

N° d'ordre :

N° de série :

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE D'EL-OUED

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE**

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Biochimie

Spécialité : Biochimie

THEME

**L'effet de venin de serpent *cerastes vipera* sur quelques
paramètres biochimiques chez les lapins .**

Dirigé par :

M^{elle} MAOUNE Aicha

Présenté par :

DAOUDI Nabila

FARAH Khaoula

KHAZZENE CHahinez

TEI Asma

Année universitaire 2013/2014

REMERCIEMENT

Au terme de cette étude , nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la volonté afin d'achever ce travail .

Nous tenons à notre encadreur Melle: MOUANE AICHA qui a accepté de nous accompagner et nous orienter à travers la réalisation de ce travail et qui nous a donné beaucoup de son temps et son aide, merci.

A Mr :MAKKAOUL.M. pour sa collaboration de faire l'extraction de venin qui était l'étape la plus dangereuse.

A Mr NAOUASS responsable de l'Institut de Pasteur à Alger, l'annexe de EL HAMMA.

A Mme SAAD EDDIN responsable du laboratoire de venin de l'Institut de Pasteur à Alger ,l'annexe de KOUBA.

A Mr DAOUDI ABDELHAFID et Mr DAOUDI ABDELRAHMAN pour leurs collaboration, et leurs conseils.

A Mr CHIKHA BELGACEM AISSA pour son aide la capture d'un nombre de serpents *Cérastes vipera*

A toutes les travailleuses du laboratoire du centre santé de DEBILA .

A nous enseignants .

A tous les membres de jury qui ont acceptés de juger ce travail.

Et à tous ceux qui nous ont aidés de prés et de loin.

NABILA, ASMA, CHAHINEZE, KHAOULA

SOMMAIRE

Introduction générale

PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Composition de venin Cérastes vipera

<u>I. Cérastes vipera</u>	<u>3</u>
<u>I.1. Classification de Cérastes vipera</u>	<u>3</u>
<u>I.2. Description Cérastes vipera</u>	<u>3</u>
<u>I.3. Répartition</u>	<u>4</u>
<u>I.4. L' Appareil Venimeux</u>	<u>5</u>
<u>I.4.1. L'appareil inoculateur</u>	<u>5</u>
<u>I.4.1.1.Les glandes venimeuses</u>	<u>6</u>
<u>I.4.1.2. Le système d'injection</u>	<u>6</u>
<u>I.5. Le venin</u>	<u>8</u>
<u>I.5.1.Définition de venin</u>	<u>8</u>
<u>I.5.1.1. Les toxines</u>	<u>9</u>
<u>I.5.1.2. Les enzymes</u>	<u>9</u>
<u>I.5.2.Synthèse du venin</u>	<u>9</u>
<u>I.5.3.Composition des venins de serpent</u>	<u>10</u>
<u>I.5.3.1. Les enzymes</u>	<u>10</u>
<u>I.5.3.1.1.Les phospholipases A2</u>	<u>11</u>
<u>I.5.3.1.2.Phosphoestérases</u>	<u>11</u>
<u>I.5.3.1.3.L-amino-acide-oxydase</u>	<u>11</u>
<u>I.5.3.1.4.Hyaluronidase</u>	<u>12</u>
<u>I.5.3.1.5.5'-Nucleotidase</u>	<u>12</u>
<u>I.5.3.1.6. L'amylase</u>	<u>12</u>
<u>I.5.3.1.7.Facteur de croissance des nerfs</u>	<u>13</u>
<u>I.5.3.1.8.Les sérine-protéases</u>	<u>13</u>
<u>I.5.3.1.8.1.La cérastobine</u>	<u>13</u>
<u>I.5.3.1.8.2.La viperabine</u>	<u>13</u>
<u>I.5.3.2. Les toxines</u>	<u>13</u>
<u>I.5.3.2.1.Les désintégrines</u>	<u>14</u>

Chapitre II :Les effets de venin sur l'organisme

<u>II. Effets de venin</u>	15
<u>II.1. L'envenimation</u>	15
<u>II.2. La morsure</u>	15
<u>II.3. Physiopathologie de syndrome vipérin</u>	16
<u>II.3.1. La physiopathologie des signes locaux dans Le syndrome vipérin</u>	16
<u>II.3.2. La douleur</u>	16
<u>II.4.Les troubles de l'hémostase dans les syndrome vipérin</u>	17
<u>II.4.1.Action vasculaire</u>	17
<u>II.4.2. Action plaquettaire</u>	17
<u>II.4.3.Action sur la coagulation</u>	18
<u>II.4.4. Action fibrinolytique</u>	19
<u>II.5.Les signes généraux</u>	20
<u>II.5.1. Les troubles thermiques</u>	20
<u>II.5.2.Complication rénales</u>	20
<u>II.5.3. Les complications hématologiques</u>	20
<u>II.5.4. Les signes neurologiques</u>	21

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

Chapitre I : MATERIELS ET METHODES

<u>I. Matériels et Méthodes</u>	23
<u>I.1. Matériels</u>	23
<u>I.1.1. Matériels biologiques</u>	23
<u>I.1.1.1.Venin</u>	23
<u>I.1.1.2. lapins</u>	23
<u>I.1.2. Matériels de laboratoire</u>	23
<u>I.1.3. Les appareils</u>	24
<u>I.1.4. Réactifs</u>	25
<u>I.2. Méthodes</u>	25
<u>I.2.1.Extraction du venin</u>	25
<u>I.2.2.Dilution du venin</u>	26

<u>I.2.3. Injection de venin</u>	<u>27</u>
<u>I.2.4. Prélèvement</u>	<u>27</u>
<u>I.2.5. Analyses</u>	<u>28</u>
<u>I.2.5.1. Méthode de dosage des paramètres biochimiques</u>	<u>28</u>
<u>I.2.5.1.1. Méthode de dosage de la Glycémie</u>	<u>28</u>
<u>I.2.5.1.2 Méthode de dosage des Triglycérides</u>	<u>30</u>
<u>I.2.5.1.3. Méthode de dosage du Cholestérol</u>	<u>32</u>
<u>I.2.5.1.4. Méthode de dosage de l'Urée</u>	<u>33</u>
<u>I.2.5.1.5. Méthode de dosage de la Créatinine</u>	<u>35</u>
<u>I.2.5.1.6. Mesure de l'activité de l'Alanine aminotransférase</u>	<u>37</u>
<u>I.2.5.1.7. Mesure de l'activité de l'Aspartate aminotransférase</u>	<u>38</u>
<u>I.2.5.1.8. Méthode de dosage de la Acide urique</u>	<u>40</u>
<u>I.2.5.1.9. Méthode de dosage de Calcémie</u>	<u>41</u>

Chapitre II: RESULTATS ET DISCUSSION

<u>II. Résultats et Discussion</u>	<u>43</u>
<u>II.1. Résultats</u>	<u>43</u>
<u>II.1.1 Effet de venin sur le métabolisme des lapins</u>	<u>43</u>
<u>II.1.1.1 Effet de différentes doses de venin sur les lapins</u>	<u>43</u>
<u>II.1.2. Effet de venin sur le métabolisme des lapins</u>	<u>43</u>
<u>II.1.2.1. Métabolisme de glucose</u>	<u>43</u>
<u>II.1.2.2. Métabolisme des acides aminés et créatine</u>	<u>45</u>
<u>II.1.2.3. Métabolisme des lipides</u>	<u>49</u>
<u>II.1.2.4. Métabolisme des acide urique</u>	<u>51</u>
<u>II.1.2.5. Métabolisme des calémie</u>	<u>52</u>
<u>II.2. Discussion</u>	<u>54</u>
<u>Conclusion générale</u>	
<u>Resumé et mots-clés</u>	
<u>Annexes</u>	
<u>Références bibliographiques</u>	

LISTE DE FIGURE

Numéro	Titre	Page
Figure1	Tête de <i>céastes vipera</i> (triangulaire) .	03
Figure 2	Coupe du système venimeux chez les soléno glyphes.	04
Figure3	Distribution de la <i>Cerastes vipera</i> .	04
Figure4	Ll'enfoncement de <i>Céastes vipera</i> dans le sable.	05
Figure5	Un crâne de soléno glyphe (Vipéridés) en position d'attaque. La position du crochet venimeux explique pourquoi la vipère peut piquer l'adversaire pour lui injecter son venin.	05
Figure6	Photo représente l'injection de venin <i>céastes vipera</i> .	06
Figure7	Denture et appareil venimeux des serpent.	07
Figure8	Crochet de <i>Céastes vipera</i> (soléno glyphes) .	08
Figure9	Le venin de serpent <i>cerastes vipera</i> .	08
Figure10	Site d'action de la phospholipases A2	11
Figure11	Structure de Hyaluronidase .	12
Figure12	Structure de 5'-nucleotidase .	13
Figure13	Gradation clinique des morsures et des envenimations vipérines selon CAPM .	15
Figure14	Réponse inflammatoire dans le syndrome vipérin.	16
Figure15	Action du venin sur l'hémostase primaire.	18
Figure16	Action du venin sur la coagulation et la fibrinolyse.	19
Figure17	Photo présente le sang coagulée.	21
Figure18	Mécanisme d'action des neurotoxines .	22
Figure19	Photos représentant les matériels biologiques utilisées.	23
Figure20	Photos représentant les appareille utilisés pour ce travail.	24
Figure21	Photos représentent les étapes de l' extraction du venin .	25- 26
Figure22	Représente les différentes dilutions dosées de venin .	27
Figure23	l'injection du venin, sous cutanée .	27
Figure24	Photos représentant l'égorgement des lapins .	28
Figure25	Différentes doses de venin injecté.	43
Figure26	Effet de venin sur la Glycémie.	44
Figure27	Effet de venin sur la Créatinine.	45
Figure28	Effet de venin sur l'activité de TGO.	46
Figure29	Effet de venin sur l'activité de TGP.	47
Figure30	Effet de venin sur d'Urée.	48
Figure31	Effet de venin sur Cholestérol.	49
Figure32	Effet de venin sur Triglycérides.	50
Figure33	Effet de venin sur Acide urique.	51
Figure34	Effet de venin sur Calcémie.	52

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableaux1	Principales enzymes présentent dans venin de Viperidae.	10-11
Tableaux2	Représente le sexe des lapins.	23
Tableaux3	Présente les doses de venin injectée.	43
Tableau4	La concentration de glycémie (g/l) chez la lapin témoin et lapins injectées par venin.	43
Tableaux5	La concentration de créatinine (g/l) chez la lapin témoin et des lapins injectés par le venin.	45
Tableaux6	L'activité de TGO (UI/l) chez la lapin témoin et lapins injectés par venin.	46
Tableaux7	L'activité de TGP (UI/l) chez La lapin témoin et lapins injectés par venin.	47
Tableaux8	La concentration d'urée (g/l) chez la lapin témoin et lapins injectés par venin.	48
Tableaux9	La concentration de cholestérol (g/l) chez la lapin témoin et lapins injectés par venin.	49
Tableaux10	La concentration de des triglycérides (g/l) chez La lapin témoin et lapins injectés par venin.	50
Tableaux11	La concentration de acide urique (g/l) chez La lapin témoin et lapins injectés par venin.	51
Tableaux12	La concentration de calcémie (g/l) chez La lapin témoin et lapins injectés par venin.	52

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

ADP: Adenosine DiPhosphate.

AMP: Adenosine MonoPhosphate.

AMPc : Adenosine MonoPhosphate cyclique .

Arg : Argénine.

ARN: Acide Ribonucléique.

Asp: Aspartique.

ATP : Adenosine Triphosphate.

C: Carbone.

°C: Digrée celle sise .

Cal: Calcémie.

CAPM: Centre Anti Poison du Maroc.

Chol : Cholestérol.

CIVD: Coagulation Intra Vasculaire Disseminee.

Cm: Centimètre.

Co: Cobalt .

CO₂: Dioxyde de carbone.

Cu: Cuivrer.

DO: Dosage d'opiration.

EDTA: Acide Éthyléme Diamine Têtracé .

g/l: Grame/Liter.

g: Grame.

Gly: Glytamine.

GPIb: General Purpose Interface Bus.

GPIIb/IIIa: glycoprotein IIb/IIIa inhibitors.

H₂O: l'eau.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

KDa: kilo Dalton.

L : Litre.

LDH: Lactate déhydrogénase.

m mol/l : Meili mol/Liter.

m: Mètre .

NH₃: Amoniac.

MDH: Malate Déshydrogénase.

mg/dl: Meiligram / Disiliter.

Mg/dl: Meiligram / Disiliter .

min : Minute.

NAD: Nicotinamide adenine dinucleotide.

NADH: Nicotinamide adenine dinucleotide.

NGF: Nerve Growth Factor.

nm: Nanomètre.

O₂ : Oxygène.

pH : Potentiel Hydrogène

PLA1: Phospholipases A1.

PLA2: Phospholipases A2.

PLC: Phospholipases C.

PLD: Phospholipases D.

R1: Raective1.

R2: Raective2.

RGD: Rat Genome Database.

RGDS: Rapid Gravity Dewatering System.

Ser: Serine.

TGO: Glutamate Oxaloacétique Transaminase .

TGP: Glutamate.

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α .

Zn: Zinc .

μ L: Micro Liter.

μ mol : Micromole.

UI: Unité Internationale .

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les vipères sont des animaux relativement pacifiques qui préfèrent la fuite à l'attaque. L'agressivité de la vipère ne se manifeste vis-à-vis de l'homme que lorsqu'elle se sent menacée (**Mermod C., 1970**).

Céastes vipera est une espèce de serpents Saharienne de genre céastes dont la dentition *Céastes vipera* est dotée de dents solénoptères (**Chippaux J.P., 2006**).

Les venins de serpents ne sont que l'un des composants de ce qui se nomme "l'appareil venimeux". Celui-ci est constitué essentiellement de deux glandes venimeuses produisant le venin et d'un système d'injection composé de dents modifiés en crochets permettant au serpent de faire pénétrer son venin dans les tissus de sa proie ou de son agresseur (**Chippaux J.P., Goyffon M., 2006**). C'est ce qui explique que les « morsures » Les envenimations dues aux vipéridés constituent un problème de santé publique important. Ces envenimations sont souvent à l'origine des complications hématologiques systémiques, coagulation de sang... (**Mion G. et al., 2010**).

Le venin de *Céastes vipera* est une substance chimique constituée de 2 composants : les toxines et les enzymes (**Fouad Ch. et al., 2011**).

Le but de notre étude est de montrer les effets du venin sur les paramètres biologiques et les perturbations biologiques observées lors des envenimations vipérines, les signes cliniques et biologiques de la gravité des morsures.

La première partie est une synthèse bibliographique sur l'espèce de *Céastes vipera* et la composition de leur venin puis les effets qui peuvent apparaître par l'envenimation sur l'organisme.

La deuxième partie c'est la pratique où se fait l'injection du venin aux lapins après l'extraction du venin du serpent de *Céastes vipera* et la dilution de ce venin.

Est ce qu'il y a des effets du venin *Céastes vipera* sur l'organisme ?

Comment agit –t-il sur les paramètres biochimiques ?

Première partie

Partie synthèse
bibliographique

Composition de venin

Cerastes vipera

I. *Cérastes vipera*

Est une espèce de serpents de la famille des Viperidae. Un serpent est un reptile sans pattes dont le corps est couvert d'écailles. Pour se promener, il doit ramper *Cérastes vipera* est une espèce Saharienne (**Chippaux J.P., Goyffon M., 2006**).

I.1. Classification de *Cerastes vipera*

Classe: Reptilia Ordre: Squamata Super famille: Colubroidea Famille: Viperidae Genre: Cerastes (**Chippaux J.P., 2006**).

Synonymes

Coluber vipera ;
Aspis vipera ;
Echidna atricauda ;
Vipera avicennae (**Le Berre M., 1989**).

Noms usuels

Français : Cérastes d'Avicenne ou vipère de l'erg ;
Anglais : Sahara Sand viper (**Pierrette Brix N., 2010**), Vipère cérastes
vipère minute et Lesser cerastes viper ;
Arabe : (Lefaa) , قرنا (Qerna) (**Le Berre M., 1989**).

I.2. Description *Cérastes vipera*

Cérastes vipera Petite taille de 49 cm . Les yeux sont apicaux et portés par une petite tête bien individualisée. De couleur claire (jaune sable ou rouge brique pâle), et porte des taches sombres le long du corps (**Chafiq F., al., 2011**) , une tache de couleur rouge sur la tête (**Mermode C., 1970**). La tête est triangulaire. Le cou est fortement marqué. L'oeil est petit avec une pupille verticale (**Chippaux J.P., 2006**). La queue est extrêmement courte et épaisse et souligne encore davantage d'impression de lourdeur que donne le corps du cérastes d'avicenne (**Pierrette Brix N., 2010**).

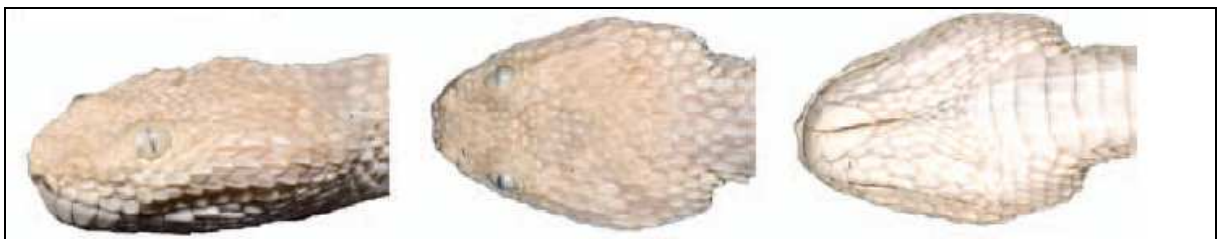


Figure 1 : Tête de *Cérastes vipera* (triangulaire) (**Wagner Ph., Wilms T., 2010**).

le corps de *Cérastes vipera* est recouvert de petit écailles oblongues fortement carénées qui donnent un aspect très mat à l'animal et muscles transversaux développés permettant une reptation latérale rapide et un enfouissement particulièrement efficace (**Ulrich G., 2009**).

La dentition *Cerastes vipera* est doté de dents solénoptyles comme toutes les autres espèces appartenant à la famille des vipéridés (Pierrette Brix N., 2010).

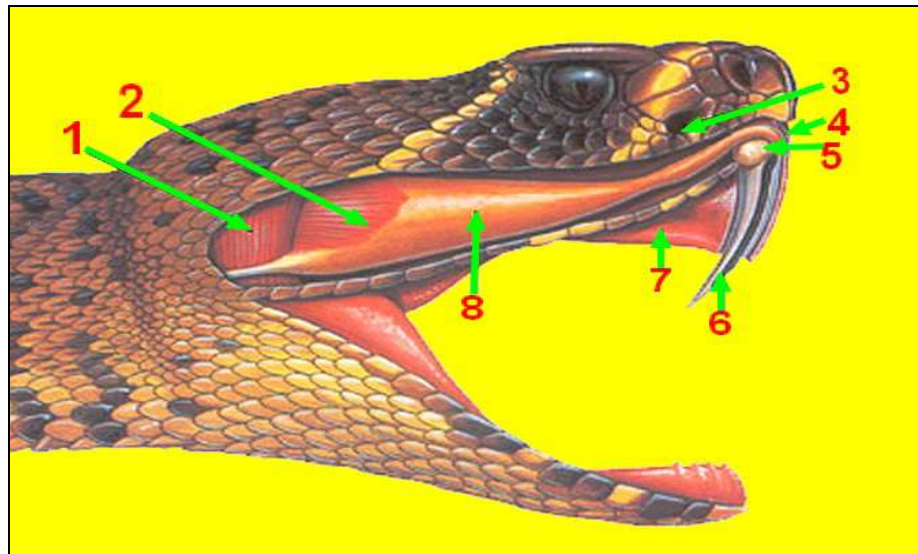


Figure 2 : Coupe du système venimeux chez les solénoptyles (site web 1).

- | | |
|----------------------------|----------------------|
| 1. Muscle de la mâchoire ; | 5. Canal à venin; |
| 2. Muscle compresseur ; | 6. Crochet ; |
| 3. Fossette sensorielle ; | 7. Gaine du crochet; |
| 4. Maxillaire ; | 8. Glande à venin . |

I.3.Répartition

Sahara, de la Mauritanie à l'Égypte, jusqu'aux confins du sahel (Chippaux J.P., 2006).



Figure 3 : Distribution de la *Cerastes vipera* (site web 2).

Localisée dans les régions sablonneuses et surtout les ergs et s'enfonce laissant uniquement ses yeux à l'extérieur (Chafiq F., al., 2011).

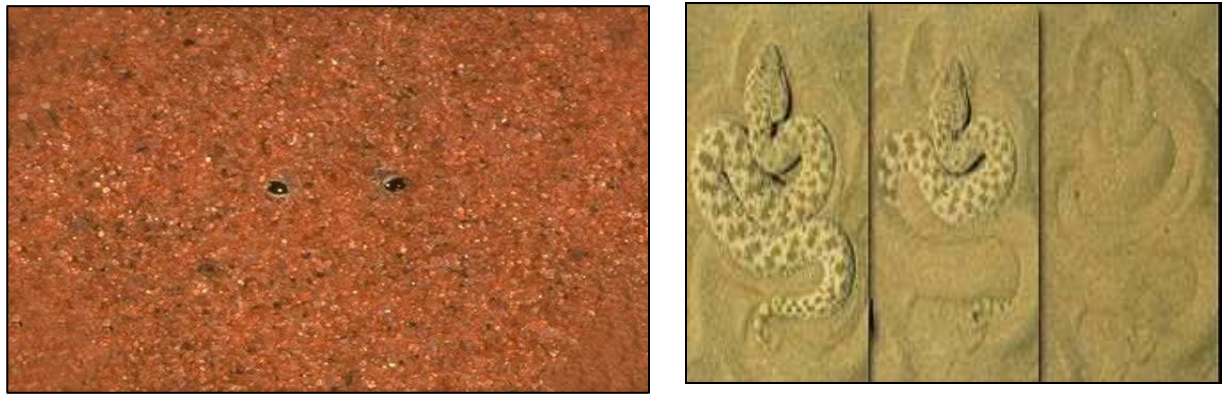


Figure 4: L'enfoncement de *Cérastes vipera* dans le sable (site web 3).

I.4.L' Appareil Venimeux

L'appareil venimeux est constitué de glandes à venin (uni- ou pluricellulaire) et d'un appareil vulnérant chez les animaux actifs, constitué soit d'un dispositif à injection (poire à injection ,seringue à piston) soit d'un dispositif de pénétration (aiguille, pointe de harpon, mors, dard, soies). L'animal venimeux actif dispose d'une glande spécialisée et d'un appareil vulnérant capable d'injecter son contenu (toxicité parentérale) (Chippaux J.P., Goyffon M., 2006).

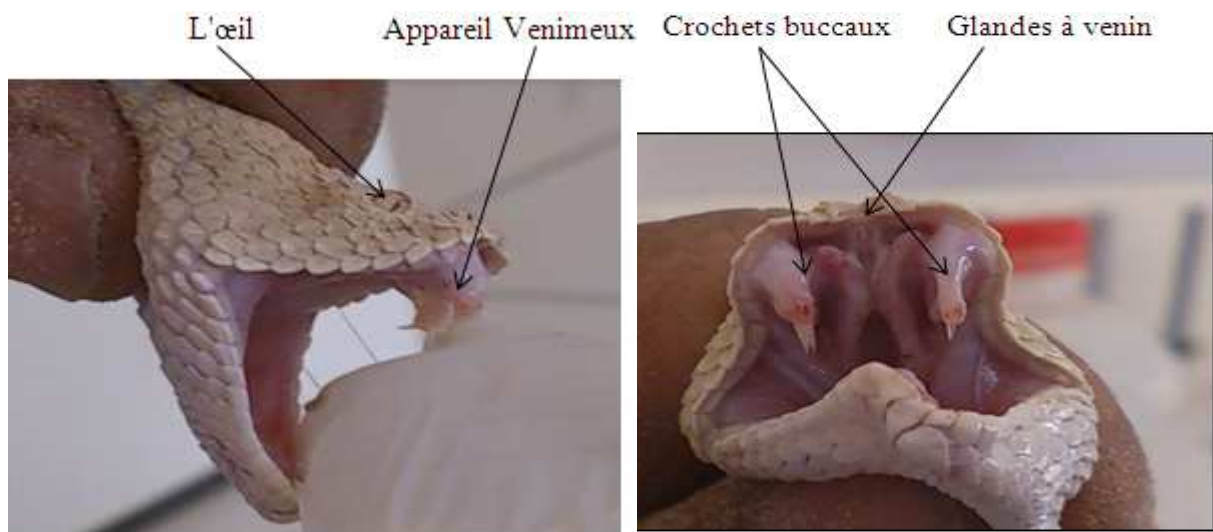


Figure 5 : Un crâne de solénoglyphe (Vipéridés) en position d'attaque. La position du crochet venimeux explique pourquoi la vipère peut piquer l'adversaire pour lui injecter son venin (Photo originale).

I.4.1. L'appareil inoculateur

Un appareil venimeux complexe (Chafiq F., *al.*, 2011). Appareil d'inoculation : crochets buccaux creux (Xavier G., 1991).

Les venins de serpents ne sont que l'un des composants de ce qui se nomme "l'appareil venimeux". Celui-ci est constitué essentiellement de deux glandes venimeuses

produisant le venin et d'un système d'injection composé de dents modifiées en crochets permettant au serpent de faire pénétrer son venin dans les tissus de sa proie ou de son agresseur. L'appareil venimeux des serpents est certainement le plus perfectionné que le monde animal terrestre ait élaboré. Sa fonction est d'immobiliser les proies dont l'animal va se nourrir et de jouer un rôle important dans la digestion des proies (Goyffon F., Heurtaut J., 1994).

I.4.1.1. Les glandes venimeuses

Les glandes venimeuses se situent en arrière de la région orbitaire. Il s'agit en fait de glandes salivaires qui se sont spécifiées. Elles sont compartimentées en lobes et lobules. Au centre, il se forme un réservoir qui débouche sur un canal excréteur. En avant des glandes venimeuses, se trouve une glande muqueuse (Goyffon F., Heurtaut J., 1994).

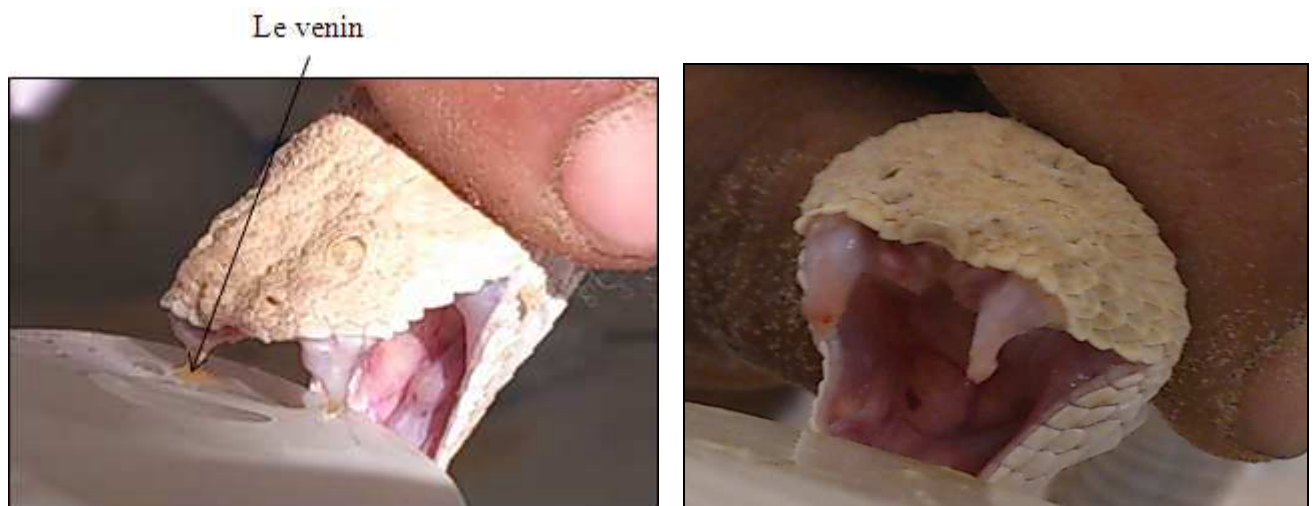


Figure 6 : Photo représente l'injection de venin *Cérastes vipera* (Photo originale).

I.4.1.2. Le système d'injection

Il est classique de distinguer quatre groupes de serpents en fonction de l'anatomie de la denture (Chippaux J.P., Goyffon M., 2006) :

- Les aglyphes

Les aglyphes ou couleuvres, n'ont pas de crochets venimeux mais possèdent comme tous les serpents des glandes venimeuses dont le contenu se déverse dans la bouche ; leur morsure n'est pas totalement inoffensive lorsqu'elle est prolongée (Gentilini M., 1993).

- Les opisthoglyphes

Les opisthoglyphes se rencontrent chez les colubridés, qui ont développé une fonction venimeuse tel que Boiga, Dispholidus, Thelotornis ..., ils ont des crochets venimeux situés en arrière de la gueule et l'envenimation n'est possible que si la proie est profondément

engagée . Ces crochets ont tendance à se coucher en arrière et sont en général rangés horizontalement.ils son de taille modeste, allant de 3 ou 4 à 8 ou 10 mm .l'injection du venin est superficielle lors de la morsure (**Diakite D., 1977**).

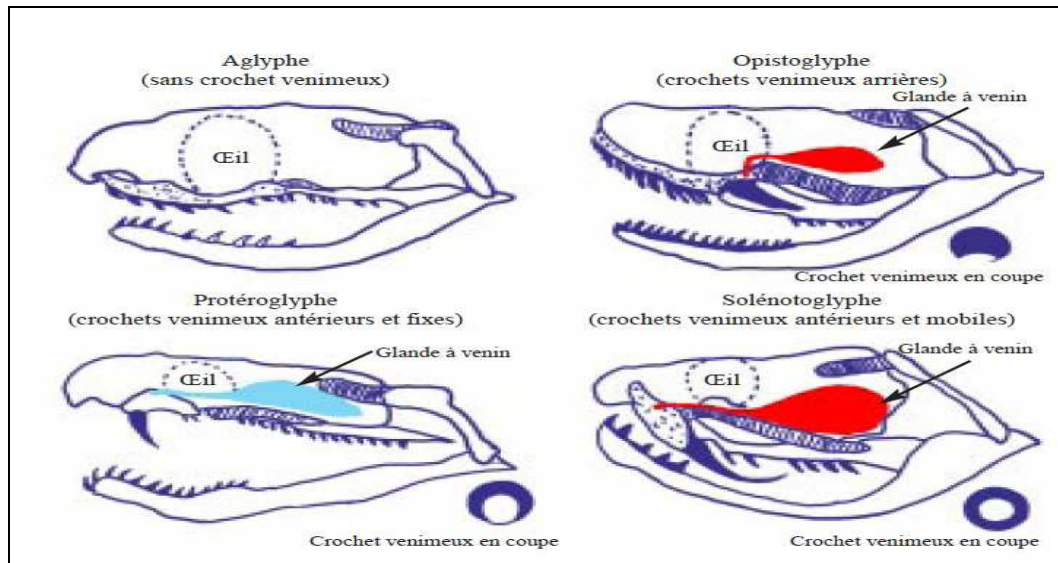


Figure 7: Denture et appareil venimeux des serpent (**Chippaux J.P., Goyffon M., 2006**).

-Les protéroglyphes

Ils sont les plus dangereux. Les crochets sont situés en avant de gueule et sont quasiment immobiles . Ils sont généralement de taille assez petite de quelques millimètres, pouvant atteindre 15 à 18 mm chez ophiphagus Hannah . certains genres surtout najas peuvent en plus de la morsure, cracher leur venin sur une distance pouvant atteindre 2 mètres. Cette action est rendue possible, par la forme du canal conduisant le venin au bout du crochet creuse d'une gouttière le long de laquelle coule le venin. Ce groupe comprend deux familles: les hydrophidés et les élapidés (**Diakite D., 1977**).

-Les solénoglyphes

(Vipères, Crotales, Mocassins, Fers de lance) possèdent des crochets à venin creusés d'un canal tubulaire. Ils sont mobiles, se dressent à la verticale au moment de l'ouverture de la bouche, ce qui autorise leur longueur accrue. Au repos, ils sont repliés dans leur fourreau et plus ou moins plaqués contre le plafond buccal. Lors de la morsure, ils sont plongés avec violence dans les chairs de la proie et l'injection de venin à lieu aussitôt. Les crochets sont ensuite retirés libérant la proie dont la mort est déjà programmée (**Christelle R., 2006**).

Les serpents venimeux, comme les vipères possèdent des crochets venimeux en plus de leurs autres dents. Ces crochets sont pointus et possèdent un canal creux à l'intérieur, un peu comme l'aiguille d'une seringue. Lorsque le serpent mord, le venin est propulsé depuis une glande située dans la mâchoire supérieure et s'écoule par le canal de la dent (sans crochet venimeux) (**Chippaux J.P., Goyffon M., 2006**).

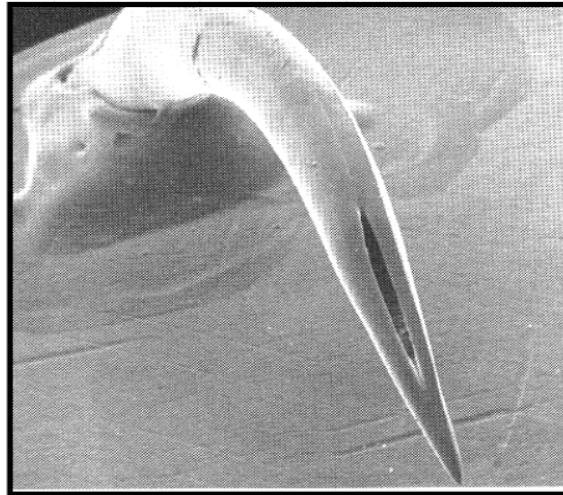


Figure 8 : Crochet de *Cérastes vipera* (solénoglyphes) (Stoker K.F., 1990).

I.5. Le venin

I.5.1. Définition de venin

Le venin est un liquide jaune ambré ou blanchâtre de consistance visqueuse. Le venin de serpent sont essentiellement constitués de protéines bio-actives , et de polypeptide de faible Poids Moléculaire (Raaf L., Boudi A., 1999). La nature protéique des venins des vipères a été observée dès 1843 par Lucien Bonaparte , le frère de Napoléon. De fait les protéines constituent de 90 à 95 % du poids sec du venin et sont responsables de la quasi-totalité de ses effets biologiques . Il faut toutefois remarquer que certains venins contiennent aussi des ions (Zn , Ca ,Cu ou Co) (Bon C., 1991). Le venin présente une viscosité de 1.5 à 2.5 leur PH varie de 5.5 à 7 (Boquet P., 1966).



Figure 9 : Le venin de serpent *Cérastes vipera* (Photo originale).

Le venin sont des poison d'origine animale utilisé comme arme d'attaque ou de défense .

Le venin a connu une évolution liée à celle des glandes à venin. Ces dernières sont issues des glandes digestives, salivaires notamment, La complexité du venin de serpent, riche en enzymes et en toxines (**Chippaux J.P., 2006**).

I.5.1.1. Les toxines

Se fixent essentiellement sur les récepteurs cellulaires dont elles perturbent leur fonctionnement (neurotoxines, cardiotoxines, myotoxines, cytotoxines...) (**Diakite D., 1977**).

I.5.1.2. Les enzymes

Qui transforment les substrats en nouveaux composés, douées parfois d'actions pharmacologiques (phospholipases, nucléotidases et les phosphatases, les hyaluronidase (**Chafiq F., al., 1991**).

Le venin de serpent est un véritable cocktail de substances chimiques dont la composition varie d'une espèce à l'autre mais aussi selon l'âge de l'individu, selon la progression de son cycle (**Christelle R., 2006**). Les venins de serpents ont le double objectif d'immobiliser rapidement la proie et d'en commencer la digestion (**Goyffon M., Chippaux J.P., 2006**).

Les venins des Vipéridés sont caractérisés par de grandes concentrations d'enzymes qui sont à l'origine de troubles loco-régionaux sévères et de troubles de la coagulation mettant en jeu le pronostic vital (**Chafiq F., 1991**).

Le venin de vipère *Cerastes vipera* sont riches en protéines de type thrombine (protéases à sérine) (**Marrakchi N., El Ayeb M., 1998**).

I.5.2.Synthèse du venin

La fabrication du venin passe par une première phase de synthèse extrêmement rapide puis progressivement parvient à un stade de plateau qui semble correspondre à la saturation de la glande. Chaque cellule sécrétrice produit l'ensemble des constituants du venin. Toutefois, chacun d'eux est fabriqué à des moments différents du cycle sécrétoire. Le maximum de la synthèse du venin est atteint en une semaine environ, et le plateau en deux à trois semaines. Après une période de forte régénération des constituants du venin, la réabsorption d'eau permet de stabiliser la concentration protéique. Lorsque la lumière centrale de la glande, qui joue le rôle de réservoir, est remplie, la synthèse du venin s'arrête (**Chippaux J.P., 2002**).

La proportion de venin injecté lors d'une morsure peut varier de 10 à 50 % de la capacité glandulaire. Lors de morsures successives, la quantité de venin délivrée par le serpent diminue graduellement. Tout se passe comme si le serpent délivrait la dose nécessaire pour obtenir le résultat escompté : immobiliser la proie ou éliminer un agresseur lorsqu'il ne peut éviter la confrontation (**Chippaux J.P., 2002**). A l'origine, les venins de serpents proviendraient d'une spécialisation des sécrétions digestives, peut être pancréatiques, certainement salivaires, assurant initialement la digestion des tissus (**Quinton L., 2006**).

I.5.3. Composition des venins de serpent

Les venins de serpents possèdent un contenu protéique important : de l'ordre de 90% du poids sec (Quinton L., 2006). On peut, schématiquement et pour les commodités de la présentation, diviser les substances présentes dans les venins en deux groupes (Chippaux J.P., 2006) : les enzymes qui ne présentent pas de toxicité aiguë en général, et les toxines dont le rôle pharmacologique est mieux connu (Chippaux J.P., 2002).

I.5.3.1. Les enzymes

Sont généralement des protéines de poids moléculaire plus élevé que les toxines (Quinton L., 2006). Qui pourraient jouer un rôle important lors de la digestion des proies (Bon C., 1991). Leurs propriétés catalytiques qui les distinguent des toxines ont deux conséquences majeures. D'une part, le produit de dégradation dont dépend le plus souvent la toxicité n'a, en principe, aucune propriété immunogène au niveau de l'organisme receveur. La toxicité du venin des Viperides est difficile à corréler avec les diverses activités enzymatiques de leurs composés (Marrakchi N., El Ayeb M., 1998). Les enzymes des venins de serpents sont de spécificité variable. Les plus connus agissent sur la coagulation sanguine, le plus souvent en se substituant aux enzymes physiologiques (Chippaux J.P., 2006).

Tableaux 1 : Principales enzymes présentes dans venin de Viperidae (Bon C., 1991).

Type	Nom	N°IUB(1)	Origine
1- Oxydoréductases	L-amino acide oxidase	1.4.3.2	Toutes les espèces
	Catalase	1.11.1.6	Toutes les espèces
3- Hydrolases	PhospholipasesA2	3.1.1.4	Toutes les espèces
	Lysophospholipase	3.1.1.5	Viperidae
	5'- Nucléotidase	3.1.3.5	Toutes les espèces
	Phosphodiesterase	3.1.3.1	Toutes les espèces
	Désoxyribonucléase	3.1.21.1	Toutes les espèces
	Ribonucléase 1	3.1.27.5	Toutes les espèces
	Adénosine	3.6.1.3	Toutes les espèces
	triphosphatase	3.2.1.1	Toutes les espèces
	Amylase	3.2.1.37	Toutes les espèces
	Hyaluronidase	3.2.2.6	Toutes les espèces
	NAD-Nucléotidase	3.4.21.8	Toutes les espèces
	Kininogénase	3.4.21.23	Viperidae
Activateur du facteur X	-	Viperidae	

	a-Fibrinogénase	-	Viperidae
	b-Fibrinogénase	-	Viperidae
	Collagénase	-	Viperidae
	Elastase	-	Viperidae

I.5.3.1.1. Les phospholipases A2

Constituent une superfamille d'enzymes qui catalysent en présence de calcium (**Cité par Hadjam A., Hassen Z., 2008**), l'hydrolyse la liaison ester en position deux des glycérophospholipides (**Cité par Raaf L., Boudi A., 1999**), libérant un acide gras et un lysophospholipide (**Ikram J., 2009**). Les phospholipases A2 interviennent sur plusieurs systèmes physiologiques en fonction du type de phospholipides hydrolysés, hémostasie, transmission neuro-musculaire et réaction inflammatoire notamment (**Chippaux J.P., 2002**).

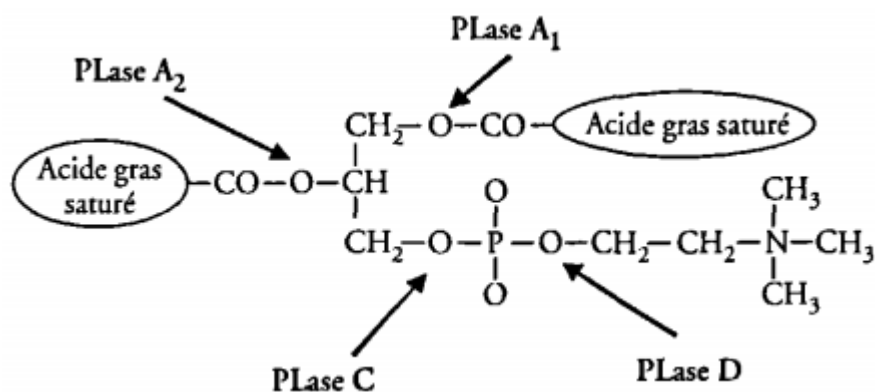


Figure 10 : Site d'action de la phospholipases A2 (Cité par Mansouri Ch., *al.*, 2013).

I.5.3.1.2. Phosphoestérases

De nombreux venins contiennent diverses phosphoestérases. Les endonucléases hydrolysent les acides nucléiques (ADN et ARN) au niveau des liaisons entre les paires de bases. Les exonucléases attaquent la base située à l'extrémité de la chaîne nucléique. Les phosphodiesterases coupent la liaison séparant l'oxygène placé en position 3' du ribose ou du désoxyribose pour séparer ces derniers du phosphore (**Chippaux J.P., 2002**).

I.5.3.1.3. L-amino-acide-oxydase

Cette enzyme provoque la désamination puis l'oxydation des acides aminés qui sont transformés en acide (X-cétonique) (**Chippaux J.P., 2002**), de poids moléculaire 135 KDa et un PHi de 4.5 (**Cité par Hadjam A., Hassen Z., 2008**). La traduction clinique et toxicologique est négligeable ; elle représente moins de 1 % de la toxicité totale du venin, ce qui s'explique par la faible concentration de cette enzyme. Cette enzyme donne sa couleur jaune au venin (**Cité par Raaf L., Boudi A., 1999**).

I.5.3.1.4. Hyaluronidase

Cette enzyme est très fréquente dans la plupart des venins (**Chippaux J.P., 2002**). l'activité hyaluronidase a été révélée au niveau d'une fraction protéique (**Cité par Raaf L., Boudi A., 1999**), du poids moléculaire 75 KDa (**Cité par Hadjam A., Hassen Z., 2008**). Elle hydrolyse l'acide hyaluronique ou le sulfate de chondroïtine, qui sont des mucopolysaccharides responsables de la cohésion du tissu conjonctif (**Chippaux J.P., 2002**). Ce qui facilite la diffusion du venin dans les tissu sous-cutanés (**Lakhdar A., 2001**).

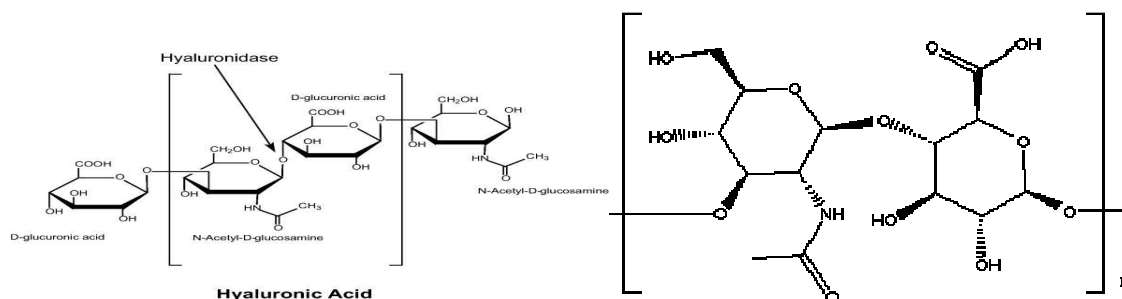


Figure 11: Structure de Hyaluronidase (**Lakhdar A., 2001**).

I.5.3.1.5. 5'-Nucleotidase

La 5'-nucleotidase étant omniprésente dans des venins de serpents, cette enzyme était définie comme étant plus active contre l'AMP, mais elle avait d'autres substrats. Elle est maintenant connue pour hydrolyser une grande variété d'autres riboses et désoxyriboses. Son activité est stimulée par les cations divalents tels le zinc ou le cobalt. La préférence de la 5'-nucleotidase de serpent pour la 5'-AMP suggère l'importance centrale de l'adénosine dans l'envenimation. La fonction première de cette enzyme serait de libérer l'adénosine et d'autres purines, et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire serait une conséquence de cette libération d'adénosine (**Christelle R., 2006**).

I.5.3.1.6. L'amylase

L'amylase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse des polymères d'alpha-D glucose au niveau des liaisons C1-C4, Elle est produite sous la forme de deux groupes d'isoenzyme génétiquement distincts, définis selon leur origine pancréatique ou salivaire (**Mamoudou H. D., 1999**).

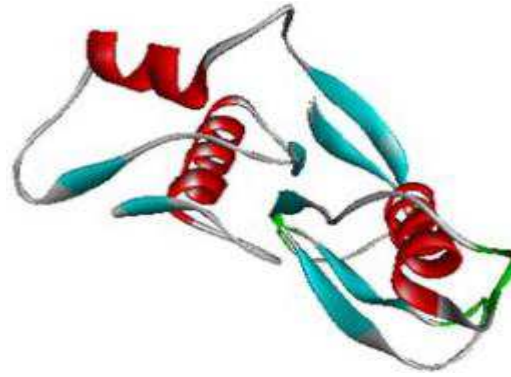


Figure 12: Structure de 5'-nucleotidase (site web 4).

I.5.3.1.7.Facteur de croissance des nerfs

Le facteur de croissance des nerfs (nerve growth factor, ou NGF), est une protéine de 116 acides aminés pelotonnée grâce à 3 ponts disulfures. son poids moléculaire est compris entre 20 et 40 KDa. Il est dépourvu d'activité enzymatique et sa toxicité est nulle (**Chippaux J.P., 2002**).

I.5.3.1.8.Les sérine-protéases

Sont des glycoprotéines mono ou bicaténaires de 20 à 100 KDa qui se lient à leur substrat grâce à une serine (**Chippaux J.P., 2002**), elle représentent jusqu'à 20% de protéine totale du venin (**Cité par Hadjam A., Hassen Z., 2008**). Les venins des vipères *Céastes vipera* sont riches en protéines de type thrombine (protéases à sérine) Parmi les sérines protéinases thrombine-like, on peut citer la cérastocytine issue du venin de *Céastes céastes* et la cerastobine issue du venin de *Céastes vipera* (**Christelle R., 2006**). La thrombine, protéase à sérine glycosylée, joue un rôle central dans l'hémostas (**Blomback B., al., 1967**).

I.5.3.1.8.1.La cérastobine

C'est une enzyme du type thrombine. Elle a été isolée et purifiée jusqu'à l'homogénéité à partir du venin de *Cerastes vipera*. Sa structure est monomérique et elle est composée de 348 acides aminés. Elle a un poids moléculaire de 38 KDa. La cérastobine hydrolyse des substrats contenant l'arginine comme le TAME, le BAME et la BAEE (**Farid T.M., al., 1989**).

I.5.3.1.8.2.La viperabine

Elle est purifiée à partir du venin de *Céastes vipera*. C'est une protéine acide (PHi = 4,9), ayant un poids moléculaire de 32 KDa. Elle n'est pas douée d'activité est erasique et n'hydrolyse pas l'albumine ou la caséine (**Marrakchi N., El Ayeb M., 1998**).

I.5.3.2. Les toxines

Ce sont des protéines de poids moléculaire variable, généralement assez faible (**Chippaux J.P., 2006**), inférieurs à 30 KDa. se fixent sur des récepteurs cellulaires spécifiques le plus

souvent membranaire (**Kassogue A., 2006**) , dont elles inhibent ou perturbent le fonctionnement (**Goyffon M., Chippaux J.P., 2006**). Le tropisme des toxines peut être neurologique, cardio-vasculaire, musculaire ou indifférencie selon la distribution anatomique des récepteurs reconnus (**Kassogue A., 2006**). L'effet toxicologique obtenu va être essentiellement dépendant de la quantité de toxine inoculée et du nombre de récepteurs ciblés ainsi que d'autres facteurs comme la constante d'affinité de la toxine pour son récepteur (**Quinton L., 2006**), notamment la vitesse de diffusion de la toxine, elle même fortement dépendante de sa taille, et l'affinité de la toxine pour son récepteur. dont la toxicité On peut classer les toxines en huit familles principales en fonction de leur structure et/ou de leur mode d'action : les Neurotoxines postsynaptique, les Myotoxines, les Neurotoxines presynaptiques, les cytotoxines, les Sarafotoxines, les Desintégrines, les Dendrotoxines et les Fasciculines (**Kassogue A., 2006**).

I.5.3.2.1. Les désintégrines

Les sont trouvées dans les venins de Viperidae (5-15 KDa pour 4 à 7 ponts disulfures). Cette famille complexe de toxines inhibe les intégrines, protéines transmembranaires permettant le transfert des messages extracellulaires vers le cytoplasme (**Quinton L., 2006**). Elles présentent une conformation mono ou hétérodimérique (**Chippaux J.P., 2002**).

Les Effets de venin
Cerastes vipera sur
l'organisme

II. Effets de venin

II .1.L'envenimation

L'envenimation est représentée par l'ensemble des manifestations locales et générales induites par la pénétration dans l'organisme d'une substance toxique produite par un animal venimeux (Mion G., *al.*, 2010).

II .2. La morsure

L'injection du venin se fait sous pression et en profondeur par pénétration hypodermique des crochets de vipère, lesquels sont creusés des canalicules où s'écoule le venin. L'appareil venimeux des Vipéridés est le système d'injection du venin le plus efficace. Elle ne dure que quelques dixièmes de seconde (Marsh N., Williams V., 2000).

Cette morsure n'est pas toujours synonyme d'inoculation de venin. La glande à venin est entourée de muscles striés : la vipère possède donc la faculté de mordre sans injecter son venin : c'est la morsure blanche ou morsure sèche (Mion G., *al.*, 2010).

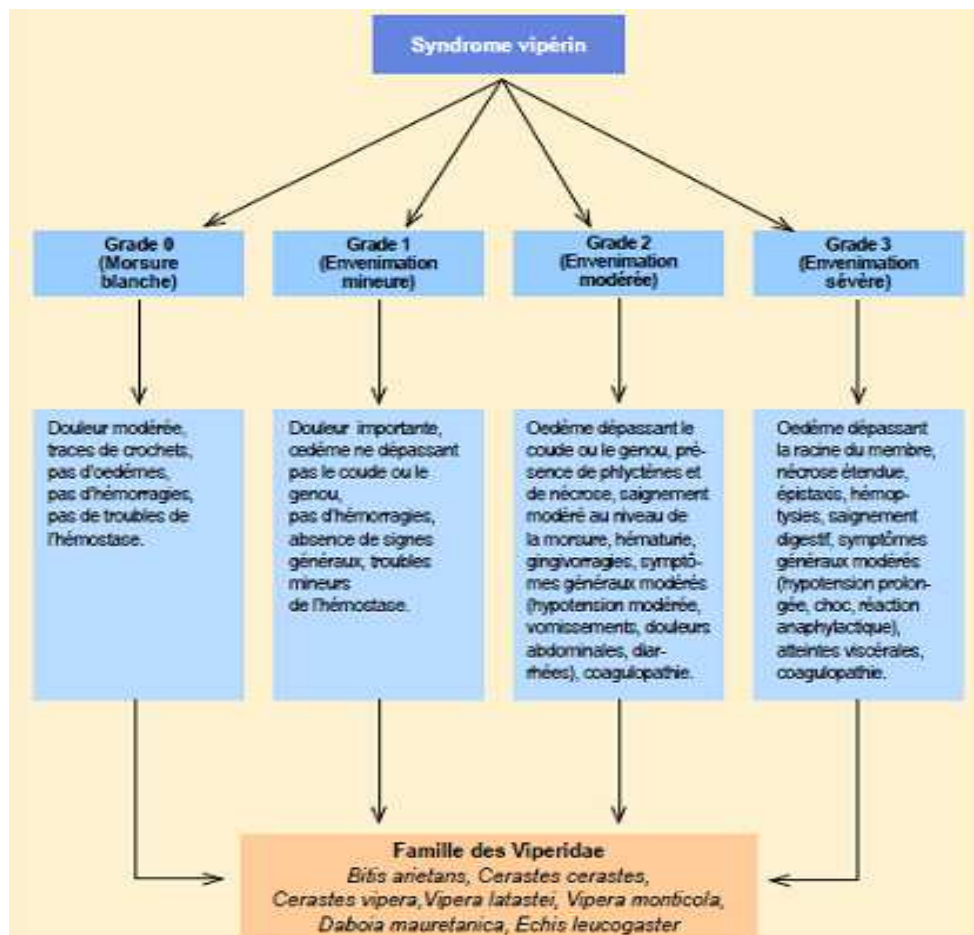


Figure 13 : Gradation clinique des morsures et des envenimations vipérines selon CAPM (Mohammed N., 2014).

II.3. Physiopathologie de syndrome vipérin

Les morsures par Vipéridé se distinguent par le développement d'un syndrome vipérin associé à un syndrome hématologique (**Mion G., al., 2010**).

II.3.1. La physiopathologie des signes locaux dans Le syndrome vipérin

Le syndrome vipérin se traduit par l'association de signes locaux tels que : douleur, oedème, nécrose résultant d'une cascade inflammatoire (**Mion G., Goyffon M., 2000**).

Les enzymes présentes dans le venin de Vipéridé sont fortement hydrolytiques afin d'aboutir à la destruction des tissus avec lesquels elles sont en contact (**Stoebner P., al., 2001**).

II.3.2. La douleur

La douleur apparaît les premières minutes après la morsure. Dans environ 90% des cas, c'est une sensation de piqûre ou de brûlure aigue. Les morsures de vipéridés sont plus douloureuses. La pénétration d'antigènes secondaires à la morsure se traduit par l'activation de la coagulation, du complément et des cellules immunocompétentes. L'activation de la coagulation entraîne l'extravasation secondaire à la destruction des endothéliums aboutissant à un syndrome œdémateux plus au moins associé à des phlyctènes. De plus la formation de plasmine par ce phénomène met en jeu le système des kinines aboutissant à la formation de bradykinine : kinine vasodilatatrice et algogène amplifiant l'oedème. L'activation du complément secondaire à la morsure conduit elle aussi à la formation de bradykinine et d'histamine entraînant un relâchement des fibres lisses artériolaires ainsi qu'une contraction des veinules efférentes provoquant une stase capillaire et une extravasation. L'activation des cellules immunocompétentes conduit à la libération des cytokines proinflammatoires (**Chippaux J.P., 1999**).

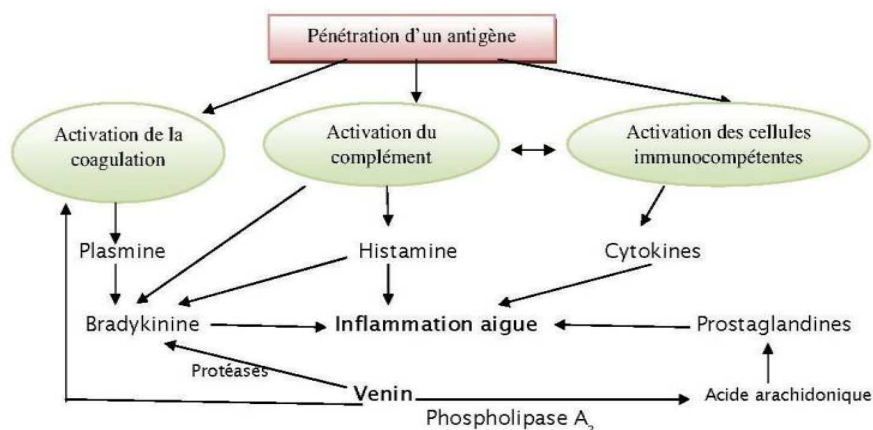


Figure 14 : Réponse inflammatoire dans le syndrome vipérin (**Mion G., Goyffon M., 2000**).

II.4. Les troubles de l'hémostase dans le syndrome vipérin

Les protéines qui agissent sur l'hémostase peuvent être classées en quatre groupes :

-Celles qui induisent des troubles de la perméabilité capillaire.

-Celles qui perturbent l'hémostase primaire.

-Celles qui interfèrent avec la coagulation.

-Celles qui activent la fibrinolyse (**Mion G., al., 2010**).

II.4.1. Action vasculaire

Des métalloprotéases zinc-dépendantes, appelées hémorragies, détruisent les membranes basales de l'endothélium capillaire (**Choumet V., Goyffon M., 2003**), et sont responsables du développement de l'œdème, des phlyctènes, de la nécrose, mais aussi d'hémorragies locales ou systémiques (**Mion G., al., 2002**). Les hémorragies sont également responsables d'une inhibition plaquettaire, de la dégradation de facteurs de la coagulation et d'une production du TumorNecrosis Factor- α (TNF- α). Les désintégrines et les lectines de type C altèrent également les parois vasculaires (**Clemetson J.M., al., 2005**).

II.4.2. Action plaquettaire

De nombreuses protéines isolées de venins sont capables in vitro d'activer ou d'inhiber les plaquettes, deux activités qui peuvent coexister dans le même venin. La résultante de l'activation, qui provoque une thrombopénie, et de l'inhibition, qui réduit l'activité des plaquettes, est un risque hémorragique (**White J., 2005**).

Elles inhibent l'agrégation plaquettaire en bloquant les intégrines des classes $\beta 1$ et $\beta 3$, protéines de liaison au sous-endothélium. C'est une séquence peptidique des désintégrines, dite RGD, qui bloque l'interaction entre fibrinogène et séquence RGDS (Arg-Gly-Asp-Ser) des récepteurs GPIIb/IIIa, exprimés en surface des plaquettes activées par l'ADP ou la thrombine (**Zingali R.B., Bon C., 1991**).

Enzymes interférant avec les plaquettes : Certaines phospholipases A2 sont capables d'activer les plaquettes sanguines, tandis que d'autres inhibent l'agrégation plaquettaire. Les phospholipases A2 inhibitrices provoquent l'altération du cytosquelette plaquettaire et l'augmentation de la concentration intracellulaire en AMPc (**Chippaux J.P., 2002**). Certaines phospholipases A2 activatrices libèrent de l'acide arachidonique, d'autres activent les plaquettes par un mécanisme distinct. Les activités phospholipasiques ne sont dans l'ensemble neutralisées que par un sérum spécifique du venin incriminé, ce qui confirme l'hétérogénéité des phospholipases provenant d'espèces différentes (**Detrait J., 1989**). Les protéases se répartissent entre sérine-protéases et métalloprotéases. La plupart des sérine-protéases sont

capables de provoquer simultanément l'agrégation et la dégranulation plaquettaire (**Chippaux J.P., 2002**). Certaines métalloprotéases, comme catrocollastine et la crovidisine, se lient au collagène ou à son récepteur par l'intermédiaire de leur domaine riche en cystéine ou désintégrine-like et provoquent une inhibition de l'agrégation plaquettaire. De nombreuses enzymes thrombine-like entraînent une activation plaquettaire soit en clivant les récepteurs d'activation plaquettaire, soit en se liant à GPIb (**Clemetson J.M., 2005**) :

Par exemple, la cérastobine de *Céastes vipera*, ou la cérastocystine de *Céastes céastes*. En revanche, la cérastotine, de *Cerastescerastes* également, se lie, en présence de fibrinogène, sur un site distinct de celui reconnu par la thrombinet. Les L-amino-acido-oxydases provoquent la désamination, puis l'oxydation des acides aminés en acides α -cétoniques avec production d'ammonium et de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui inhibe la liaison entre le récepteur GPIIb/IIIa et le fibrinogène (**Zingali R.B., Bon C., 1991**).

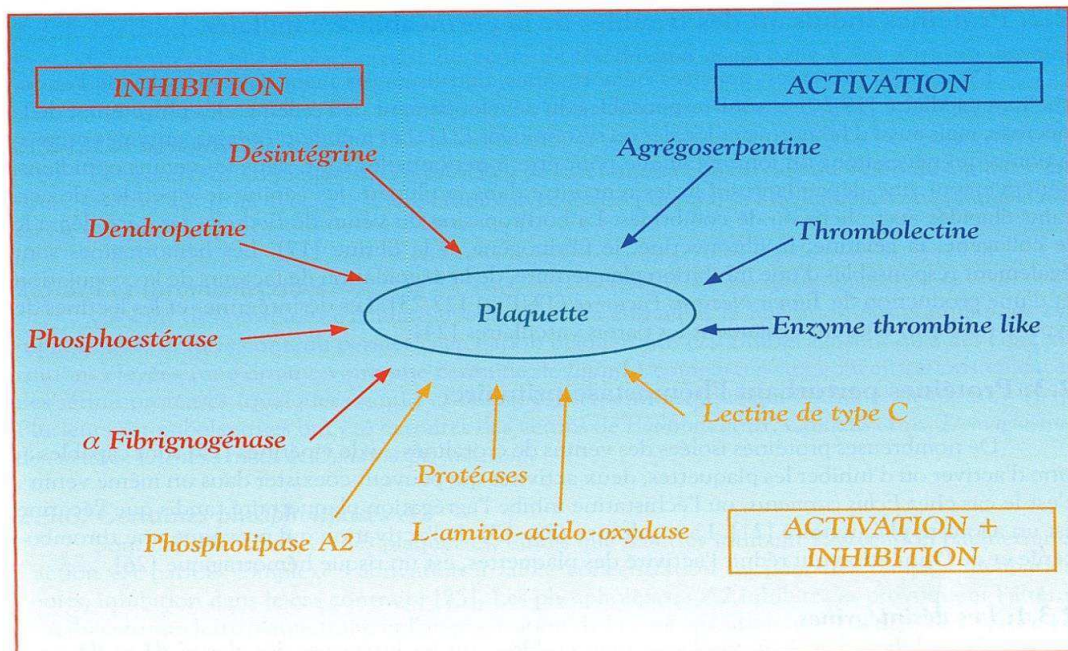


Figure 15 : Action du venin sur l'hémostase primaire (**Mion G., al., 2010**).

II.4.3. Action sur la coagulation

Les venins ophidiens agissent sur l'ensemble des étapes de la coagulation. Chaque protéase procoagulante possède des propriétés analogues à l'un des facteurs de la coagulation dont elle prend la place : c'est le principe de substitution. Lorsque le processus de coagulation est activé, il persiste jusqu'à épuisement d'un ou plusieurs facteurs de la coagulation (consommation) et conduit à un syndrome hémorragique dû, le plus souvent, à une afibrinogénémie (**Mion G., al., 2002**). L'activateur du facteur V, le RVV-V, agit sur un site 85 qui également la cible de la thrombine. La thrombocytine, , possède des propriétés plus étendues : outre le facteur V, elle hydrolyse les facteurs XIII et VIII, la prothrombine, le

fibrinogène et elle active les plaquettes. Décrites chez la plupart des familles de serpents venimeux, elles hydrolysent les phospholipides qui jouent rôle de support indispensable à différents niveaux de la coagulation, en particulier la transformation de la prothrombine en thrombine (**Chippaux J.P., 2002**). Certaines phospholipases peuvent également entrer en compétition avec les facteurs de la coagulation (**Clemetson J.M., al., 2005**).

-Enzymes <<thrombine-like>>ou thrombiniques :

Ces sérine-protéases ,hydrolysent directement le fibrinogène en fibrine (**Mion G., al., 2002**).

II.4.4. Action fibrinolytique

Associées aux hémorragies, les protéines ophidiennes qui activent la fibrinolyse peuvent être à l'origine de saignements dramatiques (**Braud S., al., 2003**). Elles stimulent les activateurs du plasminogène d'origine tissulaire principalement, notamment l'urokinase, sérine-protéase qui favorise la libération de plasmine naturelle, dont l'activation permet l'hydrolyse de la fibrine et du 86 fibrinogène. Des enzymes fibrinolytiques isolées dans les venins de vipéridés sont capables, comme la plasmine, d'hydrolyser directement le fibrinogène et la fibrine (**Clemetson J.M., 2005**). Certaines d'entre elles ont une action antiagrégante .

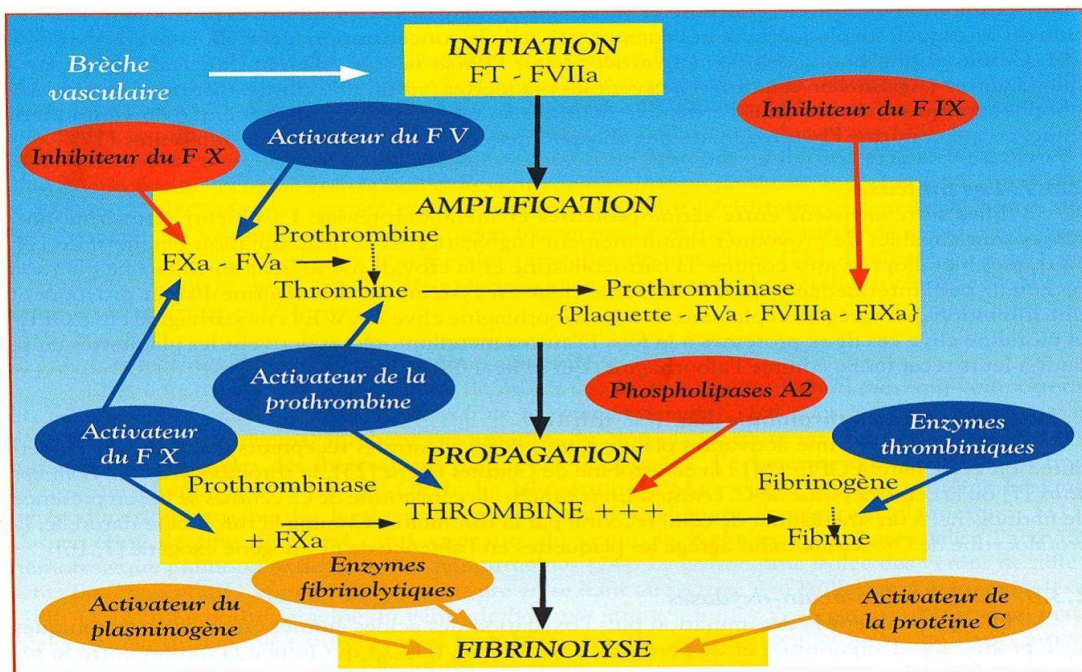


Figure 16 : Action du venin sur la coagulation et la fibrinolyse (**Mion G., al., 2010**).

II.5. Les signes généraux

II.5.1. Les troubles thermiques

La fièvre est rare, elle est en général modérée aux environs de 38 °C au cours des premières 48h. Elle s'atténue habituellement à partir du 3ème jour en dehors de la surinfection et de la nécrose locale. L'hypothermie peut être retrouvée et constitue avec l'hyperthermie des signes de gravité (**Bucknali N.C., 1995**).

II.5.2. Complication rénales

L'atteinte rénale la plus fréquente est l'insuffisance rénale fonctionnelle, se manifestant par une oligo-anurie transitoire avec augmentation de l'urée et de la créatinine sanguine (**Harris A.C., al., 1976**). Dans les cas graves il y a une atteinte rénale organique à type de tubulopathie, voire une nécrose corticale d'origine ischémique suite à une CIVD, ou après une hémolyse, un état de choc ou une rhabdomyolyse (**Bedock B., al., 1989**). Le venin peut avoir une toxicité directe sur la membrane basale glomérulaire, donnant ainsi d'une glomérulonéphrite extra capillaire (**Sipriya V., Boonpuchnarinj V., 1980**). Les étiologies de l'atteinte rénale sont multiples : Choc hypovolémique, hémolyse intra vasculaire, coagulopathie, myoglobinurie, troubles hémodynamiques de la circulation sanguine rénale qui sont en rapport avec l'activation de l'angiotensine et thromboxane A2 par le venin des vipéridés. En revanche, les complications rénales sont exceptionnelles après morsure de vipères (**Goyffon M., Chippaux J.P., 1990**).

II.5.3. Les complications hématologiques

La constatation des troubles de la coagulation après envenimation par venin hémotoxique témoigne la présence du venin dans le sang et donc la gravité potentielle de l'envenimation (**White J., 2005**). Les enzymes du venin sont multiples et ont des actions complexes sur la coagulation est peuvent donner une CIVD, un syndrome de défibrination aigue, et un syndrome hémorragique (**Seignot P., al., 1992**). Le venin des vipéridés contient des protéases qui accélèrent la transformation du facteur X en X activé et donc la transformation du facteur II en II activé (thrombine) qui est responsable de la lyse du fibrinogène donnant ainsi une fibrine instable. Cette action sur le fibrinogène de type « thrombine-like » se produit même en présence d'héparine (précurseur de l'antithrombine III qui inhibe les réactions de coagulation) (**Premawardena A.P., al., 1998**).



Figure 17: Photo représente le sang coagulé (**Photo originale**).

Ces réactions aboutissent à la formation de micro thrombus intra vasculaires pouvant être en cause à des complications ischémiques viscérales, et la consommation des plaquettes de plus que dans le venin des vipères existe des substances qui activent l'agrégation des plaquettes, conduisant ainsi à une CIVD et donc un syndrome de défibrination plus ou moins complet rendant le sang incoagulable (**Safi L., al., 1995**). Sur le plan biologique l'effondrement du taux de fibrinogène et des plaquettes est plus précoce voir même avant les signes cliniques, secondairement l'augmentation des produits de dégradation de la fibrine dans le sang est progressive. La fibrinolyse peut être consécutive à la CIVD, et ou secondaire à l'activation directe de la plasmine humaine par le venin, qui peut même contenir des enzymes ayant un effet plasmine-like. Le passage des hématies dans des capillaires rétrécis par des magmas de fibrine provoque la formation de schizocytes et donc l'hémolyse aiguë. Au total l'activation de la coagulation déclenche une CIVD et conduit à une défibrination aiguë responsable de l'apparition de syndrome hémorragique local ou à distance de la morsure. Les hémorragies observées au cours des envenimations vipérines sont multifactorielles, elles sont dues au syndrome de défibrination aiguë et à la présence dans le venin des vipères des protéases type hémorragies qui entraînent des altérations directes de l'endothélium vasculaire (**Biot N.T., Descotes J., 1994**). La phase d'hypercoagulabilité initiale est de durée variable selon l'espèce du serpent (**Daudin C., Guerbet M., 2001**).

II.5.4. Les signes neurologiques

Les envenimations par le venin des vipéridés donnent rarement des signes neurologiques. Des symptômes pouvant être liés à un effet neurotoxique peuvent survenir. Les plus fréquents sont : ptôsis, ophthalmoplégie, diplopie, dysarthrie. D'autres signes tels que vertiges, dyspnée,

paresthésies diffuses, somnolence peuvent être observés. Ces signes sont dus à des phospholipases A2 neurotoxiques présentes dans le venin de certaines vipères (Jose M., *al.*, 2002).

La physiopathologie est liée à des neurotoxines qui se fixent de façon rapide et irréversible au niveau de la plaque motrice, les α -neurotoxine, post- synaptiques, coiffent le récepteur nicotique, bloquant ainsi l'accès à l'acétylcholine, et entraînant une paralysie similaire à celle induite par le curare. L' α -bungarotoxine est bien connue des médecins anesthésistes car il s'agit de l'antagoniste expérimental de référence pour les récepteur nicotinique de type 2. Les neurotoxines agissent sur la jonction neuromusculaire et ont donc une action périphérique. Il s'agit surtout de neurotoxines présynaptiques ou de neurotoxines β appartenant à la famille des phospholipases A2. Elles inhibent le recyclage de l'acétylcholine dans les vésicules synaptiques pouvant aboutir à une paralysie respiratoire (Mion G., *al.*, 2010).

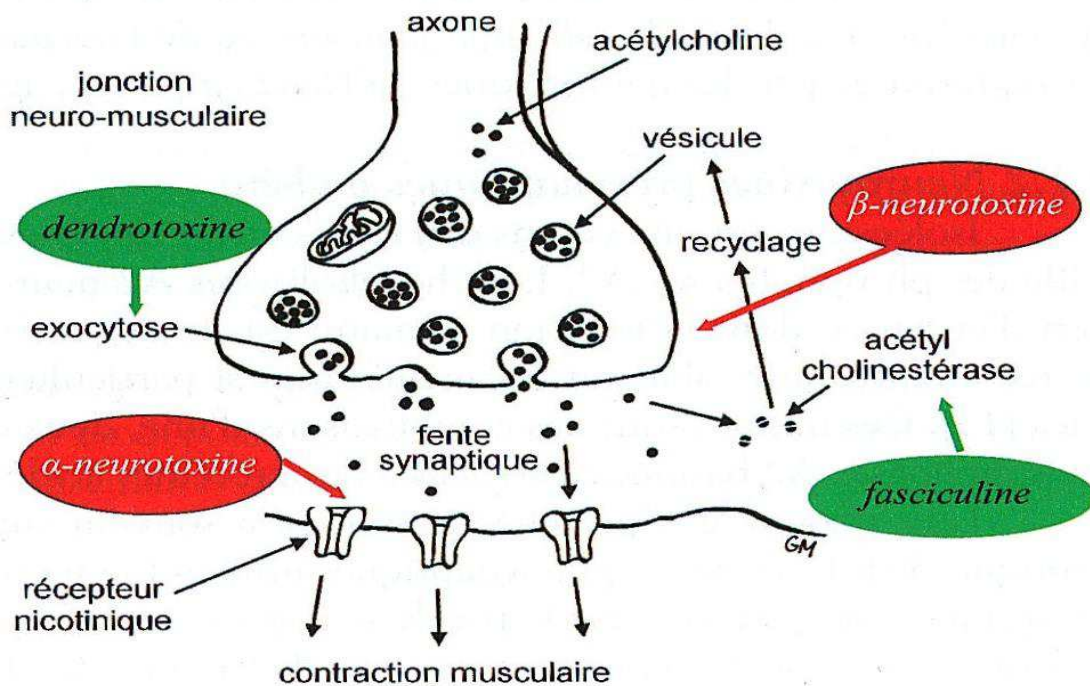


Figure 18 : Mécanisme d'action des neurotoxines (Mion G., *al.*, 2010).

deuxième partie

Partie pratique

Matérielles et méthodes

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Matériels biologiques

I.1.1.1. Venin

Dans notre étude, nous avons extrait le venin de 4 serpents Saharienne *Cérastes vipera*. On a obtenu 8UI de venin.

I.1.1.2. lapins

L'étude est réalisée sur 7 lapins, un lapin témoin et six lapins dont on a injecté le venin , âges de 4 à 6 mois et leur poids varie entre 500 g à 950 g.

Tableau 2: Représente le sexe des lapins.

lapins	T	A	B	C	D	E	F
Sexes	Mâle	femelle	femelle	femelle	Mâle	mâle	mâle



Les lapins



Venin de serpent

Figure 19 : Photos représentant les matériels biologiques utilisées (**Photo originale**).

I.1.2. Matériels de laboratoire

- Compresse ;
- Couteau ;
- Cuve ;
- Eau distillé ;
- Flacon ;

- Les gants ;
- Micropipette ;
- Seringue ;
- Thermomètre ;
- Tube à essai + portoir .

I.1.3. Les appareils

L' appareils utilisés dans laboratoire sont :

Bain marin ; centrifugeuse ; incubateur ; spectrophotomètre .



Lecture de Température
Bain marin



Centrifugeuse



Incubateur



Spectrophotomètre

Figure 20 : Photos représentant les appareille utilisés pour ce travail (Photo originale).

I.1.4. Réactifs

Dans notre étude, le kit de réactif de Glucose, le kit de réactif de l'urée, le kit de réactif de créatine, le kit de réactif de cholestérol, le kit de réactif de triglycéride, le kit de réactif de TGP, le kit de réactif de TGO, le kit de réactif de calcémie, le kit de réactif de acide urique, toutes ces substances sont synthétisées par BIOMAGHREB.

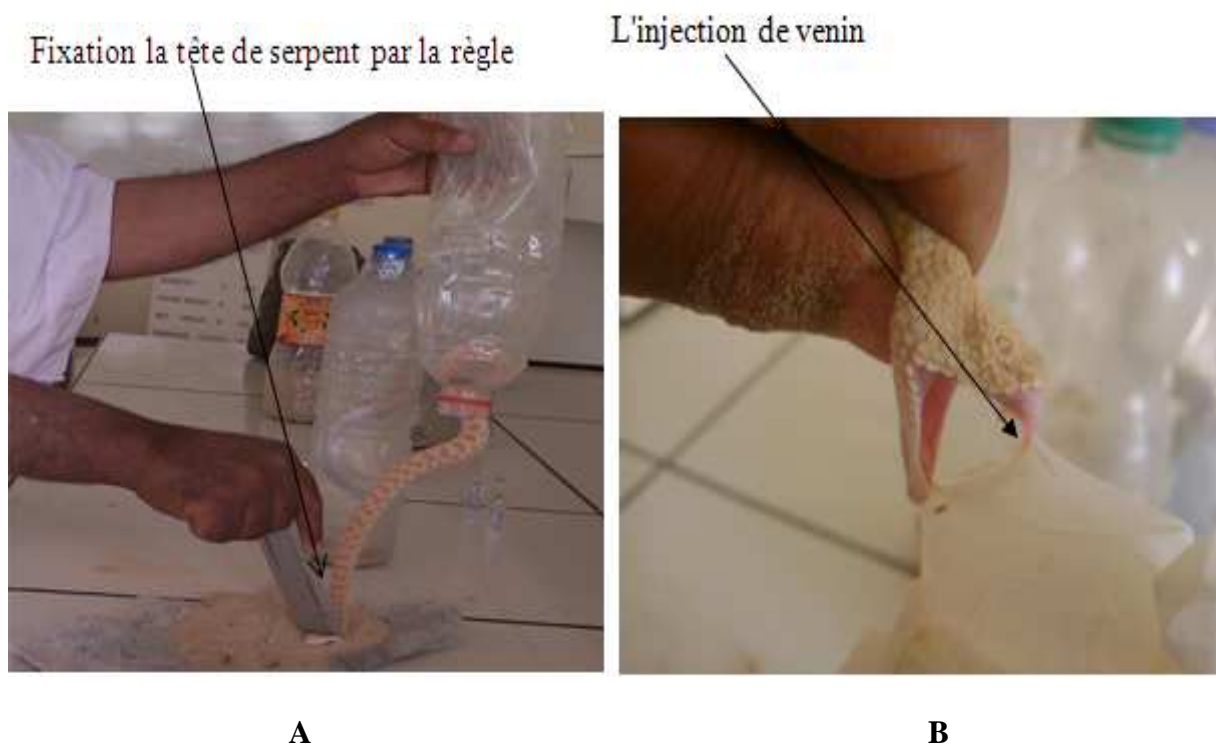
I.2. Méthodes

L'extraction du venin des serpents *Cérastes vipera* était faite au laboratoire de la faculté de sciences de la nature et de la vie à l'université d'El Oued.

Les bilans biochimiques ont été fait au centre de santé de Debila - El- Oued.

I.2.1.Extraction du venin

On prépare un flacon déjà couvert par un gant et on prend un serpent puis on essaie d'ouvrir sa pièce buccale à l'aide d'une règle et la mettre au bord du flacon, pour stimuler une morsure. pour que le serpent éjecte le venin on presse sur sa tête et sa queue.



Stimulation de serpent par la
presse sur sa tête et sa queue



Figure 21 : Photos représentent les étapes (A,B,C,D) de l' extraction du venin (**Photo originale**).

I.2.2.Dilution du venin

1-Première dilution : 8 UI du venin + 32 UI d'eau distillée = 40 UI donc dilution de 1/5. On prend de la première dilution 10 UI .

2- Deuxième dilution : le reste de la première dilution 30 UI + 50 d'eau distillée = 80 UI de dilution de 1/10. On prend de la deuxième dilution 10 UI.

3-Troisième dilution : le reste de la deuxième dilution 70UI+50 d'eau distillée = 120 UI de dilution 1/15. On prend de la troisième dilution 10 UI.

4-Quatrième dilution : le reste de la troisième dilution 110UI+50 d'eau distillée = 160 UI donc dilution de 1/20. On prend de la quatrième dilution 10 UI.

5-Cinquième dilution : le reste de la quatrième dilution 150UI+50 d'eau distillée = 200 UI de dilution de 1/25. On prend de la cinquième dilution 10 UI.

6-Sixième dilution : le reste de la cinquième dilution 190UI+50 d'eau distillée = 240 UI de dilution de 1/30. On prend de la sixième dilution 10 UI.



Figure 22 : Représente les différentes dilutions dosées de venin (**Photo originale**).

I.2.3. Injection de venin

Après la dilution on injecte chaque venin diluée par ordre aux lapins A,B,C,D,E,F sous cutanée au cuisse, et on laisse le lapin T comme un témoin.

I.2.4. Prélèvement

Après trois heures d'attente, Nous avons gorgé les lapins pour analyser leur sang.



Figure 23 : L'injection du venin, sous cutanée (**Photo originale**).



Figure 24: Photos représentant l'égorgeage d'un lapin (**Photo originale**).

I.2.5. Analyses

Après le prélèvement, on observe que le sang était coagulé mais on a essayé de faire les bilans biologiques possibles:

Glycémie, Créatine, Transaminases (TGO/TGP), Urée, Cholestérol, Triglycérides, Acide Urique, Calcémie.

I.2.5.1. Méthode de dosage des paramètres biochimiques

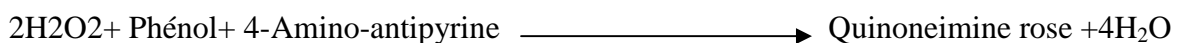
I.2.5.1.1. Méthode de dosage de la Glycémie

✓ Principe

La glycémie est dosée selon la méthode de (Trinder P., *al.*, 1969), La détermination enzymatique du glucose est selon les réactions suivantes:



Peroxydase



✓ Réactifs

Réactif 1	Tampon Tris pH=7 mol/l	100 m
Solution tampon	phénol	0,3 m mol/l
Réactif 2	Glucose oxydase L	10 000 U/
Enzymes	Peroxydase	1000 U/L
	Amino-4-antipyrine	2,6 m mol/l
Réactif 3	Glucose	100 mg/dl
Standard		1g/l
	5,56 mmol/l	

✓ Mode opératoire

Longueur d'onde :..... 505 nm (490-550)

Température :.....37°C (20-25°C)

Cuve :..... 1 cm d'épaisseur

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml
Standard	--	10µl	--
Echantillon	--	--	10µl

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

On mélanger selon le tableau ci-dessus. En suite, on peut lire les DO après une incubation de 10 minutes à 37°C ou 30 mn à 20-25 °C la coloration est stable durant 30 minutes.

✓ Calcul

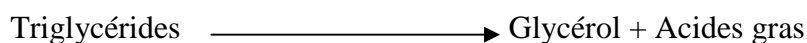
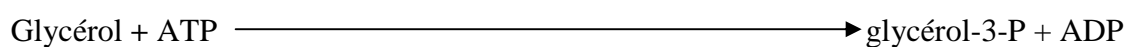
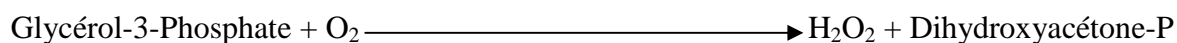
$$\text{Glucose} = \frac{\text{D. O Echantillon}}{\text{D. O Standard}} \times n$$

$$\text{g/l } n = 1$$

I.2.5.1.2 Méthode de dosage des Triglycérides

✓ **Principe**

Les triglycérides sont déterminés selon la méthode de (**Fossati P., 1982**) , qui est basée sur les réactions suivantes :

Lipoprotéine lipase**GlycéroKinase****Glycérol-3-Phosphate oxydase****Péroxydase**✓ **Réactifs**

Réactif 1	Tampon Pipes pH7.2	50 mmol/l
Solution tampon	Chloro-4-Phenol	2 mmol/l
Réactif 2	Lipoprotéine lipase	150000U/l
	Glycérokinase	800U/l
	Glycérol 3-P-Oxydase	4000U/l
	Amino-4-antipyrine	0.7 mmol/l
	ATP	0.3 mmol/l
Réactif 3	Standard glycérol	200 mg/dl
standard	(en trioléine)	2 g/l
		2.28 mmol/l

✓ **Echantillons**

Sérum , plasma recueilli sur héparine.

✓ **Mode opératoire**

Longueur d'onde505nm (490-510)

Température.....37°C

Cuve1cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 m	1ml
Mélanger et lire les densités optiques après une incubation de 5 min . à 37 °C ou de 10 min à 20-25°C . La coloration est stable après 30 minutes .			

✓ **Calcul**

Triglycérides = (D.O. Echantillon / D.O. Standard) × n

Mg/dl: n=200

g/l: n=2

Mmol/l: n=2.28

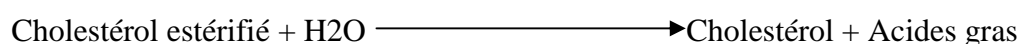
I.2.5.1.3. Méthode de dosage du Cholestérol

✓ Principe

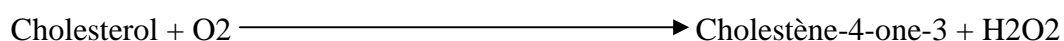
Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation selon la méthode de (**Fasce C. F., 1982**) , L'indicateur quinone- imine est formé à partir du peroxydase d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phénol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :

Cholestérol estérase



Cholesterol oxydase



Peroxydase



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

✓ Réactifs

Réactif 1	Pipes pH6.9	90 mmol/l
Solution tampon	Phénol	26 mmol/l
Réactif 2	Cholestérol oxydase	300U/l
	Peroxydase	1250U/l
	Cholestérol esterase	300U/l
	Amino-4-antipyrine	0.4 mmol/l
Réactif 3		200 mg/dl
standard		2 g/l
		5.17 mmol/l

✓ Préparation et stabilité

Dissoudre le contenu d'un flacon de R2 avec un flacon de tampon R1.

Le réactif de travail est stable : 1 mois à 20-25°C et 4 mois à 2-8°C.

✓ **Echantillons**

Sérum plasma recueilli sur héparine.

✓ **Mode opératoire**

Longueur d'onde505nm (490-510)

Température.....37°C

Cuve1cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 m	1ml
Mélanger et lire les densités optiques après une incubation de 5 min . à 37 °C.			
La coloration est stable 30 minutes .			

✓ **Calcul**

Cholestérol = (D.O. Echantillon / D.O. Standard) × n

Mg/dl: n=200

g/l: n=2

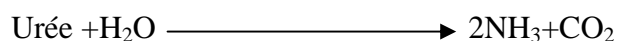
Mmol/l: n=5.17

I.2.5.1.4. Méthode de dosage de l'Urée

✓ **Principe**

L'urée est dosée en cinétique selon la méthode de (**Berthelot M.P.E., 1859**) , par la réaction suivante:

Uréase



Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée.

✓ **Réactifs**

Réactif	Tampon	
Réactif 2	EDTA	2 mmol/l
	Salicylate de sodium	60 mmol/l
	Nitroprussiate de sodium	32 mmol/l
	Uréase	30000U/l
	Phosphate pH 6.7	60 mmol/l
Réactif 3	Etalon urée	0.50 g/l
		8.325 mmol/l
Réactif 4	Hypochlorite de sodium	40 mmol/l
10 × []	Hydroxyde de sodium	150 mmol/l

✓ **Echantillons**

Sérum , plasma recueilli sur héparine.

Urine diluée au 1/50 avec de l'eau distillée.

✓ **Mode opératoire**

Longueur d'onde590nm (578 Hg)

Température.....25-30-37°C

Cuve1cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail A	1 ml	1 m	1ml
Mélanger , incuber 5 min . à 37 °C ou 10 min à 20-25°C . Ajouter ensuite.			
Réactif 4	1 ml	1 ml	1 ml
Mélanger , incuber 5 min . à 37 °C ou 10 min à 20-25°C . Lire contre le blanc . Stabilité de la coloration 2 heures à l'abri de la lumière			

✓ **Calcul**

$$\text{Urée} = (\text{D.O. Echantillon} / \text{D.O. Etalon}) \times n$$

$$\text{g/l: } n=0.50$$

$$\text{Mmol/l: } n=8.325$$

I.2.5.1.5.Méthode de dosage de la Créatinine

✓ **Principe**

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique . la vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine selon la méthode de (**Larsen K., Clin., 1972**).

✓ **Réactifs**

Réactif 1	Hydroxyde de sodium	1.6 mol/l
Réactif 2	Acide picrique	17.5 mmol/l
Réactif 3	Créatine	2 mg/dl
Standard		20mg/l
		176.8 µmol/l

✓ **Echantillons**

Sérum , plasma recueilli sur héparine.

Urine diluée au 1/20 dans l'eau distillée (tenir compte de la dilution pour le calcul).

✓ **Mode opératoire**

Longueur d'onde492nm (490-510)

Température.....25-30-37°C

Cuve1cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

	standard	Echantillon
Standard	100 µl	--
Echantillon	--	100 µl
Réactif de travail	1ml	1ml
Mélanger et lire les densités optiques DO1 après 30 sec .		
Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.		

✓ **Calcul**

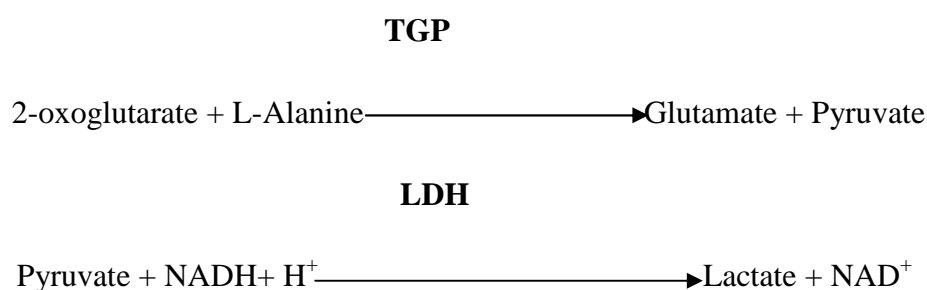
Calculer $\Delta DO = DO_2 - DO_1$ pour le standard et les échantillons.

Créatinine = $(\Delta DO \text{ Echantillon} / \Delta DO \text{ standard}) \times n$

Mg/l: $n=20$

I.2.5.1.6. Mesure de l'activité de l'Alanine aminotransférase✓ **Principe**

La mesure de l'activité de TGP est selon La méthode de (**Bergmeyer ., Horder C., 1976**) , la Détermination cinétique de l'activité Alanine amino transférase selon les réaction suivants :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon.

TGP: transaminase Glutamate pyruvate.

LDH: lactate Déshydrogénase.

✓ **Réactifs**

Réactif1	Tampon Tris PH 7.5 à 30°C	100mmol/l
Solution Tampon	Alanine	500mmol/l
Réactif2	NAD	0.18mmol/l
substrat	LDH	1200U/l
	Oxoglutarate	15mmol/l

✓ **Echantillon**

Sérum ou plasma héparine sans hémolyse.

✓ **Mode opératoire**

Longueur d'onde340nm

Température.....25-30-37°C

Cuve1cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

Solution de travail	1ml	3ml
Pré incuber à la température choisie (25,30 ou 37°C)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et incuber 1 minute . Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

✓ **Calcul**

$$A_{340 \text{ nm}} \quad \Delta DO/\text{min} \times 1750 = \text{UI/L}$$

I.2.5.1.7. Mesure de l'activité de l'Aspartate aminotransférase

✓ **Principe**

La mesure de l'activité de TGO est selon La méthode de (**Bergmeyer., Horder C., 1976**) , la Détermination cinétique de l'activité Aspartat amino transférase selon les réaction suivants :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate amino transférase dans l'échantillon .

TGO: Transaminase glutamique oxaloacétique.

MDH: Malate Déshydrogénase.

✓ **Réactifs**

Réactif1	Tampon Tris PH 7.8 à 30 °C	80mmol/l
Solution Tampon	L-aspartate	200mmol/l
Réactif2	NAD	0.18mmol/l
substrat	LDH	800U/l
	MDH	600U/l
	Oxoglutarate	12mmol/l

✓ **Echantillon**

Sérum ou plasma héparine sans hémolyse.

✓ **Mode opératoire**

Longueur d'onde340nm

Température.....25-30-37°C

Cuve1cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

Solution de travail	1ml	3ml
Préincuber à la température choisie (25,30 ou 37°C)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et incuber 1 minute . Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

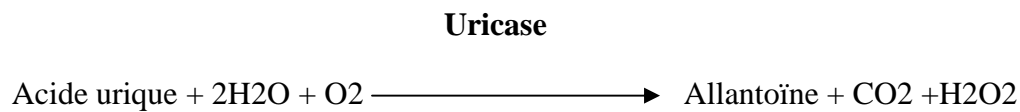
✓ **Calcul**

$$A_{340\text{ nm}} \quad \Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750 = \text{UI/L}$$

I.2.5.1.8. Méthode de dosage de la Acide urique

✓ **Principe**

L'acide urique sont déterminés selon la méthode de **(Fossati P., 1982)** , il dosé selon les réaction suivantes:



Péroxydas



✓ **Réactif**

Réactif 1	Tampon phosphat Ph7,4	50mmol/l
Solution tampon	Dichloro2-4 Phénolsulfonate	4mmol/l
Réactifs2	Uricase	70u/l
Enzyme	Peroxydase	660u/l
	Amino-4-Antipyrine	1mmol/l
Réctifs3		
Standard	Acide urique	6mg/dl
		60mg/l
		357umol/l

✓ **Echantillons**

Sérum ,plasma recueilli sur héparine urine diluée au 1/10 dans l'eau distillée.

✓ **Mode opératoire**

Longueur d'onde :.....510nm(490-550)

Température:.....20-25°Cou37°C

Cuve:..... 1cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	20ul	--
Echantillon	--	--	20ul
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

✓ **Calcul**

D.O.Echantillon

Acide urique = _____ × n

D.O.Echantillon

mg/dl: n=6

mg/: n=60

umol/l: n=357

Urine multiplier le résultat par 10

I.2.5.1.9. Méthode de dosage de Calcémie

✓ **Principe**

Calcémie sont déterminés selon la méthode de (Stern J., 1957) , il forme avec le complexant crésolphtaléine en milieu alcalin un composé coloré en violet dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en calcium.

✓ **Réactifs**

Réactifs 1 Solution tampon	Tampon Alcalin 2-Amino-2-methyl 1-Propanol	500 mmol/l
Réactifs 2 Solution chromogène	Complexant crésolphtaléine Hydroxy 8 quinoléine	0.62 mmol/l 69 mmol/l
Réactifs 3 Standard	Standard calcium	10mg/dl 100 mg/l 2.5mmol/l

✓ **Echantillons**

Sérum , plasma recueilli sur héparine.

Urine diluée au 1/3 avec de l'eau distillée , acidifiée à pH : 3.4 avec HCl dilué.

✓ **Mode opération**

Longueur d'onde : 570 nm (550-590)

Température : 20 -25°C

Cuve : 1 cm d'épaisseur

Ajuste le zéro du Spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	- -	20µl	- -
Echantillon	- -	- -	20µl
Mélange réactif	1ml	1ml	1 ml

Mélanger et incubé 5 minutes à température ambiante , Lire les densités optique . La coloration est stable 1 heure.

✓ **Calcul**

D.O.Echantillon

_____ x n n = Valeur des standard

D.O.Standard

mg/l n= 100

mg/dl n=10

mmol/l n=2,5

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Résultats

II.1.1 Effet de venin sur les lapins

II.1.1.1 Effet de différentes doses de venin sur les lapins

Tableau 3 : Représente les doses du venin injectées.

Les lapins	A	B	C	D	E	F
La doses de venin injectée	1/5	1/10	1/15	1/20	1/25	1/30

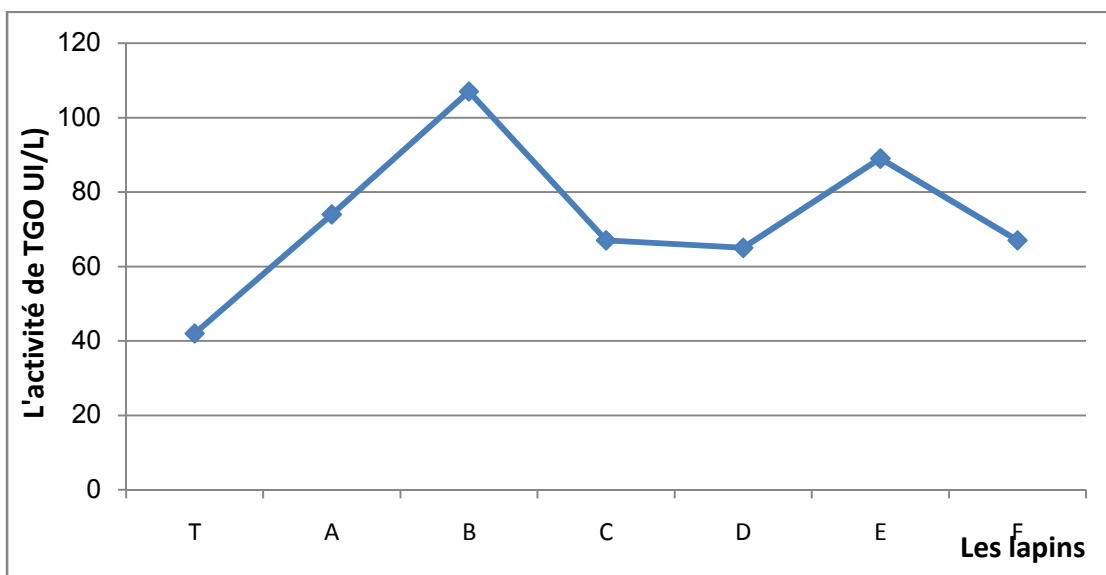
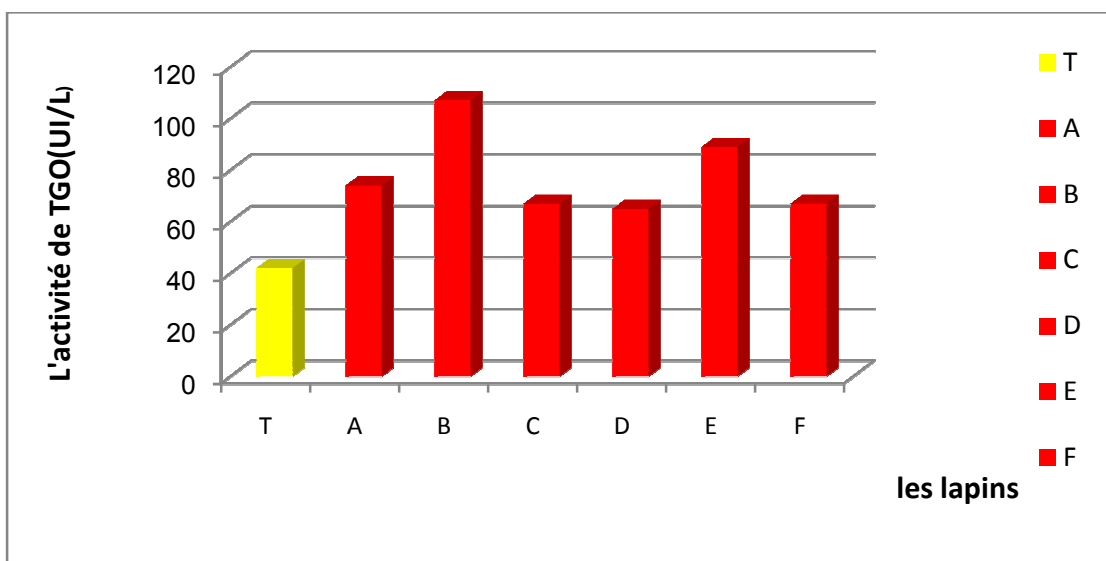


Figure 25 : Différentes doses de venin injecté.

D'après les résultats représentés dans le **tableau 3** et **figure 25** ci-dessus chez le groupe des lapins dont on a injecté le venin à doses différentes par voie sous cutanée, et après 3 heures, on observe un changement des paramètres biochimiques par rapport au témoin.

II.1.2.Effet de venin sur le métabolisme des lapins

II.1.2.1.Métabolisme de glucose

Tableau 4 : La concentration de la glycémie (g/l) chez le lapin témoin et les lapins injectés par le venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
Concentration de glycémie	1.29	3.87	3.93	3.26	3.11	4.61	3.17

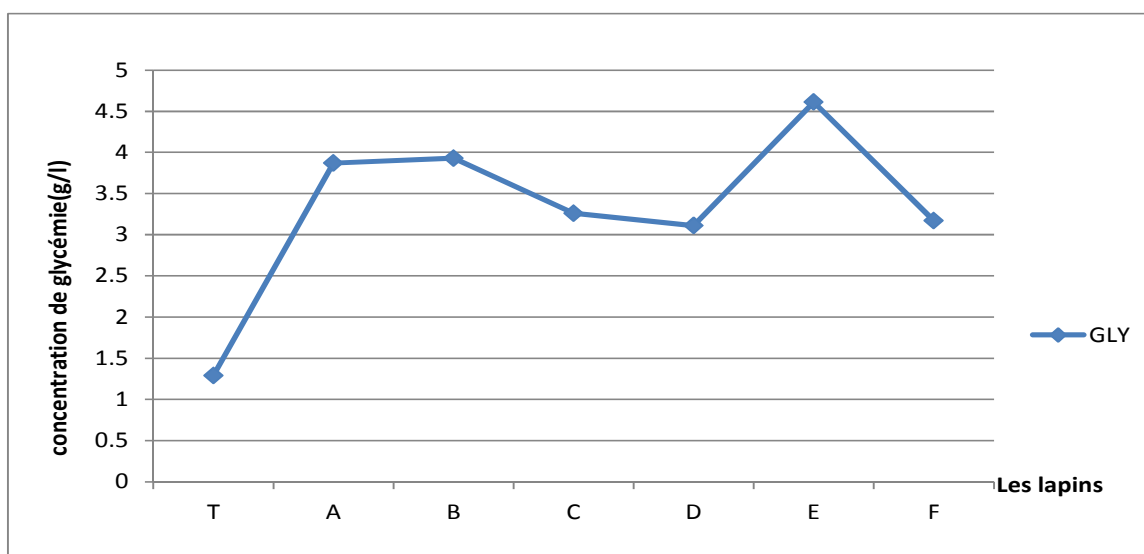
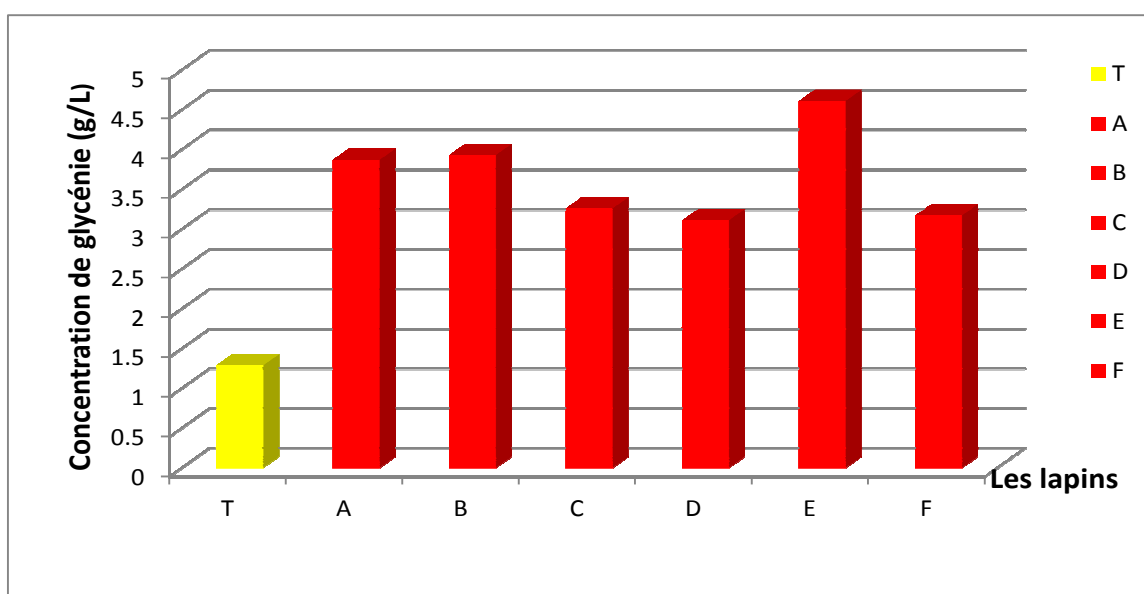


Figure 26 : Effet de venin sur la Glycémie.

Dans notre étude, les résultats obtenus représentés dans la (Tableau 4 et figure 26) et la courbe précédentes montrent que l'administration du venin par voie sous cutanée, et après 3 heures du prélèvement , provoque l'augmentation de la glycémie chez tous les lapins par apport au témoin. Ce qui montre l'effet hyperglycémiant du venin.

II.1.2.2.Métabolisme des acides aminés et créatine

Tableau 5 : La concentration de la créatinine (g/l) chez le lapin témoin et les lapins injectés par le venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
Concentration de la créatinine	9.88	23.62	15.75	14.9	16	13.8	12.1

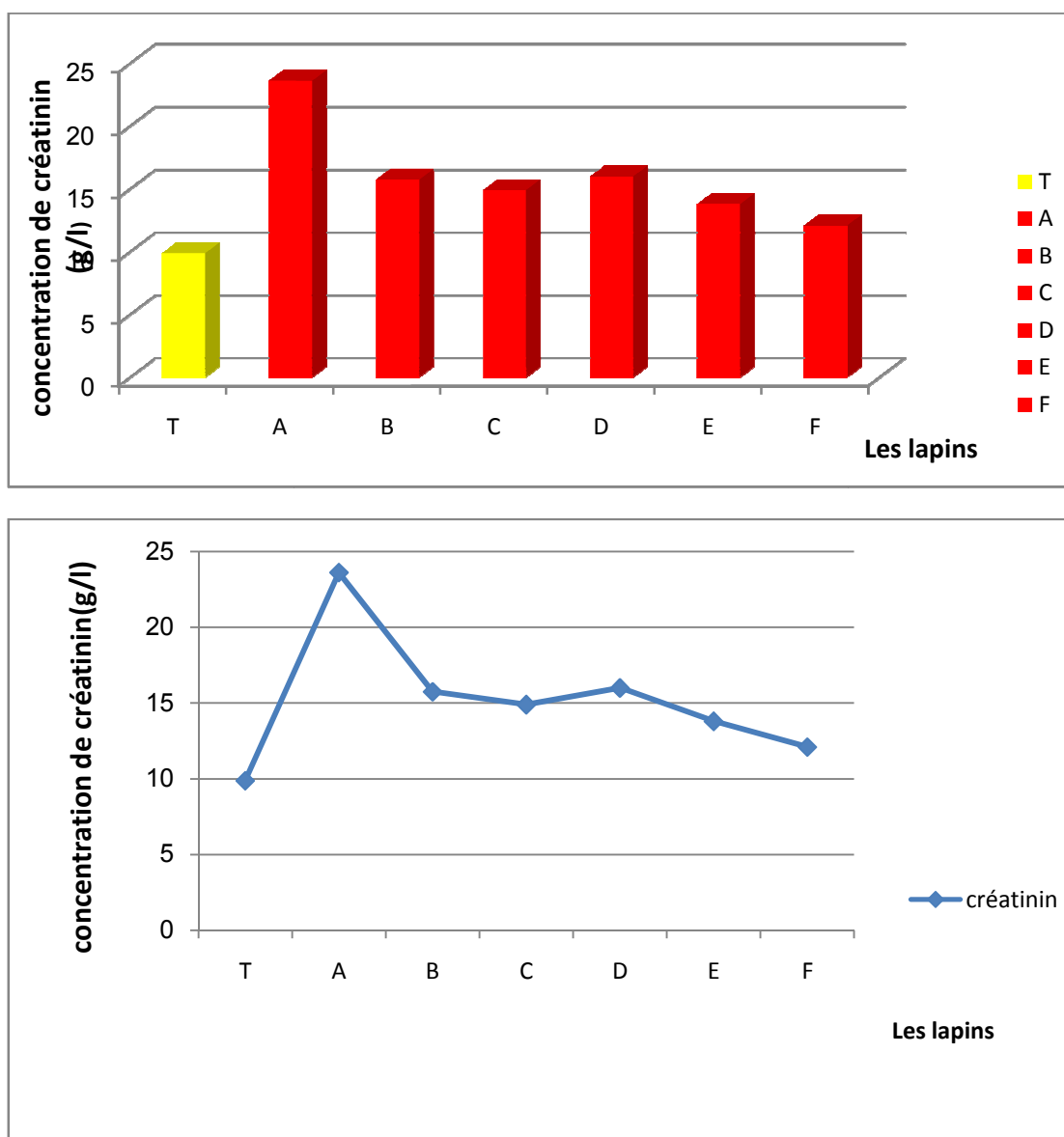


Figure 27: Effet de venin sur la Créatinine.

Les résultats (Tableau 5 et figure 27), montrent que la concentration de créatinine a augmenté chez tous les lapins surtout (A) par rapport au témoin.

Tableau 6 : L'activité de TGO (UI/l) chez le lapin témoin et les lapins injectés par le venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
L'activité de TGO	42	74	107	67	65	89	67

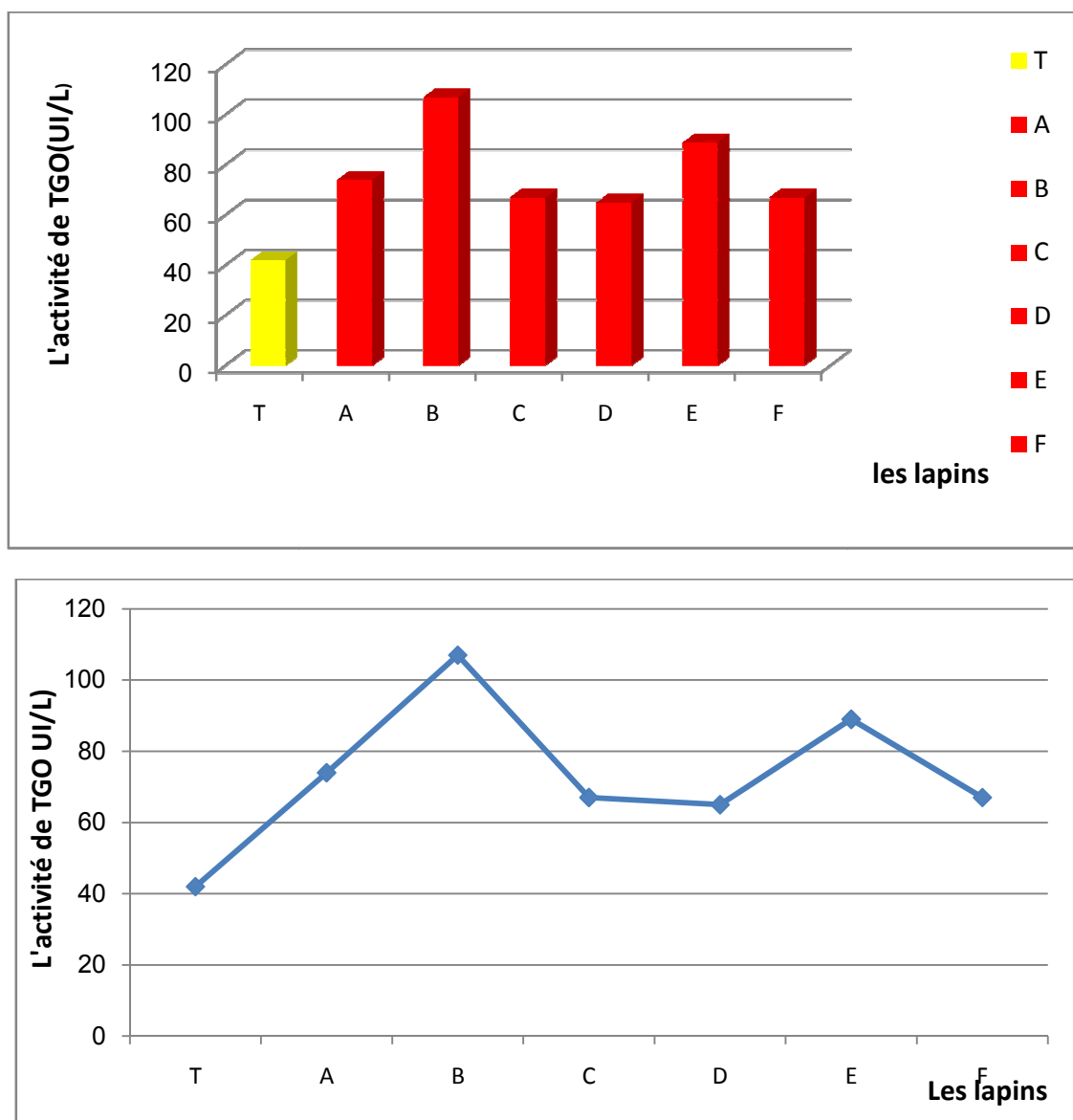


Figure 28 : Effet de venin sur l'activité de TGO.

Dans notre étude, les résultats obtenus représentés dans la (Tableau 6 et figure 28) montrent que l'administration du venin par voie sous cutanée, cause une augmentation d'activité de TGO chez tous les lapins par rapport au témoin .

Tableau 7 : L'activité de TGP (UI/l) chez Le lapin témoin et les lapins injectés par le venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
L'activité de TGP	54	53	92	49	54	63	59

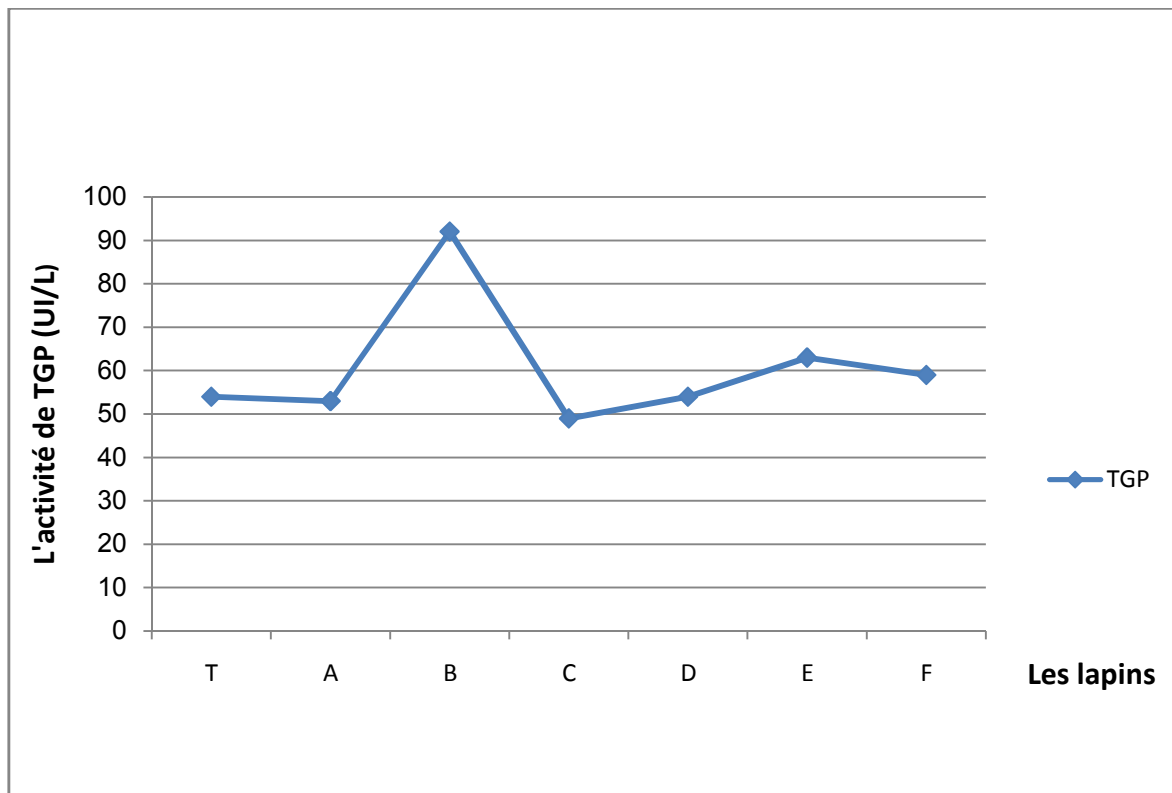
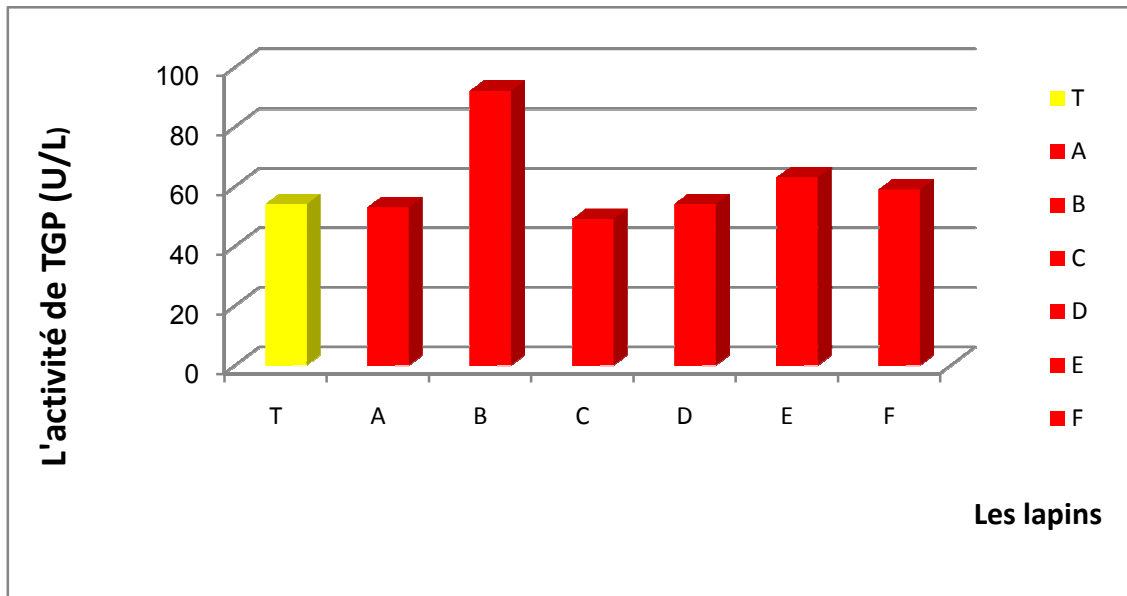


Figure 29 : Effet de venin sur l'activité de TGP.

Ces résultats (**Tableau 7 et figure 29**) représentent la variation d'activité de TGP chez les lapins. On observe une augmentation TGP chez tous les lapins surtout le lapin B par rapport au témoin .

Tableau 8 : La concentration d'urée (g/l) chez le lapin témoin et les lapins injectés par le venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
concentration d'urée	0.49	0.55	0.50	0.44	0.50	0.56	0.39

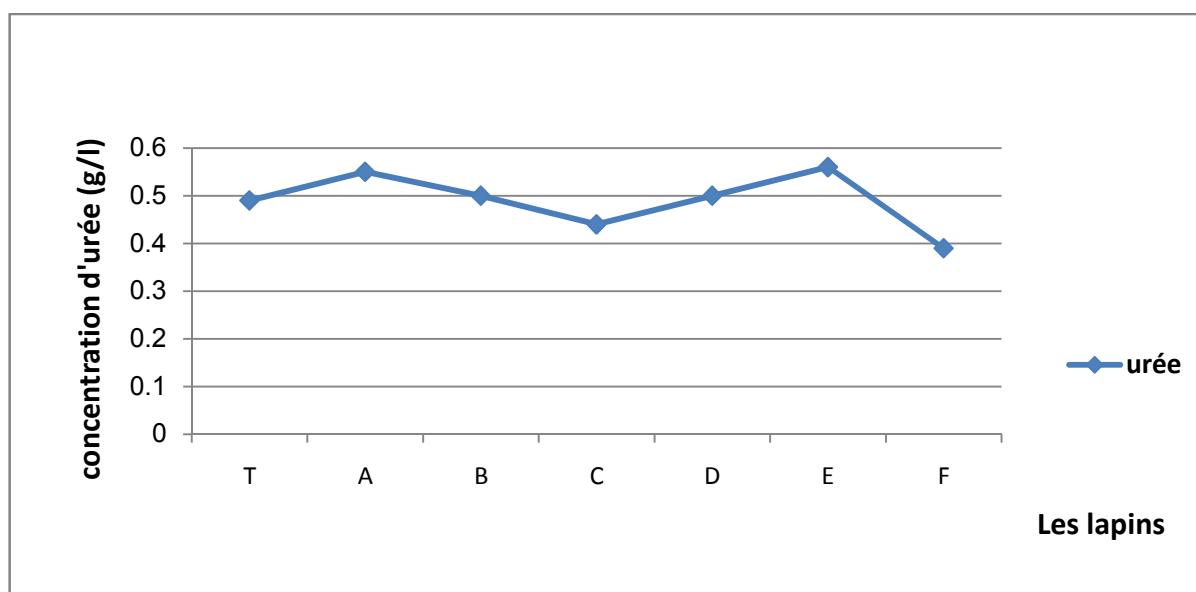
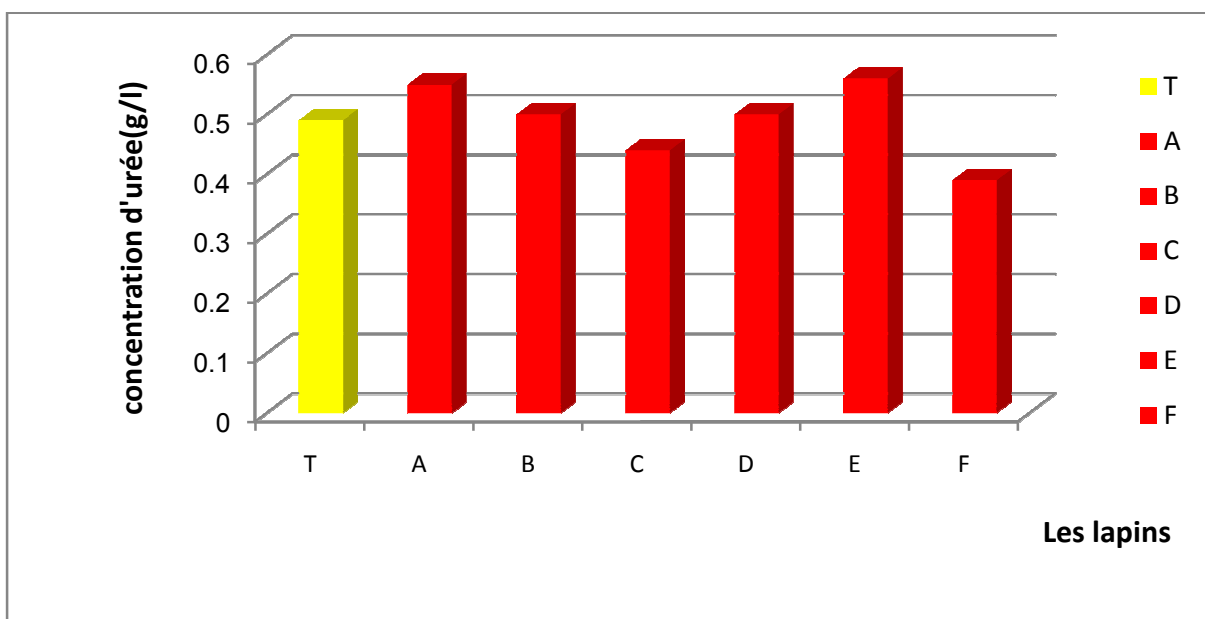


Figure 30 : Effet de venin sur d'Urée.

Les résultats observés (**Tableau 8 et figure 30**) ne montrent aucune modification de la concentration de l'urée chez les lapins par rapport au lapin témoin.

II.1.2.3.Métabolisme des lipides

Tableau 9 : La concentration de cholestérol (g/l) chez le lapin témoin et les lapins injectés par le venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
Concentration de cholestérol	0.52	0.25	0.75	0.21	0.42	0.37	0.48

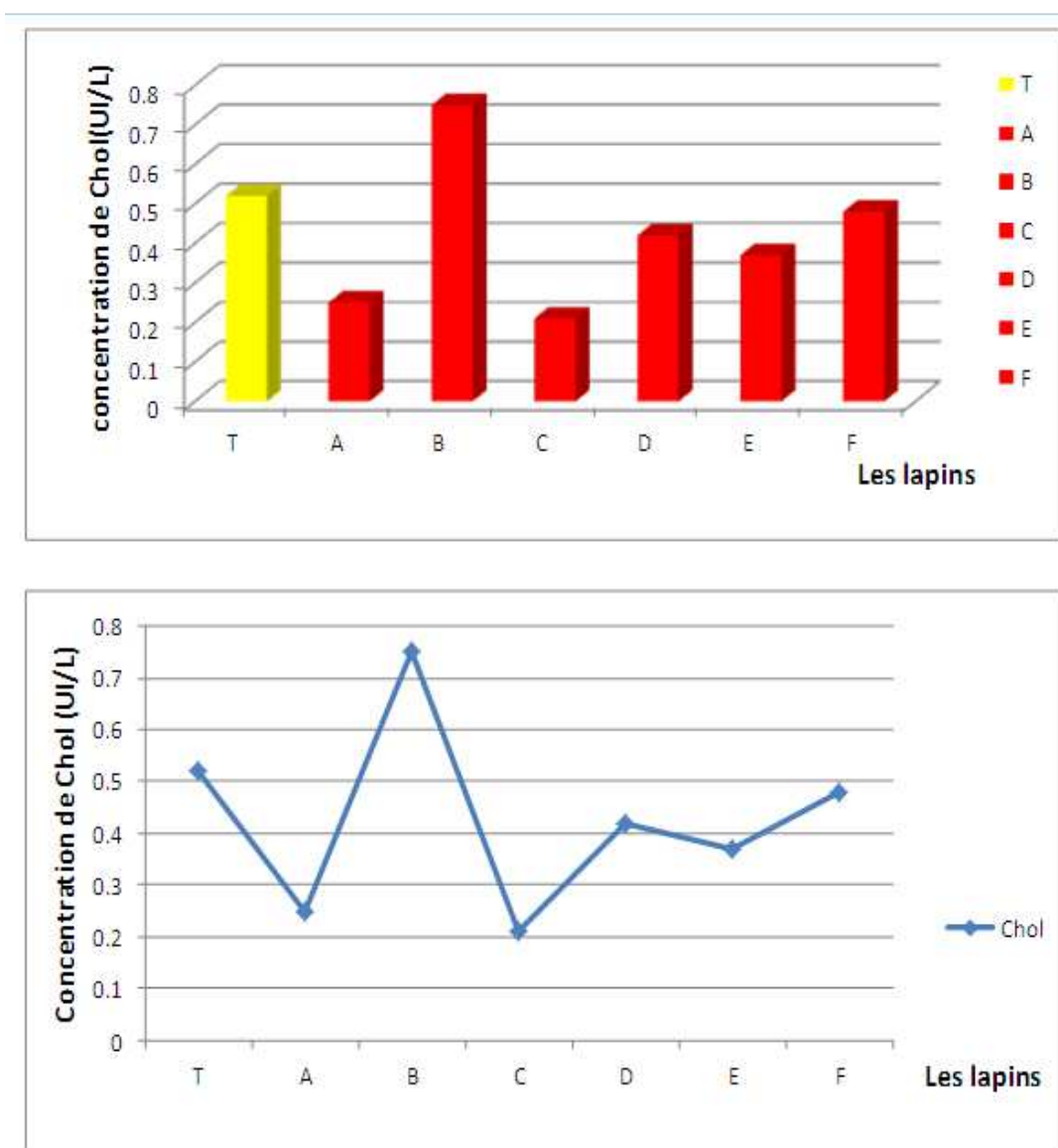


Figure 31 : Effet de venin sur Cholestérol.

Les résultats de cholestérol représentés dans (**Tableau 9 et figure 31**) normale chez le lapins par apport au témoin.

Tableau 10 : La concentration de des triglycérides (g/l) chez Le lapin témoin et les lapins injectés par venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
concentration de des triglycérides	1.65	2.02	1.71	1.13	1.60	2.02	1.56

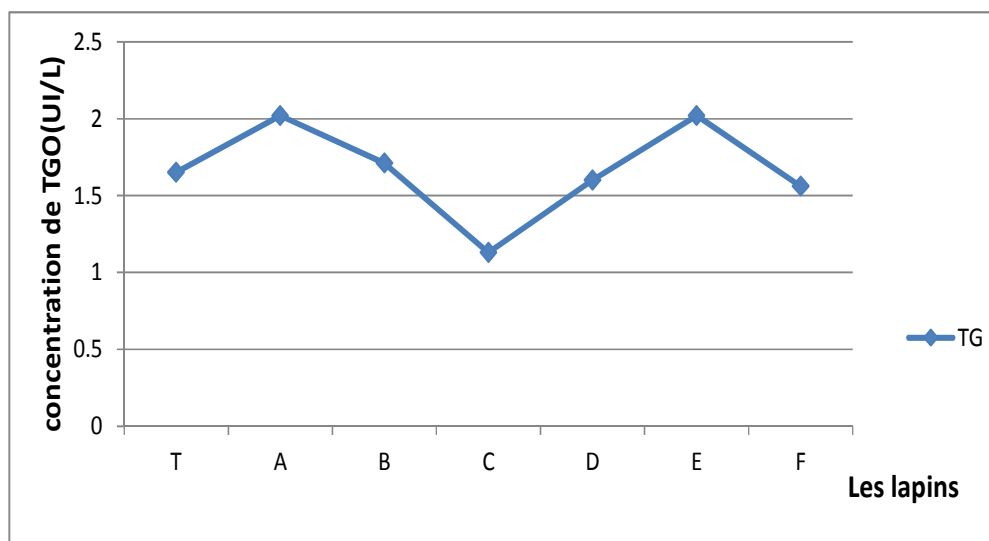
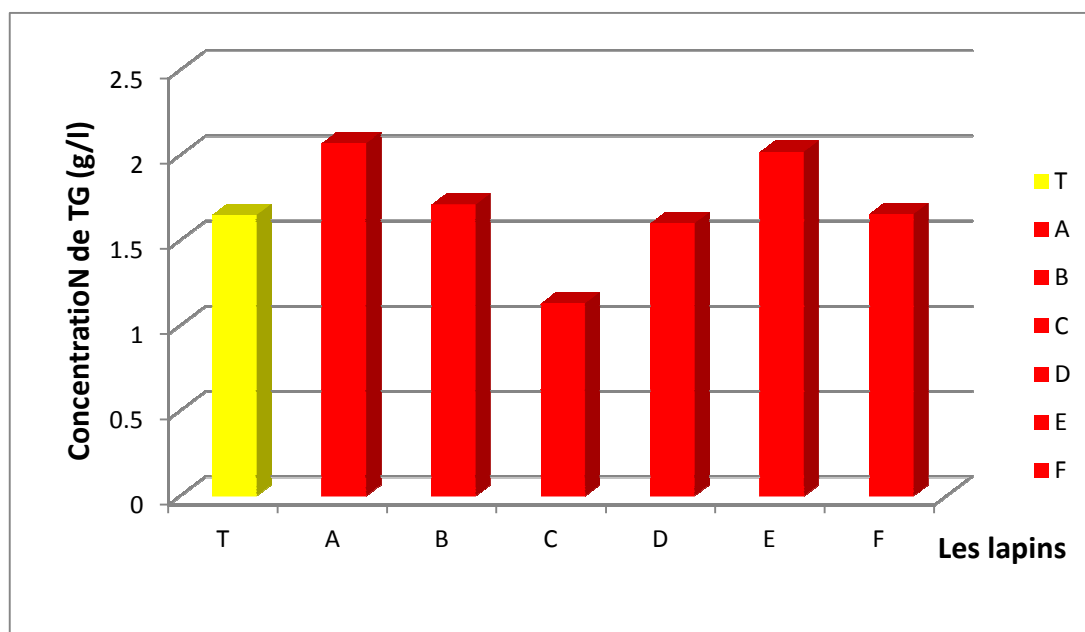


Figure 32 : Effet de venin sur Triglycérides.

Dans notre étude, les résultats obtenus représentés dans la (Tableau 10 et figure 32) montrent que l’administration de venin par voie sous cutanée, la concentration de triglycérides normale chez tous les lapins par rapport au témoin.

II.1.2.4.Métabolisme des acide urique

Tableau 11 : La concentration de l'acide urique (g/l) chez le lapin témoin et les lapins injectés par venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
concentration de acide urique	7	12	16	13	12	8.6	11

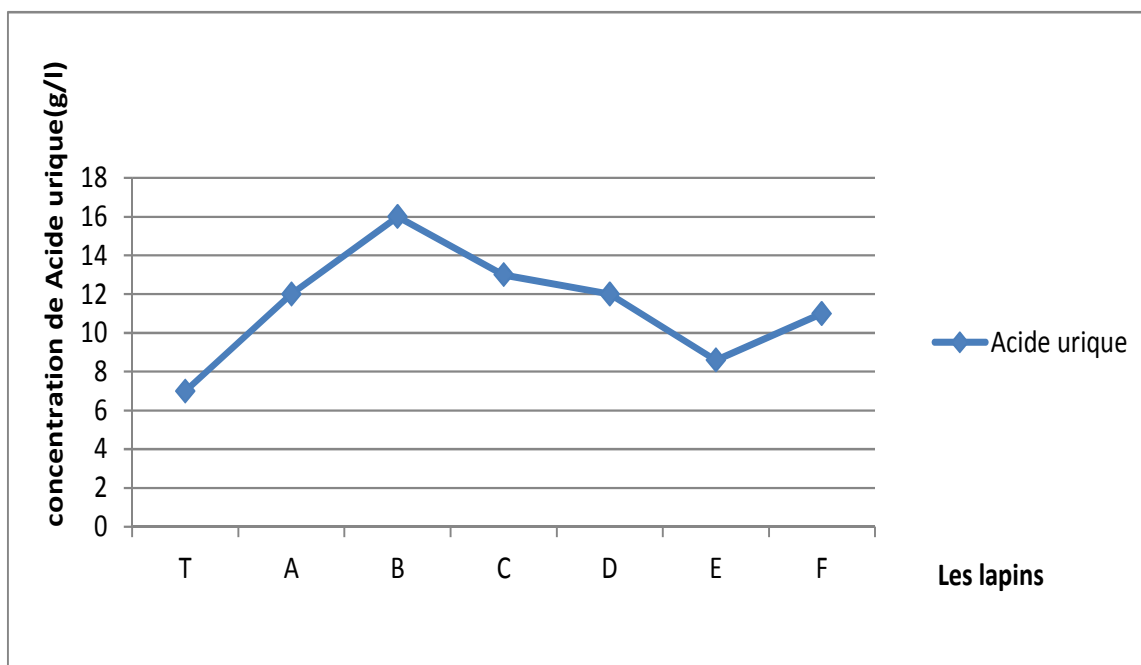
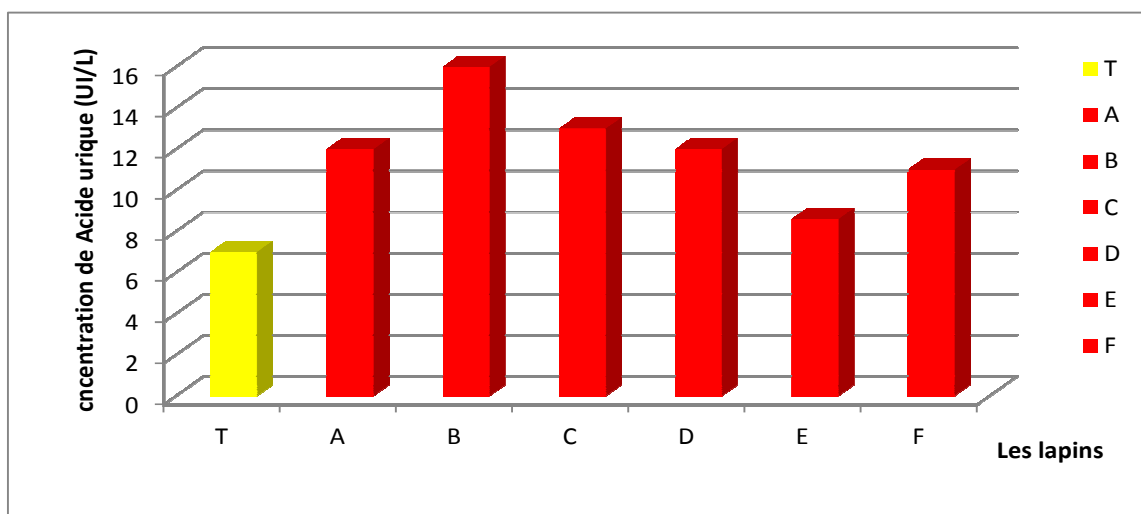


Figure 33 : Effet de venin sur Acide urique.

les résultats obtenus représentés dans la (Tableau11 et figure 33) montrent que l'administration du venin par voie sous cutanée, donne une augmentation de l'acide urique chez tous les lapins par rapport au témoin .

II.1.2.5.Métabolisme de calcémie

Tableau 12 : La concentration de calcémie (g/l) chez La lapin témoin et lapins injectés par venin.

Les lapins	T	A	B	C	D	E	F
Concentration de calcémie	124.5	162	191	133	137	124.5	133

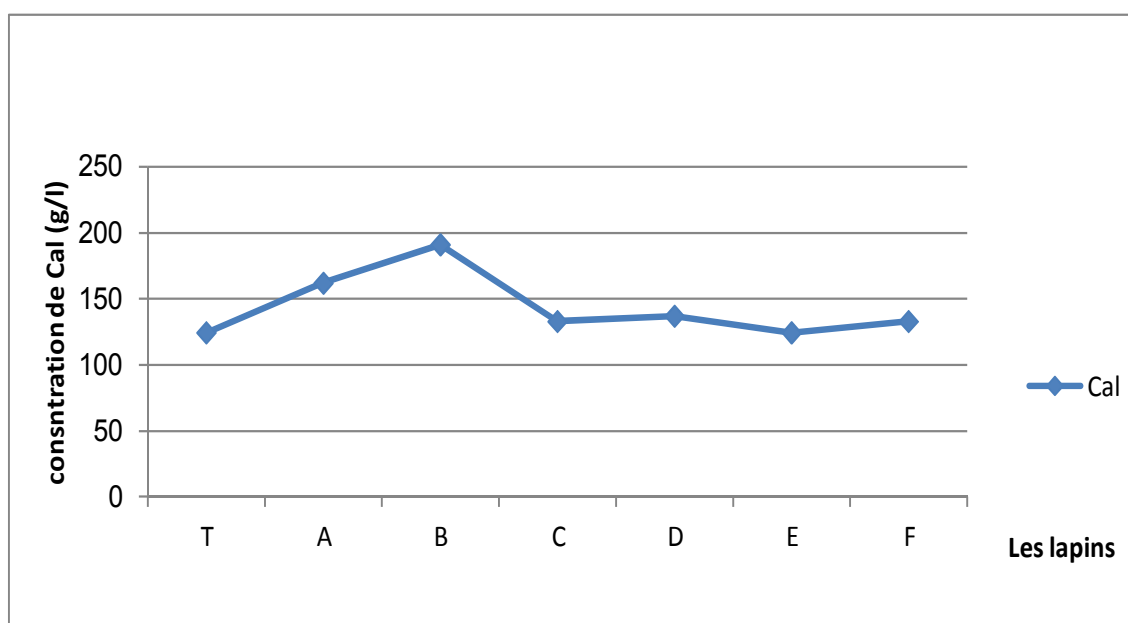
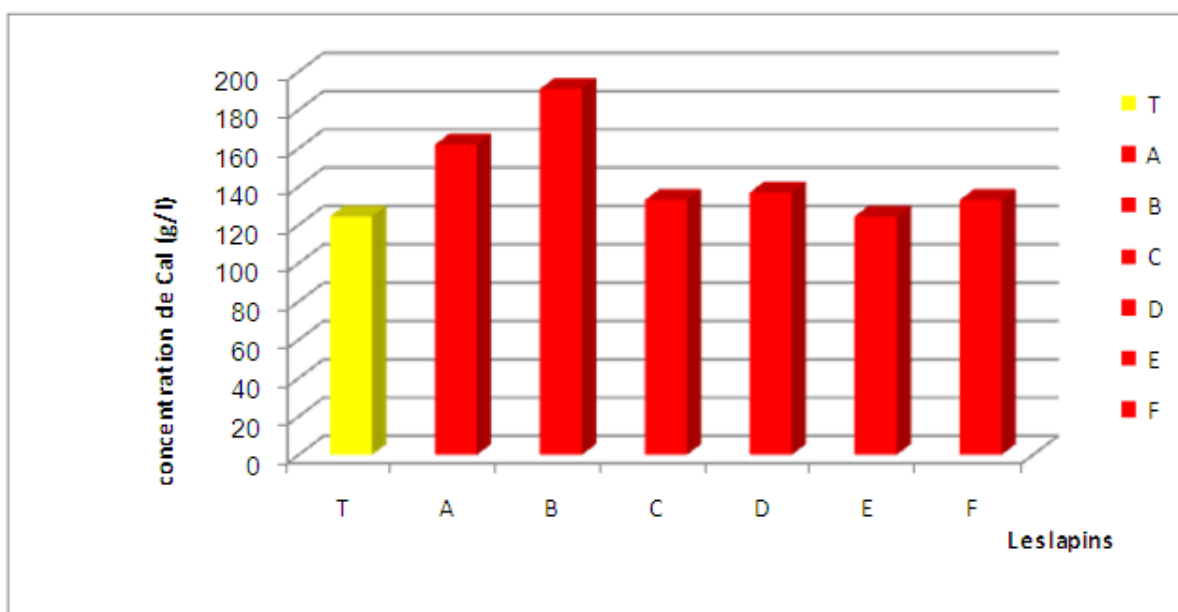


Figure 34 : Effet de venin sur Calcémie.

Dans notre étude, les résultats obtenus représentés dans la (**Tableau 12 et figure 34**) montrent que l'administration de venin par voie sous cutanée, provoque une augmentation calcium chez les lapins injectés par venin par rapport au témoin.

II.2.Discussion

La mesure des paramètres biologiques dans le plasma et les organes végétatifs dans l'organisme, comme le foie et les reins est important pour l'évolution de l'état physiopathologique des victimes de morsure du serpent *Céastes vipera*.

La plupart des études s'intéressent à l'effet du venin du serpent sur le sang. Notre travail présente l'effet du venin de *Céastes vipera* sur quelques paramètres biochimiques.

Après l'égorgeage des lapins, on observe que le sang était coagulé parce que le venin agit sur les facteurs de coagulation et sur les plaquettes.

Il s'agit sans contestation de la symptomatologie la plus préoccupante survenant à la suite des morsures de Vipéridé. La traduction clinique d'une diathèse hémorragique répond à de profondes perturbations biologiques. L'afibrinogénémie, qui se manifeste en général assez tardivement après douze à vingt-quatre heures d'évolution dominée par les signes inflammatoires, est induite par une enzyme thrombotique.

En dehors du fibrinogène, rapidement consommé, les autres facteurs de la coagulation se maintiennent, y compris les plaquettes sanguines, ce qui permet d'éliminer le diagnostic de coagulation intravasculaire disséminée que la clinique évoque fortement. L'activation de facteurs de la coagulation situés plus en amont va entraîner une coagulation intravasculaire disséminée plus ou moins typique avec, notamment, déplétion des plaquettes sanguines et augmentation des produits de dégradation de la fibrine. Une fibrinolyse primitive peut s'observer, bien distincte de la fibrinolyse secondaire physiologique par action de la plasmine. Les produits de dégradation de la fibrine sont alors de nature différente de ceux habituellement rencontrés dans les fibrinolyse réactionnelles (**Goyffon M., Chippaux J.P., 1990**).

Dans notre expérience, on observe une hyperglycémie chez tous les lapins par rapport au lapin témoin, les résultats suggèrent que le venin de *Céastes vipera* peut perturber le métabolisme des rats. Plusieurs venins de serpent provoquent une hyperglycémie chez les animaux expérimentaux (**Al Jammaz I., 2002**), cette augmentation peut être due à :

- L'effet de venin sur les hormones glycémiennes, soit par modification structurelle des hormones, soit par l'influence sur la cellule pancréatique responsable de la sécrétion des hormones.

- L'attaque par le venin des cellules β du pancréas qui sont responsables de la sécrétion de l'insuline et /ou le venin stimule les cellules α du pancréas qui sécrètent le glucagon.

Pour le TGO, TGP et la créatine nous trouvons dans notre série hyperactivité de TGO et TGP avec hypercréatine, on peut expliquer ces résultats comme suivant :

Le venin peut agir sur les cellules hépatiques ou /et les cellules rénales par des éclatements ce qui provoque une hyperactivation des enzymes TGO et TGP qui jouent un rôle important dans le catabolisme des acides aminés.

Ce processus donne avec les produits finals des déchets sous forme de créatine une augmentation de la production de la créatine.

Le venin peut aussi influencer les reins en détruisant des cellules rénales ou/et empêchant leur fonction essentielle qui est la filtration du sang donc la créatine reste dans le sang.

Dans autre études (**Al Jammaz I., 2002**), la concentration des lipides (cholestérol et triglycéride) augmente.

Mais dans notre travail, nous constatons que la concentration des lipides (cholestérol et triglycéride) est normal chez les lapins dont on a injecté le venin par rapport au lapin témoin. Ces résultats peuvent être dus au :

Les doses de venin étaient insuffisantes pour que le venin agit sur les réserves des tissus périphériques.

La durée était très courte pour que le venin influe sur des métabolismes des lipides.

Dans les résultats de l'acide urique, on observe l'augmentation de l'acide urique chez les lapins par rapport au témoin. L'augmentation de l'acide urique peut être revenue à :

- L'insuffisance rénale provoquée par le venin qui peut avoir un effet de: nécrose tubulaire aiguë, hémoglobinurie, myoglobinurie, effet toxique direct, lésions vasculaires (**Ducluzeau R., 2000**).

- Ou par l'influence sur la cellule hépatique où se déroule la synthèse de l'acide urique au cours de la destruction de ces cellules l'acide urique va librement dans le sang.

À partir des résultats, la concentration de calcémie élevée chez tout les lapins par apport au témoin , peut être du au venin ou à un des composantes de venin qui agit sur les glandes parathyroïdes par la fixation sur leur récepteur ,cette fixation stimule la sécrétion des enzymes parathyroïdiens qui sont responsables de l'influence sur les oses pour libérer le calcium , Aussi peut être que le venin agit de façon directe sur des enzymes thyroïdiennes par l'activation de ces enzymes.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'envenimation est représentée par l'ensemble des manifestations locales et générales induites par la pénétration dans l'organisme d'une substance toxique produite par un animal venimeux. Un serpent venimeux est défini comme tout serpent qui a des crochets et des glandes à venin seuls attributs anatomiques qui les distinguent des serpents non venimeux. L'envenimation vipérine est l'ensemble des manifestations locales et générales induites par l'absorption d'une substance venimeuse dans l'organisme par un crochet venimeux.

Les morsures et envenimation des serpents sont à l'origine de la mortalité importante et d'handicaps physiques et psychologiques chez l'homme.

Dans notre étude , et après l'injection, par le venin du serpent de *Cérastes vipera* on a obtenu une variation considérable sur les paramètres biochimiques , hyperglycémie , hyper créatine, hypercalcémie, l'augmentation de l'activité de TGO et TGP avec l'augmentation d'acide urique. Mais on n'a observé aucune variation dans les paramètres de TG , Chol et Urée.

Dans le futur, nous allons faire une autre étude nécessaire pour confirmer la variation des paramètres biochimiques et pour préciser l'origine de cette variation cellulaire et moléculaire.

Nous avons rencontré des problèmes dans la recherche des documents nécessaires à la réalisation de notre travail .

En plus la capture de ces reptiles *Cérastes vipera* n'était pas facile sans l'aide de CHIKHA BELGACEM AISSA.

L'extraction du venin des serpents a posé un grand problème pour les membres du groupe.

RESUMÈ

Les envenimations ophidiennes constituent un problème de santé publique dans le monde,. En effet on enregistre chaque année 4 à 5 million de morsures de serpent dans le monde dont environ 100 000 décèdent par an.

Le venin de *Céastes vipera* est une substance chimique type protéique avec 2 composants essentiels : les toxines et les enzymes. Ces protéines sont responsables de la symptomatologie observée au cours de l'envenimation vipérine.

Dans notre étude , on fait l'extraction de venin de serpent *Céastes vipera* puis diluée et injectée le venin à différentes doses dans (6) six lapins .

D'après (3) trois heures d'injection de venin, on gorge les lapins pour faire les analyses de sang. Au cour le prélèvement du sang été coagulée pour cela on fait les paramètres biochimiques possibles.

D'après ,les résultats d'analyses nous constatons que le venin du serpent *Céastes vipera* agit sur quelques paramètres biochimiques : hyperglycémie , hypercréatine , hypercalcémie, l'augmentation de l'activité de TGO et TGP avec l'augmentation d'acide urique. Mais on n'a observé aucune variation dans les paramètres de TG , Chol .

Les mots clés : *Céastes vipera* ,Venin , Envenimation , Paramètres Biochimiques , Dilution.

ملخص

يمثل التسمم بالأفاعي مشكلة للصحة العمومية في العالم . بحيث انه يتم تسجيل أربعة إلى خمسة مليون لدغة سنويا مع وفاة مئة ألف شخص سنويا تقريبا .

يتكون سم أفعى الرمل من مواد بروتينية وهي نوعان : الإنزيمات والبروتينات السامة. تعتبر البروتينات هي المسؤولة عن اغلب الأعراض الملاحظة خلال انزعات الأفعى. تتميز هذه الأعراض بالمتلازمة الالتهابية (الم , احمرار , ذمة , انتفاخ) .

في دراستنا قمنا باستخلاص سم أفعى الرمل ثم خففنا السم بتركيز مختلفة وحقناها في ستة أرناب .

بعد ثلاثة ساعات من الحقن قمنا بذبح الأرناب لإجراء تحاليل للدم. فوجدنا ان الدم متخثر ولهذا قمنا بأجراء بعض المعايير البيو كيميائية الممكنة .

من خلال النتائج تبين ان سم أفعى الرمل لديه تأثير على بعض المعايير البيو كيميائية : ارتفاع نسبة السكر ، كرياتين ، الكالسيوم ، حمض البولة ، الإنزيمات الكبدية في الدم. لكن لم يؤثر على ايض الدهون (الكوليسترول و ثلاثي الدهون) .

عملنا هذا، يوضح كيف يؤثر سم أفعى الرمل على بعض المعايير البيوكيميائية.

الكلمات المفتاحية : أفعى رمل ، سم ، لدغة ، المعايير البيوكيميائية ، التخفيف .

RESUMÉ

Les envenimations ophidiennes constituent un problème de santé publique dans le monde,. En effet on enregistre chaque année 4 à 5 million de morsures de serpent dans le monde dont environ 100 000 décèdent par an.

Le venin de *Cérastes vipera* est une substance chimique type protéique avec 2 composants essentiels : les toxines et les enzymes. Ces protéines sont responsables de la symptomatologie observée au cours de l'envenimation vipérine.

Dans notre étude , on fait l'extraction de venin de serpent *Cérastes vipera* puis diluée et injectée le venin à différentes doses dans (6) six lapins .

D'après (3) trois heures d'injection de venin ,on gorge les lapins pour faire les analyses de sang. Au cour le prélèvement du sang été coagulée pour cela on fait les paramètres biochimiques possibles.

D'après ,les résultats d'analyses nous constatons que le venin du serpent *Cérastes vipera* agit sur quelques paramètres biochimiques: hyperglycémie , hypercréatine, hypercalcémie, l'augmentation de l'activité de TGO et TGP avec l'augmentation d'acide urique. Mais on n'a observé aucune variation dans les paramètres de TG , Chol.

Les mots clés : *Cérastes vipera* ,Venin , Envenimation , Paramètres Biochimiques , Dilution.

ملخص

يمثل التسمم بالأفاعي مشكلة للصحة العمومية في العالم . بحيث انه يتم تسجيل أربعة إلى خمسة مليون لدغة سنويا مع وفاة مئة ألف شخص سنويا تقريبا .

يتكون سم أفعى الرمل من مواد بروتينية وهي نوعان : الإنزيمات والبروتينات السامة. تعتبر البروتينات هي المسؤولة عن اغلب الأعراض الملاحظة خلال انزعاجات الأفعى. تتميز هذه الأعراض بالمتلازمة الالتهابية المحلية (الم , احمرار , نمة , انتفاخ) .

في دراستنا قمنا باستخلاص سم أفعى الرمل ثم خففنا السم بتركيز مختلفة وحقناها في ستة أرناب .

بعد ثلاثة ساعات من الحقن قمنا بذبج الأرناب لإجراء تحاليل للدم. فوجدنا أن الدم متخثر ولهذا قمنا بأجراء بعض المعايير البيوكيميائية الممكنة .

من خلال النتائج تبين أن سم أفعى الرمل لديه تأثير على بعض المعايير البيوكيميائية : ارتفاع نسبة السكر، كرياتين ، الكالسيوم ، حمض البولة ، الإنزيمات الكبدية في الدم. لكن لم يؤثر على أبيض الدهون (الكوليسترول و ثلاثي الدهون) .

عملنا هذا ، يوضح كيف يؤثر سم أفعى الرمل على بعض المعايير البيوكيميائية.

الكلمات المفتاحية : أفعى رمل ، سم ، لدغة ، المعايير البيوكيميائية ، التخفيف .



Photos représentent le serpent *Cérastes vipera*.



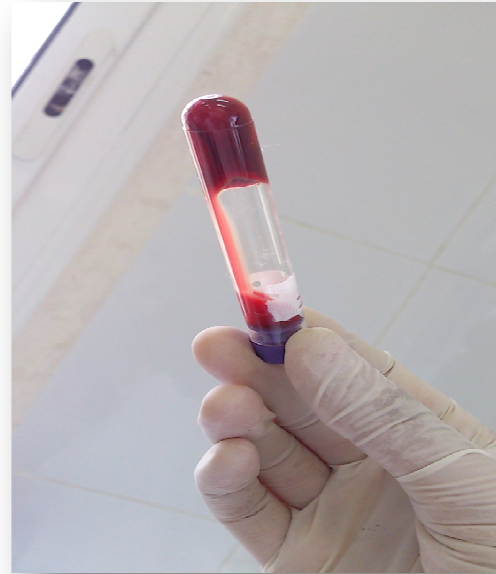
Photos représentent l'extraction du venin serpent *Cérastes vipera*.



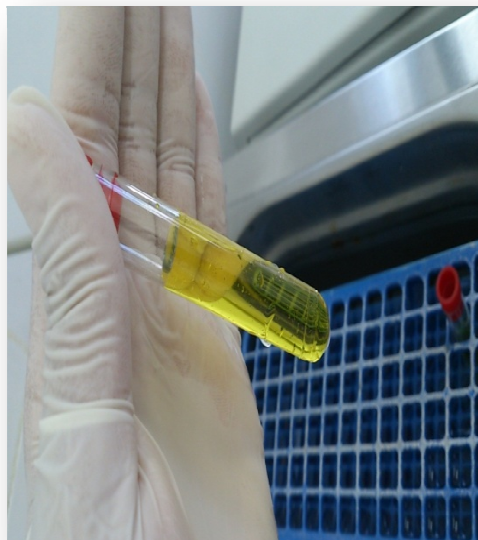
Photos représentent la dilution et l'injection du venin aux lapins.



Photos représentent un lapin après l'injection et l'égorgeement.



Photos représentent le sang coagulé et le sang après le centerufigation.



Photos représentent le réactif et le matériel utilisé dans le laboratoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- 1- **Bedock B., Blanc P., Lassonery I., Jay S., (1989).** Morsures de vipères en France. prise en charge, traitement des formes graves. SRLF, ed. réanimation et médecine d'urgence. Paris .254p.
- 2- **Bergmeyer H., Horde., (1980).** Clin.Chem . Acta 105-147 F .
- 3- **Bergmeyer H., Bower., Clos., (1976).** Clin. Chim . Acta 70.
- 4- **Berthelot M.P.E., (1859).** Report Chim . Appl . 284.
- 5- **Biot N. T., Descotes J., (1994).** Les morsures de vipères : manifestations cliniques et prise en charge. Lyon. Pharm. 321p .
- 6- **Blomback B., Blomback M., Hessel B., Iwanaga S., (1967).** Structure of N-termina fragments of fibrinogen and specificity of thrombin. Nature .215p.
- 7- **Bon C., (1991).** Venins de serpents et serums antivenimeux . Bull. Soc. Herp .Paris. 72p
- 8- **Boquet P., (1966).** Immunité anti venimeuse. Toxicon. 4p.
- 9- **Braud S., Wisner A., Bon C., (2003).** Venins de serpents et hémostasie. Ann Institut Pasteur Actual . 206p.
- 10- **Bucknall N.C., (1995).** Snakes bites South. Med. J. 88(7) : 794p.
- 11- **Chafiq.F., Fekhaoui.M., Mataam.A., Rhalem.N., Khattabi.A., Soulaymani-Bencheikh. R., (2011).** Toxicologie Maroc. Ed. Rés. Alia, 8, rue Essanaani. 9p .
- 12- **Chippaux J.P., (2006).** les srepents d'Afrique occidental et contral ,Ed :IRD213, rue la fayette 75480 paris cedex 10 paris Vol 329.
- 13- **Chippaux J.P., (1999).** Les serpents d'Afrique occidentale et centrale. IRD éditions . Paris. 280p.
- 14- **Chippaux J.P., (2002).** Venins de serpents et envenimations. Paris. IRD. Coll. Didactiques. Paris. 288p.
- 15- **Chippaux.J-P., Goyffon.M., (2006).** Envenimation et intoxication par les animaux venimaux ou vénéneux. Paris, France . 220p.

- 16- **Choumet V., Goyffon M., (2003).** Les morsures de vipères. Concours Med.125p.
- 17- **Christelle .R., (2006).** L'action des venins ophidiens sur l'hémostase. Thèse doctorale en pharmacie. Université Henri Poincaré- Nancy 1.174p.
- 18- **Detrait J.,(1989).** Composition chimique de venin immunologie .SHd, editor.Lyon .Ed Fondation Marcel Mérieux . France .77-78P.
- 19- **Daudin .Caens. C., Guerbet M., (2001).** Le point sur le traitement des morsures de vipères. Lyon. Pharm.182p .
- 20- **Diakite D., (1977) .** Premier inventaire de la faune ophidienne au MALI. Thèse de médecine, Bamako.67p.
- 21- **Ducluzeau R., (2000).** Envenimations et piqûres. Infotox, 11. n°. 1-4 .pp .1-24. Expansion scientifique française . 24p.
- 22- **Farid T.M., Tu, A.T., El Asmar, M.F ., (1989) .**Characterization of cerastobin, a thrombin-like enzyme from the venom of *Cerastes vipera* (Sahara sand viper). Biochemistry .377p.
- 23- **Fasce C. F., (1983).** Clin .Chem .18901 .
- 24- **Fossati P., (1980).**Principe .,Clin. Chem.,28,227.
- 25- **Fossati P., (1982).** Principe I., Clin. Chem.,28,2077.
- 26- **Gentilini M., (1993).** Animaux venimeux. Flammarion médecine science. 5ème édition.Paris. 682p
- 27- **Goyffon F., Heurtaut J., (1994).** la fonction venimeuse-Edition Masson , Vol 284.
- 28- **Goyffon M., Chippaux J.P., (1990).** Animaux venimeux terrestres.. EMC. Paris. 14p.
- 29- **Hadjam A., Hassen Z., (2008).** Effet de la variation du débit de dose d'irradiation gamma sur l'activité myotoxique du venin de *Cerastes cerastes* . Thèse licence. U.S.T.H.B. 29p.
- 30- **Harris A.C., Hurst P.E., Saher M.B. (1976).** Renal failure after snakebite. Méd. J. Aust. 411p .
- 31- **Ibrahim A., Al Jammaz., (2002).**Envenimation by *Cerastes vipera* crud venom on plasma and tissuel métabolite of rats,Thèse Doctorat.Université Riyadh .9p.

- 32- **Ikram J., (2009).** la phospholipase A₂ Sécrétée de groupe X : Maturation protéolytique et rôles fonctionnels. Thèse de doctorat, Université, de Nice- Sophia-Antipolis.115p.
- 33- **Jose M. P., Amya A., Carmen C., Jose B., (2002).** Aphasia in a farmer following viper bite. The Lancet.359p.
- 34- **Kassogue A., (2006).** Complication Renales Desenvenimation Par Morsure Deserpent au Suc Hgtde Janvier à Décembre 2004. Thèse de Médecine. Universite de Bamko. 82p .
- 35- **Lakhdar A., (2001).** Etude de la fonction venineuse chez les srpents autochtones et exotiques en france metropolitaine. these de doctora veterinaire. Universite Paul-Sabatier de Toulouse. 56p .
- 36- **Larsen K., (1972).** Clin. Chim .Acta 66 ,209.
- 37- **Le Berre M., (1989).** Faune du sahara 1-poissons-anphibiens reptiles. Ed. Raymond shabaud-Lechevalier, Paris .327p.
- 39- **Mamoudou H.D., (1999).** purification et propriétés physico-chimiques des enzymes de Curculigo Pilosa ,Gladiolus Klattianus et Boscia Senegalensis catalysant l'hydrolyse des polysaccharides (Amidon et β -glucanes). Université de Ouagadougou. Burkina Faso.120p.
- 40- **Mansouri Ch., Ben amara M ., Zerrouk S., (2013).** Herpeto-terario (serum antivenimeux et immunotherapie). These licence. Université El-Oued. 55p.
- 41- **Marrakchi M ., El Ayeb M ., (1998)** Les thrombine-like, serine-proteases presents dans les venins du genre cerastes (cerastes cerastes et cerastes vipera).Ed .Archs. Inst. Pasteur Tunis p 8.
- 42- **Marsh N., Williams V., (2000).** Practical applications of snake venom toxins in haemostasis. Toxicon. 1171p .
- 43- **Mermode C., (1970).** Domaine vital et déplacements chez Cérastes vipera (L) et Cérastes céastes (L) , Reptila , Viperidae. Journale. Revue Suisse de zoologie. 557p .
- 44- **Mion G., Larréché S., Goyffon M., (2010).** Envenimations par vipéridés R syndrome vipérin. Paris.Urgence Pratique Publications. 89p.
- 45- **Mion G., Olive F., Hernandez E., Martin Y.N., Vieillefosse A.S., Goyffon M., (2002).** Action des venins sur la coagulation sanguine : diagnostic des syndromes hémorragiques. Bull Soc Pathol Exot . 132p .

- 46- **Pierrette Brix N., (2010)** .etude de la faune ophidienne de l'egypte ancienne , Tome 2 les monographies ophidiennes. Thèse de Doctorat, Université Strasbourg 2 .538p.
- 47- **Premawardena A.P., Seneviratne S.I., (1998)**. Gunatilake Excessive Fibrinolysis : the coagulopathy following merrem's hump-nosed viper bites. Am. J. med trop. 821 .
- 48- **Quinton L., (2006)**. Caractérisation de toxines peptidiques par spectrométrie de masse à haute résolution. These Doctorat. 50p .
- 49- **Raaf .L., Boudi. A., (1999)**. Caractérisation immunoenzymatique d'une fraction immunodominante du venin de la vipère *Cerastes cerastes* par Dot-ELISA et préparation d'un sérum neutralisant. Thèse lecence. U.S.T.H.B. 39p.
- 50- **Safi L., Drissi N., Atmani M., Dimou S. S., Boughalem H., Mahmoud A., (1995)**. Défibrination aigue après morsure de vipère. Maghreb Médical. 293p .
- 51- **. Seignot P., Ducourau J.P., Ducrot P., Angel G., Roussel L., Audebert M., (1992)**. Envenimation mortelle par morsure de vipère africaine *Echis Carinatus*. Ann. anesth. Réan. Fr. 110p .
- 52- **Sipritya V., Boonpuchnaving V., (1980)**. Extracapillary proliferative glomerulonephritis in Russel's viper bite. Br. Med. J. 1417p.
- 53- **Stern J., Lewis W.H.P., (1957)**. Clin . Chim . Acta 2 , 576.
- 54- **Stocker, K.F., (1990)**. Medical use of snake venom proteins. CRC Press, Boca Raton.
- 55- **Stoebner P., Cabot C., Jarry D.,Meunier L., (2001)**. Envenimation neurotoxique par morsure de vipère. La presse médicale. 220p
- 56- **Trinder P.n Ann., (1969)**.Clin . Biochem 6,24
- 57- **Ulrich G., (2009)**. Die schlangen Europas ,Ed 217 Frabtotos, 36 Zeichnungen und 98 Verbreitungskarten , Frankfurt , 264p .
- 58- **Wagner Ph., Wilms T., (2010)**. new species of *cérastes Laurenti* (ophidia, vipérdae) from Tunisia , with two nomenclatural comments .643p.
- 59- **White J., (2005)**. Snake venoms and coagulopathy. Toxicon.951p.
- 60- **Xavier G.,(1991)**. Les Venins . Université de Genève Travail de recherche en Biologie. 50 p.

61- Zingali R.B., Bon C., (1991). Les protéines de venins des serpents agissant sur les plaquettes sanguines. A Institut Pasteur Actual.4p

Les sites internet

Site 1 : [http://herpeto-terrario.fr / t2385-coupe-du-systeme –venimeux- chez-les-solenglyphes.](http://herpeto-terrario.fr/t2385-coupe-du-systeme-venimeux-chez-les-solenglyphes)

Site 2 : [http://www.cons-dev.org/GVS/fiche1.php?lng=en&nespece=131.](http://www.cons-dev.org/GVS/fiche1.php?lng=en&nespece=131)

Site 3 : [http://www.tunivoyage.net /les-especs-de-serpents-en-tunisie./](http://www.tunivoyage.net/les-especs-de-serpents-en-tunisie/)

Site 4 : [http://www.biopublisher.ca/files/upfiles/f3-da\(13\).png.](http://www.biopublisher.ca/files/upfiles/f3-da(13).png)