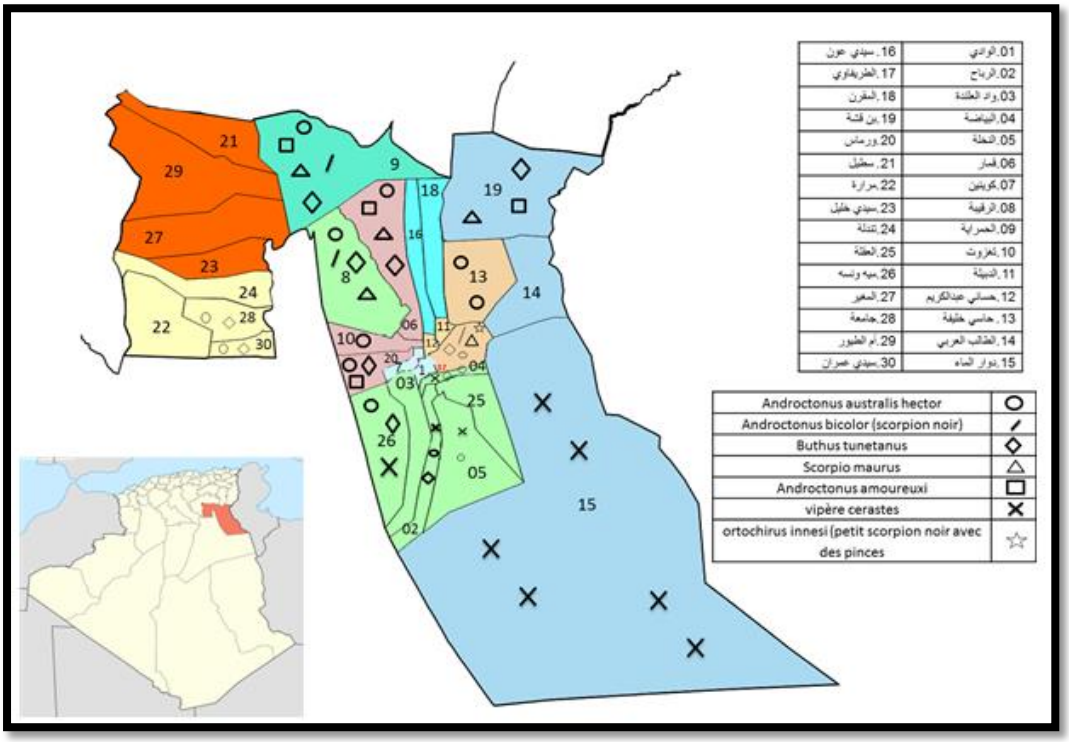


الصورة I.17 : التوزيع الجغرافي أنواع العقارب في الجزائر [53].

3.6.I. على مستوى ولاية الوادي:

العائلات الرئيسية التي وصفها فاشون (1952) [9]، والغالبية العظمى من العقارب لمنطقة الوادي تنتمي إلى عائلة Buthidae (تقريبا سبعة أنواع)، وهي من جنس واحد تنتمي إلى عائلة من Scorpionidae.

تتوزع أنوع العقارب في منطقة ولاية الوادي كما مبين في الصورة (18):



الصورة I.18: توزي التوزيع الجغرافي لأنواع العقارب في ولاية الوادي [54].

خلاصة الفصل :

يوجد بولاية الودي سبعة أنواع من العقارب متوزعة في جميع أنحاء المناطق الوادي [54]، لها أثر على حياة الإنسان، وهي كالتالي:

-Androctonus australis hector - Androctonus bicolor (scorpion noir) -Buthus tunetanus - Scorpio maurus - Androctonus amoureuxi - vipère cerastes - ortochirus innesi

البعض منها توجد في مناطق و لا تتواجد في أخرى بإستثناء العقرب A.a.h منتشرة في جميع المناطق و يعد من أخطر أنوع العقارب المتواجدة في مناطق ولاية الوادي .

مراجع الفصل الأول

[1]. GOYFFON M. et ELAYEB M., 2002- Epidémiologie du scorpionisme. Infotox n°15 juin, p 3.

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

[3]. DUNLOP J.A. et WEBSTER M., 1999- Fossil evidence, terrestrialization and arachnid phylogeny. The Journal of Arachnology, 27: 86-93.

[4].BRIANNA L., DAVID W., OLGA Z., PETER J., ROGER D. et GLENN F., 2005- Were arachnids the first to use combinatorial peptide libraries? Peptides, 26: 131-139.

[5].SOULAYMANI-BENCHEIKH R., SEMLALI I., SKALLI S. et TEBAA A., 1999- Épidémiologie des piqûres de scorpions au Maroc. Espérance Médicale, 6: 288-290.

[6]. BATTAGLIO V., 2005- Le scorpion de mer. In CHARRAB N. (2009). Analyse de la situation épidémiologique des piqûres et des envenimations scorpioniques dans la province de Beni Mellal. Maroc (2002-2007).Thèse de Doctorat National. Université Ibn Tofail. Maroc. pp213

[7]. POLIS G.A., 1996 - Biology of scorpions. 233p

[8]. GRASSE P. P., 1949- Traité Zoologie, Ordre des scorpions, Edit Muséum National d'Historique Naturelle, Paris, tome 6, p.p.386-436.

[9]. VACHON M.,1952- Etude sur les scorpions. Institut Pasteur d'Algérie. Alger.479p

[10]. GOYFFON M. et BILLIALD P., 2007- Envenimations. Le scorpionisme en Afrique. Med. Trop., 67 : 439-446.

[11]. GOYFFON M. et MARTOJA R., 1983- Cytophysiological Aspects of Digestion and Storage in the Liver of scorpion, Androctonus australis (Arachnida). Cell Tissue Res. P.228, p.p. 661- 675

[12]. HUHTA V., 1971- Succession in the spider communities of the forest floor after clear cutting and prescribed burning. Ann. Zool. Fennici, 8: 483- 542.

[13]. ANONYME 1, 2015,Larousse, de vie sauvage [en ligne] (page consultée le 15/03/2015).

[14]. ISMAIL M., 2003- Treatment of the scorpion envenoming syndrome: 12 years experience with serotherapy. International Journal of Antimicrobial Agents, 21, (2): 170-174.

[15]. GEOFFREY K I., ERICH S V., CORRINE R B. et MARK S H., 2003- Australian scorpion stings: a prospective study of definite stings. Toxicon,41: 877-883.

[16]. VINCENT C., 2002- Le scorpion des sables, sourd, aveugle mais fin chasseur. Le monde, 28 Janvier .

[17]. SADINE S. E., ALIOUA Y. BRIKI A. & CHENCHOUNI H., 2010- Quelques aspects sur la diversité scorpionique du Parc National de Belezma (Batna, Nord-est Algérie). Journées Nationales de Zoologie Agricole et forestière. 19, 20 et 21 avril 2010. Alger. Algérie.

[18]. ELOUNEG M., 1993- Conduite à tenir devant une Envenimation scorpionique. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'infirmier d'Etat. BATNA.

[19]. SALEK M. O. M. S., 1983- Contribution à l'étude de l'envenimation par morsures ou piqûre de serpents et scorpions dans la province de Marrakech. Thèse de Méd., Fac. Méd. et Pharm. de Rabat, n°423, pp 104.

[20]. GEFEN E. et AR A., 2005- The effect of desiccation on water management and compartmentalisation in scorpion: the hepatopancreas as a water reservoir. J. Exp. Biol, 208, (10): 1887-1894.

[21]. GRAEME L., STEVEN R. K. et DOUG E., 2003- A Powerful New Light Source for Ultraviolet Detection of Scorpions in the Field. Euscorpius, 8: 1–7.

[22]. PINKSTON K. et WRIGHT R., 2001- Scorpions. OSU Extension Facts, 7303.

[23]. GOUGE D. H., SMITH K. A., OLSON C. et BAKER P., 2001- Scorpions. A Coopérative Extension. AZ 1223.

[24]. OUDIDI A., 1995- Les intoxications par piqûre de scorpion à Beni Mellal : étude prospective d'Avril 1995 à septembre 1995. Thèse de méd., Fac. Méd. et Pharm. de Rabat. pp 92.

[25]. SADINE S. E.,2005- Contribution a l'étude bioécologique de quelques espèces du scorpion ; Androctonus australis, Androctonus amoreuxi, Buthacus arenicola, Buthus tunetanus et Orthochirus innesi dans la wilaya de Ouargla, Mémoire Ingénieur d'Etat en Biologie, Option Ecologie et environnement, Université de Ouargla. Algérie. pp100

[26]. CHARNOT A. et FAURE L., 1934- Les scorpions du Maroc. Bull. Inst. Hyg. Maroc, 4: 81-148.

[27]. KARREN J. B., 2001- Scorpions. Extension Entomology, n° 68 .

[28]. LOURENÇO W. R., 2000- Reproduction in scorpions, with special reference to parthenogenesis. European Arachnology, 71-85.

[29]. PERETTI A.V. et CARRERA P., 2005- Female control of mating sequences in the mountain scorpion Zabius fuscus: males do not use coercion as a response to unreceptive females. Ethology, 112, (2), 152-163

[30]. LOURENÇO W.R. et CUELLAR O., 1995- Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. J.Venom. Anim. Toxins, 1(2): 51-62.

[31]. ROGER F.,2005-Developmental changes in the embryo, pronymph, and first molt of thescorpion Centuroides vittatus (Scorpiones: Buthidae).Journal of Morphology, 265 (1) : 1-27.

[32]. GOYFFON M., 2002- Le scorpionisme en Afrique sub-saharienne. Bull. Soc. Patho. Exot., 95: 191-193.

[33]. GUERON M., REUBEN I. et GIORA M., 2002- Arthropod poisons and the cardiovascular system. American Journal of Emergency Medecine, 18, (6): 708-714.

[34]. LOURENÇO W. R., 2001- Further taxonomic considerations on the Northwestern African species of Buthacus Birula (Scorpiones, Buthidae), and description of two new species. Entomologische Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum Hamburg, 13(163): 255–269.

[35]. DHAWAN R., SURESH J., ANURAG S. et ANIL K., 2002- Purification and characterization of a short insect toxin from the venom of the scorpion Buthus tamulus. FEBS letters, 528: 261- 266 .

[36]. BROGLIO N. et GOYFFON M., 1980- Les accidents d'envenimation scorpionique. Le Concours Médical, 102 (38) : 5615-5622.

[37]. TOUREILLES J. M., 2002- Premiers secours : piqûres de scorpions. Sahariens, fiches conseil.

[38]. GANTENBEIN B. et LARGIADÈR C.R., 2003- The phylogeographic importance of the Strait of Gibraltar as a gene flow barrier in terrestrial arthropods: A case study with the scorpion Buthus occitanus as model organism, Mol. Phylogenet. Evol., 28: 119–130.

[39]. MAZZOTI, L. et BRAVO-BECHERELLE, M.A., 1963- Scorpionism in the Mexican Republic. In: Keegan, H.L., McFarlane, W.V. (Eds.), Venomous and Poisonous Animals and Noxious Plants of the Pacific Area. Pergamon Press, London, pp. 119–131

[40]. ADOLFO R., SUSANA I., OSCAR D., LILIANA S., JORGE A., RAUL F. et ERNESTO H., 2003- Epidemiological and clinical aspects of scorpionism by Tityus trivittatus in Argentina. Toxicon, 41, 971-977.

[41]. GENIEZ P., 2009- Découverte au Maroc d'Androctonus australis (Linnaeus, 1758) (Scorpiones, Buthidae). Poiretia (1): 1-4.

[42]. LOURENÇO W. R., 2000- A new species of Buthacus Birula from Morocco (Arachnida: Scorpiones: Buthidae). Faunistische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden, 22(1): 5–9.

[43]. LOURENÇO W.R., 2006- Further considerations on the genus of Buthacus Birula, 1908 (Scorpiones, Buthidae) with a description of one new species and two new species". Bol. SEA, 38: 59-70.

[44]. LOURENÇO W. R., 2004b- New considerations on the Northwestern African species of Buthacus Birula (Scorpiones, Buthidae) and description of a new species. Revista Ibérica de Aracnología, 10: 225–231.

[45]. LOURENÇO W. R., 2004a- Description of a new species of Buthacus Birula, 1908 (Scorpiones, Buthidae) from Afghanistan. Entomologische Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum Hamburg, 14(170): 205–210.

[46]. LOURENÇO W. R., 2004c- New considerations on the northwestern african species of Buthacus birula (scorpiones, buthidae), and description of a new species. Rev. Iber. Arachnol., 10: 225-231.

[47]. BIRULA A. A., 1905- Skorpiologische Beiträge. 4. Buthiscus g. n., 5. Buthiscus bicalcaratus . Zool. Anz. 29 (19): 621-624.

[48]. HERBST, J. F. W., 1800- Naturgeschichte der Skorpionen. Natursystem der Ungeflügelten Insekten. Berlin: Bei Gottlieb August Lange, 86 pp

[49]. TOULOUN, O., SLIMANI, T et BOUMEZZOUGH, A., 1999- Découverte au Maroc de Buthus occitanus tunetanus var. neeli Gysin, 1969 (Scorpiones, Buthidae). Arachnides, 41 : 28-30.

[50]. LOURENÇO W. R., 2002- Considérations sur les modèles de distribution et différentiation du genre Buthus Leach, 1815, avec la description d´une nouvelle espèce des montagnes du Tassili des Ajjer, Algérie (Scorpiones, Buthidae). Biogeographica, 78(3): 109-127.

[51]. KOVARIK F., 2006- Review of Tunisian species of the genus Buthus with descriptions of two new species and a discussion of Ehrenberg' s types (Scorpiones: Buthidae). Euscorpius 34: 1-16.

[52]. Site web 1- http://www.chru-lille.fr/cap/ca5-01oct1.htm

[53]. M. Khiati , l'envenimation scorpionique en Algérie, collection le cour de médicine OPU,1984.

[54]. Site web 2- www. Dsp – eloued. Dz.

الفصل الثاني

عموميات عن السم

تمهيد:

سم العقرب ذو طبيعة بروتينية، و هو عبارة عن مزيج يتكون من جزء سام وجزء آخر غير سام، ويحوي جزيئات نشطة دوائيا، بحيث تستخدمه العقرب للدفاع عن نفسها و تخدير فرائسها [1].

1.II. سم العقرب:

1.1.II طرق استخراج سم:

يتم تجميع السم بثلاثة طرق وهي :

1.1.1.II. تحت تأثير إثارة كهربائية للعقرب :

يتم معالجة العقارب بإثارة كهربائية متمثلة في تمرير تيار كهربائي شدته 12 فولط وذلك بوجود قطبين كهربائيين يتم تبليلهما بمحلول ناقل مثل ماء الحنفية.

يعرض الجزء العلوي و الجزء السفلي من جسم العقرب بالتحديد الحلقات الأولى من ذيلها في كلتي القطبين، فيحدث لها انقباض عضلي للغدة السامة فتطرح السم [2].

2.1.1.II. تحت تأثير إثارة يدوية للعقرب :

يتم هذا التجميع عن طريق التحفيز اليدوي، وهي طريقة خطيرة جدا على الإنسان، و تعتمد على آلية فيزيائية تتمثل في وضع العقرب بين اليدين بطريقة تسمح لمستعملها بحقن ابرة في الذيل و تحديدا في الغدة السمية لنزع السم منها .

تكون كمية السم المجمعة تحت تأثير إثارة يدوية قليلة جدا، ولكنها في نفس الوقت أكثر نقاوة من الكمية المتحصل عليها عن طريق التحريض الكهربائي [2].

3.1.1.II. إستخلاص عن طريق طحن الدبير :

بعد عملية تجميد تحت درجة 30° مئوية للذيل يتم تقطيع الدبير المتمثل في الحلقة الأخيرة المحتوية على الشوكة أو الإبرة . ونقوم بطحن هذه الحلقة ثم وضعها في محلول فيزيولوجي، في بعض الأحيان يخضع هذا الأخير لمعالجات بهدف دراسة تحليلية متمثلة في دراسة كروماتوغرافية والكسر الأسيتوني (Fractionnement Acétonique) .

يكون مردود السم في هذه الطريقة ضعيفا مقارنة بطريقة تأثير بالإثارة الكهربائية والإثارة اليدوية للعقرب [3].

II.2.1. خصائص السم (Venin) :

II.2.1.1. الخصائص الفيزيائية :

هو سائل لزج وبراق [4]، مستقر عند PH حامضي، وهو مقاوم للحرارة، غير قابل للمزج مع الماء، و يمكن تخزينه لسنوات عديدة، و يفقد درجة سميته (toxicité) عند التسخين تحت درجة 100º في مدة تقدر بـ 90 دقيقة [5].

تتراوح كمية سم في العقرب حوالي 100 الى 600 ملغ، كما تختلف كميته من عقرب إلى آخر و ذلك حسب نوع العقرب، فمثلا عند العقرب Androctonus mauretanicus كميته تقدر بـ 8,24 ملغ وعند العقرب Buthus occitanus tunetanus هي 0.29 ملغ [5].

تعتمد نسبة المادة السامة (toxicité) في سم العقرب على : الحجم ، العمر ، نوع تغذيتها ، نوع جنسها، وعلى الظروف المناخية (الطقس) التي تعيش فيها [6].

II.2.1.2. الخصائص الكيميائية :

يتكون سم العقرب من عدة مواد مختلفة مثل البروتينات، الدهون، الأملاح، الإنزيمات، الأمينات حيوية المنشأ مثل السيروتونين (5 -هيدروكسي)، النيوكليوتيدات و توكسينات (Tocxine) [9,8,7] .

تعتبر مكونات السم معقدة، ومختلفة و محددة من نوع إلى آخر حسب نوع العائلة [10]، فمثلا سم عائلة buthides يحوي على جميع العناصر المذكورة وهو يعتبر أكثر سمية للإنسان [12,11].

إن سم buthides و chactides يملكان تكوينة متشابهة تماما في السمية ، وهو يحتوي على إنزيمات متزايدة و مختلفة مثل (الأنزيم البروتيني، فسفولیباز والدموية) مما يعمل هذا الأخير على زيادة درجة السمية و خطورتها [12].

يرجع خطر السمية (Toxicité) لسم عائلة buthides إلى وجود بروتينات أساسية صغيرة و ضعيفة متشكلة من تسلسل بقايا الأحماض الأمنية.

جميع سموم العقارب تحتوي على العديد من التوكسينات (toxines) المتفاوتة على حسب النوع الذي تنتمي إليه العقرب، فمثلا سم العقرب B.o.t لها تقريبا إحدى عشر(11) توكسين [13]، وهذه الأخيرة تعمل عملا إنتقائي نحوا الحشرات، الثدييات، والقشريات [15,14].

II.3.2.1. الخصائص الدوائية :

وفقا إلى ما أشار إليه كريفي (KRIFI) فإن سم العقرب يتميز بالخصائص التالية [16] :

- إمتصاص قوي.
- يكون توزيعه سريع في الجسم من 4 -7 دقائق في الوريد وأقصى ذروة لتوزيعه عند 37 دقيقة بعد الحقن، و يصل إلى أقصى تركيز له مباشرة بعد 15 دقيقة في الدم.
- فترة القضاء على تأثير التوكسين طويلة و هي من 4 إلى 21 ساعة، بإستثناء سم العقرب Androctonus crassicauda مدة القضاء عليه بطيئة جدا تصل إلى 24 ساعة [6].

II.3.1. تركيب سم (venin) العقرب :

تشير معظم الدراسات على سموم العقارب إلى أنواع ذات أهمية طبية، خاصة للأسرة Buthidés . في عام 1960 أظهرالعالم بيرت (bert) مدى تأثير سم العقرب على الأعصاب و قوة عملها، رغم ذلك لم يتمكن من التعرف على المكونات الأساسية للسم و المسؤولة عن التأثير العصبي، إلا في عام 1985 من قبل فريق مرسيليا (marseillaise) [17]، ووافقهم بعد ذلك كل من حمودة وبن صلاح في سنة 2010 [18].

بعد عمليات التحليل والكشف تمكنوا من معرفة المكونات الأساسية للسم، التي هي عبارة عن:

- ببتيدات وهي غير سامة تدعى بالجزء الغير سام (اللمف الدموي).
- بروتينات سامة تدعى بالجزء السام.

II.1.3.1. الجزء الغير سام من السم الخام :

عبارة عن ببتيدات يتم الحصول عليها بتقنية الفصل الكروماتوغرافي . وهو يتكون من إنزيمات (مثل انزيم البروتياز protéases، الدهون الفوسفاتية phospholipases، الفوسفوديستيراز phosphodiestérases، ليستيناز lécithinases، وهيالورونيداز hyaluronidase ....)، و هذا الأخير يجعل إختراق الأنسجة سهلا بالنسبة لتوكسينات (toxines) الهستامين، السيروتونين، و كاينين [18].

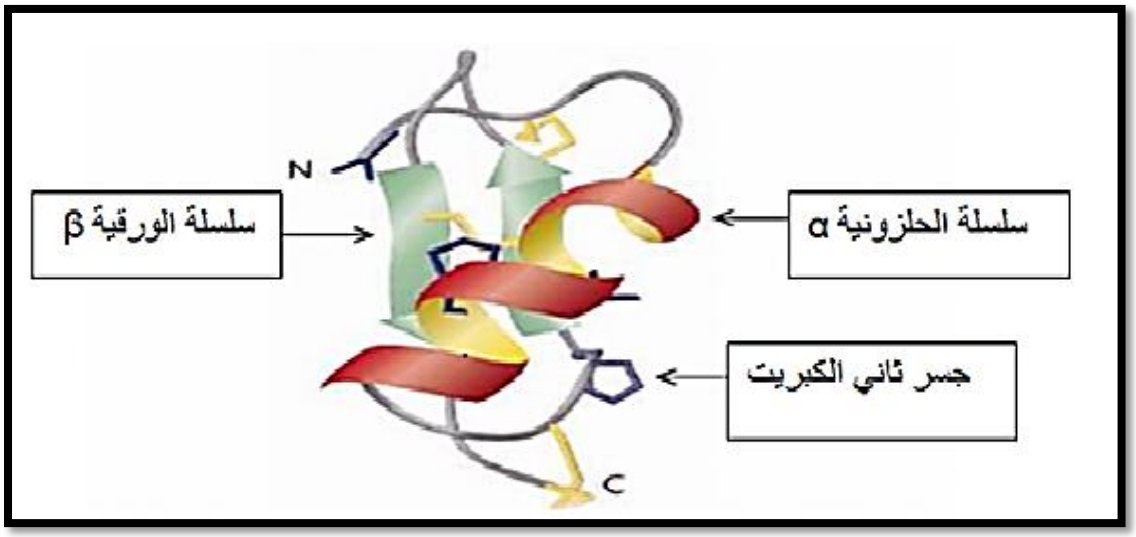
يعتبر توكسين السيروتونين هو أصل الألم عند حقن السم [19].

II.2.3.1. الجزء السام التوكسين (toxines) :

المتمثل في التوكسين (Toxine)، وهو المادة السامة الموجودة في سم (Venin) العقرب.

يتكون التوكسين من بروتينات صغيرة قاعدية ذات كتلة جزيئية ضعيفة وغالبا ما تمثل نسبة 4 إلى 5 % من السم (venin) [20]. تسمح الدراسات التابعة للتوكسين بتقسيم الجزء السام (التوكسين) إلى سلسلتين رئيسيتين هما : توكسينات طويلة و توكسينات قصيرة.

نميز أربعة عائلات من المادة السامة العصبية (التوكسين) التي لها أثر على الأغشية الخلوية المثارة المتمثلة في الخلايا العصبية و العضلية وهي : قنوات الصوديوم Na^+ (سم طويل)، قنوات البوتاسيوم K^+ (سم قصير) ، قنوات الكالسيوم Ca^{++} وقنوات الكلور Cl^- [20].



صورة II.1 : هيكل توكسين (tocxine) سم العقرب محددة بالرنين المغناطيسي [21].

II.1.2.3.1. التوكسينات الطويلة :

هي عبارة عن ببتيدات يكون عددها من 60 إلى 70 مترسبة من أحماض أمينية مستقرة عن طريق أربعة روابط تدعى بالجسور ثنائية الكبريت، هذه التوكسينات عموما ما تكون لها ألفة لقنوات الصوديوم Na^+ في الخلايا المثارة والمميزة بترتيب خاص [22].

هذه الببتيدات خاصة بخلايا حيوانية معينة والمتمثلة في الثدييات، الحشرات والقشريات [22].

II.2.2.3.1. التوكسينات القصيرة :

بعد سنة 1989 أصبحت التوكسينات القصيرة تسبب آثارا معقدة على قنوات البوتاسيوم K^+، وهذا بعد تنقيتها من سموم العقارب المختلفة الأنواع [23].

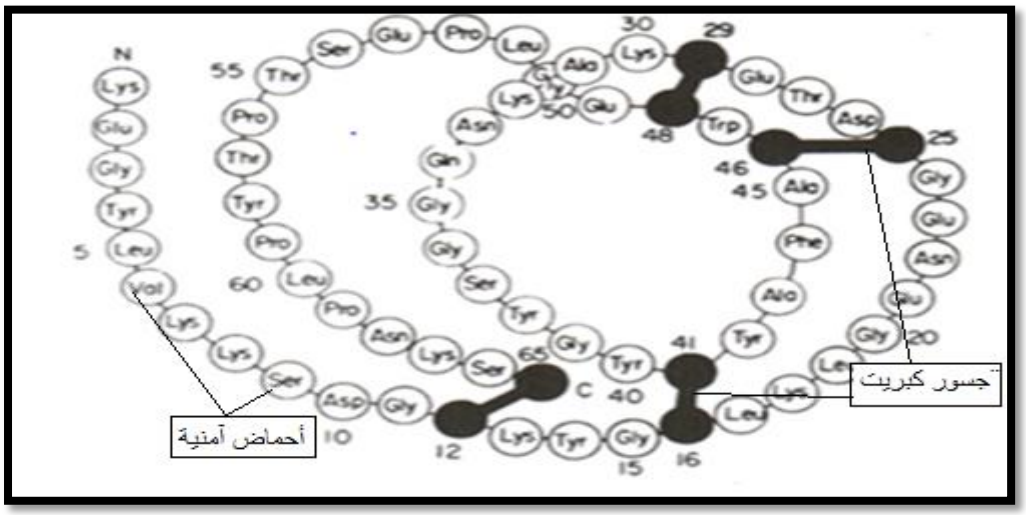
يتكون عدد الببتيدات في التوكسينات القصيرة من 31 إلى 39 راسب من الأحماض أمينية، وهي عبارة عن رواسب متفرعة بثلاثة جسور ثنائية الكبريت. هذه التوكسينات تكون نشطة على قنوات البوتاسيوم K^+، وتمثل نسبة قليلة في سم العقرب [24].

للتوكسينات القصيرة ببتيدات أخرى متفرعة بأربعة جسور ثنائية الكبريت و معرفة على أنها توكسينات صغيرة فعالة على الحشرات وهذا ما يؤكد نشاطها على قنوات الكلور Cl^- [25].

II.3.2.3.1. التوكسينات النشطة على قنوات الصوديوم Na^+ :

II.1.3.2.3.1. التوكسينات النشطة على الثدييات :

حسب طبيعة التثبت الخاص في المواقع ثلاثة وأربعة الموجودة في قنوات الصوديوم Na^+، تبين هذه التوكسينات نوعين من الإستجابة تم تصنيفها إلى توكسينات ألفا α و توكسينات بيتا β، مرتبطة بأربعة جسور ثنائية الكبريت وروابط تساهمية تمنحها الإستقرار أكثر [25].



صورة II.2 : هيكل التوكسين الخاص بقنوات الصوديوم (الثديات)[25].

- **التوكسينات من النوع α :**

تتثبت هذه التوكسينات في الموقع الثالث، وتسبب فرق نوعي في الكمون الذي يؤثر على الحالة الغير نشطة لقنوات الصوديوم Na^+، هذا التثبت يتعلق بفرق الكمون للغشاء.

تعتبر التوكسينات α هي المسؤولة على السمية (toxicité) في سم العقرب، هذه توكسينات هي التي تم إكتشافها قديما [26].

من التوكسينات الفعالة لهذا النوع α توكسين Aah II من العقرب A.a.h [27,26].

- **التوكسينات من نوع β :**

ترتبط هذه التوكسينات بالموقع أربعة الخاص و الموجود بقنوات الصوديوم Na^+، و يكون هذا الموقع بشكل مستقل عن جهد الغشاء، ويعمل على تنشيط قنوات الصوديوم Na^+، ويتم ذلك عن طريق فرق في الكمون جد سلبي، هذا الأخير تتبعه رتابة في فرق الكمون. وهذه توكسينات هي التي تم إكتشافها حديثا [26].

يعتبر توكسين Css II الذي ينقى من العقرب Centruroides suffusus suffusus كمرجع لهذا النوع من التوكسينات β الطويلة [28].

II.2.3.2.3.1. التوكسينات النشطة على الحشرات :

يوجد ثلاثة أنواع من التوكسينات المضادة للحشرات وهي:

- **توكسينات الإنكماش (التقلص) :**

هي توكسينات مسؤولة عن شلل سريع مرتبط بإنقباض عضلي عام لحيوان الإختبار [29]، وهي كذلك ما يعرف بالتوكسينات من النوع التحريضي، لأنها تحدث زوال إستقطاب في كمون الغشاء، يرفق ذلك بتناقص في الغشاء و هذا ما يصحبه نقصان في سعة كمون الحركة [23].

يعتبر التوكسين AaH IT1 المنقى من سم العقرب Andractonus australis Hector توكسين الانقباض المضاد للحشرات، فهو يتثبت على نوع واحد من المواقع الغشائية بشكل مستقل عن الكمون، مثل التوكسينات من نوع β [23].

- **توكسينات الإرتخاء:**

هي توكسينات تسبب شلل و رخو لعضلات حيوان الإختبار، أكدت الدراسات الكهروفيزيولوجية أن هذه التوكسينات تعمل على تحريض و تثبيط كمون الحركة، يتبع ذلك زوال استقطاب غشائي كبير و تثبيط لتيار قنوات الصوديوم Na^+ [23]. من بين هذه التوكسينات توكسين LqhIT2 هو من سم العقرب leiurus quinquestriatus herbraeus، يتثبت هذا التوكسين على نوعين من المواقع الغشائية للألياف العصبية، موقع يكون ذو ألفة ضعيفة والآخر ذو الفة كبيرة [30].

II.3.3.2.3.1. التوكسينات المزدوجة الخاصية :

بعض التوكسينات تظهر خاصية مزدوجة، أي تعمل عمل مزدوج فتكون مضادة للثدييات و كذلك مضادة للحشرات، فعلى سبيل المثال السم Ts VII هو من سم العقرب Tityus serrulatur الذي يظهرأحيانا فعالية مضادة للثدييات و أحيانا أخرى يبرز فعالية مضادة للحشرات [30].

تعتبر التوكسينات lqhα IT و lqq III توكسينات مزدوجة الخاصية وهي من النوع α [31].

II.4.2.3.1. التوكسينات الفعالة على قنوات البوتاسيوم K^+ :

تمثل التوكسينات الفعالة على قنوات البوتاسيوم K^+ نسبة ضعيفة جدا من سم(venin) العقرب، وهي مقدرة بـ (<1% من الوزن الجاف) [32]. تصنف هذه التوكسينات إلى عائلتين كبيرتين، تكون مصنفة على حسب خاصية التماثل في بنيتها الأولية :

- **العائلة الأولى:**

وهي ببتيدات القصيرة جدا تتكون من 29 إلى 31 حمض أميني، وهي تعمل على تثبيط القنوات من النوع SK^+ (قنوات البوتاسيوم K^+ منشطة من طرف الكالسيوم بناقلية صغيرة، يسمى ببتيد هذه العائلة بـالأبامين الحساسة (Apamine-sensible) [32].

- **العائلة الثانية:**

تنقسم الى عائلات كثيرة تتكون من ببتيدات تحوي من 37 إلى 39 حمض أميني، عموما ما تكون هذه الببتيدات متفرعة بجسور ثنائية الكبريت، تكون هذه ببتيدات ثلاثية و رباعية [32].

II.1.4.2.3.1. التوكسينات القصيرة جدا:

تتكون هذه التوكسينات من29 إلى 35 حمض أميني، تمتلك هذه الأخيرة ألفة كبيرة لقنوات البوتاسيوم K^+ ، وهي متعلقة بناقلية ضعيفة[33] .

من أهم هذه التوكسينات في هذه العائلة هي توكسينات الأعصاب (neurotoxines) LTX وهي من العقرب Leiurus quiquestraitus، و السم TSK من عائلة Buthidé من العقرب Tityus serrulatus بأمريكا الجنوبية [34].

II.1.2.3.2.4. التوكسينات القصيرة :

تتكون هذه التوكسينات من أحماض آمنية عددها محصور ما بين 35 إلى 39 حمض أميني، لها ألفة محدودة مقارنة بالسابقة (التوكسينات القصيرة) [35]، و يمكن تقسيمها الى 4 عائلات وهي:

- **تحت العائلة (CTX) charybdotoxine :**

تعتبرهذه العائلة من التوكسينات المرجعية وهي التي تثبط قنوات الكالسيوم Ca^{++}، و تؤثر على قنوات البوتاسيوم K^+ المرتبطة بناقلية واسعة BK و كذلك بكمون مختلف للأنسجة [35].

- **تحت العائلة (NTX) noxiustoxine :**

هذه التوكسينات تؤثر على الكمون المتعلق بقنوات الكالسيوم Ca^{++} والمتعلق بمختلف الأنسجة المحرضة و الغير محرضة، تتكون هذه التوكسينات من 39 حمض أميني [35].

- **تحت العائلة (KTX) kaliotoxines :**

تحوي توكسينات هذه المجموعة kaliotoxines و agitoxines، وهي توكسينات جد متجانسة، تمثل نسبة 70% في تشابه سلاسلها، وهي خاصة بقنوات الكالسيوم K^+ [36].

- **تحت العائلة (Tskα) :**

هذه التوكسينات مستخرجة من سم العقرب البرازيلي Tityus serrulatus، لها خاصية تثبيط الكمون المتعلق بقنوات البوتاسيوم K^+ [36]، وهي خاصة بالتوكسينات التي بها أربعة جسور ثنائية الكبريت، مثل ما هو موجودة في توكسين العقرب الإمبراطوري Pandinus imperator ، والتي لها تشابه كبير في سلاسلها ما يقارب حوالي 60% مع سلاسل التوكسينات ذات ثلاثة جسور ثنائية الكبريت [35].

II.1.2.3.5. التوكسينات النشطة على قنوات الكلور Cl^- :

هذا النوع هو من أول الجزئيات التي تم تنقيتها من سم العقرب Buthus épeus. وهي عبارة عن بيبتيدات قصيرة مكونة من 135 راسب من الأحماض الأمينية غالبا ما تكون هذه البيتيدات متفرعة بأربعة جسورثنائية الكبريت، هذه الجزئيات غير موجودة في الإفراز الفيسيولوجي (السم اليدوي)، بحيث يجب إفراغ السم بشكل ميكرو مولي داخل السيتوبلازم لكي تكون له القدرة على تثبيط القنوات العصبية بألفة. إن بيبتد كلور توكسين (chlorotoxine) قادر على تثبيط قناة الكلور التي لها كمون نشط، وهي توصف على أنها خاصة بخلايا الانسان [37].

II.2.3.1.5. التوكسينات النشطة على قنوات الكالسيوم Ca^{++} :

هي ببتيدات معزولة ، متكونة من 33 حمض أميني لها ثلاثة جسور ثنائية الكبريت، و هي ذات سلاسل لا تتشابه مع أي سلسلة أخرى للتوكسينات القصيرة، و هذه التوكسينات تعرف كمثبطات لقنوات الكالسيوم Ca^{++} المنشطة بكمون خاص بها [38].

II.2. المصل المضاد للسم :

بعدة عدة عقود من العمل على مكافحة السم و البحث عن علاج له تم التوصل الى طريقة يتم من خلالها استخراج مضاد للسم يعرف بالمصل المضاد، ويستخرج هذا الأخير دائما من البلازما أو من مصل الحيوانات ، وعادة ما يستخدم الحصان لأنه مفرط المناعة و يتمتع بصحة جيدة كمصدر لهذا المصل و ذلك لإحتواء جهاز مناعته على مضاد السم و يتغلب طبيعيا عليه [39].

يتم حقن السم تحت جلد الحصان أو عن طريق الوريد بعد مدة قصيرة يقوم الجهاز المناعي للحصان بتحفيز و إنتاج الأجسام المضادة في الدم، كل هذه الأجسام المضادة في الدم تشكل ما يعرف "ummuno-serum" [39].

لا يستخدم هذا المصل المناعي في حالته الخامة حيث يخضع إلى معالجات متتالية لزيادة كفاءته و تحسين فعاليته.

عملية الهضم الـ IgG (150 KDa) بالبيسين تحرر حطيمات 2(Fab) من متوسط الوزن الجزيئي (KDa100)، تحوي هذه الحطيمات نحوي موقعين لتثبيت المستضد النوعي (أنتوجين). يكون العلاج بالبيبسين المحرر حطيمات Fc ، و يكون أيضا بإثنان (2) من الحطيمات الـ (Fab) المتحرر من متوسط الوزن الجزيئي (50KDa) و الحامة مستضد واحد متكافئ لإرتباط الأجسام المضادة. هذه الميزات تعطي لحطيمات (Fab) خصائص بيولوجية مختلفة عند المقارنة مع الأجسام المضادة الأصلية (IgG) و الحطيمات، فوجد أن لكل معاجة منهم ميزات خاصة بها [39].

II.2.2. المصل المضاد لسم العقرب المستعمل في الجزائر:

المصل المضاد لسم العقرب مصفى ومستحضر من البلازما النقية المأخوذة من خيول قد تم تحصينها ضد سم عقرب أندروكتونيس أستراليس هكتور A.a.h .هذا المصل تكون فعاليته ليس فقط على سم هذا النوع من العقارب، بل يكون فعالا لكل العقارب، أختير هذا النوع لأنه أكثر خطورة في الجزائر و كذلك يمثل أكثرية الأنواع المتواجدة في شمال إفريقيا والشرق الأوسط.

يحتوي هذا المصل المضاد على 1 مل من الأجسام مضادة تعادل على الأقل 1500 وحدة سمية من السم الجاف للعقرب أندروكتونيس أستراليس هكتور، و يحفظ بعيدا عن الضوء ودرجة الحرارة +2° و+8°، وتستمر صلاحيته في هذه الأحول لمدة ثلاثة سنوات.

يستخدم المصل في علاج التسمم الناتج عن لسعة العقرب فقط، وذلك في أسرع وقت ممكن بعد اللسعة حتى بعد مرور ساعة عند الأطفال الصغار، وذلك بالنظر إلى الفعل السمي العصبي القوي لسم العقرب الذي يتثبت إختياريا وسريعا على الخلية العصبية [40].

3.II. طرق تحليل السم:

3.II. 1. التحليل الكروماتوغرافي بواسطة الـ HPLC:

تتركز جميع طرق الفصل الكروماتوغرافي على مبدأ توزيع مكونات الخليط بصورة مختلفة بين الطورين المتصلين، طور ثابت وآخر متحرك. تنتقل مكونات الخليط على الطور الثابت بإنسياب الطور المتحرك خلاله ويتم الفصل نتيجة إختلاف قوى التجاذب بين المواد في الخليط والطورين مما يؤدي إلى الإختلاف في سرعة هجرة المكونات ومن ثم إختلاف مواقعها على الطور الثابت مع مرور الزمن، وهذا يعود لخصائصه الذاتية (حجمه ، هيكله ..) أو صلته مع الطور الثابت (القطبية) [43].

إن حركة المكون تتناسب عكسيا مع معامل التوزيع، ولا يمكن للفصل أن يتم إلا بوجود إختلاف ملحوظ في معامل التوزيع لمكونات الخليط الموضح في المعادلة التالية [44]:

$$K = C_S / C_M$$

- K : معامل التوزيع.
- C_S: معامل التجزؤ في الطور الثابت.
- C_M : معامل التجزؤ في الطور المتحرك .

1.1.3.III. 1. تعريف الكروماتوغرافيا السائلة عالية الجودة الـ HPLC :

الـ HPLC هي نوع من الكروماتوغرافيا السائلة عالية الجودة، لأنها تحتوي على تكنولوجيا ذات تقنية عالية يمكن لها فصل و تحديد المركبات ذات الصعوبة كبيرة، تكون كمية المواد المذابة قليلة جدا كما أن النتائج المحصل عليها تكون جيدة و واضحة لهذا يكون لها الأفضلية في مجال البحث و الكشف عن المركبات.

تعتبر الـ HPLC من أفضل أجهزة الفصل المستخدمة في فصل البروتينات وذلك لما يتميز به من بساطة وسرعة عالية في فصل ودقة متناهية بإستخدام مادة صلبة ذات القابلية لإمتزاز المركبات أو ما يسمى بكروماتوغرافيا الإمتزاز [43].

II.2.1.3. مبدأ عمل الكروماتوغرافيا الـ HPLC :

الإمتزاز اللوني (كروماتوغرافيا الـ HPLC) في الحالة السائلة - الصلبة، يتميز بطور ثابت غالبا ما يكون ثاني أوكسيد السيلكون (سليس)، ويكون هذا الطور قطبي أو معكوس القطبية، بحيث نستطيع قلب القطبية بإستعمال حجوم مختلفة من 2 إلى 18 ذرة كربون ومنه تتغير القطبية.

الطور المتحرك يكون قطبي ومحب للماء، بحيث يعتمد الفصل على تداخل الأقطاب الكارهة للماء بين الجزيئات المفصولة والطور الثابت[43].

II.2.3. اختبار الجرعة القاتلة من السم DL_{50} (درجة سمية السم):

درجة سمية (toxicité) السم تختلف من نوع الى آخرمن حيث أنواع سموم العقارب و تختلف أيضا داخل نفس النوع الواحد و ذلك وفقا لسلال أو النوع الذي تنتمي إليه العقرب، و عادة ما يتم تقيم درجة السمية بـ (DL_{50}) عند الفئران والأرانب في ظروف و شروط موحدة [41].

تحسب درجة السمية لسم DL50 بالعلاقة التالية [42]:

$$DL_{50} = DL_{100} - \sum_{i=1}^{i=n-1} a_i b_i / C_i$$

DL_{50} : هي الجرعة القادرة على قتل نصف عناصر الإختبار.

DL_{100}: هي الجرعة القادرة على قتل جميع عناصر الإختبار.

a_i: الفرق بين جرعتين متتالتين وهي جرعة الحقنة.

b_i: متوسط عدد الحيوانات الميته في الحصة بجرعات متتالية.

c_i: متوسط العدد الكلي للحيوانات في حصص موافقة لتراكيز متتالية.

خلاصة الفصل:

أغلية سموم العقارب تحدث خطرا للبشرية، يوجد نوعان من السموم، نوع له تأثير موضعي وغير مؤذي نسبيا، والنوع الثاني مضر يدعى بسم الأعصاب لأنه يسبب آثارا مرضية و خطورته قاتلة، حيث تكون في البداية تشنج عصبي الذي يبدأ بتنميل موضعي ثم دوخة، شعور بحكة، شعور بثقيل اللسان وصعوبة النطق، تقلص العضلات غثيان وقيء وتبول لا إرادي، فشل الدورة التنفسية يتوقف القلب و نهايتها الوفاة [45].

مراجع الفصل الثانـي

- باللغة العربية:

[40].منشور المصل المضاد للتسمم العقربي. معهد باسور بالجزائر. تاريخ مراجعة الوصفة 2012 ، رمزها 0304F 0113.

- باللغة الفرنسية:

[1]. KRIFI M ; CHAUMET V ; BON C. et ELAYEB «Immunothérapie antiscorpionique: faits et perspectives. Edition scientifique et médicales». El sérié, (2001), p. 253-265.

[2].MARTIN M. F ; RACHAT H ;MARCHOT P et BAUGIS P. «Toxicon» .(1987), n°5, p .569-573.

[3]. CATTERALL W. «.,(1988)-Structure and function of voltage sensitive ion channel science 242, ». (1988), p 50-61. [4]. INCEOGLU B., Lango J., Jing J.,Chen L., Doymaz F., Pessah I. & Hammock B.D« One scorpion, two venoms: Prevenom of Parbuthustransvaalicus acts as an alternative type of venom with distinct mechanism of action». PNAS, (2003) p 922-927.

[5]. OUDIDI A. «Les intoxications par piqûre de scorpion à Beni Mellal : étude prospective d'Avril 1995 à septembre». Thèse de méd ; Fac. Méd. et Pharm. de Rabat, (1995). n° 317, p 92.

[6].ISMAIL M. « The traitement of the scorpion envenimingsyndroms: the Saudi expérience with sérothérapy . Toxicon »,(1994) n° 32, p 1019-1024.

[7].MATTHEW CE Gwee, SelvanayagamNirthanan, Hoon-EngKhoo, PonnampalamGopalakrishnakone, R ManjunathaKini& Li-Sam Cheah. «Autonomic effects of some scorpion venoms and toxins. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology», (2002). n° 29,p 795-801.

[8].FRANK BOSMANS et Jan Tytgat « Voltage-gated sodium channel modulation by scorpion a-toxins. Toxicon ». (2007). n° 49, p 142-158.

[9]. FLORENCE JUNGO et Amos Bairoch « Tox-Prot, the toxin protein annotation program of the Swiss-Prot protein knowledgebase. Toxicon » (2005). n°45, p 293-301.

[10].GOUGE D. H., Smith k. A., Olson C. et Baker P. « Scorpions. A Coopérative Extension. AZ 1223.» (2001).

[11]. WUDAYAGIRI R; Inceoglu B; Hermann R; Derbel M; Choudary P. et Hammock B. « Isolation and characterization of a novel lepidopteranselective toxin from the venom of South Indian red scorpion, Mesobuthustamulus. 13MC 13iochemistry,» (2001).p 2-16.

[12]. BADHER. V; Thomas A. B; Deshpande A. D; Salvi N. et Waghmare A. «The action of red scorpion (mesobuthustamulus coconsis, pocock) venom and its isolated protein fractions on blood sodium levels. J.Venom.Anim.Toxinsincl.Trop.Dis,» (2007). n°13, p 82-93.

[13]. BROGLIO N. et Goyffon M. «Les accidents d'envenimation scorpionique» (1980). Conc. Méd, n° 38, p 5615-5622.

[14]. TOUREILLES J. M. «Premiers secours : piqûres de scorpions. Sahariens, fiches conseil.» (2002).

[15]. AUVIN-Guette C. «Nouvelles techniques de spectrometie de masse appliquées à l'échelle des venins. Bull SocPatholExot» (2002), n° 95, p 212-213.

[16].]. KRIFI M. N ; Kharrat H, Zghal K ; Abdouli M ; Abroug F ; Bouchoucha S ; Dellagi K. et El Ayeb M. «Development of an ELISA for the detection of scorpion venoms in sera of humans envenomed by Androctonus australis garzonii (AAG) and Buthus occitanus tunetanus (BOT): correlation with clinical severity of envenoming in Tunisia. Toxicon» (1998). n°36, p 887-900.

[17]. CHIPPAUX J.P. et GOYFFON M, « Epidemiology of scorpionism: a global appraisal.ActaTropica » 2008, n°107,p 71-79.

[18]. Xavier. M. «Envenimation par les scorpions». Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de la capacité en médecine tropicale. Institut de médecine tropicale, Marseille. (1994).

[19]. HMIMOU R. «Situation des piqures et envenimations scorpioniques au Maroc : étude épidémiologique et analytique des facteurs de risque sur la période» Thèse de doctorat. Université Ibn Tofail. Kénitra. (2010), p 70 .

[20]. COURAUD F et JOVERE; DUBOIS J M; ROCHAT H, « Two types of scorpion toxin receptor sites, one related to the activation, the ather to the inactivation of the action potential sodium channel.Toxicon »(1982) n° 20,p 9.

[21]. J. P. Chippaux et M. Goyffon, «Animaux venimeux terrestres, EMS, Tome2»1990, n° 4, p 88-94.

[22]. PASSANI L. D ; MARTIN B. M. et SWENDSEN. I. « the primary structure of maxiustoxin: AK+, channel bloking peptide, purified from the venom of the scorpion centruroides toxins Hoffman .Carlsberg .Res.Comm » (1982) n° 47, p 285-289.

[23]. 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 » n° 20,p 9.

[24]. M. F. Martin Eauclaire et F. Couraud « Handbouk of neurotoxicology, Hang Kong publishers ». 1994, p 683-716.

[25] . THOMEN, W, J et CATTERALL, W, A. « Pnoc, Natl Acad . Sci, USA » (1989), n°86, p 10161-10165.

[26]. CASTILE S. QU. Y; ROGERS JROCHAT H; SCHENER T. et CATTERALL W. «Neurone» (1998)- n° 21. p 919 - 931.

[27].THOMEN, W, J et CATTERALL, W, A ; « Pnoc, Natl Acad . Sci, USA » (1989) n° 86, p 10161-10165.

[28]. ZLOTKIN E ; MIRANDA F et ROCHAT H. «Toxicon10» (1972) pp 211-216.

[29]. ZLOTKIN E ; KADOURI D ; GORDON D ; PELHATE M ; MARTIN M F et ROCHAT H., «Archive. Biochimie .Biophysique» (1985), n° 240(2) p ,877-887.

[30]. DELIMA M. E; MARTIN M. F; DINIZ. C. R. et ROCHAT. H ; «Biochem, Biophys. Res .Comm» (1986) n°139 p 296-302.

[31]. KOPEYAN C ; MANSUELLE P ; EAUCLAIRE M. E ; ROCHAT H. et MIRAND F, «Natural toxines 1» (1993) p 38 -312.

[32]. KOPEYAN C ;MANSUELLE P ; EAUCLAIRE M. E ; ROCHAT H. et MIRAND F, «Natural toxines 1» (1993). p 38 -312.

[33]. DREYER F. « Peptide toxins. And palassinn channels, Rev physiol .Biochem. Pharmacol » (1990)- n°155, p 94- 136.

[34]. SABATIER J. M ; FRÉMANT V ; MABROUK K ; GVEST M ; DARBON H ; ROCHAT H ; RIETSCHATEN J. et EAUCLAIRE M. F., «scorpion toxin specific for Ca^{++} activated K+ channels : structure – activity , analysising synthetic analogs .Int .J. Peptide protein Res» (1994). n°43.p 486-495.

[35]. GARCIA M. L; KMUS H. G; MANUJAS P; SLAUGHTER R. S. et KACZOROWSKI G. J. « charybdotoxin and its effaecti on Palassium channels, Am J. Physiol » (1995) p. 269.

[36]. WERKMAN T. R; GUSTAFSON T. A; ROGOWSKi. R. S; BLAUSTEIN M. P, RAGAWSKI M A. et TIYWTAXIN K. A. « structurally nowvel and highly patent K^+ canal peptide toxin , interacts with α-dendrotoxin binding site on the. Cloned KV1-2K^+ channel, Mal, Pharmacal » (1993) n°44 p 430 - 436.

[37]. JULES B ; «Biologie cellulaire et moléculaire», De Boeck Université S.A, Paris (1998). p 88- 91.

[38]. RACHAT.H, Thèse de doctorat d état en pharmacie, Université Marseille. (1964).

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

[41]. Mr : M. Krifi ; V. Chaumet ; C. Bon et M. El Ayeb. «Scorpionisme - Bulettin de la Société de Toxicologie Clinique». Journal, (2002), p1-15.

[42]. F. LARABA-DJEBARI, Thèse de doctorat à d'état, présentée à l'USTB, université Alger, (1996).

[43]. Vincent DALMEYDA, Claudine DAVID, Jean-Marie FOUGNION, Brigitte ARNAUD, et Claude GENTY, «Chromatographie en phase liquide (CHROMLIQ) » (1999).

[44]. Franck DENAT, « Chromatographie» , P 2 – 9.

[45]. Site web : http://www.lebnights.net/vb/t50985.html.

الفصل الثالث

دراسة إحصائية للتسمم العقربي

من 2005 إلى 2015

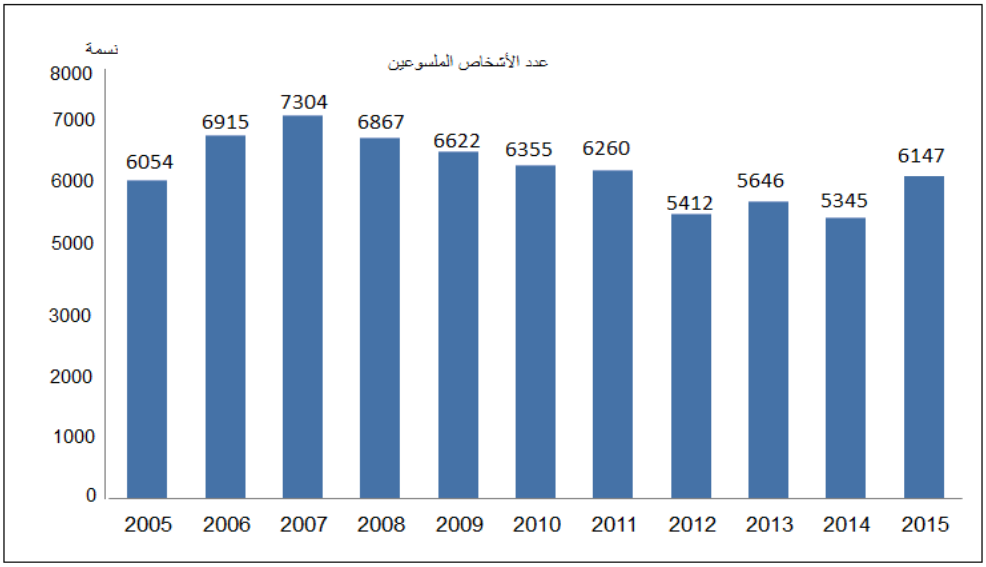
تمهيد :

تشكل اللسعات بالعقرب مشكلة كبيرة للصحة العمومية في الجزائر وخاصة في القطاع الصحي بالوادي، حيث في كل عام يتم تسجيل الألاف من حالات اللسع عبر التراب الوطني. في سنة 2001 تم تسجيل 48818 حالة لسع في جميع أنحاء التراب الوطني، و تعتبر ولاية الوادي من الولايات الأكثر عرضة للسعات بالعقرب [1].

1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي بولاية الوادي من 2005 إلى 2015 :

خلال الفترة من سنة 2005 إلى 2015 تم تسجيل 86927 حالة تسمم عقربي بولاية الوادي، تقسم هذه الحالات إلى عدة معايير وهي كالتالي :

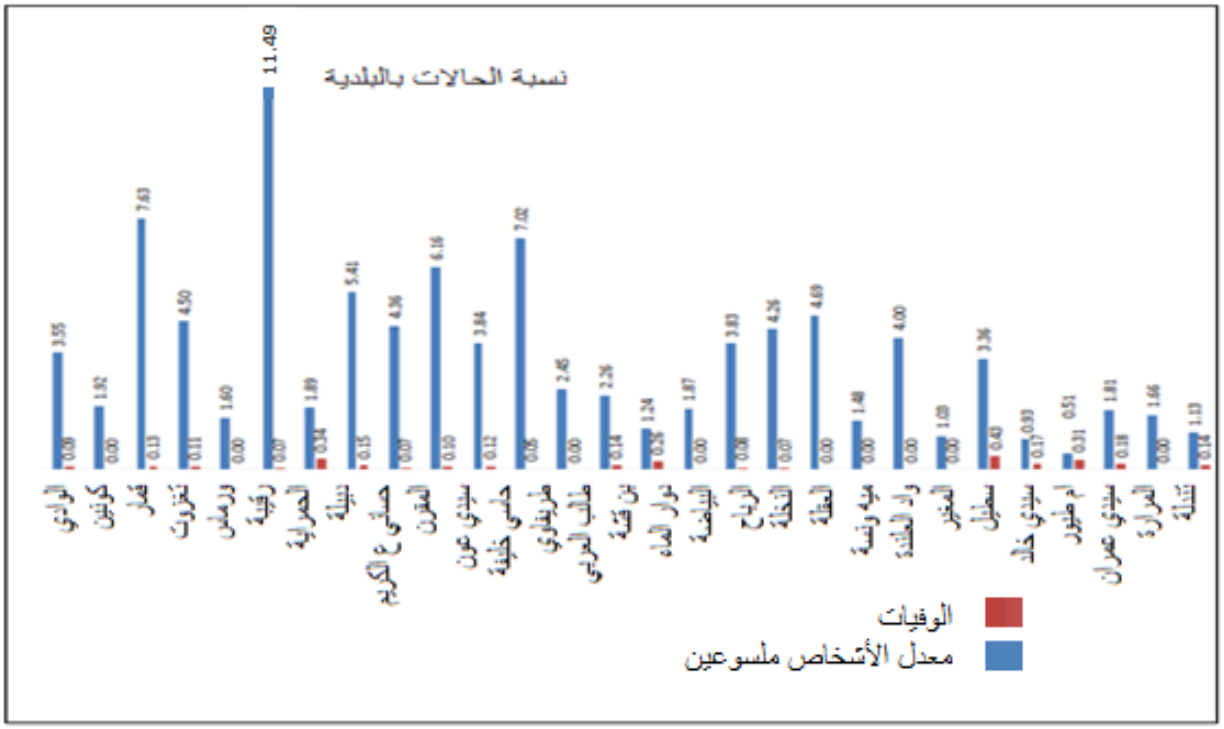
1.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب السنوات :



شكل 1.III : أعمدة بيانية تمثل إحصائيات التسمم العقربي بالنسبة لسنوات.

تحصي مديرية الصحة بولاية الوادي عدد اللسعات بالعقرب خلال الإحدى عشر (11) سنة الماضية من 5345 في 2014 (تمثل أقل عدد خلال هذه السنوات الأخيرة) إلى 7304 في سنة 2007 (أكبر عدد خلال المدة المذكورة) أي بمعدل 6469 حالة لسع.

2.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب البلدية من 2005 إلى 2015 :



شكل 2.III *:* توزيع حالات التسمم العقربي حسب البلديات.

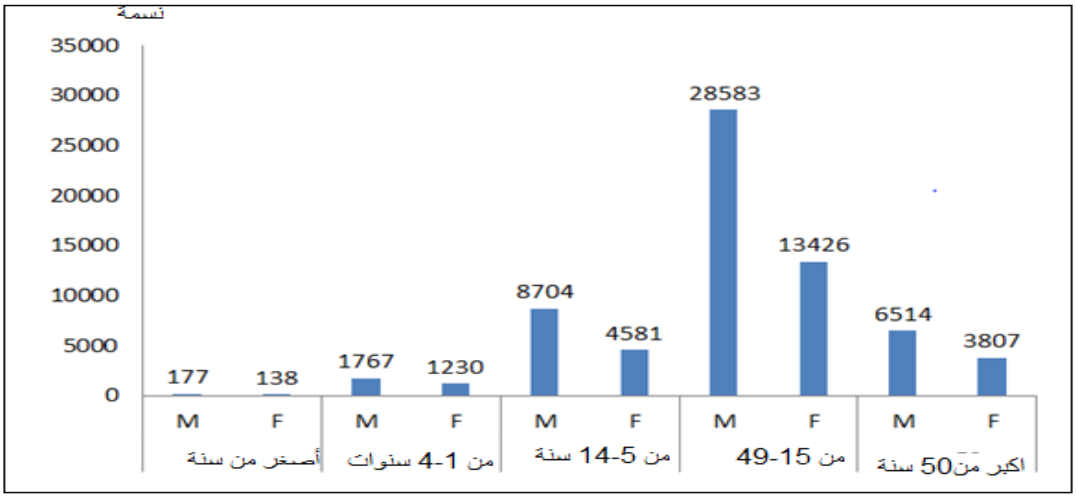
البلديات الأكثر لسع عقربي هي على الترتيب: الرقيبة، قمار، حاسي خليفة، الدبيلة و المقرن .

البلديات الأقل لسع عقربي هي على الترتيب: أم الطيور، سيدي خالد، سطيل، و تندلة.

البلديات الاكثر وفيات هي على الترتيب كالتالي: أم الطيور، الحمراية، سيدي خالد، و بن قشة.

البلديات التي لا توجد فيها الوفيات: كونين، ورماس، الطريفاوي، تندلة، المرارة، جامعة، واد العلندة، أميه ونسه، العقلة، و ورماس.

III.3.1. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب فئة الأعمار:

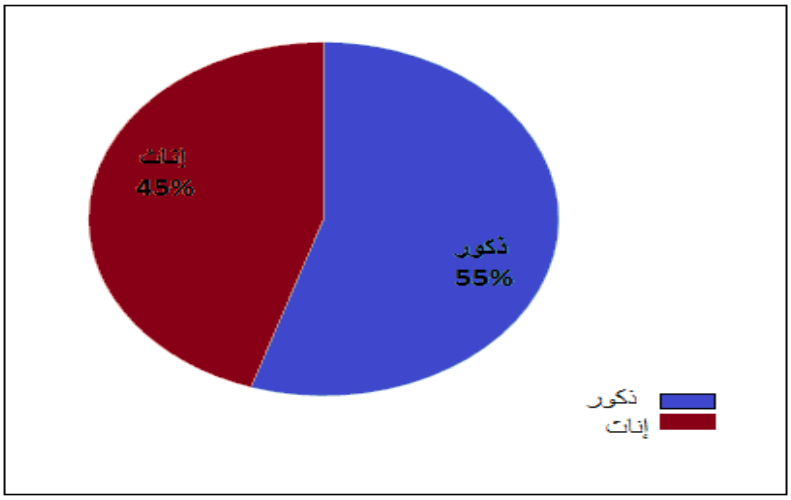


شكل III.3 : أعمدة تبين تقسيم حالات التسمم العقربي حسب فئة الأعمار.

الفئة الأكثر عرضة للسع العقربي هي فئة الشباب (ذكور و إناث) من سن 15 إلى 49 سنة لأنهم أكثر نشاط من فئات الأعمار الأخرى، أما الفئة الأقل لسعات هي فئة الرضع (ذكور و إناث) سن الأقل من سنة لأنهم أقل نشاط.

III.4.1. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب الجنس (ذكور - إناث) :

يحصى في هذه الحالة خلال الفترة الممتدة من 2005 إلى 2015 بـ 45745 ذكور و 23182 إناث وهي ممثلة في الدائرة النسبية التالية :

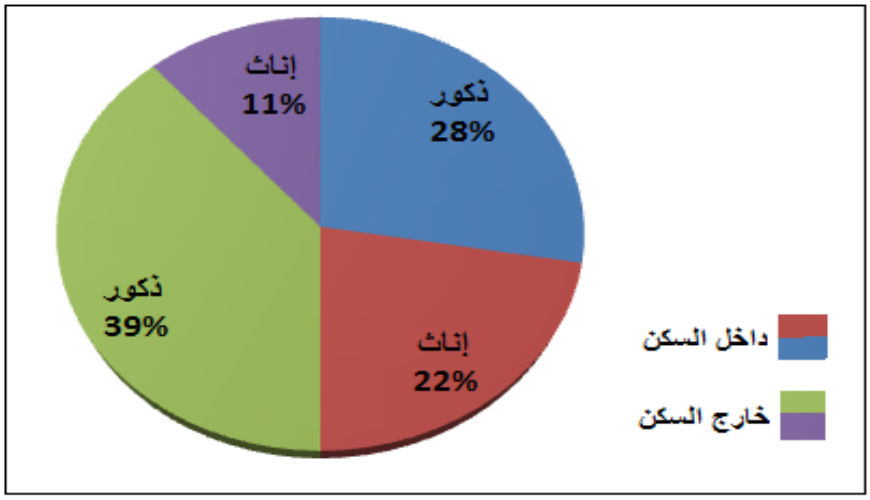


شكل III.4 : دائرة نسبية تمثل نسب حالات التسمم العقربي حسب الجنس.

نلاحظ من خلال الدائرة النسبية بأن الذكور هم الأكثر إصابة من الإناث.

III.5.1. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب مكان (السكن) اللسع :

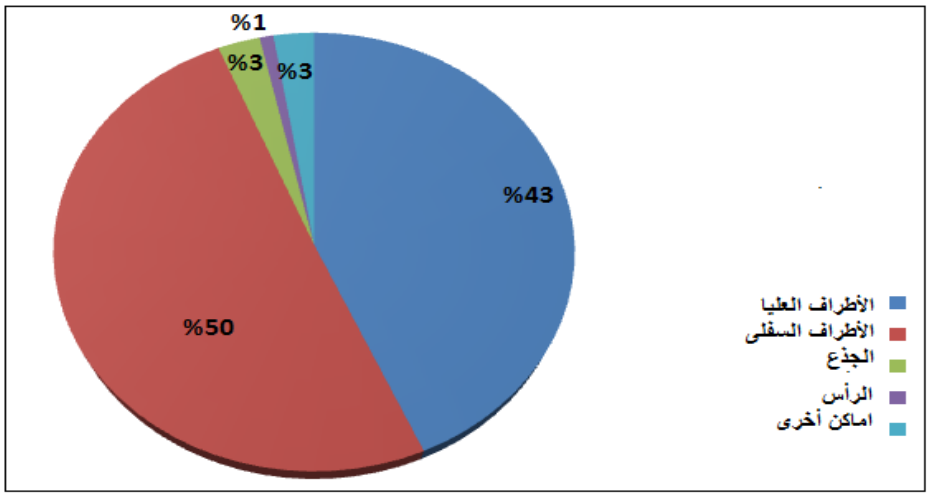
يحصى خلال الفترة المذكورة سابقا 34471 حالة تسمم داخل السكن و 34456 حالة تسمم خارج أماكن السكن وهي ممثلة في الدائرة النسبية التالية:



شكل III.5 : دائرة نسبية تمثل نسب حالات التسمم العقربي حسب مكان اللسع.

عدد ضحايا اللسع العقربي يكون بنسب متعادلة على مستوى داخل وخارج السكن، أما من حيث الجنس (ذكور و إناث) في داخل السكن بنسب متعادلة تقريبا، و خارج السكن نسبة الذكور أكثر.

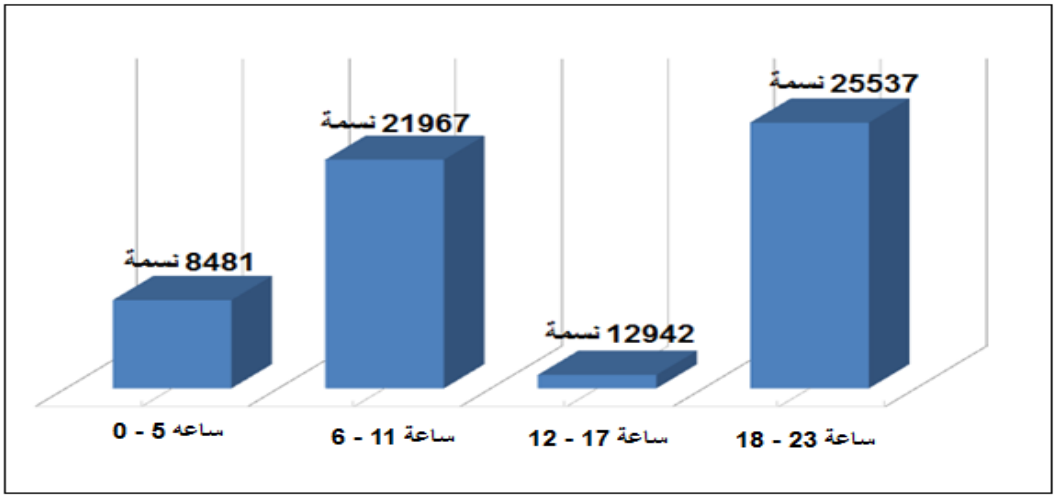
III.6.1. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب موقع اللسع في الجسم :



شكل III.6 : دائرة نسبية تمثل نسب حالات التسمم العقربي حسب موقع اللسع في الجسم.

الأطراف العليا والسفلى هي الأكثر عرضة للسع عددها هو 64666 نسمة وتمثل بنسبة 93% وهذا راجع الى نشاط الإنسان، وأقل نسبة هي في منطقة الرأس وهي 1%. أما بالنسبة للجذع والأماكن الأخرى فهي متساوية النسب المئوية وهي 3%.

7.1.III. تقسيم حالات اللسع العقربي على حسب ساعة اللدغ :

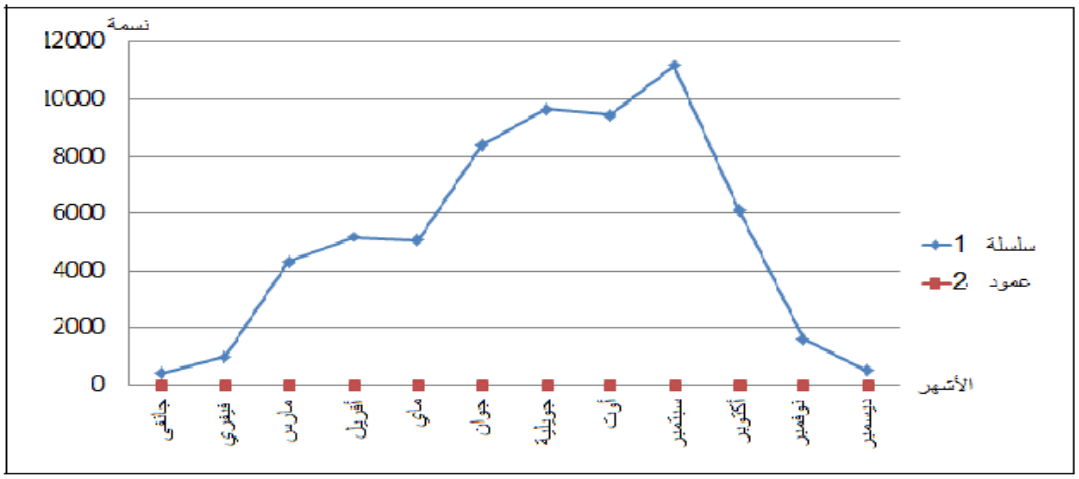


شكل III.7 : أعمدة بيانية توزع حالات اللسع العقربي على حسب ساعة اللدغ.

الأوقات التي تكون فيها نسبة اللسع أكثر هي الفترة الصباحية والمسائية، بحيث هي الفترة التي تسمح للعقرب بالتنقل والنشاط .

8.1.III. تقسيم حالات التسمم العقربي حسب الأشهر :

ممثلة في المنحنى التالي :



شكل III.8 : منحنى بياني يبين حالات التسمم العقربي حسب الشهر.

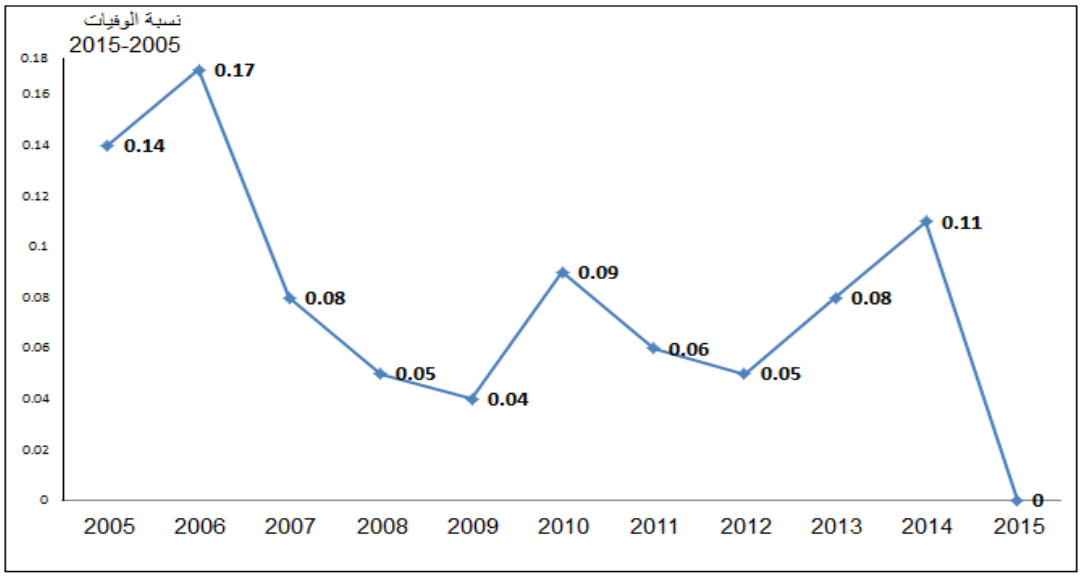
المدة الأكثر لسع عقربي خلال شهور السنة للفترة المذكورة سابقا هي على الترتيب:

سبتمبر، جويلية، أوت، جوان، هذا يعود إلى إرتفاع درجة الحرارة، وشبه إنعدامها في شهر جانفي وديسمبر وهذا ما يفسر بسبات العقرب.

2.III. تقسيم حالات الوفيات الناجمة عن اللسع العقربي بولاية الوادي من2005 إلى2015 :

خلال الفترة من سنة 2005 إلى 2015 تم تسجيل 58 حالة وفاة، تقسم هذه الحالات إلى عدة معايير وهي كالتالي :

1.2.III. تقسيم حالات الوفيات بسبب اللسع العقربي حسب السنة :

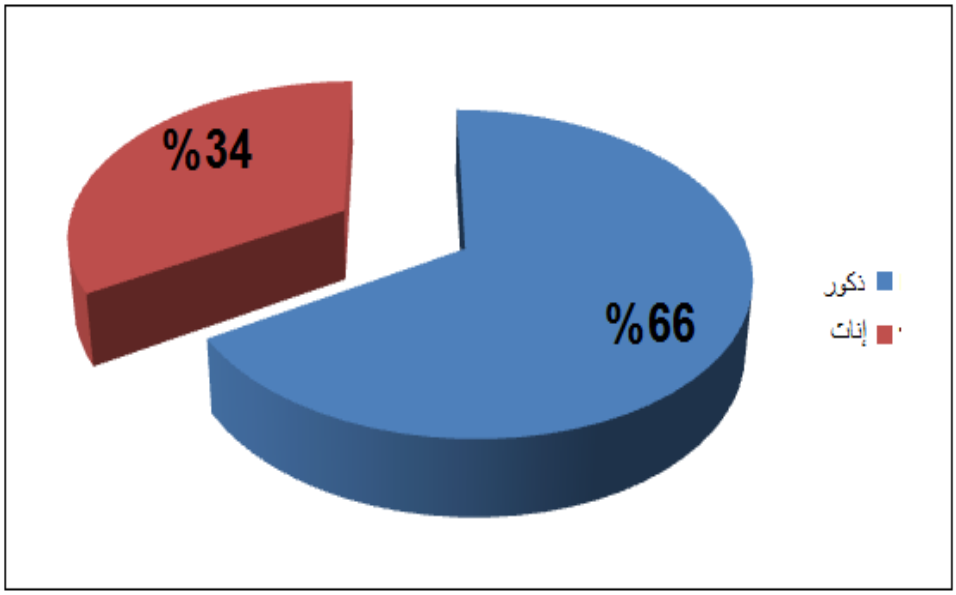


شكل 9.III : منحنى بياني يظهر حالات الوفيات الناجمة عن اللسع العقربي حسب السنوات.

إرتفاع حالات الوفيات الناجمة عن اللسع العقربي في سنوات التالية على الترتيب 2006، 2014 و2010، وفي سنة 2009 نسبة قليلة جدا.

أما في سنة 2015 لم يتم تسجيل حالات وفاة، وهذا يعود إلى تعدد الأنشطة الوقائية وتحسين التكفل بضحايا للسع على مستوى مراكز الإستعجلات .

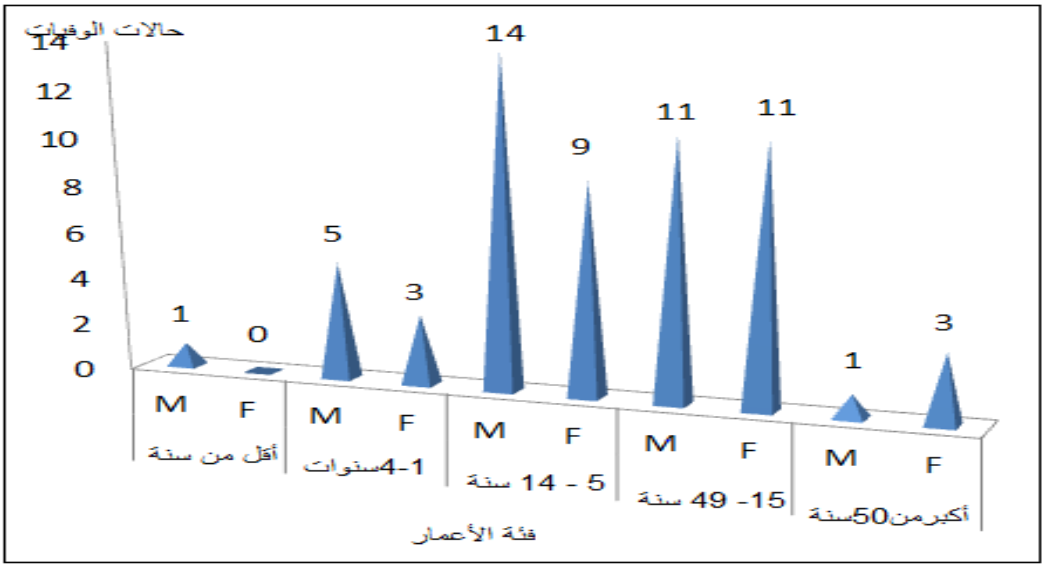
III.2.2. تقسيم حالات الوفيات بسبب اللسع العقربي حسب الجنس(ذكور وإناث) :



شكل III.10 : دائرة نسبية تبين نسب الموتى بسب للسع العقربي حسب الجنس.

فارق ملحوظ لحالات الوفيات الناجمة عن اللسع العقربي بين الذكور و الإناث ،يقدر بـ 32%.

III.2.3. تقسيم حالات الوفيات بسبب اللسع العقربي حسب فئة الأعمار والجنس :



شكل III.11 : توزيع حالات الوفيات بسبب التسمم العقربي على حسب فئة الأعمار والجنس.

أكثر الضحايا المتوفين و المسجلين خلال هذه الفترة من 2005 إلى 2015 هم الأطفال الذين أعمارهم من 5 إلى 14 سنة بنسبة 23% عند الجنسين معا (ذكور +إناث).

خلاصة الفصل :

التسمم العقربي في تطور ملحوظ من حيث الإنخفاض الملموس في عدد الوفيات، حيث لم تسجل أي حالة وفاة في سنة 2015 بالولاية، و ذلك حسب النتائج الوبائية المرفقة لوزارة الصحة والسكان بولاية الوادي من سنة 2005 إلى 2015 التي قمت بدراستها.

وهذا التطور يرجع إلى نشأة اللجنة الوطنية للمكافحة ضد التسمم العقربي، و كذلك من خلال التوصيات المنبثقة عن الدراسات، الملتقيات، و الأنشطة التي تقوم بها مصالح الصحة في هذا المجال [1].

مراجع الفصل الثالث

[1]. Site web 2- www. Dsp – eloued. dz

الفصل الرابع

الجـــزء العمـلـــــي

تمهيد:

يركز بحثنا على دراسة الإختلاف في سموم العقارب من مناطق مختلفة بالولاية، وهذه السموم عبارة عن مزيج معقد من البروتينات التي لها نشاط بيولوجي معين، و هذا التعقيد يزيد في حدة العلاج، حيث أنه يقتصر فقط على المصل المضاد للسم. قمنا بدراسة خصائص السم من ناحية النوع و التركيز لأغراض طبية تسمح بالتمكن من إعداد مصل مضاد ذو فعالية عالية.

المهمة الأساسية التي قمنا بها في هذا الجزء هي : مقارنة بين النسب المئوية لتركيز التوكسين وأنواعه في الجزء السام المعزول F_{tox}، بطريقة التحليل الكروماتوغرافيا السائلة عالية الجودة الـ HPLC و إختبار الجرعة القاتلة من F_{tox} لسم العقرب بنسبة 50%، حيث تم العمل على سم عقارب لأربعة مناطق مختلفة و من نفس نوع العقرب Androctonus australis Hector من صنف Buthidae و التي تم جمعها من أربعة مناطق و هي الحمراية، الدبيلة، الرقيبة وحاسي خليفة المتواجدة بوادي سوف.

1.IV. المواد وطرق التحليل:

1.1.IV. المواد البيولوجية:

1.1.1.IV. العقرب:

نوع العقارب التي تم إستخدامها في هذ االعمل عقرب Androctonus australis Hector أخذت العينات من المناطق التالية: حاسي خليفة، الرقيبة، الدبيلة و الحمراية بولاية الوادي.

صورة I.IV: العقرب (A.a.H).

2.1.1.IV. الأرنب:

الأرانب المستعمل ذكور وزنها حوالي 400 غرام.

3.1.1.IV.السم (venin):

سم الذي تم إستخدامه في عملنا هو السم المستخرج من نوع العقرب (A.a.H).

صورة 2.IV: سم العقرب (A.a.H).

2.1.IV. مواد التحليل:

1.2.1.IV. الأجهزة والأدوات:

- المحفز الكهربائي: هو جهاز يستخدم من أجل تحفيز العقرب بواسطة تيار كهربائي مستمر قدره 12 فولط ،و يحتوي على إثنين من أعمدة كهربائية.
- الملاقط: تستخدم لتثبيت العقرب على الأعمدة في جهاز التحفيز و هي مهمة جدا من أجل التأمين ضد العقرب و التيار الكهربائي .
- زجاجة السعة: تستخدم لتجميع السم المستخرج.

صورة 3.IV *:* المحفز الكهربائي للعقرب.

- ميزان حساس من النوع (ALS 220-4N)، بدقة (0,1 ملغ)، صنع (KERN).
- جهاز الطرد المركزي.
- مرشح للحقن(0,2 ميكرو متر).
- ميكرو بيبا (10– 100 ميكرو لتر).
- إبرة.
- جهاز الكروماتوغرفيا السائلة العالية الأداء(HPLC) الموجودة بالمخبر في جامعة حمة لخضر مصنعة من طرف شركة (SHIMADZU)، وهي مرفقه ببرنامج تشغيل (LC solution) مبرمج في جهاز كمبيوتر متصل بالجهاز، وعمود يتكون C18 (46 نانو متر x 25سم).

2.2.1.IV. المحاليل (المواد الكيميائية) :

- ماء مكرر التقطير ultra pure.
- محلول موقي ذو pH=8,5

(NaH_2PO_4 +m 0,5+m Na_2HPO_4 + mKCl لترمن ماء مكرر التقطير+NaOH) [1].

- الأسيتونتريل (acetonitrile).
- TFA (Acide Tri fluoro acétique).

2.IV. طريقة العمل:

1.2.IV. إستخراج السم (venin) :

أ- التحفيز الكهربائي للعقرب:

خلال مرحلة العمل تم استخدام طريقة استخراج السم لمجموعة من العقارب ذات النوع A.a.H مجمعة من مناطق مختلفة وهي الحمراية، دبيلة، حاسي خليفة و الرقيبة بالتحفيز الكهربائي قدره 12 فولط، وهذه الطريقة أسهل من باقي الطرق و ذلك لقدرة التحكم في العقرب بالملاقط.

نقوم بتعريض الجزء العلوي و الجزء السفلي من العقرب وبالتحديد الحلقات الأولى من ذيلها في كلا القطبين للتحفيز (فيحدث لها تقلص عضلات الغدة السمية) فيخرج السم.

صورة 4.IV: التحفيز الكهربائي للعقرب.

2.2.IV. كمية السم:

تختلف كميات السم المستخرجة من عقارب A.a.H من منطقة إلى أخرى، و الجدول التالي يوضح ذلك:

الجدول 1.IV : أوزان لسم العقرب.

المنطقة	وزن السم لعقرب واحدة (غ)	عدد العقارب
الحمراية	0,022	14
الرقيبة	0,026	7
الدبيلة	0,01	50
حاسي خليفة	0,009	6

3.2.IV. طريقة حفظ السموم:

نحلل السم بإضافة لكل حجم (1v) من السم بأربعة حجوم من الماء المكرر التقطير (4v)، ونخزنه في قنينات على شكل سائل في درجة حرارة قدرها 4 درجات مئوية تحت الصفر.

4.2.IV. تنقية الجزء السام F_{tox} من سموم عقارب A.a.H:

سم العقرب هو عبارة عن مزيج معقد من البروتينات، تحوي جزء سام المتمثل في التوكسينات و جزء آخر غير سام.

نحضر محاليل (4,3,2,1، اعتمادا على سم كل منطقة على حدى) يتكون كل مزيج من سم المنحل مع المحلول الموقي المحضر (pH=8,5) بالحجوم التالية:

10 ميكرو لتر من السم (venin) مع 190 ميكرو لتر من المحلول الموقي، و هذا الأخير بهدف تحطيم كل الجزيئات الغير مرغوب فيها في الدراسة والمحافظة على الجزء السام، ثم نضع المحاليل المحضرة في جهاز الطرد المركزي تحت تأثير3000 دورة في الدقيقة لمدة نصف ساعة وذلك لترسيب الأنزيمات الخلوية والجزيئات المحطمة والقابلة للذوبان [2]. ثم نقوم بالترشيح مستعملين مرشحات 0,2 ميكرو متر لكل المحاليل فنتحصل على الأجزاء السامة من سموم العقارب A.a.H للمناطق الأربعة.

5.2.IV. التحليل الكروماتوغرافي للجزء السام بواسطة الـ HPLC:

في هذه الدراسة تم إختيار طريقة الكروماتوغرافيا السائلة العالية الجودة الـ HPLC، وهي تقنية تحليلية تسمح بعملية الفصل أو تنقية عدة مركبات داخل خليط من أجل تحديد نوعية، و طبيعة و نسبة تركيز العناصر المدروسة.

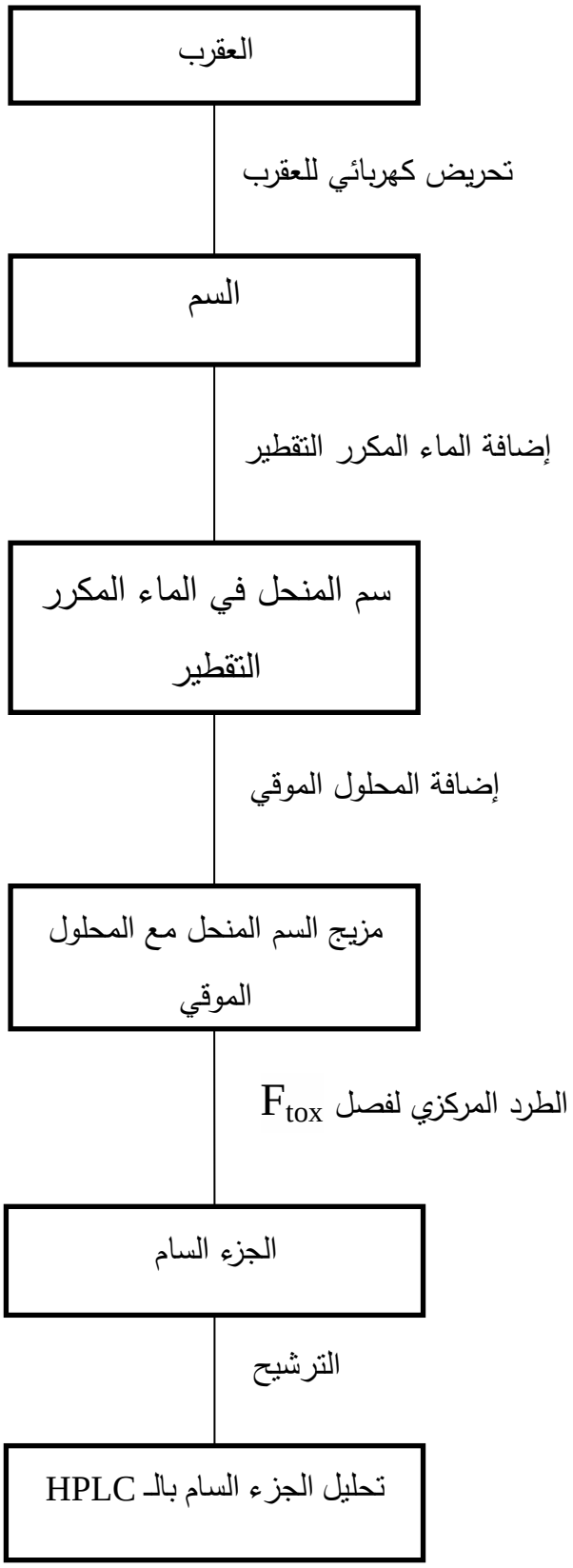
1.5.2.IV. شروط الحقن للـ HPLC :

العمود المستخدم في تقنية التحليل لفصل توكسينات الجزء السام هوC18، الشروط موضحة في االجدول (2) [4,3]:

الجدول 2.IV : شروط الحقن في الـ HPLC .

العامل	الشروط
النظام	الطور المعكوس RP-HPLC
العمود	C18 (46 نانو متر 25 xسم)
حجم المحقن	20 ميكرو لتر
معدل التدفق	1 مل/دقيقة
طول الموجة	230 نانو متر
الزمن	30دقيقة
درجة الحرارة	°25
الطور المتحرك	40% من الأسيتونتريل + 0,1% من TFA.
	60 % من الماء المكرر التقطير + 0,1% من TFA.

- **مخطط العام:**



شكل 1.IV *:* المخطط العام لفصل الجزء السام من سم العقرب A.a.H.

6.2.IV. إختبار الجرعة القاتلة من الجزء السام بنسبة 50%:

نأخذ ثلاثة مجموعات من أرانب ذكور، نضع في كل مجموعة أربعة أرانب وزنهم متقارب في حدود 400 غرام و نحضر جرع للحقن مختلفة [5] في إبر وهي كالتالي :

المجموعة01: نحقنها بجرع 400 ميكرو لترمن محلول كلور الصوديوم (NaCl) يحـوي 20 ميكرو لترمن الجزء السام.

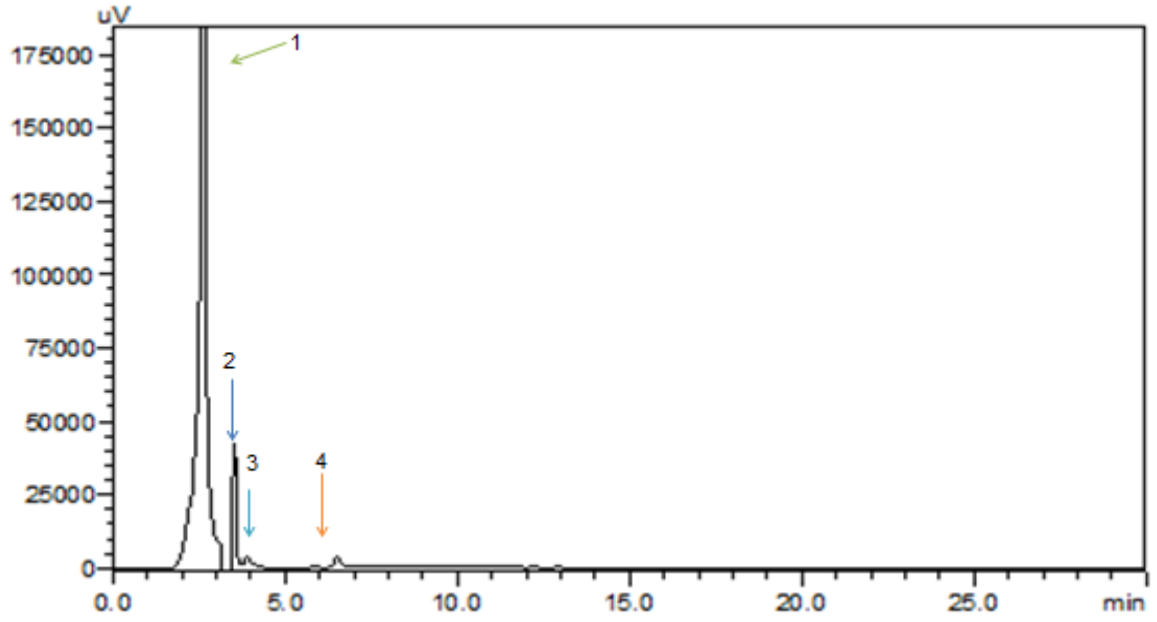
المجموعة02: نحقنها بجرع حجمها 400 ميكرو لترمن محلول كلور الصوديوم (NaCl) يحوي 140 ميكرو غرام من الجزء السام .

المجموعة03: نحقنها بجرع حجمها 400 ميكرو لترمن محلول كلور الصوديوم (NaCl) يحوي 14 ميكرو غرام من الجزء السام.

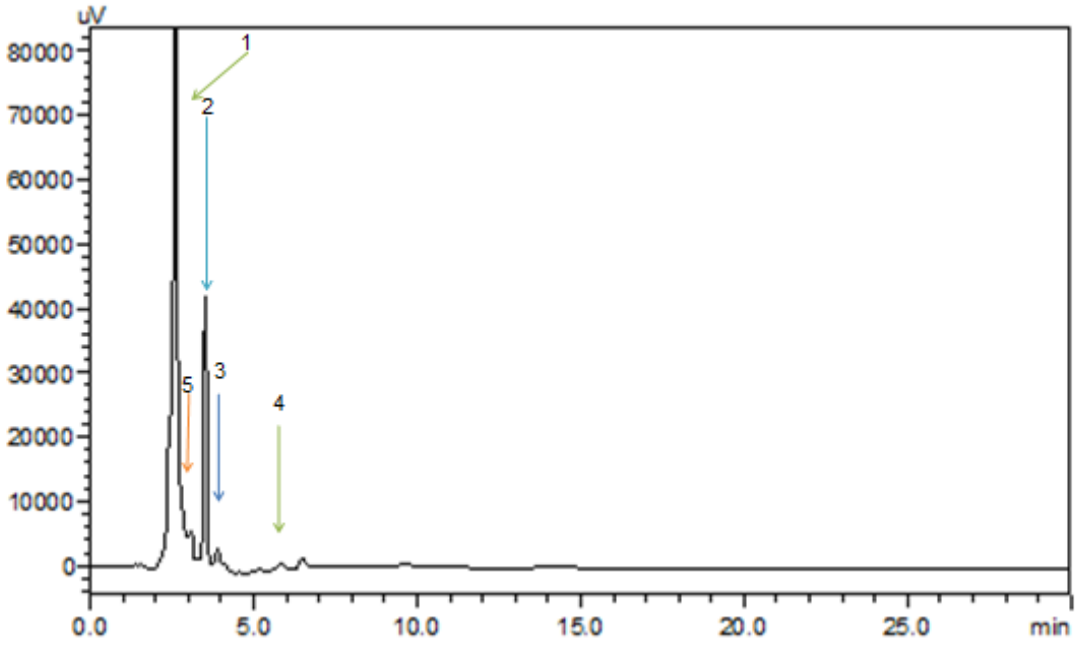
نكرر هذه التجربة بالنسبة إلى سم عقارب الـ A.a.H الموجودة بالمناطق الأربعه (الدبيلة، الرقيبة، حاسي خليفة، و الحمراية) .

3.IV. النتائج والمناقشة:

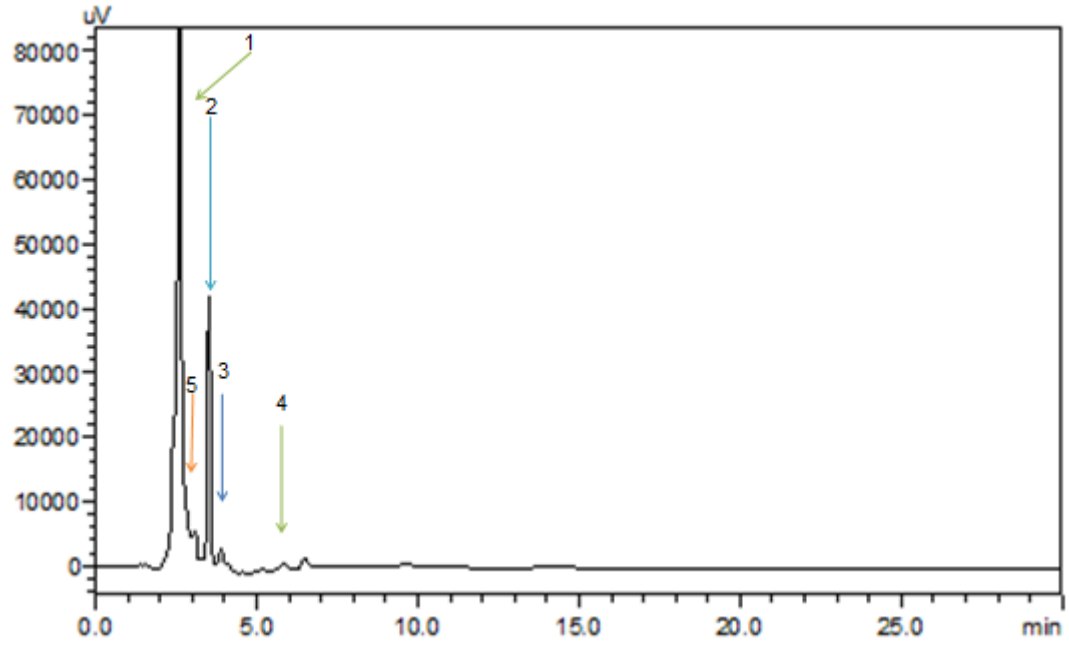
1.3.IV. نتائج و مناقشة التحليل الكروماتوغرافي بالـ HPLC:



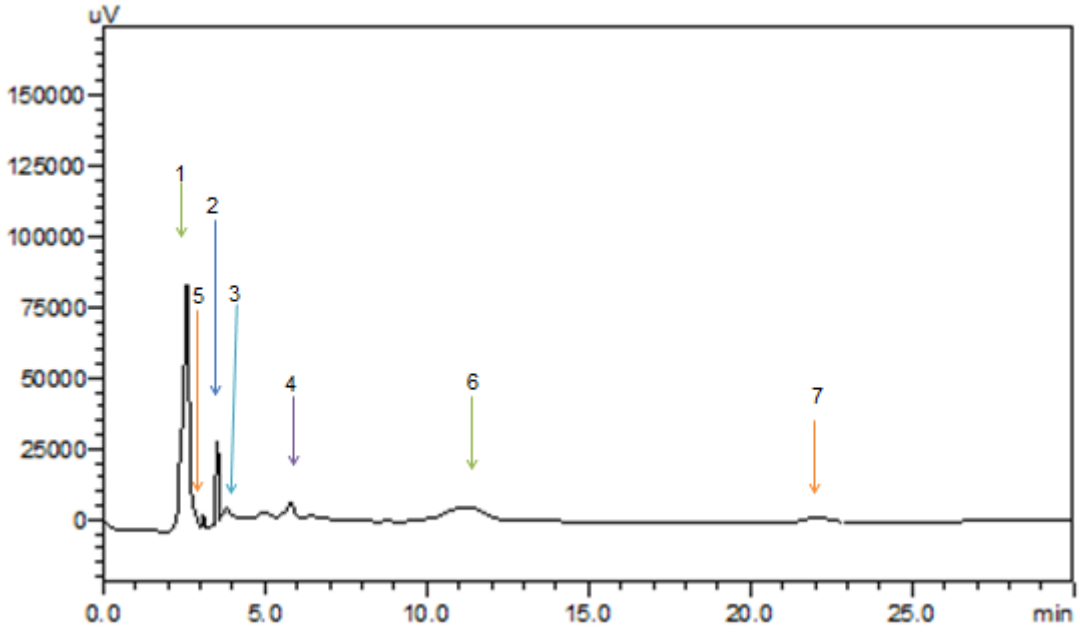
الشكل 2.IV :كروماتوغرام يبين التوكسينات و نسبة تركيزها الموجودة في سم العقرب A.a.H لمنطقة الحمراية



الشكل 3.IV: كروماتوغرام يبين التوكسينات و نسبة تركيزها الموجودة في سم العقرب A.a.H لمنطقة الرقيبة.



الشكل 4.IV: كروماتوغرام يبين التوكسينات و نسبة تركيزها الموجودة في سم العقرب A.a.H لمنطقة الدبيلة .



الشكل 4.IV:كروماتوغرام يبين التوكسينات و نسبة تركيزها الموجودة في سم العقرب A.a.H لمنطقة حاسي خليفة.

نحلل أطياف الكروماتوغرافيا اعتمادا على زمن ظهور التوكسينات ونسبة تركيزها في السم.

القمم الظاهرة في الكروماتوغرام كل واحدة منها تمثل توكسين، ولكل قمة زمن ظهور خاص بها يميزها عن بقية القمم أي التوكسينات المتواجدة معها في نفس سم العقرب A.a.H والمتواجدة في مناطق المختلفة الجدول التالي يوضح ذلك:

الجدول IV.3: زمن ظهور توكسينات سم العقرب A.a.H المتواجدة في المناطق المدروسة.

نوع التوكسين / زمن المكوث (Tr) بالدقائق	1	2	3	4	5	6	7
(Tr) لمنطقة الحمراية	2,618	3,521	3,890	5,857	/	/	/
(Tr) لمنطقة الرقيبة	2,590	3,512	3,890	5,848	3,081	/	/
(Tr) لمنطقة الدبيلة	2,585	3,511	3,882	5,827	3,081	/	/
(Tr) لمنطقة حاسي خليفة	2,574	3,523	3,883	5,853	3,082	11,270	22,144
(Tr) متوسط زمن الظهور	2,592	3,517	3,886	5,846	3,081	11,270	22,144

القمة الأولى تمثل التوكسين رقم 1 ظهر في أقل مدة زمنية و هو موجود في سم عقارب المناطق الأربعة، وكذلك بالنسبة لتوكسينات 2, 3 و4.

أما التوكسين رقم 5 ظهر في سم عقارب المناطق الثلاثة التالية الدبيلة، حاسي خليفة و الرقيبة فقط.

و التوكسينات 6، 7 متواجد في سم عقرب منطقة حاسي خليفة فقط.

تختلف نسب تراكيز توكسينات بإختلاف المناطق و هي تظهر في نفس زمن المكوث لكل منها، وذلك اعتمادا على نوع التوكسين والمنطقة المتواجدة فيها العقرب A.a.H الجدول التالي يوضح ذلك:

الجدول IV.4 : نسبة تراكيز توكسينات سم العقرب A.a.H في مناطق الدراسة.

التوكسين	1	2	3	4	5	6	7
متوسط زمن (Tr) بالدقائق	2,592	3,517	3,886	5,846	3,081	11,270	22,144
تركيز % توكسين الجزء السام من السم بالحمراية	66,242	15,506	13,879	0,072	/	/	/
تركيز% توكسين الجزء السام من السم بالرقيبة	33,719	17,513	10,539	1,669	3,887	/	/
تركيز% توكسين الجزء السام من السم بالدبيلة	29,824	16,548	20,316	8,287	3,448	/	/
تركيز %توكسين الجزء السام من السم بحاسي خليفة	26,267	13,704	14,309	7,525	2,403	2,477	1,876

التوكسين 1: يوجد بنسب متفاوتة التراكيز في الجزء السام للـ A.a.H المتواجدة في مناطق الدراسة، حيث بنسب متوسطة التركيز و متقاربة لكل من منطقة الرقيبة، الدبيلة وحاسي خليفة، وبنسبة كبيرة بمنطقة الحمراية تقدر بـ **66%** وهو يمثل أعلى نسبة تركيز للتوكسينات السبعة (7) الموجودة.

التوكسين 2 و3: يتواجد تركيزهما بنسب مختلفة ومتقاربة في الجزء السام و أعلى نسبة لتركيز التوكسين 2 هي **17,513%** الرقيبة، و التوكسين 3 هي **20,316%** بالدبيلة.

التوكسين 4: نلاحظ تركيزه بنسب ضعيفة جدا تقدر نسبتها بـ **0,072%** في الحمراية، وهي تمثل أقل نسبة تركيز متواجدة في توكسينات الجزء السام المدروسة، وأعلى نسبة له هي **8,287%** بالدبيلة.

التوكسين 5: يتواجد تركيزه بنسب متقاربة وضعيفة و موجود في الجزء السام للعقرب A.a.H بالرقيبة، الدبيلة و حاسي خليفة.

التوكسين 6 و 7: نسبة تراكيزهما ضعيفة ومتقاربة في الجزء السام للـ A.a.H الموجودة بحاسي خليفة فقط (تركيز التوكسين 6 هي **2,477%**، التوكسين 7 هي **1,876%**).

2.3.IV. نتائج و مناقشة إختبار الجرعة القاتلة من الجزء السام DL_{50}:

من النتائج نلاحظ أن الجرعة القاتلة بنسبة 100% (DL_{100}) هي 280 ميكروغرام لأنها هي الجرعة التي سببت موت كل أرانب المجموعة الأولى من كل منطقة.

الجدول IV.5: قيم الـ DL_{50} في سم العقرب لكل منطقة.

المناطق	الدبيلة	الرقيبة	الحمراية	حاسي خليفة
DL50ملغ / كلغ	0.0870	0.0949	0.0949	0.0865

من خلال النتائج المتحصل عليها لإختبار الجرعة القاتلة في للجزء السام بنسبة 50% أن قيم الـ DL_{50} متقاربة لمختلف مناطق الدراسة.

مراجع الفصل الرابع

[1]. H. Rochat, thèse de doctorat d'etat en pharmacie , Marseille, 1964.

[2]. F. Miranda, H. Rochat, C. Rochat et S. Lissitzky, Toxicon,1966, 4, 123-144.

[3]. F. Laraba-Djebari, Thèse de doctorat à d'état, présentée à l'USTB, université Alger, (1996) .

[4]. Régine Romi-Lebrun, Bruno Lebrun, Marie-France Martin-Eauclaire, Masaji Ishiguro, Pierre Escoubas, Fang Qi Wu, Miki Hisada, Olaf Pongs, et Terumi Nakajima, Biochemistry, 1997, 36 (44), 13473 –13482

[5]. Noreddine Ghalim,. Etude des effets histopathologiques engendrés par le venin du scorpion marocain « Androctonus mauretanicus mauretanicus » et par sa fraction toxique chez la souris , Faculté des Sciences Ben Mřsik, Casablanca, Maroc.2010.

الخـــــاتمـــــة

الخـــــاتمـــة

في هذا العمل تطرقنا الى دراسة مكونات الجزء السام لسم العقرب في بعض مناطق ولاية الوادي و هي الحمراية ، الرقيبة ، الدبيلة و حاسي خليفة ، التي سجل بها أكبر عدد من التسمم العقربي.

وفقا لدراسات سابقة على العقارب جعلتنا نختار النوع Androctonus australis Hector لأنه أخطر أنواع العقارب الموجودة في العالم.

الكروماتوغرافيا السائلة العالية الجودة الـ HPLC أعطتنا نتائج جد واضحة و معبرة، و ذلك بعد فصل الجزء السام من سم العقرب Androctonus australis Hector المتحصل عليه بالتحفيز الكهربائي.

كما أثبتت لنا النتائج المتحصل عليها أنه يوجد اختلاف في عدد و نوع التوكسين الموجود في الجزء السام من سم العقرب Androctonus australis Hector لكل منطقة من المناطق المدروسة، بالرغم من أن العقارب تنتمي الى نفس النوع و الفصيلة بيوثيدي Buthidae ، و بينت لنا هذه النتائج اختلاف آخر واضح يتمثل في نسبة تركيز التوكسين الذي يختلف من منطقة الى أخرى، و هذا يدل على أن هناك تأثير للمناخ و الطبيعة الجغرافية للمنطقة المتواجدة فيها العقرب على التوكسين.

يعتبر سم العقرب و بالتحديد التوكسين هو كمادة أولية لصناعة المصل المضاد للتسمم العقربي.

من خلال نتائج هذه الدراسة أتمنى أن تكون الأبحاث أكبر و أعمق في هذا الموضوع بالمخابر المتخصصة في هذه البحوث بالأخص معهد باستور الذي ينتج المصل المضاد للتسمم العقربي، و أقترح أنه من الأفضل أن يحضر لكل منطقة مصل مضاد لسم هذه العقارب حسب خصائص التوكسين الموجود في السم، و الأخذ بعين الإعتبار نسبة تركيز التوكسين المتغير من منطقة الى أخرى لتحديد الجرعة اللازمة له.

الملاحق

ملحق 1: صور الأجهزة المستعملة

ميزان حساس

جهاز الطرد المركزي

صورة لجهاز الكروماتوغرافيا العالية الجودة الـHPLC

أدات ميكرو بيبات

جهاز قياس الحموضة الـ métrePh

الملحق 2: صور للمواد البيولوجية

أنوع مختلفة من العقارب

السم المنحل في الماء المكرر التقطير

أرنب المستعمل لإختبار الجرعةالقاتلة DL_{50}

الملخص:

بالرغم من أن المصل المضاد للسم هو العلاج الوحيد للسعات العقارب، أن إدارته حاليا صعبة للغاية نظرا لعدم فعاليتها في كثير من الحالات.

من أجل المساهمة الفعالة في حل هذه المشكلة المعقدة للغاية فمن الواجب أن تكون المعرفة جيدة وشاملة لكل أنواع السموم لأنها هي المورد الرئيسي لإنتاج S.A.S، لذلك ركزنا في دراستنا على نوع سم العقرب أندرو كتونيس أستراليز أكتور التي جمعت من مناطق مختلفة في ولاية الوادي، وذلك بإستخدام الكروماتوغرافيا السائلة ذات الجودة العالية الـ HPLC وقد أظهرت النتائج بالرغم من أن العقارب تنتمي إلى نفس النوع إلا أن ليس لديهم نفس التكوين من التوكسينات، ومن هذا الأخير نؤكد أن هذه النتائج تمثل خطوة مهمة نحو ايجاد المصل المضاد لسم العقرب بحيث يكون ذو فعالية عالية.

الكلمات المفتاحية: العقرب أندرو كتونيس أستراليز أكتور، التوكسينات، الكروماتوغرافيا السائلة ذات الجودة العالية، المصل المضاد لسم العقرب.

Résumé :

Malgré que le sérum anti-scorpionique constitue l'unique remède contre l'envenimation scorpionique, son administration est, actuellement très remise en cause et ce, tenu de son inefficacité dans plusieurs cas. Pour une contribution efficace à la résolution de ce problème extrêmement complexe, il est évident d'avoir une connaissance très approfondie sur les venins du fait qu'ils sont la ressource primordiale de fabrication de S.A.S.

Cependant, nous nous focalisons notre travail sur l'étude de la composition de venin de scorpion d'espèce appelé « *Androctonus australis Hector* » se trouvant dans la région d'El Oued, en utilisant la méthode chromatographique liquide à haut performance HPLC.Les résultats obtenus ont montré que, malgré leur appartenance à la même espèce, les scorpions ne présentent pas la même composition de toxines. D'où nous considérons que ces résultats constituent un grand pas vers la recherche d'un sérum antiscorpionique efficace.

mots clés: scorpion *Androctonus australis Hector*, Toxines, analyse chromatographique HPLC, sérum antiscorpionique,.

Abstract :

Despite the antivenom scorpion serum is the unique remedy against scorpion envenomation, its administration is currently mentioned inefficiency in many cases. For an effective contribution to resolving this extremely complex issue, it is obvious to have a very thorough knowledge about venoms because they are the prime resource of manufacturing of S.A.S.

However, we focus our work on the study of the composition of the species called scorpion venom "Androctonus australis Hector" located in El Oued region, using the liquid chromatographic method with high performance HPLC.The results showed that, despite belonging to the same species, scorpions do not have the same composition of toxins. Hence we believe that these results represent an important step toward finding an effective antivenom serum.

key words: The scorpion *Androctonus australis Hector*, Toxins, high performance liquid chromatography, antivenom scorpion serum.