

الجمهورية الجزائرية الشعبية الديمقراطية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université M'Hamed BOUGARA, Boumerdes



Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master II

Filière : Biotechnologies

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité: Biotechnologie et pathologie moléculaire

Thème

*Caractérisation Structurale et Fonctionnelle d'un complexe
protéique issu d'une espèce ophidienne
Venimeuse en Algérie*

Présenté par :

M^{elle} IRINISLIMANE RANIA & M^{elle} MEBARKI DOUNIA

Soutenu le 15/09/2021 devant le jury composé de

Présidente : Dr. SALMI KARIMA Maitre Assistant A (FSB-UMBB).

Examinatrice: Dr. YSMAIL-DAHLOUK LAMIA Maitre de Conférences B (FSB-UMBB).

Promotrice : Dr. MOKRANI AHLEM (IPA)

2020/2021

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre promotrice madame **MOKRANI AHLEM** de nous avoir encadré et dirigé durant ce mois de stage, ainsi pour son précieux aide dans l'élaboration de ce travail et surtout pour le partage de son savoir-faire tout au long de la période de stage au sein du laboratoire de recherche et de développement de l'Institut Pasteur d'Algérie.

Nous voudrions également exprimer nos remerciements à notre ex-promoteur, Monsieur **NOURI ABDELMOUNAIM** de nous avoir acceptées pour ce PFE, suivi et encouragé pendant ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury, d'avoir acceptées d'évaluer notre travail : A Madame **SALMI KARIMA**, qui a aimablement accepté de faire partie de ce jury et d'apporter une réflexion critique à ce travail. Que ce travail lui témoigne de notre profonde gratitude.

A Madame **YSMAIL-DAHLOUK LAMIA**, qui nous honore de sa participation à l'évaluation de ce modeste travail en apportant une vision de spécialiste. Que ce travail lui témoigne de notre profonde gratitude.

Nous adressons également nos vifs remerciements à nos parents pour leur soutien constant et leur encouragement.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des abréviations

AChE : Acétylcholinestérase.

APS : Persulfate d'ammonium.

ARNm : L'ARN messenger.

BALB/c : Lignée consanguine albinos.

CL : Région constante.

CVF : Cobra venom factor.

DL50 : La dose létale 50.

E: Activateur.

Fab : Fragment variable de l'immunoglobuline

FC : Fragment constant de l'immunoglobuline.

FCA : Complet adjuvant de Freund.

3FTx : Neurotoxines post synaptique.

IgA : D'immunoglobuline A.

IgG : Immunoglobuline G.

IgM : D'immunoglobuline M.

I.M : Intra musculaire.

I.V : Intraveineuse.

IgY : Immunoglobuline Y.

Kda : Kilo dalton.

L : Chaînes légères.

VL : Région variable

LH : Chaînes lourdes (heavy).

LTc: Lymphocytes T cytotoxique.

NFG: Nerve growth factor.

N.H: *Naja haje*.

OMS : L'Organisation Mondiale de la Santé.

PLA2 : Phospholipases A₂.

PM : Poids moléculaire

SDS : Sodium dodecyl sulfate.

SVMP : Snake venom metalloproteinases.

SVSP : Snake venom serine protease

TEMED : Tétraméthyléthylènediamine.

TM : Transmembranaire.

Tris-HCL : Trishydroxyméthylaminométhane hydrochloride.

HPLC : Chromatographie en phase liquide haute performance.

Liste des figures

Figure 1. Estimation du taux de mortalité et du nombre de décès dus aux morsures de serpent dans le monde	4
Figure 2. <i>Naja haje</i> , classification <i>Elapidae</i>	5
Figure 3. L'action et la voie de signalisation des PLA2 de serpent <i>de Naja haje</i>	7
Figure 4. Structure moléculaire de la neurotoxine postsynaptique (3FTx)	7
Figure 5. Les sites d'action des neurotoxines du venin de <i>naja haje</i>	9
Figure 6. Structure moléculaire en 3D de la PLA2	11
Figure 7. Chronologie d'une morsure <i>d'Elapidae</i> (<i>cobra, mamba, naja</i>)	13
Figure 8. Modèle des souris BALB/c	16
Figure 9. Coulage de gel	19
Figure 10. Migration électrophorétique	19
Figure 11. Lavage et renaturation du gel.....	20
Figure 12. Coloration et décoloration du gel.....	20
Figure 13. Injection des souris par du venin de cobra par voie intraveineuses (IV) ...	25
Figure 14. La réalisation du frottis sanguin.....	25
Figure 14'. Hémolyse des érythrocytes par le venin NH.....	25

Figure15. Résultats de la séparation des protéines du venin NH par électrophorèse (SDS PAGE) avec un gel de séparations à 12%.	27
Figure16. Résultats de la séparation des protéines du venin NH par électrophorèse (SDS PAGE) avec un gel de séparations à 10%.....	28
Figure 17. Résultats de la séparation des protéines du venin NH par électrophorèse (SDS PAGE) avec un gel de séparations à 15%.....	28
Figure 18. Le graphe des résultats du test d'hémolyse.....	.30

Liste des tableaux

Tableau I.1. Classification des serpents africains.....	4
Tableau I.2. Comparaison entre IgY et IgG.....	15
Tableau II.1. Répartition des doses du venin NH par groupe de souris.....	22
Tableau II.2. Doses du venin NH relatives au test hémolytique.....	24
Tableau III.1. Les différentes fractions protéiniques dans les gels de séparation.....	27
Tableau III.2. Résultats de la DL50	39
Tableau III.3. Résultats de l'hémolyse.....	330

Sommaire

Remerciements.

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction générale.....1

Chapitre I : Revue bibliographique

Généralités

I.1. Envenimations ophidiennes.....	3
I.2. Le serpent <i>Naja haje</i>	5
I.3. Venin de <i>Naja haje</i>	
I.3.1. Composition du venin de <i>Naja haje</i>	5
I.3.2. Enzymes.....	6
I.3.2.1. Phospholipases.....	6
I.3.2.1.1. Le phospholipase A2 PLA2.....	6
I.3.2.2. Les acétylcholinestérase (AChE).....	8
I.3.2.3. Les protéases.....	8
I.3.2.3.1. A Les métallo-protéases (SVMP).....	8
I.3.2.3.2. Les sérines-protéases (SVSP).....	9
I.3.3. Toxines.....	9
I.3.3.1. Neurotoxines postsynaptique (3FTx).....	10
I.3.3.2. Neurotoxines présynaptique (B-neurotoxines).....	10
I.4. Symptomatologie de l'envenimation par <i>naja haje</i>	12
I.5. Traitement symptomatiques.....	13
I.6. Immunothérapie antivenimeuse.....	14

Chapitre II

Partie1

Caractérisation constitutionnelle et fonctionnelle du venin du *Naja Haje*

Matériels et méthodes

Matériels

Matériel biologique16

Matériel non biologique.....17

Méthodes

Electrophorèse verticale sur gel polyacrylamide (SDS PAGE).....17

Détermination de la dose létale du *naja haje* (DL50).....20

Partie2

Activité Hémolytique du venin du *Naja Haje*

Test de la dose minimale hémolytique23

Chapitre III

Résultats et Discussion

III-A. Révélation des différentes fractions protéiques du venin de *Naja haje*.....26

III-A.1. Résultats de la séparation des protéines par la technique SDS-PAGE.....26

III-A.2. Résultats de la dose létale (DL₅₀) de *Naja haje*.....29

III-A.3. Résultats du test d'hémolyse.....30

Conclusion.....33

Références bibliographiques.....34

Introduction générale

Les envenimations due aux morsures de serpents sont une urgence médicale est un problème de santé publique , qui n'a pas reçu l'attention qu'elle mérite c'est pour cette raison elle est classée comme une maladie tropicale négligée (White, 2000), selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) se trouve dans les zones rurales des pays tropicaux et subtropicaux d'Afrique , d'Asie et d'Océanie d'Amérique latine (Gutiérrez et *al.*, 2006 ; Kasturiratne et *al.*,2002), Il se produit plus de 5 millions de morsures de serpent chaque année qui laisse plus de 300 000 victimes avec des défigurations stigmatisantes et une morbidité mentale chronique , qui tue chaque année plus de 95 000 personnes (Chippaux, 1998).

Il existe environ 3 700 espèces de serpents dans le monde, parmi eux environ 15% cause des accidents graves qui touche les humains et les animaux tels que *Colubridae*, les *Viperidae*, les *Lamprophiidae* et les *Elapidae* (Chippaux, 1998).

Les serpents qui appartiens à la famille *Elapidae* entraînent une paralysie respiratoire parfois mortelle. Les morsures par les *Elapidae* peuvent provoquer des hémorragies et des nécroses, ce qui égare le diagnostic étiologique (Slowinski et *al.*, 1997).

La famille des *Elapidae* qui sont réparties dans les régions tropicales et tempérées d'Afrique, d'Amérique, d'Asie et d'Australie, est composée de 365 espèces et comprend 61 genres, peuvent vivre dans un milieu terrestres ou aquatiques (Chippaux., 2013).

En Afrique, l'incidence annuelle des morsures de serpent varie entre 435 000 et 580 000 cas. Plusieurs espèces de cobras sont originaires d'Afrique, le cobra égyptien, se trouve du sud de l'Égypte au nord de l'Afrique du Sud appelé *Naja haje* (Linnaeus) appartenant à la famille *Eapidea* (Al-Quraishy et *al.*, 2014) présente des spécimens qui causent un nombre important et grave d'accidents. Le venin de cette cobra est principalement constitué de neurotoxines et de cytotoxines (Tohamy et *al.*, 2014) en affectent le système nerveux, il bloque la transmission des signaux nerveux et entraînant la mort en cas d'une insuffisance respiratoire complète.

Naja haje est l'une des espèces les plus dangereuses en Algérie, car elle provoque la paralysie respiratoire et des troubles hématologiques aboutissant à des hémorragies fatales (Kini, 2010).

Le venin de ce cobra, constitue d'une variété de peptides et de protéines qui provoquent des effets inflammatoires et cytotoxiques / myotoxiques, tels que l'inflammation (Ferraz et *al.*, 2019) .

Les protéines du venin de *Naja haje* ont été élucidées au Maroc en utilisant diverses techniques telles que HPLC, Tricine / SDS-Page, spectrométrie de masse en tandem Q-TOF et recherche dans des bases de données (Gutiérrez et al, 2013).

L'objectif de cette étude est de détecter les différentes protéines dans le venin de *naja haje*. Le protocole est composé de différentes parties, la première partie c'est la préparation des différentes solutions nécessaires à la SDS-PAGE et l'identification des protéines contenues dans les préparations de venin, la détermination de la dose létale (DL50) qui cause la mort de 50 % (la moitié) des souris, et la dernière étape c'est la détection de la dose minimale hémolytique du venin de cobra *Naja haje*.

Chapitre I : Revue bibliographique

Généralités

I.1. Envenimations ophidiennes :

L'envenimation par morsure de serpent est un problème majeur qui est négligé par l'OMS de santé publique dans le monde en développement, qui touche entre 1,8 à 2,7 millions de personnes dans le monde par an. Au moins 46 000 décès surviennent en Inde seulement (Mohapatra, 2011). En Afrique subsaharienne, où la mortalité est élevée environs 7 000 à 32 000 décès par an (Chippaux, 2011), en Afrique de l'Ouest, la mortalité annuelle a été estimée entre 3 557 et 5 450 décès (Habib, 2015) (figure 1).

Les serpents sont aujourd'hui classés selon trois infra-ordres (Tableau I.1) (Gutierrez, 2017) :

- Les *Scolecophidia*, probablement les plus primitifs des serpents, sont généralement de petite taille (Gutierrez, 2017), deux familles appartiennent à cet infra-ordre : les *Leptotyphlopidae*, les *Typhlopidae* qui sont présents en Afrique (Gutierrez, 2017).
 - Les *Henophidia*, une seule famille appartiennent à cet infra-ordre c'est *Boidea* (Gutierrez, 2017).
 - Les *Caenophidia*, quatre familles appartiennent à cet infra-ordre : *Colubridae*, *Atractaspididae*, *Elapidae* et *Viperidae* (Gutierrez, 2017).
Viperalebetinae et *Cerastescerastes* sont les deux espèces les plus dangereuses en Algérie car elles sont très répandues.
- La famille des *Viperidae* et des *Elapidae*, sont les espèces les plus dangereuses en Algérie (Al-Quraishy et al, 2014) qui sont caractérisées par leur venin qui a un degré de toxicité élevé.

Le cobra égyptien, connu sous le nom scientifique *Naja haje*, appartient à la famille des *Elapidae* est une espèce venimeuse retrouvée dans le grand sud algérien et en Afrique du Nord. C'est l'espèce de serpents venimeux, de l'ordre des vipères carnivores.

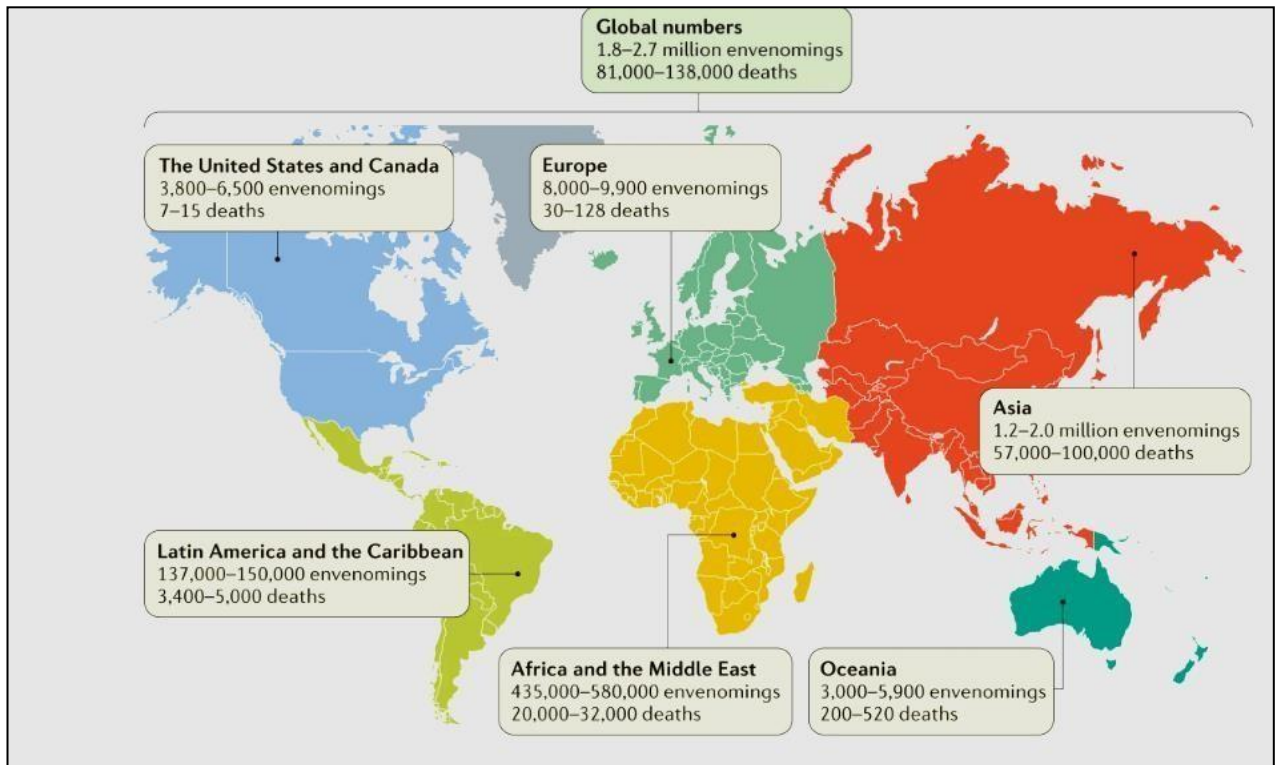


Figure 1. Estimation du taux de mortalité et du nombre de décès dus aux morsures de serpent dans le monde (Gutierrez, 2017).

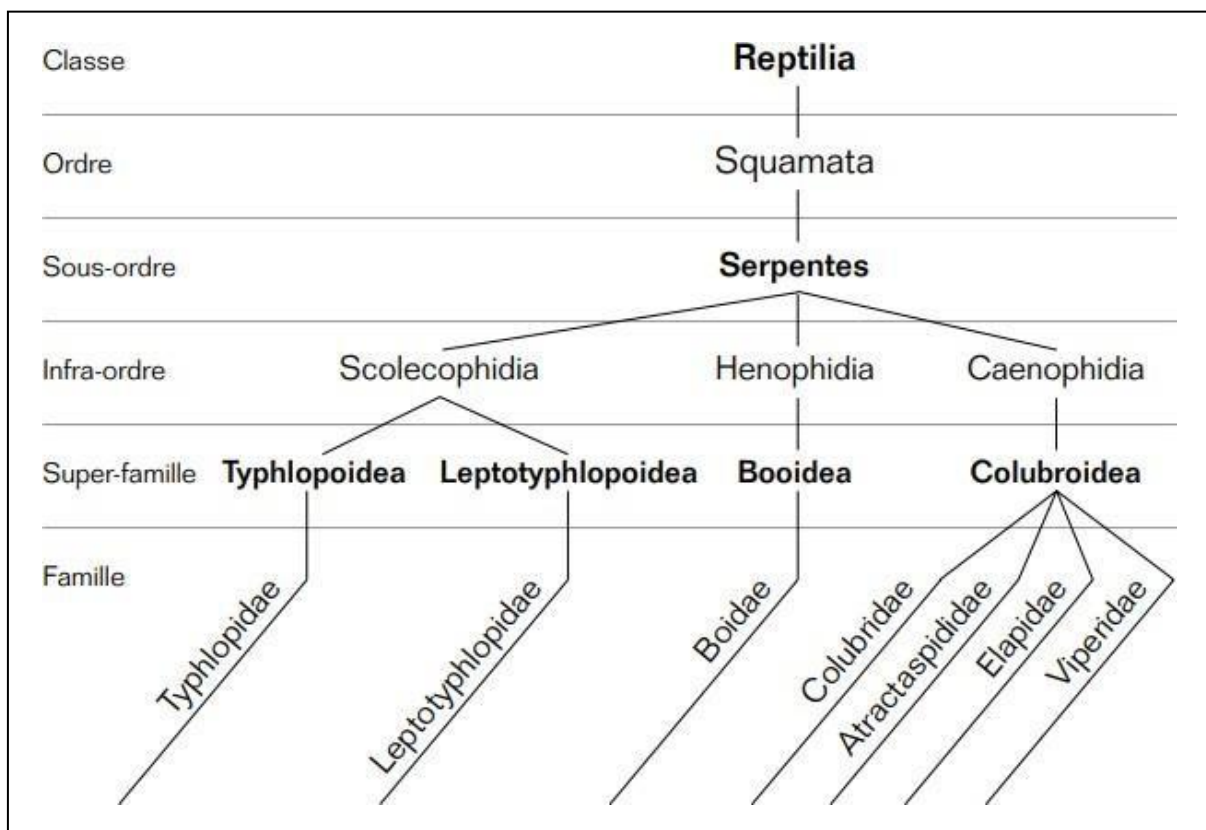


Tableau I.1. Classification des serpents africains (Chippaux, 2006).

I.2. Le serpent *Naja haje* :

Le Naja haje (N.h) à appartient à la famille des *Elapidae* (Al-Quraishy, 2014) leur origine remonterait au moins de 22 millions d'années (Chippaux, 2006) , Cette espèce connue aussi sous le nom de cobra égyptien est largement répandu dans Afrique (Broadley, 1968), mais aussi on peut le rencontrer en Algérie, Maroc, Tunisie, Lybie, Egypte et en Sénégal (Felipe-Silva-de-França,2019) qui est surtout plus dangereuse, ceci est dû à son venin hautement neurotoxique transmis aux victime par le billet de ses crochets relativement longs (8 à 10 mm) (Al-Quraishy, 2014).

Les caractéristique de ce *Naja haje* a une tête courte, le cou est marqué, le museau est arrondi, l'œil est petit avec une pupille ronde et une queue moyenne (Chippaux, 2006). Sa taille maximale est de 3 000 mm (Chippaux, 2006), les adultes mesurent en moyenne 1 500 Mm (Chippaux, 2006).

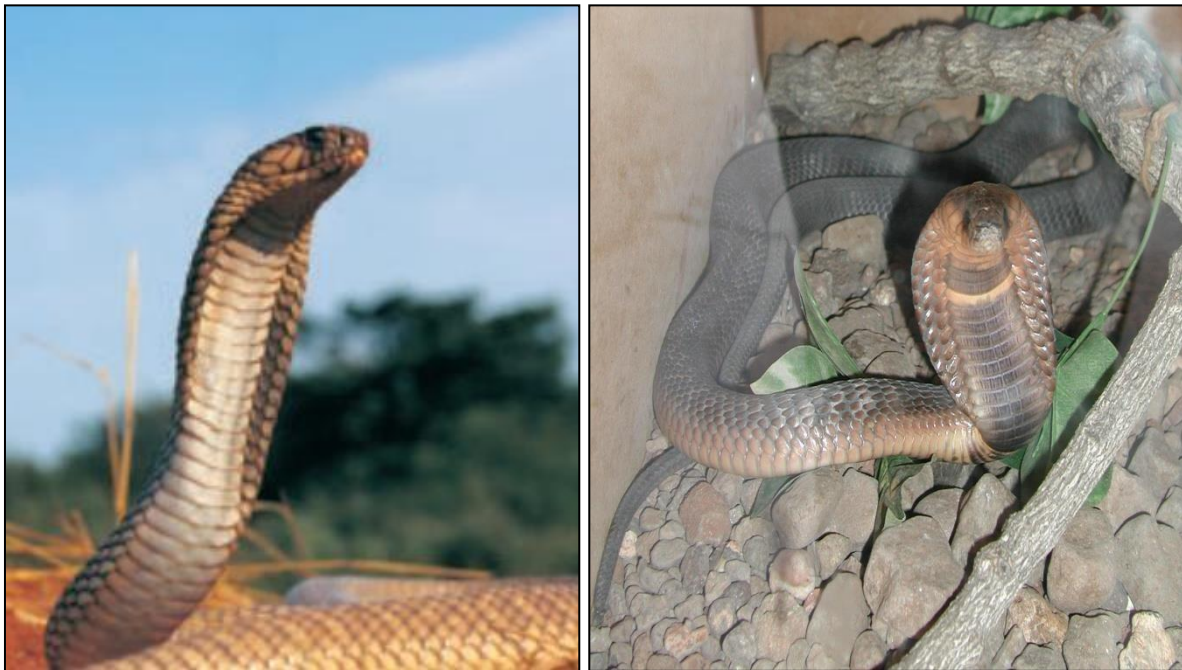


Figure 2. *Naja haje*, *Elapidae* (Chippaux, 2006).

I.3. Venin de *Naja haje*

I.3.1. La Composition du venin de *Naja haje*

Les composants de venins de serpent de *Naja haje* sont classés en deux groupes les enzymes (protéines) et les toxines (peptides) (Chippaux, 2002).

I.3.2. Les Enzymes

Les enzymes sont des protéines. Leur poids moléculaire variant de 10 à 1 000 KDa environ (Bryan et al. 2015). Certaines enzymes de venin de serpent ne sont pas immunogènes pour l'organisme receveur, leur effet toxique est dû au produit de dégradation de réaction qu'elles catalysent, dans ce cas y'aura pas de synthèse d'anticorps spécifiques et donc aucune réaction immunitaire est détectée à sons rencontre dans l'organisme (Chippaux, 2002).

Les enzymes de venin de serpent de *Naja haje* sont chrono-dépendent, elles ne dépendent pas de la quantité initiale inoculée, plus la durée de leur existence dans l'organisme envenime est longue plus le processus de catalyse est important (Chippaux, 2002).

I.3.2.1. Les phospholipases

La fonction principale des phospholipase est de faire l'hydrolyse les phospholipides libres et sous membranaires en acides gras et lysophospholipides (Chippaux, 2002). Il ya plusieurs types des phospholipases qui sont classés selon leur site d'hydrolyse. En fonction de ce dernier on peut distinguer les différents types des phospholipases : Les phospholipases A1, A2 B,C,D (van den Bergh et al, 1989). Les Phospholipases A2 sont les plus représentées dans le venin de *Naja haje* (Chippaux, 2002).

I.3.2.1.1. Le phospholipase A2 PLA² :

Les PLA² ont une structure compacte composée de 120 à 140 acides aminés, avec un poids moléculaires varié entre 13 et 14 KDa, mais une polymérisation de la molécule peut juste le poids moléculaire jusqu' à 36 KDa (Chippau, 2002 ; Ducancel et al, 2015).

La PLA² présente dans le venin de serpent de *Naja haje* est structurellement similaires aux PLA² digestive pancréatique des mammifères (Ducancel et al, 2015). Son activité toxicologique engendre une physiopathologie diverse et jouant un rôle important dans l'envenimation ophidienne (Figure 3) car ils peuvent agir dans différents systèmes physiologiques et exercer de multiple actions pharmacologiques cela en fonction du type de phospholipides hydrolysés. La PLA² (Figure 4) est caractérisée par une action neurotoxique post ou pré synaptique, elle peut aussi provoquer une réaction inflammatoire aiguë due au produits de dégradation des phospholipides. Ces derniers exercent des effets à la fois myotoxique, cardiotoxique, et des effets anticoagulants et hémolytiques (Vanessa Danielle Menjon Muller et al, 2012 ; Zouari, 2013 ; Ducancel et al, 2015; Almeida et al, 2016; Edison et al,2016).

Cette enzyme du venin de *Naja haje* est la première extraite d'un venin de serpent exprimant une activité inhibitrice de la thrombine du sang (Bryan et al, 2015).

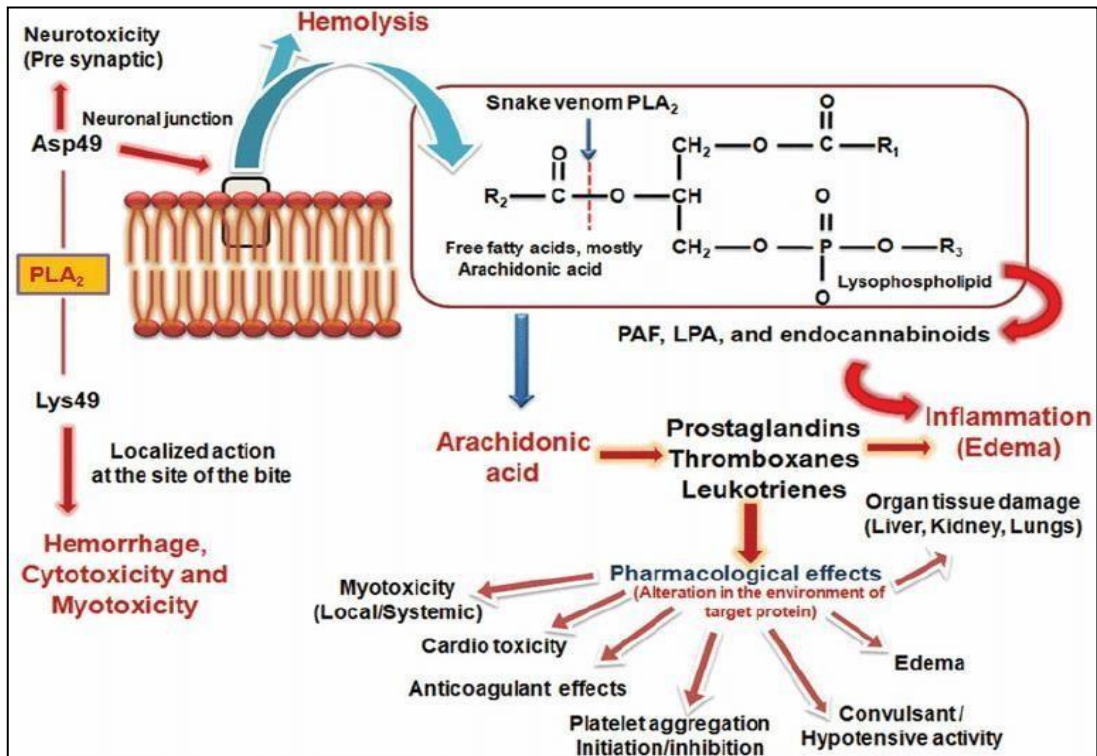


Figure 3. L'action et la voie de signalisations de PLA₂ de serpent de *Naja Haje* (Zouari, 2013)

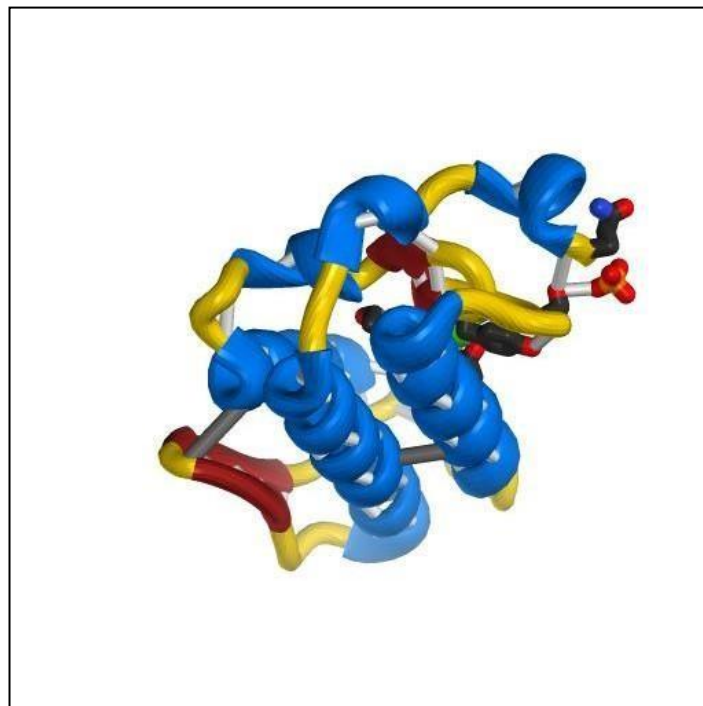


Figure 4. Structure moléculaire en 3D de la PLA₂ (Chippaux, 2002).

I.3.2.2. Les acétylcholinestérase (AChE)

Les Acétylcholinestérases sont des enzymes capables d'hydrolyser l'acétylcholine qui est le principal médiateur chimique de l'influx nerveux chez les vertébrés (Chippaux., 2002). Cette enzyme est constituée de deux monomères de 63 KDa chacun et comporte un pont disulfure. Les AChE des venins de serpents de *Naja haje* n'existent que sous forme monomérique hydrophile et soluble, sans être associées à des protéines d'ancrage ou être enchâssées dans les membranes comme c'est le cas chez les vertébrés (Cousin et *al*, 1999). Les AChE sont responsables de l'action neurotoxique complexe des venins de *Naja haje* (Chippaux, 2002).

I.3.2.3. Les protéases

Les protéases sont des enzymes qui jouent un rôle crucial dans le phénomène pharmacotoxique du venin de *Naja haje*. Elles sont responsables de nécroses en détruisant les tissus et les troubles de l'hémostase. Certaines protéases sont spécifiques qui interviennent qu'au niveau d'un seul site moléculaire qui leur est spécifique et certaines ne sont pas spécifiques (Chippaux, 2002).

Le venin de *Naja haje* comporte deux groupes de protéases, à savoir sérine-protéases de type trypsine (SVSP) et les métalo-protéases (SVMP), qui agissent sur la cascade de la coagulation.

I.3.2.3.1. A Les métalo-protéas (SVMP)

Les SVMPs appartiennent à la famille des *metzincines*. Ce sont des endopeptidases dont l'activité protéolytique est dépendante de la présence d'un ion métallique généralement un atome de zinc (Zn^{2+}). Ce sont des protéines mono ou bicaténaires, leur masse moléculaire varie de 15 à 100 KDa (Matsui et *al*, 2000 ; Chippaux, 2002 ; N. Marrakchi et *al*, 2010). Elles sont responsables des saignements, d'œdèmes, la formation de caillots sanguins, une inflammation ou des processus de nécrose tissulaire (Ducancel et *al*, 2015).

I.3.2.3.2. Les sérines-protéases (SVSP)

Les sérine-protéases (SVSP) sont des glycoprotéines dont la masse moléculaire varie de 20 à 100 KDa et plus particulièrement entre 26 et 67 KDa (Chippaux, 2002). Ils ont plusieurs effets sur les fonctions physiologiques tel que la digestion, l'activation du système de complément, la différenciation cellulaire, mais la principale fonction est d'affecter le système hémolytique (Ducancel et *al*, 2015).

I.3.3. Les Toxines :

Les toxines sont des peptides de poids moléculaire variable, mais inférieur à 30 KDa, donc plus petites que les enzymes. Elles ont la propriété de se fixer sur un récepteur spécifique, le plus souvent membranaire. Les effets des toxines peuvent être neurologiques, cardio-vasculaires ou musculaires. Ces effets peuvent être aussi indifférenciés selon la distribution anatomique des récepteurs reconnus.

L'activité des toxines dépend de la dose et le temps de l'action en plus d'autres facteurs interviennent comme la vitesse de diffusion, la taille de toxine et l'affinité de toxine pour son récepteur (Ducancel et *al*, 2015). Selon leurs fonctions elles peuvent être classées en deux grandes groupes : les toxines postsynaptiques (sans action enzymatique phospholipidique), les toxines présynaptiques bloquantes (à activité enzymatique phospholipidique) (figure 4)(S. Larréché, 2008).

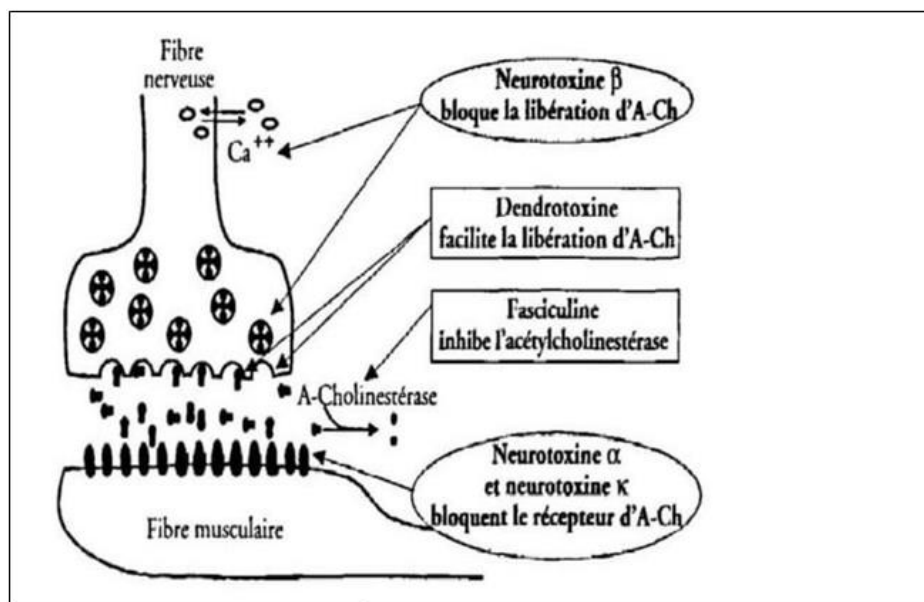


Figure 5. Les sites d'action des neurotoxines de venin de serpent de *Naja haja* (Larréché, 2008).

I.3.3.1. Neurotoxins postsynaptique (3FTx) Three-fingertoxins

Les neurotoxines post synaptique (Figure 6) agissent au niveau des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine et d'autres interagissent avec les récepteurs muscariniques couplés à la protéine G ou encore les récepteurs adrénergiques (Chippaux, 2002).

La principale fonction des toxines postsynaptiques est de bloquer la transmission de l'influx nerveux par leur liaison avec les récepteurs de l'acétylcholine sont considéré comme des antagonistes l'acétylcholine et responsable d'une paralysie flasque des muscles efférents (Chippaux, 2002).

Les toxines postsynaptiques sont composées d'une seule chaîne polypeptidique constituée de 60 à 74 acides aminés, d'un poids moléculaire moyen de 7 à 8 KDa, repliée en trois boucles. La rigidité de cette structure est assurée par 4 à 5 ponts disulfures (Chippaux, 2002).

I.3.3.2. Neurotoxines présynaptique (B-neurotoxines)

Les β -neurotoxines ont une action présynaptique qui sont caractérisés par un phénomène de transformation d'enzymes en toxines fonctionnelles au cours de ce phénomène les phospholipase A2 neurotoxique vont passer de la fonction de la dégradation vers la fonction de la reconnaissance des molécules cibles sur les membranes pré synaptiques (Larréché, 2008).

L'action de β -neurotoxine se fait sur les membranes des terminaisons axonales en 3 phases : l'inhibition puis une facilitation prolongée de la libération d'acétylcholine dans les deux premières phases , et pour la troisième phases un déclin progressif de la neurotransmission en plus une observation sous le microscope d'une déplétion induite par la β -neurotoxine des vésicules synaptiques en neurotransmetteur en promouvant leur fusion avec la membrane présynaptique et en bloquant leur relargage et à la fin on aura un paralysie des muscles respiratoires (CHIPPAUX, 2002).

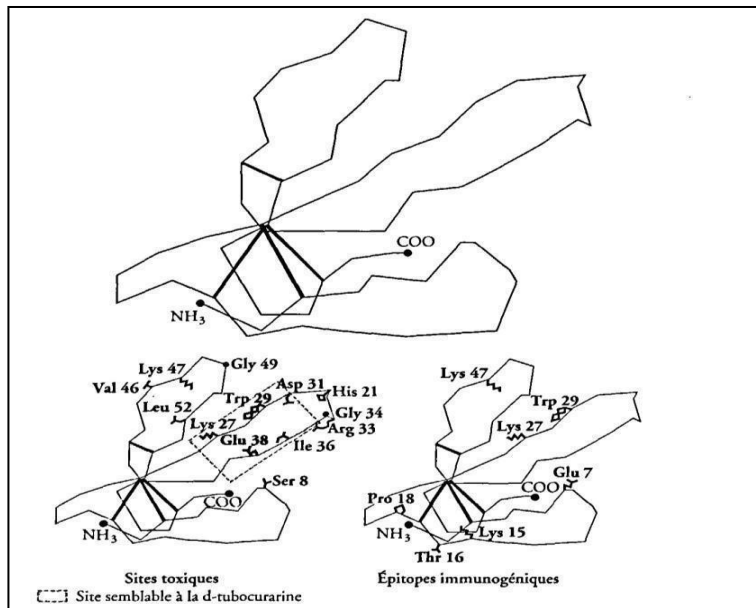


Figure 6. Structure moléculaire de la neurotoxine post synaptique (3 FTx) (Chippaux, 2002).

I.4. Symptomatologie de l'envenimation par *Naja haje*

Certaines morsures de cobras sont réputées douloureuses (Chippaux et *al*, 1977; Warrell, 2010). L'évolution vers le stade terminal peut prendre de 2 à 10 h et selon la quantité de venin injectée, le siège de la morsure et la taille de la victime.

Les venins des *élapidés* (élapidés) induisent principalement des manifestations neurotoxiques (Tohamy et *al*, 2014), ils ont en commun un venin riche en toxines (Figure 7). La morsure de cobra égyptiens peuvent induire des douleurs en général anesthésie et paresthésies, des douleurs épigastrique fréquents et importants, paralysies, asphyxie, des œdèmes rare et faibles, une rare inflammation, et peut mener à des décès (Chippaux, 2002).

Plus précisément le venin du cobra égyptien touche le système nerveux en bloquant la transmission des signaux nerveux aux muscles et à des stades ultérieurs en provoquent un paralysie, en arrêtant la transmission au cœur et aux poumons, ceci entraînant la mort en raison d'une insuffisance respiratoire complète (Gutiérrez et *al*, 2003).

Les deux composants de venin principalement responsables de ces effets sont les phospholipases A₂ (PLA₂), induit une myonécrose locale et des lésions des vaisseaux lymphatiques, tandis que les métalloprotéinases (SVMP) sont responsables d'hémorragie locale, de dégradation de la matrice extracellulaire, de cloques et de nécrose cutanée (Fox et *al*, 2005).

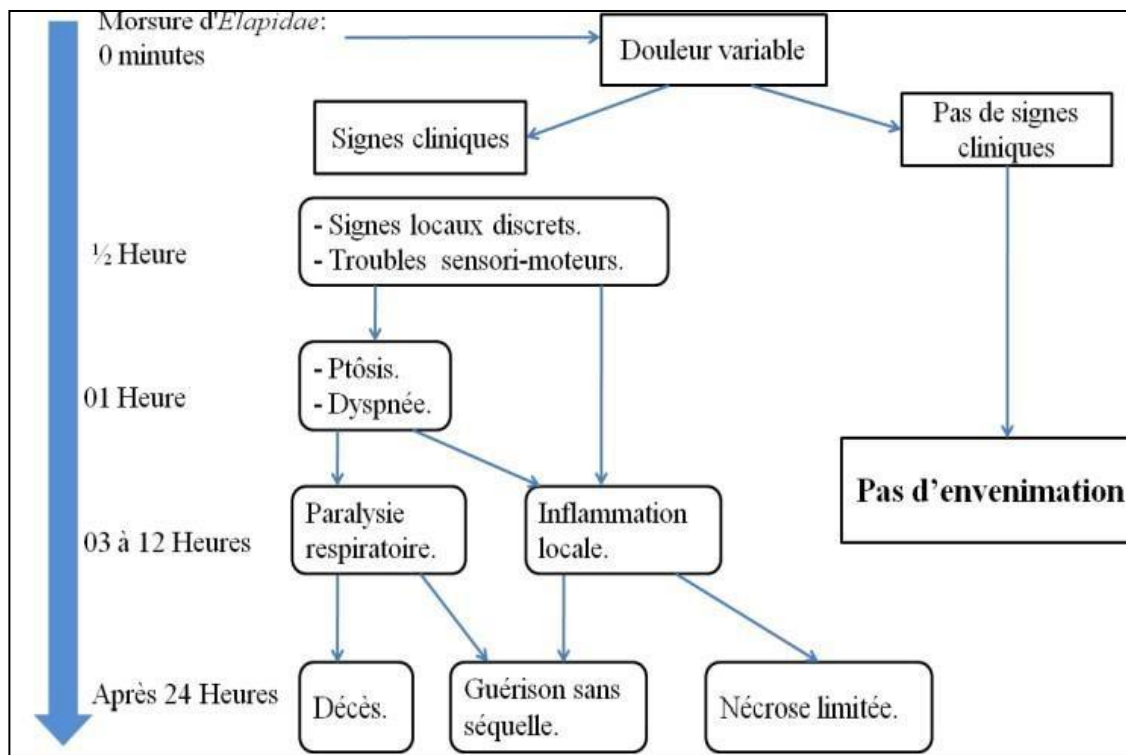


Figure 7. Chronologie d'une morsure d'*Elapidae* (cobra, mamba, naja) (Chippaux, 2002).

I.5. Traitement symptomatique :

L'envenimation par *Naja haje* est une urgence absolue. Les morsures par cette cobra peuvent entraîner un décès en parfois moins d'une heure (Currie, 2006).

Le but de premier traitement est d'atténuer les effets des toxines du venin de *Naja Haje* pour diminuer ou d'inverser les symptômes et le second est spécifique pour neutraliser les neurotoxines par des anticorps spécifiques.

C'est à ce niveau que l'indication de l'immunothérapie sera posée, si l'envenimation est confirmée cliniquement par la présence d'un œdème, de troubles neurologiques, ou biologiquement par un test de coagulation (Chippaux, 1999), une coagulation qui a été observée chez certains patients une thrombopénie isolée et d'autre coagulation intra vasculaire disséminée (Chippaux, 1982).

Les principaux traitements nécessitent des soins de soutien agressifs et parfois l'administration d'anti venin (Gold et al, 2002.), et le traitement du syndrome hémorragique ou de l'anémie sévère c'est par transfusion sanguine. L'asphyxie due à la paralysie des muscles respiratoires nécessite la respiration artificielle qui peut être prolongée plusieurs jours dans certaines envenimations cobraïques (Gold et al, 2002).

Les manifestations d'envenimation peuvent être retardées. Il est obligatoire que tous les

patients soient observés au service des urgences au moins 8 heures parce que les envenimations graves non traitées chez les enfants ou les personnes âgées peuvent entraîner la mort (Gold et *al*, 2002).

I.6. Immunothérapie antivenimeuse :

L'utilisation de l'immunothérapie est conditionnée par l'observation de signes d'envenimation (Chippaux, 2006), Le sérum doit être injecté par voie veineuse et en quantité suffisante. Les posologies dépendent uniquement de la dose de venin inoculée, donc de la symptomatologie et de son évolution.

L'immunothérapie passive, est le seul traitement étiologique des envenimations ophidiennes découverte en 1894. L'indication de l'immunothérapie prends en considération les circonstances de la morsure, le délai écoulé après la morsure, les symptômes, l'environnement médical, en particulier l'accessibilité à une unité de soins intensif (Chippaux, 1999). L'immunothérapie passive qui est basée sur l'utilisation d'anticorps produits par un animal hyperimmunisé contre du venin (Chippaux, 2010). L'acquisition d'une immunité spécifique induite chez un animal (généralement le cheval) après administration répétée de venin, puis injection des anticorps à une victime d'envenimation, pour neutraliser le venin (FELLAK et BOURAI, 2020).

Les anticorps sont fabriqués par un animal qui a été immunisé par venin en quantité croissante ou avec le venin détoxifié associé à un adjuvant qui favorise la présentation des antigènes au système immunitaire (Theakston, 1995).

Des améliorations technologiques sont apportées aux sérums thérapeutiques ceci va augmenter leur efficacité et leur tolérance. Les premiers sérums thérapeutiques utilisés contre l'envenimation ophidienne sont à base des immunoglobuline G (IgG) de masse molaire environ 150 KDa compose de deux fragments Fab (thermostables porteurs de la spécificité immunologique et un fragment Fc thermolabile agit avec le complément (Chippaux,1999). Cet IgG induit des réactions d'hypersensibilité liées aux fragments Fc provoquant un choc anaphylactique (Theakston, 1995).

Pour ne pas provoquer une réponse immunitaire il faut atténuer les effets secondaires associés à l'administration des IgG entiers ont fait une digestion enzymatique (Tableau 4) (Navarro et *al*, 2016).

Une digestion par la pepsine libère le fragment F (ab')², de masse molaire moyenne de 90 KDa et porteurs de deux sites de fixation de l'antigène, comme l'immunoglobuline native.

Un traitement par la papaïne sépare le fragment Fc des fragments Fab individualisés, de masse molaire moyenne de 50 KDa (Chippaux, 1999) (figure 14).

La stabilité des F (ab')² favorise la formation du complexe immunitaire et la destruction de ce dernier par les cellules immunocompétentes, ce qui les fait généralement préférés aux Fab, qui sont rapidement éliminés par les reins à cause de leur petite taille (50 KDa) (Fellak et Bourai, 2020).

Plusieurs inconvénients majeurs de la production d'anticorps chez les mammifères impliquent des procédures qui provoquent de la douleur et de la détresse chez les mammifères. En effet l'utilisation d'anticorps de jaune d'œuf IgY représente une alternative qui peut remplacer la production conventionnelle d'anti venin (Navarro et al, 2016), la comparaison entre IgY e IgG

Tableau I.2

Tableau I.2. Comparaison entre IgY et IgG (Fellak et Bourai, 2020).

	IgY	IgG
	Oiseaux, reptiles, amphibiens et poissons-poumons	Les mammifères
La source	Sérum et œufs	Sérum
Le poids moléculaire	180	150

Partiel

Caractérisation Physico-chimique et toxicologique du venin du *Naja haja*

II. Matériels et méthodes

Matériels

Matériel biologique :

a. Le venin du cobra *Naja haja* :

Le venin est extrait à partir des glandes salivaires du cobra provenant du parc national de l'élevage des reptiles de Ghardaïa.

Le venin brut de l'espèce NH est approvisionné par l'Institut Pasteur d'Algérie dans le cadre de la recherche au niveau du laboratoire LRD, à réception le venin est centrifugé à 3000 tr/min afin d'éliminer les débris cellulaires. Le surnageant recueillie est lyophilisé et conservé à une température de -20°C.

b. Souris :

Les souris sont issues de la souche BALB/c femelles d'un poids moyen de 20 g (± 2 g), provenant de l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Algérie ; l'élevage se fait dans des conditions particulières sous un contrôle régulier (Figure 8).



Figure 8. Modèle de souris BALB/c.

Matériel non biologique :

- a- **Instruments** : dispositif d'électrophorèse (VWR 700-0955), Plaques en verre, Espaceurs avec un diamètre de 0,5 mm, Peigne avec un diamètre de 0,5mm, Générateur de courant VWR, balance de précision, agitateur, micropipettes, pipette, pro pipettes, micro tubes à centrifugation (ISOLAB), erlenmeyer, pH mètre (OHAUS), seringue, ultracentrifugeuse (DOMEL 260R), lame en verre (MARIENFELD), Bain marie de laboratoire (MEMMERT).
- b- **Réactifs chimiques** : Acrylamide, Bisacrylamide, Sodium dodecyl sulfate (SDS), Persulfate d'ammonium (APS), tétraméthyléthylènediamine (TEMED), β -mercaptoéthanol(C_2H_6OS)5%, TrisHCl (Trishydroxyméthylaminométhane, hydrochloride), isobutanol, NaCl, Bleu de Coomassie (Brilliant blue) G-250, Acide acétique, Méthanol, glycérol, bleu de bromophénol.

Méthodes :

Electrophorèse verticale sur gel polyacrylamide (SDS-PAGE)

Principe

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de Dodecyl Sulfate de Sodium (SDS-PAGE) est une méthode permettant la séparation des constituants d'un mélange protéique sous l'action d'un champ électrique. La séparation des protéines s'effectue par électrophorèse verticale sur gel de polyacrylamide en présence de Dodecyl sulfate de sodium (SDS = $C_{12}H_{25}NaO_4S$) qui rend la charge globale des protéines négative. Ainsi, les protéines sont séparées uniquement selon leur masse moléculaire. La détermination du poids moléculaires (PM) se fait à l'aide des marqueurs de poids moléculaire.

Le gel d'électrophorèse est composé de deux gels superposés :

- Un gel de concentration (Stacking gel), c'est la partie supérieure du gel, qui est généralement concentrée de 5-4 % d'acrylamide avec un pH se situant vers 6,8.
- Un gel de migration (Running gel) c'est le gel où va s'effectuer la séparation des molécules en fonction du PM. Son pH se situe vers 8,8 et sa concentration en acrylamide est de l'ordre de 10 à 20 %, en fonction de la taille des protéines à analyser.

Protocol expérimental

- a. Première étape :** C'est la préparation du gel de séparation à 15% qui consiste à mélanger soigneusement 5,7 ml d'eau distillée ; 12,5 ml d'acrylamide ; 6,3 ml de Tris- HCL (Tris hydrochloride) pH=8,8 et 250 µl de SDS 10% (figure 13). Puis l'ajout de 250 µl de persulfate d'ammonium 10% ((NH₄)₂S₂O₈) et 10 µl de TEMED. Après agitation, verser directement le gel dans la chambre de migrations. Cette préparation est ensuite recouverte par l'isobutanol saturé afin d'éviter toute contamination. Une réaction de polymérisation aura lieu à température ambiante conduisant à la formation du gel de séparation. Une fois la polymérisation terminée environ 30 min, l'isobutanol est éliminé et la surface supérieure du gel est rincée plusieurs fois pour éliminer toute trace de l'isobutanol.
- b. Deuxième étape :** la préparation du gel d'etassement a 4% consiste à mélanger 6,1 ml d'eau distillée ; 1,33 ml d'acrylamide ; 2,5 ml de Tris-HCL pH=8,8 et 100 µl de SDS 10%. On rajoute 100µl d'APS 10% et 10µl de TEMED. On procède à une agitation, puis on verse le mélange visqueux sur le gel de préparation (dans le moule, de l'étape 1) jusqu'à atteindre le haut de la petite plaque en évitant la formation de bulles d'air et tout en laissant une distance de 1 cm afin d'introduire le peigne. Après cela, on pose immédiatement le peigne sur le mélange visqueux (gel de tassement). Une fois la polymérisation terminée (1h environ, à température ambiante) on retire le peigne avec précaution. (Figure 9)
- c. Troisième étape :** c'est la migration des protéines du venin NH sur gel. 20µl du venin sont agitée dans un microtube avec 20µl du tampon réducteur contenant le bêta-mercaptoéthanol. Par la suite Le mélange est introduit dans un bain marie pendant 4 minutes à 95°C. Entre temps, on remplit la Chambre d'électrophorèse par le tampon de migration (une solution SDS + Tri-HCL) à pH= 8,33. On récupère le mélange (venin/bêta mercaptoéthanol) puis on en verse 20 µL du mélange dans chaque puits à l'aide d'une micropipette. Enfin, on couvre la cellule par le couvercle de la chambre d'électrophorèse et on la raccorde au générateur électrique et ajuster à 200 Volts (figure 10). Après 160 minutes (à la fin de la migration), on récupère délicatement le gel d'électrophorèse après avoir éliminé le tampon présent dans le compartiment interne

(figure 11).

- d. Quatrième étape :** c'est la détection des protéines dans le gel. Le gel ainsi récupéré est soigneusement lavé par de l'eau distillée puis placé dans une solution de coloration « bleu Coomassie » contenant : 4g de bleu de Coomassie dissoute dans 100 ml d'acide acétique et 400 ml de méthanol et ajuster à 1L par de l'eau distillée. Le gel est maintenu dans la solution de coloration pendant 30 min. Une fois coloré, le gel est trempé dans une solution décolorante contenant : 100 ml d'acide acétique et 400 ml de méthanol, Jusqu'à ce que les bandes protéiques colorées apparaissent nettement sur un fond clair. (Figure 12)



Figure 9. Coulage de gel.

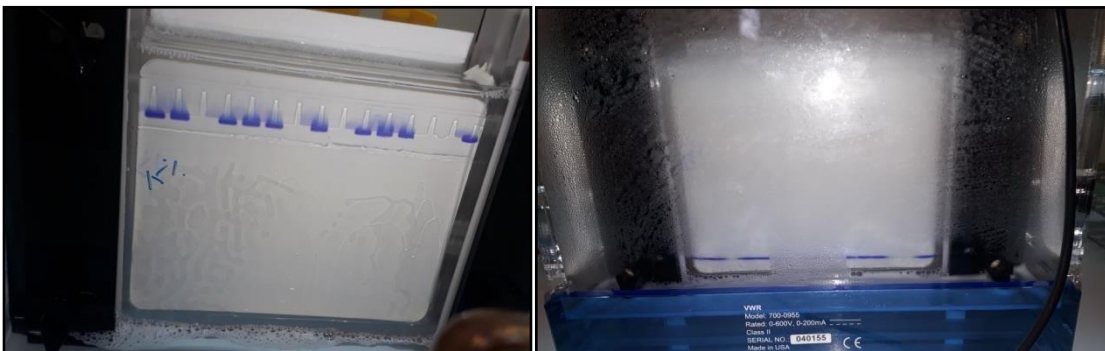


Figure 10. Migration électrophorétique.

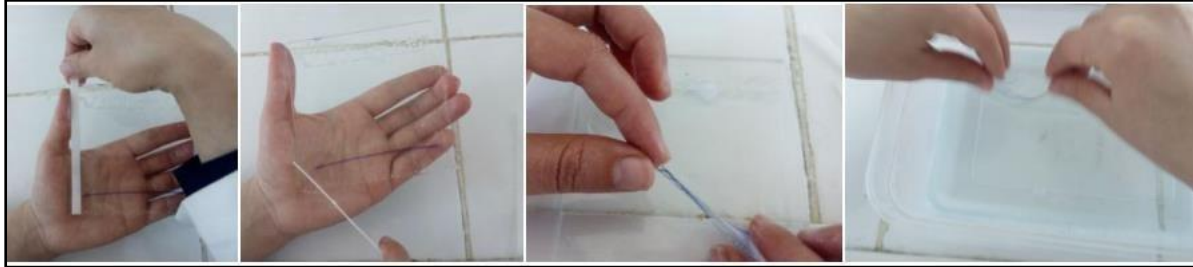


Figure 11. Lavage et renaturation du gel.



Figure 12. Coloration et décoloration du gel.

II. 2.2. Détermination de la dose létale de *Naja haje* (DL50)

Principe

L'activité de venin a été déterminée en calculant la Dose létale 50 (DL50) selon la méthode Spearman Karber et ceci conformément aux recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 1981).

La DL50 est la dose qui tue 50% d'une population homogène de souris BALB/C. On injecte des doses croissantes du venin et la mortalité est enregistrée après 48 heures. La voie d'injection utilisée est la voie intraveineuse.

Protocole expérimental

Première étape : on fait la dilution du venin au 1/10 et on prépare neuf paliers.

Deuxième étape : on injecte un volume de 200 µl de chaque solution de venin NH à cinq (5) souris par des doses croissantes (Tableau II.1) et on surveille le pourcentage de mortalité (de 0 à 100%).

-Voie d'administration : intraveineuses (IV) au niveau de la veine caudale (figure13).

-Durée d'observation : 48 heures

Tableau II.1. Répartition des doses du venin NH par groupe de souris

Groupe(5souris)	Volume Total(μL)	Dose(μg)
G1	1000	1,26
G2	1000	1,57
G3	1000	1,96
G4	1000	2,457
G5	1000	3,072
G6	1000	3,87
G7	1000	4,80
G8	1000	6
G9	1000	7,50



Figure 13. Injection des souris par du venin NH par voie intraveineuses (IV)

Partie 2

Activité Hémolytique du venin du *Naja haje*

II.2.3. Test de la dose minimale hémolytique :

Principe

Est un test réalisé *in vitro* sur des érythrocytes issus du sang frais de souris, en faisant réagir les différentes doses du venin NH on aura une lyse cellulaire de ces globules rouges, de ce fait la dose du venin à partir de laquelle il y aura une hémolyse représente la dose minimale hémolytique.

Protocole expérimental

Pour pouvoir déterminer la dose minimale hémolytique on a réalisé ce test hémolytique pour cela on s'est basée sur le protocole de (Chi-Chiu Lee et *al*, 2013) ainsi, pour la préparation de la gamme des différentes doses décroissantes du venin NH, on a pris en considération la dose initiale relative à l'effet hémorragique du venin NH sur les souris et ceci a été décelé lors du test de la DL50 déjà à l'état macroscopique à une dose se situant dans l'intervalle suivant (9 µg/200 µl , 8 µg/200 µl et 7 µg/200 µl) et aussi confirmé par l'étude histo- pathologique réalisée au sein du LRD-IPA.

a. Première étape :

On a procédé à la numérotation de chaque tube de 1 jusqu'à 6 ainsi les lames en verre de 1-6.

b. Deuxième étape :

Mettre dans chaque tube 50 µl d'eau physiologique.

c. Troisième étape :

Préparation des différentes concentrations du venin de *Naja haje* pour un volume final de 50µl.

Tableau II-2- doses du venin NH relatives au test hémolytique

<i>N° Tube</i>	<i>Dose venin (µg/50µl)</i>
<i>1</i>	<i>10</i>
<i>2</i>	<i>5</i>
<i>3</i>	<i>1.25</i>
<i>4</i>	<i>0.62</i>
<i>5</i>	<i>0.31</i>
<i>6</i>	<i>0.15</i>

d. Quatrième étape

Mettre dans tous les tubes 50 µl de sang frais de souris, puis introduire le mélange dans l'étuve pendant 20 minutes à 37°C.

e. Cinquième étape

Procéder à un frottis sanguin en étalant une goutte du mélange de chaque tube entre lame et lamelle afin de visualiser la lyse des érythrocytes sur le microscope optique au G40. (Figure 14).

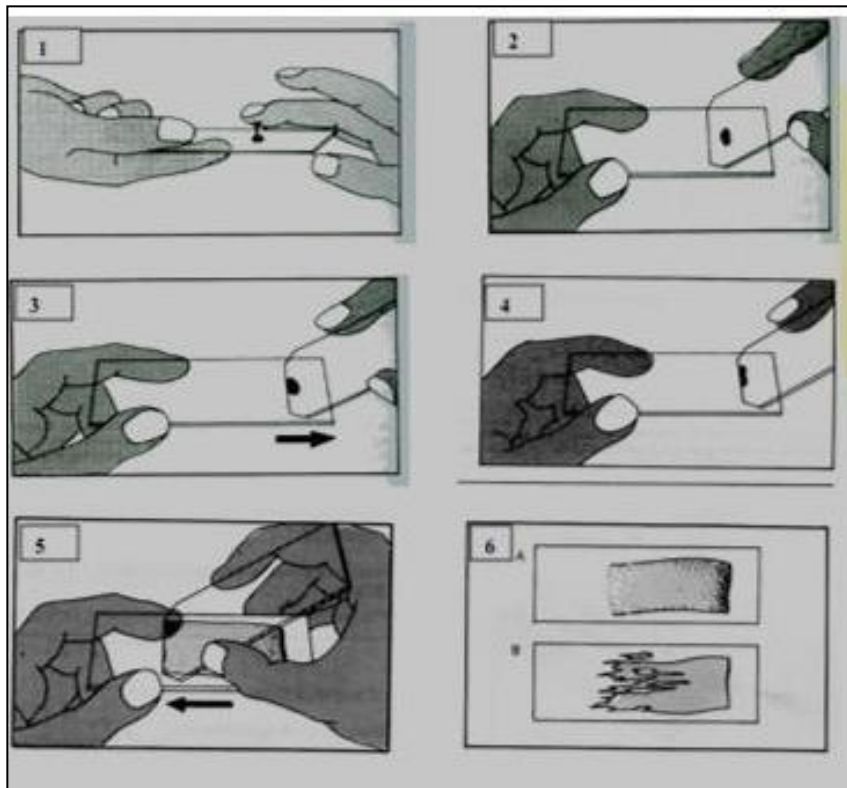


Figure 14. La réalisation du frottis sanguin.

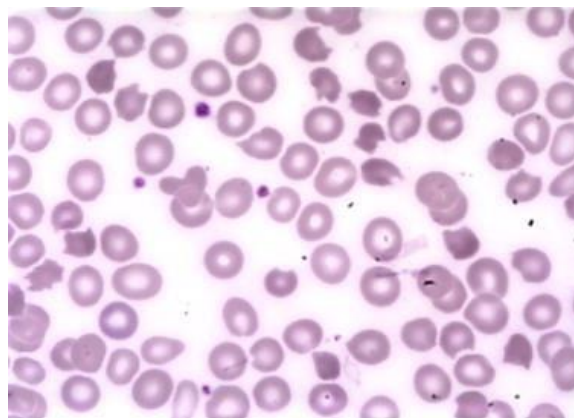


Figure 14'. Hémolyse des érythrocytes par le venin NH

Résultats et Discussion

Révélation des différentes fractions protéiques du venin de *Naja haja* :

Résultats de la séparation des protéines par la technique SDS-PAGE :

L'analyse électrophorétique sur gel de polyacrylamide en présence de SDS dans les conditions réductrices, a montré que le venin de l'espèce ophidienne Algérienne (NH) est constitué d'un mélange complexe de protéines qui est très riche en enzymes et en toxines et ceci selon les différentes bandes obtenues sur le gel.

Ainsi, l'analyse protéomique du venin NH sur le gel 12% a révélé plus de bandes en comparaison au gel 15% ceci est dû au type de maillage du gel polyacrylamide donc plus les pores sont petits plus les protéines de bas poids moléculaire seront mieux retenues et de ce fait mieux séparées ceci est nettement visible sur la (figure 17) les toxines du venin NH de très faible PM sont mieux séparées sur le gel 15% que sur le gel 12% tandis que pour les enzymes de haut PM on voit bien que la séparation est visiblement meilleure sur le gel 12% et 10% (figure 15) et (figure 16).

Selon les marqueurs de Poids Moléculaire, on distingue douze bandes relatives au venin NH, les bandes bleues correspondent aux différentes protéines de PM variables, à 150 KDa, 116 KDa, 97 KDa, 75 KDa, 65KDa, 55KDa, 47KDa, 28KDa, 20 KDa, 14KDa, 11KDa, 6.5KDa.

De ce fait, de 150KDa à 20 KDa représentent les composants du venin en aminopéptides, mucoprotéines et enzymes. Alors qu'à partir de 14KDa jusqu'à 6.5KDa se sont les cardiotoxines, les neurotoxines ainsi que les cytotoxines.

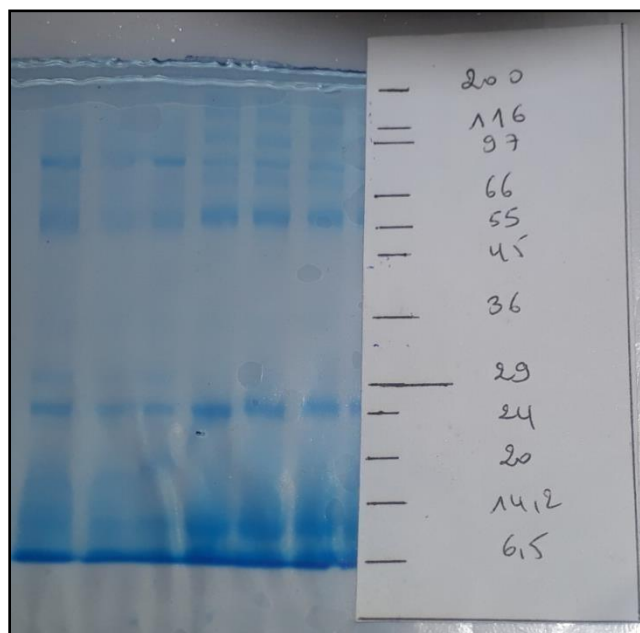


Figure 15. Résultats de la séparation des protéines par électrophorèse dénaturante (SDS PAGE) colorée au bleu de Coomassi avec un gel de séparations à 12%.

Tableau III.1. Les différentes fractions protéiniques dans les gels de séparation

Poids moléculaire (KDa)		
Gel de séparation à 15%	Gel de séparation à 10%	Gel de séparation à 12%
6-8	8-12	6.5 - 8
10-13	14-16	20-10
14.2-20	/	25-29
20-55	33-34	40-50
/	55-60	55-70
70-85	/	75-85
/	/	90-97
/	97-100	97-100
120-112	/	120-112
/	200-100	200-100

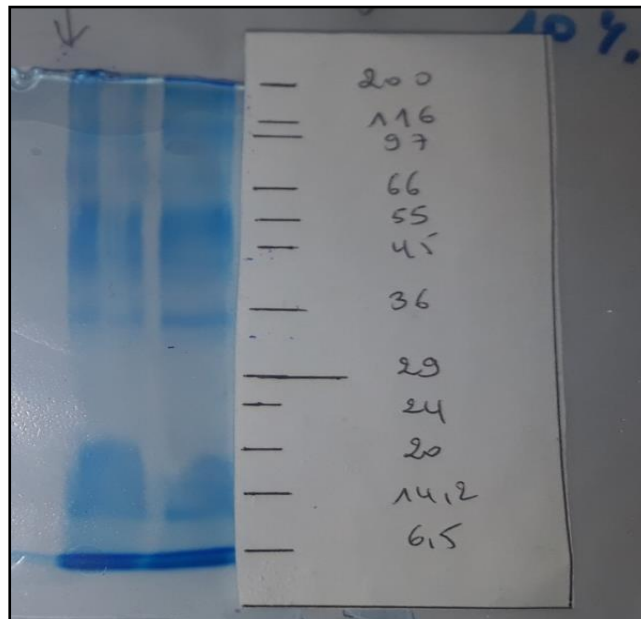


Figure16. Résultats de la séparation des protéines par électrophorèse dénaturante (SDS PAGE) coloré au bleu de Coomassi avec un gel de séparations à 10%.

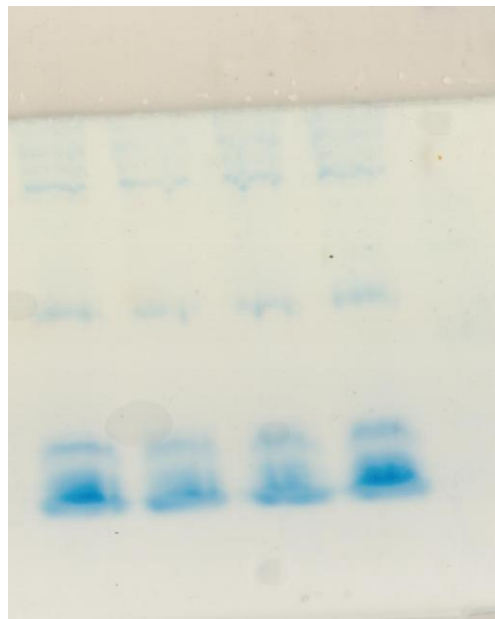


Figure17.Résultats de la séparation des protéines par électrophorèse dénaturante (SDS PAGE) coloré au bleu de Coomassi avec un gel de séparations à 15%.

Résultats de la dose létale (DL₅₀) de *Naja haje*

Toxicité du venin :

Selon la méthode de calcul (Spearman Karber) décrite dans le Protocole OMS, la dose létale du venin de *Naja haje* est estimée à **2,59**µg /Souris.

Tableau III.2. Résultats de la DL₅₀

Groupe	Dose (/200 µl)	Résultats
G1	1,26 µg	Survie des cinq souris (5/5)
G2	1,57 µg	Survies des cinq souris (5/5)
G3	1,96 µg	Survie des cinq souris (5/5)
G4	2,457µg	Mort d'une seule souris (4/5) Survie des quatre souris
G5	3,072 µg	Mort de 04 souris. Survie d'01 seule souris. (1/5)
G6	3,87 µg	Mort de toutes les souris. (0/5)
G7	4,80 µg	Mort de toutes les souris. (0/5)
G8	6,00 µg	Mort de toutes les souris. (0/5)
G9	7,50 µg	Mort de toutes les souris. (0/5)

Résultats du test d'hémolyse :

Les résultats du test d'hémolyse sont présentés dans un tableau (Tableau III.5) et sous forme de graphe (Figure 17). La dose minimale d'hémolyse est estimée à 0.15 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

Tableau III.3. Les résultats de test hémolytique.

Concentration du venin ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Pourcentage d'hémolyse
10	100%
5	100%
1.25	40%
0.625	25%
0.31	25%
0.15	10%

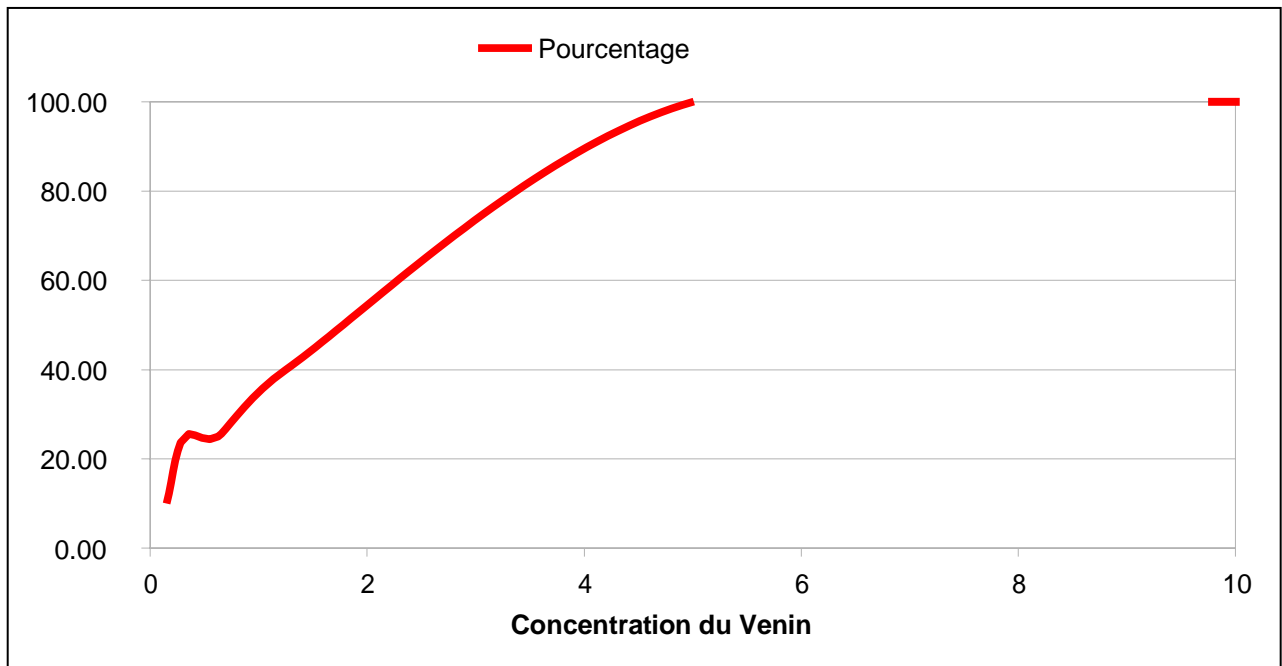


Figure 18. Le graphe des résultats du test d'hémolyse.

Discussions :

Le venin de serpents de *Naja haje* est très toxique la rendant de ce fait l'une des espèces les plus dangereuses en Algérie. Avec une dose létale de 2,59 µg/souris, ce mélange si complexe est constitué principalement de protéines ayant des activités enzymatiques et des peptides qui représentent 90 à 95 % du poids sec du venin à effet toxique. Le venin NH contient des cations inorganiques tels que le sodium, le calcium, le potassium, le magnésium et de petites quantités de zinc, nickel, cobalt, fer, manganèse. Le calcium est nécessaire à l'activation d'enzymes comme la phospholipase. Certains venins de serpents aussi contiennent des glucides, des lipides, des amines biogènes et des acides aminés libres acides (Vieira Santos et al., 2008).

Trois auteurs ont indiqué que des doses sublétales de *Naja haje* peuvent induire une altération physiopathologique du cœur, du foie, des reins et cerveau de rats (El-Fiky, 1999 ; Imam et Rahmy, 2001) et les changements pathologiques comprenaient des degrés sévères de dommages cellulaires concomitants avec des signes marqués de nécrose myolytique et coagulante (Rahmy et Hemmaid, 2000).

Dans la présente étude, nous avons étudié les caractéristiques du venin de cobra en utilisant différentes techniques. Les premiers travaux sur le venin de *Naja haje* ont montré que le venin présente des différences dans le profil chromatographique et électrophorétique par rapport aux autres élapidés et vipéridés (Fletcher et al, 1981).

Dans cette étude nous avons fait la détection des protéines dans le venin de *Naja haje* par la SDS-Page, les résultats ont montré que le venin de cobra est composé d'un mélange des protéines qui sont marquées par différentes bandes.

Les études réalisées par (J. Estévez et al, 2007) ont montré que les composants du venin de Cobra ont une activité d'hydrolyse du fibrinogène et les protéines responsables de cette activité ont un poids moléculaire variant de 50 à 100 KDa ce qui correspond aux masses moléculaires des métalloprotéases.

Les travaux de **Camila et al (2019)** sur la PLA2 du venin de serpent ont permis de l'isoler et montrer que leur poids moléculaire varie entre 14 à 15 KDa ceci signifie que la protéine de 14 KDa est identique à celle de nos résultats c'est la PLA2, et ils ont montré que l'activité des PLA2 augmente en présence des ions de Ca²⁺. Ainsi qu'elles exercent de forts effets myotoxiques qui conduisent souvent à une nécrose sévère, en plus que

La PLA2 bloque la transmission neuromusculaire et intensifie l'hémorragie en inhibant la coagulation.

Ainsi que les travaux de **Utkin et al (2013)** sur les toxines à trois doigts et leur structure qui en utilisant la technique de chromatographie échangeuse d'ions sur résine synthétique Bio- Rex ont démontré que 3FTx est composé de 65 à 75 acides aminés donc cette toxine appartient à la famille des peptides à faible poids moléculaire. Ceci permet de confirmer que les résultats de la SDS-Page dont le poids moléculaire varié entre 7 à 8 KDa représente la toxine 3FTx. Pour détecter leur rôle les chercheurs ont confirmé les interactions de cette toxine avec les récepteurs d'acétylcholine en bloquant la transmission de l'influx nerveux.

Dans la présente étude, nous nous sommes concentrées sur la détection *in vitro* de la dose minimale hémolytique du venin de cobra Algérien de l'espèce *Naja haja*. Il y a trente ans, **kellaWay et williams** (1933) soulignaient l'importance de trouver une méthode pour évaluer l'activité hémolytique du venin de serpent en termes quantitatifs généraux, bien qu'ils aient observé que ce n'était pas une tâche facile en raison de la complexité des éléments impliqués dans la réaction **Collier et al** (1943, 1944, 1945) ont déterminé l'évolution temporelle de l'hémolyse du venin qui peut être affectée par divers facteurs. Les résultats démontrent que les érythrocytes de diverses espèces ont une sensibilité différente à l'action lytique de venin (KYFs, 1910). Nos résultats ont montré que le venin de *Naja haja* présente une forte activité hémolytique, car la dose minimale d'hémolyse est estimée à 0.15 µg/µl.

Conclusion

L'étude réalisée a pour objectif, la caractérisation du venin et ceci par le biais de l'identification des enzymes et des toxines constituant le venin du cobra Algérien *Naja haja* ; en se basant sur des techniques de pointe telle que la SDS-page, qui nous a permis d'abord et déjà de séparer selon le poids moléculaire les différentes fractions protéiques de ce venin et de part sa complexité il existe d'autres techniques non abordées dans ce mémoire mais qui sont de même amplement intéressantes dans ce domaine comme la size exclusion chromatographie, la RP-HPLC, LCMSMS, ESI, RMN et autres.

Eventuellement, on a pu identifier et quantifier la toxicité du venin de *Naja haja* expérimentalement on se basant sur le test de toxicité chez les souris BALB-c (2,59 µg). À partir de ce résultat, on peut développer un sérum anti-venin efficace contre les envenimations ophidiennes et qui est à ce jour non produit par l'IPA et quasi absent sur le marché pharmaceutique. Ainsi et sans oublier l'effet hémorragique si fort de ce venin qu'on a pu déterminer par le test de l'activité minimale hémolytique du venin NH (0.15 µg/µl). Ceci peut être au futur une source de production d'une nouvelle molécule anticoagulante.

Pour enrichir cette étude, on peut réaliser :

- La technique de filtration sur le gel Sephadex-G50 pour la séparation des composants du venin.
- Le test de zymographie pour détecter l'activité enzymatique du venin.
- Le test de western blots pour caractériser et identifier le rôle de chaque protéine.

Références bibliographiques

- ❖ Abib, H., Laraba-Djebari, F. Effects Of ⁶⁰Co Gamma Radiation On Toxicity, Hemorrhagic, Myonecrotic And Edema-Forming Activities Of Cerastes Venom. *Can.J. Physiol. Pharm.*, 2003, 81 : 1125–1130.
- ❖ Abu Sinna G., Al-Zahaby A., Abd El-Aal A., Abd El-Baset A., Sabre T. Effets A Court Terme Des Venins D'animaux Sur L'indice Mitotique De La Muqueuse Duodénale De Rats Albinos. *Nat. Les Toxines.* , 1992, 1, 111-8.
- ❖ Almeida. J., Rescende. L., Silva. A., Ribeiro.R., Soares. A., Calderon. L., Marangoni. S., Da Silva. S. Biochemical And Functional Studies Of Coltx-I, A New Myotoxic Phospholipase A2 Isolated From *Crotalus Oreganus Lutosus* (Great Basin Rattlesnake) Snake Venom, *Toxicon*, 2016, 117 : 1-12 .
- ❖ Al-Quraishy, S., Dkhil, M.A., Abdel Moneim, A. Hepatotoxicity And Oxidative Stress Induced By Najahaje Crude Venom. *J. Venom. Anim. Toxins Trop. Dis.*, 2014, 20 : 42. <https://doi.org/10.1186/1678-9199-20-42>.
- ❖ Barry, S.G., Facpa, M.D., Robert A.B., Face, P.B., Richard C.D. North American Snake Envenomation: Diagnosis, Treatment, And Management, 2004, 22 : 423–443.
- ❖ Blanchet, G., Chippaux, J.-P., Chirio, L., Ducancel, F., Goyffon, M., Rollard, C., Vidal, N. *La Fonction Venimeuse*, Paris: Lavoisier, 2015, Pp. 275-353.
- ❖ Broadley, D. G., 1968. A Review Of The African Cobras Of The Genus *Naja* (Serpentes: Elapidae). *Arnoldia (Rhodesia)*, 3, No. 29, 1-14.
- ❖ Brown, E., Biellmann, F.G. Généralités Sur Les Enzymes Catalyse Enzymatique, 10 Juin 1992.
- ❖ Butler, J., Honey, B.M., Swallow, A.J. Radiation Chemistry. *Ann. Rept. Prog. Chem. Pt. C*, 1987, 83 : 129–175.
- ❖ Calmette A. L'immunisation Artificielle Des Animaux Contre Le Venin Des Serpents, Et La Thérapeutique Expérimentale Des Morsures Venimeuses, 1894, 46 : 120-124.

- ❖ Camila Ferraz, R., Arif, A., Chunfang, X., Nicholas Casewell, R., Richard Lewis, J., Jeroen, K., Fernanda Cardoso, C. Multifunctional Toxins In Snake Venoms And Therapeutic Implications: From Pain To Hemorrhage And Necrosis, 2019. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00218>.
- ❖ Chi-chiu, L., Wann-sheng, T., Hernyi, J.H., Deng-fwu, H. Hemolytic activity of venom from crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci* spines., 2013, 19 :22.
- ❖ Chippaux J.P., Complications Locales Des Morsures De Serpents, *Méd. Trop.* 42 (1982) 177-183.
- ❖ Chippaux J.-P., Coutois B., Roumet D., Eyebiyi R., Envenimation Par Morsure De Mamba (*Dendroaspis viridis*) : A Propos D'une Envenimation A Evolution Favorable, *Méd Trop* 37 (1977) 545-549.
- ❖ Chippaux J.-P., Goyffon M. — Venoms, Antivenoms And Immunotherapy. *Toxicon*, 1998, 36, 823-846.
- ❖ Chippaux J.-P., Nguessan G., Paris F.-X., Rolland G., Kébé M., Spitting Cobra (*Naja nigricollis*) Bite, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 72 (1978) 106.
- ❖ Chippaux, J.-P. Place De L'immunothérapie Dans Le Traitement Actuel Des Envenimations Ophidiennes. *Bull. Académie Natl. Médecine*, 2013, 197 : 993–1008. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)31542-0](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)31542-0).
- ❖ Chippaux, J.-P., 1999. L'envenimation Ophidienne En Afrique: Epidémiologie, Clinique Et Traitement. *Annales De l'Institut Pasteur / Actualités*, 10(2), 161–171. [doi:10.1016/S0924-4204\(99\)80031-6](https://doi.org/10.1016/S0924-4204(99)80031-6).
- ❖ Chippaux, J.-P., 2002. *Venins De Serpent Et Envenimations*. IRD Editions, Paris.
- ❖ Chippaux, J.-P., 2006. *Les Serpents d'Afrique Occidentale Et Centrale*. IRD Ed., Paris.
- ❖ Chippaux, J.-P., 2006. *Venins De Serpent Et Envenimations*., (2002) 216-248. DOI : [10.4000/books.irdeditions.10612](https://doi.org/10.4000/books.irdeditions.10612)
- ❖ Chippaux, J.-P., 2010. *Immunothérapie D'urgence : Antivenins De Serpent Et De*

Scorpion. *Biologie Aujourd'hui*, 204(1), 61–70. Doi:10.1051/Jbio/2009042

- ❖ Chippaux, J.-P., 2011. Estimation Du Fardeau Des Morsures De Serpent En Afrique Subsaharienne: Une Approche Méta-Analytique. *Toxicon* 57 , 586-599 .
- ❖ Chippaux, JP Snake-Bites: Bilan De La Situation Mondiale. *Taureau. Organe Mondial De La Santé .*, 1998 , 76 , 515–524.
- ❖ COLLIER, H.B. Factors Affecting The Hemolytic Action Of "Lysolecithin" Upon Rabbit Erythrocytes . *J. Gen. Physiol*, 1952, 35 : 617.
- ❖ COLLIER, H.B., WILBUR, K.M. And HALIFAX, N. S., Lysolecithin And The Hemolytic Value Of Blood. *J. Lab. Clin. Med*, 1944, 29 : 1123.
- ❖ Cousin, X., Bon, C. Acetylcholinesterase From Snake Venom As A Model For Its Nerve And Muscle Counterpart., 1999, 8 (2): 285-94.
- ❖ Currie, B.J. Treatment Of Snakebite In Australia: The Current Evidence Base And Questions Requiring Collaborative Multicentre Prospective Studies. *Toxicon* , 2006, 48:941-56.
- ❖ De Vieira Santos, M.M., Sant'Ana, C.D., Giglio, J.R., Da Silva, R.J., Sampaio, S.V., Soares, A.M., Fecchio, D. Effet Antitumoral D'un Acide Aminé L-Oxydase Isolé Du Venin De Serpent Bothrops Jararaca. *Pharmacologie Et Toxicologie Fondamentales Et Cliniques*, (2008). 102 (6) : 533-542. Doi: 10.1111/J.1742-7843.2008.00229.X
- ❖ Ducancel, F., Blanchet, G. Venins Et Toxines De Serpents , Chez La Fonction Venimeuse., Paris, 2015, Pp. 299-328.
- ❖ Edailson, A.C., Anderson, M.K., Rafaela. D., Sulamita, S., Fernando, B.Z., Juliana, P.Z., Najla, B.M., Jose, R.A., Letícia, M.R., Sergio. M., Saulo. L., Andreimar, M.S., Leonardo, A.C. Isolation, Structural And Functional Characterization Of A New Lys49 Phospholipase A2 Homologue From Bothrops Neuwiedi Urutu With Bactericidal Potential, 2016, 115 : 13-21.
- ❖ El-Aal, A.A., Ezzat, A.R. Effets De Trois Fractions Obtenues De Naja Haje

Venom Sur L'hémolyse Et Le Métabolisme Lipidique Chez Le Lapin, 1997, 3 : (2).

- ❖ El-Fiky, M.A. Hyperglycemic Effect Of A Neurotoxic Fraction (F3) From Naja Haje Venom: Role Of Hypothalamo-Pituitary Adrenal Axis (HPA). *J. Nat. Toxins* 8, 1999. 203–212.
- ❖ Estévez, J., Magaña, P., Chippaux, J.P., Vidal, N., Mancilla, R., Paniagua, J.F., Roodt, A.R. *Étude Des Venins Des Principaux Serpents Venimeux De Guyane Française Et De Leur Neutralisation*, 2018.
- ❖ Silva-De-França, F., Villas-Boas, I.M., Serrano, S.M. De T., Cogliati, B., Chudzinski, S.A. De A., Lopes, P.H., Kitano, E.S., Okamoto, C.K., Tambourgi, D.V., 2019. Najaannulifera Snake: New Insights Into The Venom Components And Pathogenesis Of Envenomation. *Plosnegl. Trop. Dis.* 13, E0007017.
- ❖ FELLAK Sabrina, S., BOURAI. Développement D'une Nouvelle Approche D'immunothérapie Antivenimeuse Chez Une Espèce Aviaire : Apport D'un Adjuvant Nanoparticulaire. Boumerdes : Université M'Hamed BOUGARA, 2020, 40p.
- ❖ Ferraz, C.R., Arrahman, A., Xie, C., Casewell, N.R., Lewis, R.J., Kool, J., Et Cardoso, F.C . Toxines Multifonctionnelles Dans Les Venins De Serpent Et Implications Thérapeutiques: De La Douleur A L'hémorragie Et A La Nécrose. *Frontiers In Ecology And Evolution*, 2019. Doi: 10.3389 / Fevo.2019.00218.
- ❖ Fletcher, J.E., Jiang, M.S., Setlistre De Araujo, H.S., Ownby, C.L. Effets De Trois Myotoxines Sur L'hydrolyse Des Phospholipides Membranaires Dans Les Systèmes De Culture Cellulaire. *Toxicon* , 1995, 33 : 301.
- ❖ FLETCHER, J.E., RAPUANO, B.E., CONDREA, E., YANG, C.C., ROSENBERG, P. Relation Entre La Catalyse Et Les Propriétés Toxicologiques De Trois Phospholipases De Venins De Serpents Elapidés. *Toxique. Appl. Pharmacol*, 1981, 59 : 375-85.
- ❖ Fox, J.W., Serrano, S.M. Considérations Structurales Des Métaloprotéinases De

Venin De Serpent, Membres Clés De La Famille Des Métalloprotéinases De Reprolysine M12. *Toxicon*, 2005, 45 (8) : 969–985. Doi :10.1016 / J.Toxicon.2005.02.012.

- ❖ François, V.S., Georges, T., Nathalie, G., Robert, C., Brigitte, V., Pierre, B., Andréas, W. Adjuvants Et Vaccins, 2003, 187 : 1511-1521.
- ❖ Fry, B.G., Wüster, W., Kini, R.M., Brusica, V., Khan, A., Venkataraman, D. Molecular Evolution And Phylogeny Of ElapidSnakeVenomThree-FingerToxins. *J Mol Evol*, 2003, 57 : 110–29.
- ❖ Gold, B.S., Dart, R.C., Barish, R.A. Bites Of VenomousSnakes. *New England Journal Of Medicine*, 2002, 347(5), 347–356. Doi:10.1056/Nejmra013477 .
- ❖ Gutiérrez, J.M., Calvete, J.J., Habib, A.G., Harrison, R.A., Williams, D.J., Warrell, D.A., 2017. SnakebiteEnvenoming. *Nat. Rev. Dis. Primer* 3, 17063.
- ❖ Gutiérrez, J.M., Lomonte, B. Phospholipases A2: Dévoiler Les Secrets D'un Groupe Fonctionnellement Polyvalent De Toxines De Venin De Serpent. *Toxicon*, 2013, 62 : 27–39. Doi: 10.1016 / J.Toxicon.2012.09.006
- ❖ Gutiérrez, J.M., Ownby, C.L. Dégénérescence Du Muscle Squelettique Induite Par Les Phospholipases De Venin A2: Aperçu Des Mécanismes De La Myotoxicité Locale Et Systémique. *Toxicon* , 2003, 42 (8): 915–931. Doi : 10.1016 / J.Toxicon.2003.11.005.
- ❖ Gutiérrez, J.M., Theakston, R.D.G., Warrel, D.A. Faire Face Au Problème Négligé De L'envenimation Par Morsure De Serpent: La Nécessité D'un Partenariat Mondial. *Plos Med*, 2006, 3: 150.
- ❖ Habib, AG., 2015. La Morsure De Serpent Est Sous-Estimée: Evaluation Du Fardeau De l'Afrique De l'Ouest. *PlosNegl. Trop. Dis.* 9, E0004088.
- ❖ Hammoudi-Triki, D., Lefort, J., Rougeot, C., Robbe-Vincent, A., Bon, C., Laraba-Djebari, F., Choumet, V. Toxicokinetic And Toxicodynamic Analyses Of *Androctonusaustralis* Hector Venom In Rats: Optimization Of AntivenomTherapy. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 2007, 218 : 205–214.

- ❖ Horie, K., Horie, N., Abdou, AM, Yang, J.O., Yun, S.S., Chun, H.N.,Hatta, H. Effet Suppressif Du Yogourt A Boire Fonctionnel Contenant Des Immunoglobulines Spécifiques De Jaune D'oeuf Sur HelicobacterPylori Chez L'homme. Journal Of Dairy Science, 2004, 87 (12) : 4073–4079. Doi: 10.3168 / Jds.S0022-0302 (04) 73549-3
- ❖ Imam, A.H., Rahmy, T.R. ReactiveAstrocyticResponse And IncreasedProliferaticCellNuclearAntigen Expression In Cerebral Cortex Of Envenomated Rats. J. Toxicol. ToxinRev, 2001. 20 : 245–259.
- ❖ Chippaux, J.-P. Venins De Serpent Et Envenimations., Paris: Diffusion Ird, 2002, P. 288.
- ❖ KAMEL A. Fractionnement Du Venin De Cobra Egyptien. Toxicon , 1974, 12 : 495-99.
- ❖ Kasturiratne, A., Wickremasinghe, A.R., De Silva, N., Gunawardena, N.K., Pathmeswaram, A., Premaratna, R. Le Fardeau Mondial Des Morsures De Serpent: Une Analyse De La Littérature Et Une Modélisation Basée Sur Des Estimations Régionales De L'envenimement Et Des Décès. Plos Med, , 2008, 5: 218.
- ❖ Kellaway, C.H., WILLIAMS, F.E. The Comparative Hemolytic Power Of AustralianSnakeVenoms. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci, 1933, 11 : 75.
- ❖ Kini, R.M. MolecularMouldsWith Multiple Missions: Functional Sites In Three-FingerToxins. Clin ExpPharmacolPhysiol, 2002, 29 : 815–22.
- ❖ Kini, R.M. Structure, Function And Evolution Of Three-FingerToxins: Mini ProteinsWith Multiple Targets 2010.
- ❖ Kochv, A.E., Tonsing, L., Louw, A.L., Liebenberg, N.V.D.W., Visser, L. Biosynthèse, Sécrétion Et Marquage Isotopique In Vivo Du Venin Du Cobra Egyptien, Naja Haje Annulifera. Toxicon, 1982, 20 : 615-36.
- ❖ Kyfs, P. Venomhemolysis. J. Inject, 1910, 7 : 181.
- ❖ Larréché, S., Mion, G., Clapson, P., Debien, B., Wybrecht, D., Goyffon, M.

Neurotoxines Ophidiennes. *Annales Françaises d'Anesthésie Et De Réanimation*, 2008, 27(4), 310-316. Doi:10.1016/J.Annfar.2008.02.010.

- ❖ Leon, G., Sanchez, L., Hernandez, A., Villalta, M., Herrera, M., Segura, A., Estrada, R., Maria Gutierrez, J. Immune Response Towards Snake Venoms. *Inflamm. Allergy - Drug Targets*, 2011, 10 : 381– 398. Doi : 10.2174/187152811797200605.
- ❖ Limam, I., El Ayeb, M., Marrakchi, N. Les Métalloprotéases Des Venins De Serpents : Structure, Biosynthèse Et Fonction, L'institut Pasteur De Tunis, 2010.
- ❖ Malih, I., Ahmad Rusmili, M.R., Tee, T.Y., Saile, R., Ghalim, N., & Othman, I. Proteomic Analysis Of Moroccan Cobra Naja Haje Legionis Venom Using Tandem Mass Spectrometry. *Journal Of Proteomics*, 2014, 96 : 240 252. .
- ❖ Matsui, T., Fujimura, Y., Titani, K. Protéases De Venin De Serpent Affectant L'hémostase Et La Thrombose. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Structure Des Protéines Et Enzymologie Moléculaire*, 2000, 1477 (1-2): 146-56. Doi: 10.1016 / S0167-4838 (99) 00268-X.
- ❖ Mohapatra, B., Warell, D., Suraweera, W., Bhatia, P., Dhingra, N., M Jotkar, R., M Jotkar, R., S Rodriguez, P., Mishra, K., Whitaker, R., Jha, P., 2011. Mortalité Par Morsure De Serpent En Inde: Une Enquête De Mortalité Représentative Au Niveau National. *Plos Negl. Trop. Dis.* 5, 1018.
- ❖ Muller, V.D.M., Russo, R.R., Oliveira Cintra, A.C., Sartim, M.A., De Melo Alves-Paiva, R., Figueiredo, L.T.M., Aquino, V.H. La Crotoxine Et Les Phospholipases A2 De *Crotalus Durissus Terrificus* Ont Montré Une Activité Antivirale Contre Les Virus De La Dengue Et De La Fièvre Jaune. *Toxicon*, 2012, 59 (4) : 507– 515. Doi: 10.1016 / J.Toxicon.2011.05.021.
- ❖ Navarro, D., Vargas, M., Herrera, M., Segura, Á., Gómez, A., Villalta, M., Ramírez, N., Williams, D., Gutiérrez, J.M., León, G. Development Of A Chicken Derived Antivenom Against The Taipan Snake (*Oxyuranus scutellatus*) Venom And Comparison With An Equine antivenom. *Toxicon*, 2016, 120 : 1–8.

Doi: 10.1016/J.Toxicon.2016.06.018.

- ❖ Oussedik-Oumehdi, H., Laraba-Djebari, F. Irradiated Cerastes Venom As A Novel Tool For Immunotherapy. *Immunopharmacol. Immunotoxicol*, 2008, 30 : 37–52. Doi : 10.1080/08923970701812324.
- ❖ Phisalix C., Bertrand G. Sur La Propriété Antitoxique Du Sang Des Animaux Vacciné Contre Le Venin De Vipère, 1894, 46 : 111-113.
- ❖ Pough, F.H., Janis, C.M., Heiser, J.B., *Une Vida Dos Vertebrados*, 2008.
- ❖ Rahmy, T.R., Hemmaid, K.Z. Histological And Histochemical Alterations In The Liver Following Intramuscular Injection With A Sublethal Dose Of The Egyptian Cobra Venom. *J. Nat. Toxins* 9, 2000, 21– 32.
- ❖ Silva-De-França, F., Villas-Boas, I.M., Serrano, S.M. De T., Cogliati, B., Chudzinski, S.A. De A., Lopes, P.H., Kitano, E.S., Okamoto, C.K., Tambourgi, D.V. Naja annulifera Snake: New Insights Into The Venom Components And Pathogenesis Of Envenomation. *Plosnegl. Trop. Dis*, 2019, 13 : 7-17. Doi : 10.1371/Journal.Pntd.0007017.
- ❖ Slowinski, J.B., Knight, A., Rooney, A.P. Inférence D'arbres D'espèces A Partir D'arbres: Une Analyse Phylogénétique Des Elapidae (Serpentes) Basée Sur Les Séquences D'acides Aminés Des Protéines De Venin. *Mol PhylogenetEvol*, 1997, 8: 349–362.
- ❖ Theakston, R.D.G., Smith, D.C. Therapeutic Antibodies To Snake Venoms, In: Landon, 1995. 109–133. Doi : 10.1007/978-1-4471-1937-1_6.
- ❖ Tohamy, A.A., Mohamed, A.F., Abdel Moneim, A.E., Diab, M.S.M. Effets Biologiques Du Venin Brut Naja Haje Sur Les Tissus Hépatiques Et Rénaux De Souris. *J King Saud UnivSci*, 2014, 26 (3): 205-212. Doi : 10.1016 / J.Jksus.2014.01.003.
- ❖ Utkin, Y.N. Three-Finger Toxins, A Deadly Weapon Of Elapid Venom-Milestones Of Discovery. *Toxicon*, 2013, 62 : 50–5.
- ❖ Van Den Bergh, C.J., Slotboom, A.J., Verheij, H.M., Haas, G.H. Le Role De L'asp-

49 Et D'autres Acides Amines Conservés Dans Les Phospholipases A2 Et Leur Importance Pour L'activité Enzymatique, 1989, 39 (4): 379-90.

- ❖ Wahby, A.F., El Hakim A.E., Mahdy, M.E., Salama, W.H. *Immunochemical Studies On Phospholipase A2 From Naja Nigricollis Venom*, 2013, 5 (2) : 49-66. Doi : 10.21608/Eajbsc.2013.16095.
- ❖ Warrell, D.A., Barnes, H.J. Piburn MF. Neurotoxic Effects Of Bites By The Egyptian Cobra (Naja Haje) In Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1976, 70 : 78–9.
- ❖ Warrell, DA. Morsure De Serpent. *The Lancet*, 2010, 375 (9708) : 77–88. Doi: 10.1016 / S0140-6736 (09) 61754-2.
- ❖ White, J. Morsures Et Piqûres D'animaux Venimeux: Un Aperçu Global. *Ther Drug Monit*, 2000, 22: 65–68.
- ❖ WILBUR, K.M., COLLIER, H.B. Acomparison Of The Hemolyticactions Of Lysolecithin And Saponin *J. Cell. Comp. Physiol*, 1943, 22 : 233.
- ❖ Utkin Yuri, N. Three-Finger Toxins, A Deadly Weapon Of Elapid Venom, *Milestones Of Discovery*, 2012, 62 : 50-5. Doi: 10.1016/J.Toxicon.2012.09.007.
- ❖ Zouari-Kessentini, R., Srairi-Abid, N., Bazaa, A., El Ayeb, M., Luis, J., Et Marrakchi, N. Potentiel Antitumoral Des Phospholipases Sécrétées Par Le Venin De Serpent Tunisien A2. *Biomed Research International*, 2013, 1–9. Doi: 10.1155 / 2013/391389.

ملخص

تمثل لدغات الأفاعي مشكلة صحية عامة حقيقية في العالم، كما هو الحال في جميع البلدان الحارة و القاحلة. في الجزائر من اخطر الأنواع نجد الكوبرا المعروفة باسم *Naja Haje* ، لأنها تسبب شلل تنفسي و اضطرابات دموية تؤدي إلى نزيف قاتل. لهذا من المهم دراسة سمها لفهم أثارها تماما أثناء التسمم من قبل هذه الكوبرا.

الهدف من عملنا هو دراسة خصائص سم هذه الكوبرا باستخدام عدة تقنيات و الكشف عن مركبات السم (السموم و الإنزيمات)، و دراسة سمية السم بأوزان جزيئية مختلفة باستخدام SDS-Page.

مايجعله أكثر خطورة في الجزائر هو تركيز السم القوي (59.2 ميكروغرام/ميكروليتر) ، وكذلك تأثيره نزييفي فإذا حاولنا تحديد الحد الأدنى لجرعة انحلال الدم هذا سم (15.0 ميكروغرام / ميكروليتر).

الكلمات الدالة: السم ، بروتينات ، الإنزيمات ، جرعة انحلاي.

Résumé

Les morsures de serpent présentent une problématique de santé publique majeure dans le monde, Comme pour tous les pays chauds et arides. En Algérie on trouve le cobra égyptienne connu sous le nom '*Naja haje*' est l'une des espèces les plus dangereuse en Algérie, car elle provoque la paralysie respiratoire et des troubles hématologiques aboutissant à des hémorragies fatales. Pour cela il est important d'étudier le venin de cette espèce pour bien comprendre leurs effets suite à une envenimation.

L'objectif de notre travail est d'étudier les caractéristiques du venin de *Naja haje* en utilisant plusieurs techniques, la détections des composés du venin (toxines et des enzymes) a différents poids moléculaire en utilisant la technique SDS-page, et l'étude de la toxicité du venin. Ceci permet de confirmer que cette espèce et la plus dangereuse en Algérie car la toxicité du venin est estimée à (2,59 µg/souris.), Ainsi que leur effet hémorragique par la détermination de la dose minimale de l'hémolyse du venin de *Naja haje* (0.15 µg/µl).

Mots clé : Venin ; toxines ; enzymes ; dose hémolytique.

Summary

Snakebites present a real major public health problem in the world, as in al hot and arid countries. In Algeria we find the Egyptian cobra known as '*Naja haje*' is one of the most dangerous species in Algeria, because it causes respiratory paralysis and hematological disorders resulting in fatal hemorrhages. For this it is important to study their venom to fully understand their effects during envenomation by this cobra.

The objective of our work is to study the characteristics of the *Naja haje* venom using several techniques, the detection of venom compounds (toxins and enzymes) at different molecular weights using SDS-page, and the study of the toxicity of the venom. This makes it possible to confirm that this species is the most dangerous in Algeria because the toxicity of the venom (2.59 µg / µl.), As well as their hemorrhagic effect if for that we tried to determine the minimum dose of hemolysisNajahaje venom (0.15 µg / µl).

Key words: Venom ; toxins ; enzymes ; hemolytic dose.