

N° série:.....



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

en Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

Effet des extraits des différents noyaux des dattes
"*Phoenix dactylifera* L" sur les hormones sous
l'effet de xylène chez les rattes *Wistar albinos*

Présentés Par :

M^{elle}. GHENABZIA Anfal

M^{me}. MERAGHNI Mariam

Devant le jury composé de :

Présidente : Dr. MEDILA Ifryquia

M.C.A

Université d'El Oued.

Examinatrice : M^{me}. NADJI Nassima

M.A.A

Université d'El Oued.

Promoteur : Dr. DJAHRA ALI Boutlilis

M.C.A

Université d'El Oued.

Co-promoteur: Mr. GHANIA Ahmad

M.A.B

Université de Ghardaia.

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

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

Modeste travail

Nous tenons à remercier notre encadreur Dr. DJAHRA ALI BOUTLELIS maitre de conférence classe A d'université de El 'oued son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail

Nous tenons également à exprimer toute notre gratitude au Mr GHANIA AHMED maitre d'assistant classe B d'université Ghardia Qui nous a donné toute l'aide et tous les outils et orienter comme co-encadreur et qui a grandement contribué au succès de ce travail.

os vifs remerciements vont également aux membres du jury

Dr..MEDILA Ifryquia maitre de conférence classe A d'université de El 'oued et Mme .NADJI Nassima maitre d'assistante classe A d'université de El 'oued pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Un grand merci à toute l'équipe de laboratoire d'EL MEDJED pour leurs aides afin d'obtenir des bons résultats.

On adresse nos sincères remerciements a Mlle SANA GOUBI ingénieur du laboratoire aussi à tout l'ensemble des membres du laboratoire département de la science de la nature et de la vie, Université HAMMA LAKHDAR, El'oued et et tous les travailleurs du laboratoire d'établissement hospitalier public 19 Mars, el-oued- d'EL-OUED.

ANFAL

MARIAM

DÉDICACE

A Mes Très Chers Parents

Mes lettres ne suffisent pas pour exprimer la profondeur de ma gratitude et de m'appréciation pour tout le soutien, les encouragements que vous avez reçus tout au long de ma carrière universitaire, vos conseils et vos critiques, qui m'ont permis de connaître mes erreurs. Que Dieu vous protège et vous garde en bonne santé.

A Mes Frères et Mes Sœurs

Vous m'aidez toujours et soutenez-moi, ces lignes ne m'obligent pas à reconnaître tous vos services, superviseur, que Dieu vous bénisse et vous protège

A Mon Mari

Tous mes remerciements et ma gratitude pour tout votre soutien envers moi . Dieu vous préserve

A Ma Grande Famille

En témoignage de mon respect et de mon amour.

A Mes Collègues De Travail et Mes Amis De Promotion BC 2019

En souvenir des agréables moments partagés

MARIAM

DÉDICACE

Je dédie ce travail

À ceux qui sont la source de mon inspiration et mon courage

À qui je dois de l'amour et la reconnaissance.

*À ma très chère **Mère** et à mon cher **Père***

pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et

leurs prières tout au long de mes études,

*À mes **sœurs** et mes **frères***

pour leurs encouragements permanents, leur soutien moral, et de

générosité.

À tous les membres de ma belle-famille

*À mon professeur **Ghania Ahmad***

qui De la lumière de son esprit l'esprit des autres

*À tous mes **amis** et mes **collègues** de la promotion master*

Biochimie 2019 pour tous les moments de joies et de peines

qu'on a passée ensemble

*À tous mes **enseignants** durant ma formation d'étude*

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Anfal

RESUME

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet toxique de xylène et de valider l'effet protecteur d'extrait aqueux des noyaux des dattes " phoenix dactilifera L " niveau de la glande thyroïdienne et le foie chez des rattes *Wistar Albinos*. menée au laboratoire sur 30 rattes qui ont été divisés en cinq groupes: le 1^{ère} groupe considéré comme témoin, le 2^{ème} recevant chaque jour 1,2 ml/kg/J de xylène pendant 25 jours, et les trois groupes restes recevant chaque jour 1,2 ml/kg/J de xylène et traité par 300mg/kg /j d'extrait des noyaux des dattes Ghars pour le 3^{ème} groupe, et d'extrait des noyaux des dattes Mch Deglet pour le 4^{ème} groupe, et pour la dernière groupe traité par d'extrait des noyaux des dattes Deglet Nour pendant 25 jours .

Les résultats obtenus dans la présente étude, montrent que le traitement par le xylène induit une surcharge de xylène, diminution dans les hormones FT4 et FT3 avec augmentation TSH et hyperglycémie, augmentation d'urée, créatinine, bilirubine , aussi une augmentation de l'activité des transaminases (TGO, TGP), de phosphatase alcaline qui montre que le xylène induit une perturbation de fonction hépatique et rénale. Nos résultats révèlent également une diminution de taux GSH, l'activité des CAT, GST, avec une augmentation du taux de MDA dans les foie qui indique une perturbation des paramètres de stress oxydatif hépatique . En outre, les résultats obtenus d'après l'étude histologique, montrent la présence d'une inflammation dans les foie, et la présence d'un nécrose hépatique induit par le stress oxydatif .Cependant, l'administration orale d'extrait des noyaux des dattes a différent cultivars a provoqué une diminution de l'effet toxique de xylène .

Mots clés: xylène , extrait des noyaux des dattes , stress oxydatif , foie ,les hormones , rattes *Wistar Albinos* .

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير السمي للزليلين والتحقق من التأثير المضاد لمستخلص نواة التمر بأنواعه الثلاثة . وقد أجريت التجربة في المختبر على 30 فأرة قسمت *wistar albinos* على مستوى الغدة الدرقية والكبد عند أنثى فئران / كيلو غرام/إلى خمسة مجموعات: المجموعة الأولى غير معالجة إذ تعتبر كشاهد, المجموعة الثانية تم إعطائها 1.2ملي لتر اليوم(من الوزن الكلي) من الزليلين مدة خمسة و عشرون يوما بشكل يومي،والمجموعات الثلاثة المتبقية أيضا تم إعطائها / كيلو غرام / اليوم من الزليلين مدة خمسة و عشرون يوما بشكل يومي، بالإضافة إلى 300 ملغ / كيلو غرام /1.2ملي لتر اليوم (من الوزن الكلي) من مستخلص نواة التمر حيث عولجت المجموعة الثالثة بمستخلص نواة تمر الغرس والمجموعة الرابعة بمستخلص نواة تمر مش دقله والمجموعة الرابعة بمستخلص نواة تمر دقلة نور مدة خمسة و عشرون يوما بشكل يومي.

النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تبين أن المعالجة بالزليلين تسبب تراكم الزليلين في الجسم،نقصان FT4 et FT3 مع زيادة TSHو زيادة السكر في الدم وزيادة اليوريا و الكرياتينيمي والبيليروبين . وكذلك أيضا زيادة النشاطية لنواقل الأمين(TGO et TGP). و زيادة في نشاط الفوسفاتاز القلوي و هذا يدل على اضطراب وظيفة الكبد و الكلى. تكشف النتائج التي توصلنا إليها أيضا،نقص في GSH ونشاطية GST et CAT مع زيادة معدل MDA في الكبد التي تعني وجود خلل في المؤشرات الدالة على الاجهاد التأكسدي الكبدية . بالإضافة إلى ذلك، فإن النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسة التشريحية تبين وجود التهاب مع وجود نخر كبدي، سببه الاجهاد التأكسدي. كما أثبتت النتائج أن تناول مستخلص نواة التمر بأنواعه الثلاثة عن طريق الفم يؤدي إلى تخفيض التأثير السمي للزليلين .

الكلمات المفتاحية : الزليلين, اجهاد تاكسدي, كبد, الهرمونات, مستخلص نواة التمر, فئران *wistar albinos*.

ABSTRACT

The aim of this work is to study the toxic effect of xylene and to validate the protective effect of aqueous extract of the dates nuclei at the level of the thyroid gland and the liver in female Wistar Albino rats. conducted in the laboratory on 30 rats which were divided into five groups: the 1st group considered as a control, the 2nd receiving daily 1.2 ml / kg / day of xylene for 25 days, and the three remaining groups receiving daily 1200 ml / kg / J xylene and treated with 300mg / kg / day of kernel extract dates Ghars for the 3rd group, and extract of the dates kernels Mch Deglet for the 4th group, and for the last group treated with extract Deglet Nour dates kernels for 25 days.

The results obtained in the present study, show that the xylene treatment induces a xylene overload, decrease in the hormones t4 and T3 with increase TSH and hyperglycemia, increase of urea, creatinine, biliribine, also an increase in the activity transaminases (TGO, TGP), alkaline phosphatase which shows that xylene induces a disruption of liver and kidney function. Our results also reveal a decrease in GSH levels, CAT activity, GST, with an increase in the level of MDA in the liver that indicates a disruption of the hepatic oxidative stress parameters. In addition, the results obtained from the histological study, show the presence of inflammation in the liver, and the presence of hepatic necrosis induced by oxidative stress.

However, oral administration of dates kernel extract to different cultivars has caused a decrease in the toxic effect of xylene by maintaining the decrease of xylene in the body.

Key words: xylene, date kernel extract, toxicity, oxidative stress, liver, hormones, Albino Wistar rats.

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acide ascorbique	HCl : Acide Chlorhydrique.
ACTH :Hormone adrénocorticotrope	H₂O : Eau
AG :Acide gallique	H₂O₂ :Peroxide d'hydrogène
ALT : Alanine aminotransférase	IMC : Masse corporelle
ANAT : Agence nationale de l'aménagement de territoire	LDH :lactatedihydrogenase
AST : Aspartate minotransférase	MDA : Malondialdéhyde
ATP : Adénosine triphosphate	MDH : Malatedihydrogenase
BD : Bilirubine directe	Moy :Moyen
BHT :Butylhydroxytoluène	NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit
BSA : bleu de Coomassie	PAP : 4-amino-antipyrine
BT : Bilirubine total	PAL : Phosphatase Alcaline
CAT : Catalases	PC : poids corporals
CCl₄ : Carbon tetrachloride	PR :poids relative
CDNB :1-chloro-2,4-dinitrobenzène	POD : Péroxydase
CRH : Corticolibérine	S.E.M : Moyen d'écartype
DL₅₀ :Dose létale 50	TBA :Acide thiobarbiturique
DMSO : diméthyl sulfoxide	TBARS :Thiobarbiturique Substance Réactif
DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl	TCA : Acide trichloroacétique
DSA :Direction des ServicesNAgricoles	T : Témoin
DTNB :A. salicylique,5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque	TGO : Aspartate Aminotransférase
EAG : Equivalent acide gallique	TGP : Alanine Aminotransférase
EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique	TSH : Thyroïd Stimulating Hormone
FAO : Food and agriculture organization	T₃ : Thriiodothyronine
GSH : Glutathion réduit	T₄ : Thyroxine ou tétraïodothyronine
GSSG : Glutathione disulfide	UV : Ultra Violet
GST : Glutathion-S-Transférases	V1 :variété Ghars
GSTs : GSH-S-transférase	V2 :Variété Mech-deglat
GK : Glycérol kinase	V3 :Variété Deglat-Nour
GPO : Glycérol 3 phosphate oxydase	X : xylène

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Coupe de fruit de datte	06
Figure 02	Stades d'évolution de la datte	08
Figure 03	Coupe de noyau de datte	08
Figure 04	la biotransformation de m-xylène	12
Figure 05	Schéma anatomique de la thyroïde	14
Figure 06	Coupe transversale de la thyroïde	18
Figure 07	Structure schématique d'un follicule thyroïdien	19
Figure 08	tissu thyroïdien sain	19
Figure 09	structure chimique des hormones thyroïdiennes	21
Figure 10	la biosynthèse des hormones thyroïdiennes	21
Figure 11	La Régulation centrale de la synthèse hormonale	22
Figure 12	Aspect de poudre et noyaux de variété de Gars	22
Figure 13	Aspect de poudre et noyaux de variété de Mech degla	26
Figure 14	Aspect de poudre et noyaux de variété de Deglat nour	26
Figure 15	Situation géographique de la wilaya de Biskra	26
Figure 16	Image satellite de la région Ain Ben Naoui	27
Figure 17	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	27
Figure 18	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant.	30
Figure 19	L'aspect morphologique pour les trois variétés des dattes	33
Figure 20	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	43
Figure 21	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits de trois cultivars	44
Figure 22	Valeur IC50 de trois extraits des cultivars et de composé standard (acide ascorbique)	45
Figure 23	Poids corporel (PC) chez les rats témoins et traités: Différence entre poids initial et final .	46
Figure 24	Poids relatif des organes (foie, reins,) après 25 jours de traitement par le xylène.	46
Figure 25	Activité enzymatique de TGO, de TGP et de phosphatase alcaline chez le groupe témoin et les groupes traités.	47
Figure 26	Concentration sérique du glucose, bilirubine totale, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités.	48

Figure 27	Concentration sérique du triglycéride et cholestérol total chez le groupe témoin et les groupes traités.	49
Figure 28	Concentrations tissulaires de Malondialdéhyde (MDA)et glutathion réduit (GSH) chez le groupe témoin et les groupes traités.	50
Figure 29	Activités tissulaires de catalase, CAT et GST chez le groupe témoin et les groupes traités.	51
Figure 30	Activité des hormones (FT3,FT4) , chez le groupe témoin et les groupes traités.	52
Figure 31	Activité de hormone TSH , chez le groupe témoin et les groupes traités.	52
Figure 32	Foie du ratte témoin sain : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40	53
Figure 33	Foie du ratte traité par le xylène : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40	53
Figure 34	Foie du ratte traité par l'extrait de noyaux de dattes Ghars et contaminé par le xylène : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40	53
Figure 35	Foie du ratte traité par l'extrait de noyaux de dattes Mech-Deglat et contaminé par le xylène : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40	54
Figure 36	Foie du ratte traité par l'extrait de noyaux de dattes Deglat-Nour et contaminé par le xylène : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40	54

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Inventaire variétal (cultivars) dans les trois régions phoenicicoles d'Algérie	5
Tableau 02	La production des palmiers dattiers algériens en 2013	6
Tableau 03	Répartition des utilisations de xylène en tant que solvant	13
Tableau 04	Rendement de l'extrait de trois variétés de noyaux de dattes	43
Tableau 05	Teneur en composés phénoliques variétés de noyaux de dattes	43
Tableau 06	Taux de mortalité des souris en fonction des concentrations de Les extraits de noyaux de trois cultivas	45

SOMMAIRE

Remerciements

Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction 1

Synthèse Bibliographique

Palmiers dattier et les dattes

1-Généralité sur le palmier dattier	4
2-Systématique de <i>Phoenix dactylifera</i> selon DJERBI (1994)	4
3-Répartition du palmier dattier	4
4-Production des dattes	5
5-Différentes parties des dattes	6
6-Principales cultivars cultivées	7
7-Stades d'évolution	7
8-Noyau de datte	8
8-1-Anatomie de Noyau des dattes	8
8-2-Composition biochimique du noyau de datte	8
8-2-1-Composition en matière protéique	8
8-2-2-Composition en matière grasse	9
8-2-3-Teneur en sucres	9
8-2-4-Teneur en Cendres	9
8-2-5-Contenu minéral	9
8-2-6-Teneur en fibres	9
8-2-7-Teneur en polyphénols	9
8-3-Utilisations des noyaux de dattes	10
8-3-1-Préparation d'une boisson semblable au café:	10
8-3-2-Fabrication du pain	10
8-3-3-Alimentation de bétail	10
8-3-4-Extraction de polysaccharides	10
8-3-5-Préparation de crèmes	11
8-3-6-Effet protecteur à l'hépatotoxicité	11
8-3-7- Fabrication de charbon actif	11

Xylène

xylène	Erreur ! Signet non défini.
1-définition de xylène	12
1-1-Formule chimique	12
1-2- Propriétés physiques et chimiques	12
2- Processus de production	12
3- Utilisations	13
4- Biodégradation	13
4-1- Transformation métabolique (Chez l'homme)	14
5- Effets d'exposition de xylène	14
5- 1-Exposition aiguë et accidentelle	14
5- 2-Effets gastro-intestinaux	15
5- 3-Effets musculo-squelettiques	15
5- 4-Effets cardiovasculaires	15
5- 5-Effets sur les voies respiratoires	15
5- 6-Effets hépatiques	15
5- 7-Effets sur les reins	16
5- 8-Effets neurologiques	16
5- 9-Effets sur la reproduction	16

Glande thyroïdienne

1- Anatomie de la glande thyroïdienne	18
2- Histologie	19
2-1-Cellules folliculaires	20
2-2-Cellules C ou parafolliculaires	20
2-3-Colloïde	20
3-Hormonologie	21
3-1-Structure des hormones thyroïdiennes	21
3-2-Transport hormones thyroïdiennes	21
-3- Régulation de la fonction thyroïdienne	22
3-4- Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes	23
4-Effets biologiques des hormones thyroïdiennes	23
4-1-Effets sur la croissance et le développement	23
4-1-1- Croissance et développement du système nerveux central	23
4-1- 2Croissance et développement du squelette	23
4-2- Effets métaboliques	24

4-2-1- Métabolisme basal	24
4-2-2- Métabolisme protéique	24
4-2-3- Métabolisme hydro minéral	24
4-3- Effets tissulaires	24
4-3- 1-Au niveau cardiaque	24
4-3- 2-Au niveau digestif	24

Etude expérimentale

Matériel et Méthodes

1- Matériels utilisé	26
1- 1-Matériel végétal	26
1- 1-1-Situation géographique	27
1- 1-2-Présentation de station	27
1-2-Matériel animal	28
1-2-1-Animaux de laboratoire	28
1-2-2-Conditions d'élevage	28
1-2-3-Poids	28
1-3-Xylène	28
2-Méthode siu vies	28
2-1 -Détermination du rendement	28
2-2-Dosage des composés phénoliques totaux	29
2-3-Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	29
2-4-Détermination de la DL50 de les extraits de noyaux de dattes de trois cultivas	30
2-5-Protocole expérimental	31
2-5-1- Préparation de l'extrait aqueux	31
2-5-2-Préparation de xylène	31
2-5-3-Traitement des animaux	31
2-5-4- Prélèvement du sang	32
2-5-5-Prélèvement du foie	32
2-6-Dosage des paramètres biochimiques et hormonaux	31
2-6-1-Méthodes de dosage des paramétrés biochimiques sérique	34
1- Dosage de la glycémie	34
2-Méthode de dosage de bilirubine totale	34
3-Méthode de dosage de créatinine	34
4-Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférerase (AST)	34

5-Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT)	35
6-Méthode de dosage de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL)	35
7-Méthode de dosage de cholestérol total	36
8-Méthode de dosage de Les triglycérides	36
2-6-2-Méthodes de dosage des paramétrés hormonales	36
1-Dosage de thyrotrope (TSH)	36
2-Dosage de triiodothyronine (T3)	37
3-Dosage de thyroxine (T4)	37
2-7-Dosage des enzymes antioxydants du foie	38
1-Préparation de l'homogénats des organes	38
2- Dosage des protéines tissulaire	38
3-Dosage de la catalase (CAT)	38
4-Dosage du glutathion (GSH)	39
5-Dosage du glutathion S-transférase (GST)	40
6-Dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires	41
2-8-Préparation des échantillons pour l'étude histologique	41
2-9-Analyses statistiques	42

Résultats et discussion

1- Résultats	43
1-1-Rendement de l'extrait de trois variétés de noyaux de dattes	43
1-2-Teneur des composés phénoliques totaux dans l'extrait de noyaux de dattes	43
1-3-Etude de l'activité antioxydant	44
1-4-Détermination de la DL50 de Les extraits de noyaux de trois cultivas	45
1-5- Effets de xylène sur les paramètres de la croissance globale des animaux	45
1-5-1- Poids corporel	45
1-5-2-Poids relatif (PR) :	46
1-6-Effets des xylène et les trois variétés de noyaux des dattes sur les enzymes sériques :	47
1-7-Effets le xylène sur les paramètres biochimiques	48
1-8- Effet de traitement par le xylène sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes :	50
1-8-1- Etude de la peroxydation lipidique MDA et le glutathion réduit GSH :	50
1-8-2- Etude de l'activité de de catalase CAT, Glutathion S Transférase GST :	51
1-9-Effet de traitement par le xylène sur les hormones (TSH ,FT3,FT4)	52
1-10-Etude histopathologique	54
2- Discussion	56
Conclusionet Perspective	63

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans le Sahara, il y a une grande diversité des plantes et des arbres qui sont adaptées au climat désertique pour vivre dans ces conditions extrêmes. Parmi ces plantes et la plus connue dans le milieu oasien c'est " le palmier dattier " (Baliga *et al.*, 2010).

La culture des palmiers dattiers (*Phoenix dactylifera L.*) est considérée parmi les cultures les plus importantes dans les zones arides et semi-arides. Elle joue un rôle important dans la vie économique et sociale des populations de ces régions (DJERBI., 1994). Les dattes sont produites dans 30 pays mais la majorité des productions reste localisée en Égypte avec 21%, placé en premier rang l'Iran 15%, l'Arabie saoudite 15%, l'Irak 9% , le Pakistan 7%, , l'Algérie 12% est au quatrième rang mondial (FAO., 2015).

Les dattes sont les fruits du palmier dattier. Elles font partie des habitudes alimentaires de la population saharienne. Ces derniers montrent un intérêt de plus en plus croissant aussi bien chez les consommateurs que chez les diététiciens et les nutritionnistes (BEN ABBES., 2011).

L'Algérie est parmi les grand pays le plus producteur les dattes, Dont plus d'un million de tonnes en Algérie en 2017 selon la FAO (FAOSTAT), On compte plus de 2000 cultivars différents qui existent actuellement dans le monde (Al-Hooti *et al.*.,2002).

Les sous-produits du palmier dattier (tronc, feuilles, pédicelles....) sont exploités par les habitats du Sahara, en particulier, les noyaux des dattes sont valorisés à grande échelle (Djerbi., 1994).

Des nombreux travaux de recherche consacrés à la valorisation des noyaux des dattes sous forme d'acide acétique (Abou zaid., 1983), de charbon actif (Bouchemal *et al.*,2008), alimentation de bétail (Abdelbasset., 2012), crème cosmétique à base de noyaux de dattes (Lecheb., 2008).

L'objectif essentiel de notre travail consiste à étudier l'effet biologique et hormonale de l'extrait des noyaux des dattes de trois cultivars chez des rattes de la souche *Wistar albinos* rendus la toxicité par le xylène .

Ce travail qui est subdivisé en :

*La partie bibliographique : une synthèse bibliographique où nous apportons dans :

- La première chapitre : les palmiers dattier et les dattes
- La deuxième chapitre : le xylène
- la troisième chapitre :la glande thyroïdienne.

*La partie expérimentale: qui concernée par les matériels et les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité biologiques hormonale des extraits des noyaux, chez des rattes rendus la toxicité par le xylène .

Enfin , présentation des résultats et des discussion et obtenus suivi par une conclusion et des perspectives.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

PALMIERS DATTIER ET LES DATTES

1-Généralité sur le Palmier dattier

Le nom scientifique de la palmier dattier c'est : *Phoenix dactylifera*.L , provient du mot " Phoenix " qui signifie dattier et dactylifera dérive du terme grec " dactulos " signifiant doigt, puisque la forme du fruit est similaire au doigts(DJERBI., 1994). Il existe de façon importante dans les régions arides et semi arides du monde (BESBES *et al.*, 2004). Le palmier dattier est une plante dioïque, Il comporte des pieds mâles (dokkar) et des pieds femelles (nekhla) (BAKKAYE., 2006) .

Au niveau cellulaire , le nombre des chromosomes ($n = 18$ et $2n = 36$). Le palmier dattier est une monocotylédone arborescente dont la tige monopodiale est couverte des feuilles mortes, et porte le nom stipe qui peut atteindre 30 à 40m. Ce tronc a des vaisseaux conducteur dont les cloisons terminales présentent des perforations scalariformes (DJERBI., 1994). A l'aisselle de chaque palme se trouve un bourgeon axillaire qui en se développant , peut donner naissance à une inflorescence dans la région coronaire, à un rejet dans la région basale (*Djerba*) ou rarement à un gourmand dans la région moyenne e sous coronaire (*Rokeb*) La stipe ne se ramifie pas, mais le développement des gourmands ou des rejets peut donner naissance à des pseudo ramifications. Sur la stipe, par arbre , on compte 50 à 200 palmes (BEN ABDALLAH, 1990) .

2-Systématique de *Phoenix dactylifera* selon DJERBI (1994)

Groupe : Spadiciflores

Ordre: Palmales

Famille : Palmacées

Sous famille : Coryphoïdées

Tribu : Phoenicées

Genre : Phoenix

Espèce : *Phoenix dactylifera* L

3-Répartition du palmier dattier

3-1-Dans le monde

La culture du palmier dattier est concentrée dans les régions arides au Sud de la méditerranée et dans la frange méridionale du proche Orient depuis le Sud de l'Iran à l'Est jusqu'à la côte atlantique de l'Afrique du Nord à l'Ouest, entre les latitudes 35° Nord et 15° Sud, L'Espagne reste le seul pays d'Europe à produire des dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche,

située à l'Ouest d'Alicante à 39° Nord. Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine, en Australie et Etats-Unis d'Amérique (LAOUINI., 2014)

3-2-En Algérie

Le palmier dattier revêt une importance capitale dans la stabilité socio-économique du Sahara algérien. Trois régions phoenicoles y sont nées : Ouest (Atlas, la vallée de la Saoura, Touat/Gourara, Tidikelt), Centre (El-Ménia, M'zab,) et Est (Ouargla, Oued Righ, Oued Souf, Ziban, Aurès, Tassili) (tableau 01). Ces régions comptabilisant à elles seules 67% du potentiel de la production dattière (MESSAR., 1996).

Tableau 01: Inventaire variétal (cultivars) dans les trois régions phoenicoles d'Algérie (BOUGUEDOURA et al., 2010)

Région	Nombre de cultivars	Cultivars les plus courants
Ouest		
Atlas	70	Ghares ,Asyan ,Feggus
Saoura	80	Feggus,Hartan,Cherka,Hmira,Deglet Talmine
Gourara	230	Hmira,Tinnaser,Taqerbuch
Touat	190	Ragazza,Aghamu,Taqerbuch
Tidikelt	60	Tgazza,Taqerbuch,Cheddakh,Aggaz
Centre		
El-Ménia	70	Timjuhart,Ghars,Timedwel
M'Zab	140	Azerza,Ghars,Deglet Nour,Taddela
Est		
Ouargla	70	Ghars,Deglet nour , Degla Baida
Oued righ	130	Ghars,Deglet nour , Degla Baida
Souf	70	Ghars,Deglet nour , Degla Baida ,Mich Degla
Zibans	140	Ghars,Deglet nour , Degla Baida, Mich Degla
Aures	220	Buzrur,Alig,Buhles,Mich Degla
Tassili	180	Tanghiman,Tabanist ,Khadaji

4-Production dattier

Dont plus d'un million des tonnes en Algérie en 2017(FAOSTAT), donc La production de la datte a presque doublé passant de 600 096 tonnes en 2012 à environ 1 100 000 tonnes en 2017, La Deglet Nour a représenté 53% de la production totale de dattes en 2015, Avec 51% à Biskra, 31% à El-Oued et 13% à Ouargla. Ces trois wilayas elles seules représentent plus de la moitié de la production totale de datte en Algérie (SIDAB., 2015).

Tableau 02 : La production des palmiers dattiers algériens en 2013 (SIDAB.,2015)

Cultivar	Production (tonne)
Deglet-Nour	432 000
Ghars et similaire	167 000
Degla-Beida et similaire	247 900
Total	840 000

5-Différents parties des dattes

La dattes est une baie contenant une seule graine, appelée communément noyau. Elle comporte:

- L'épicarpe (peau) :c'est enveloppe fine cellulosique.
 - Le mésocarpe plus ou moins charnu de consistance variable.
 - L'endocarpe est réduit à une membrane parcheminée entourant la graine ou noyau.
- L'épicarpe, le mésocarpe et l'endocarpe sont généralement confondus et appelés chair ou pulpe (Espiard., 2002).

Les dattes sont généralement de forme allongée, oblongue, ovoïde ou arrondie, Leurs dimensions sont très variables selon les cultivars ,elles varient de 2 à 8 cm de long et d'un poids de 2 à 8 grammes (Figure 1). La couleur peut être jaune plus ou moins claire, jaune ambré, brun plus ou moins prononcé, rouge ou noir (Djerbi., 1994).

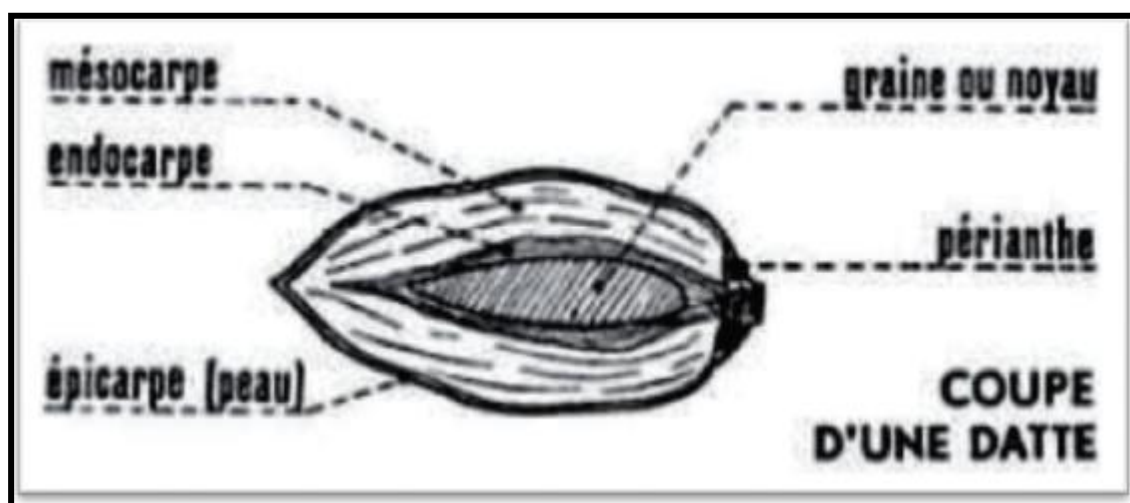


Figure 01:Coupe de fruit de dattes (Munier., 1973)

La consistance constitue aussi une caractéristique du cultivar , et selon elle on peut classer les dattes en trois classes :

-**Les dattes molles:** à chair très aqueuse lorsqu'elles sont fraîches, qui nécessitent un traitement visant à la réduction de leur teneur en eau pour être de bonne conservation : Ghars algérienne, Bou Faggous (Maroc), Barhi, Khastawi (Irak), Ahmar (Mauritanie).

-**Les dattes demi-molles:** dont la teneur en eau de la chair est moins élevée que celle de la catégorie précédente, et qui restent de consistance molle : Deglet-Nour (Algérie), Mehjoul (Maroc), Zahdi, Hdraoui (Irak), Sekani (Mauritanie).

-**Les dattes sèches:** dont la pulpe est naturellement sèche : Degla-Beida, Mech Degla (Algérie et Tunisie), Amsersi (Mauritanie), (Munier., 1973).

6-Principales cultivars cultivées

Il existe environ 200 des dattes cultivées en Algérie qui se différencient par leur qualité organoleptique et leur appréciation sur le marché (qualité marchande) (MEHAOUA., 2006).

6-1- Deglet-Nour

Variété commerciale par excellence, elle est considérée comme étant la meilleure variété de datte, du fait de son aspect, de son onctuosité et sa saveur. Le rendement varie de 150 à 200 kg/arbre. Cette variété est caractérisée par une maturation échelonnée sur un même régime qui fait qu'elle se subdivise en plusieurs classes: dattes extra (1er choix), dattes standards, dattes marchandes (AMRANI., 2002).

6-2- Ghars

Variété très rustique, elle se trouve dans la plus part des palmeraies algériennes. Le fruit mûr est à consistance molle de forme oblongue irrégulière (plus gros vers l'apex), la chair est peu épaisse avec une peau résistante qui se décale de la chair. Le rendement varie entre 60 et 70 kg/arbre (AMRANI., 2002).

6-3-Mech Degla

Datte sèche dont la chair est ferme et résistante. Son rendement varie entre 50 et 60 kg/arbre (AMRANI., 2002).

7-Stades d'évolution

La datte passe par différents stades de développement avant le mûrissement. Plusieurs auteurs rapportent que durant les 200 jours après la pollinisation la datte passe par cinq différents stades

d'évolution (figure 2). Chacun d'eux porte un nom spécifique qui n'a pas d'équivalent en français. (DOWSON et ATEN., 1963 ; MUNIER., 1973 ; BARREVELD., 1993).

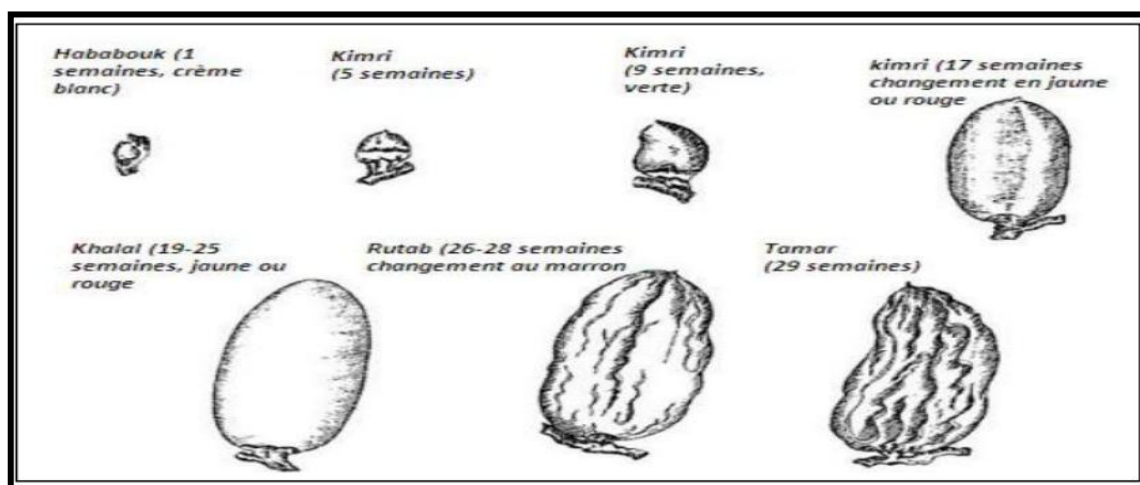


Figure 02 : Stades d'évolution de la datte (SAWAYA et al., 1983).

8-noyau de datte

8-1-Anatomie de Noyau de datte

La graine, appelée communément noyau, est de forme allongée et de grosseur variable. Son poids représente 7 à 30 % du poids de la datte. Le noyau constitué d'un albumen corné de consistance dure, enveloppé par une membrane cellulosique (Figure 2), (Djerbi, 1994).

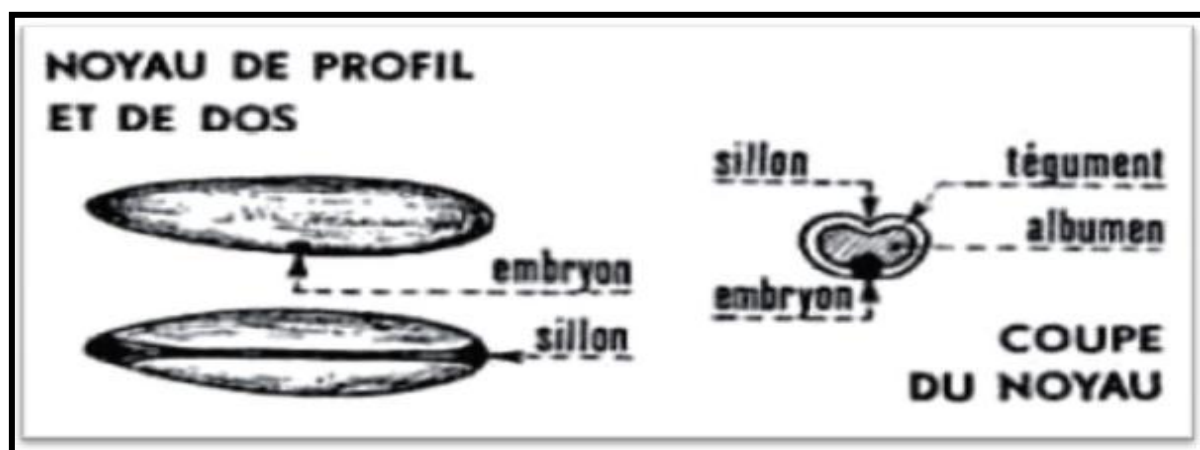


Figure 03: Coupe de noyau de datte (Munier., 1973)

8-2-Composition chimique du noyau de datte

8-2-1-Composition en matière protéique

Il existe des protéines dans les noyaux de dattes, mais elles sont variables selon la région et les différents cultivars. Plusieurs études ont montré des teneurs allant de 2 à 7 % (Lecheb., 2010; Al Farsi et al., 2007; Rahman et al., 2007; Djerbi., 1994).

8-2-2-Composition en matière grasse

Selon (Boudechiche et *al.*, 2009), les noyaux des dattes sont très riches en matière grasse, et contiennent des acides gras saturés et insaturés, à une très grande diversité. Leur teneur varie entre 5 et 12% (Lecheb.,2007).

8-2-3-Teneur en sucres

Les noyaux des dattes comportent des sucres réducteurs et non réducteurs. Des nombreuses études ont mis en valeur le contenu glucidique des coproduits des dattes (Lecheb., 2009). Cependant, les fractions de ces composants sont peu documentées. Seuls deux travaux réalisés par (Ishurd et *al.*,2001) et(Ishurd et *al.*, 2003) ont mis en évidence la présence d'un galactomannane hydro-soluble et un hétéroxylane alcali-soluble dans les noyaux des dattes (Boudechiche et *al.*, 2009).

8-2-4-Teneur en Cendres

La teneur en cendres dans les noyaux des dattes est faible, elle varie entre 0,89 et 1.16 % de la matière sèche (Munier., 1973; Besbes et *al.*, 2004; Al Farsi et *al.*, Lechab.,2010; Rahman et *al* 2007.,2013).

8-2-5-Contenu minéral

Pour la matière minérale, la plupart des cultivars sont pauvres, et portent de petites quantités entre 1,28% et 3,17% (Boudechiche et *al.*, 2009), mais les résultats des analyses de (Chaira., 2007) et (Besbes et *al.*, 2004) au variétés Deglet-Nour pour les différents minéraux ont donné une diversité comme : Na ,Fe, P ,Zn ,Ca, Mg...etc (Chaira., 2007).

8-2-6-Teneur en fibres

Selon les résultats des analyses (d'Al Frasi et *al.*, 2007), Le contenu des noyaux en fibres est plus important que celui des autres parties du fruit(Munier., 1973).

8-2-7-Teneur en polyphénols

Les polyphénols sont les métabolites secondaires majeures dans les noyaux des dattes. (Lecheb .,2008) signale 22,89% de polyphénols dans les noyaux de la variété Mech-deglat. De même,(Ardadhani .,2010) a étudié 14 variétés iraniennes et a montré des teneurs allant de 4.34 % jusqu'à

33,97%. (Al Farsi .,2007) a étudié les polyphénols de la variété omanienne Mebseeli et a montré la présence de différents types d'acides phénoliques à savoir l'acide gallique l'acide caféique l'acide vanillique ...etc.

8-3-Utilisations des noyaux de dattes

8-3-1-Préparation d'une boisson semblable au café:

Selon (Rahman et *al.*, 2007) , les arabes traitaient les noyaux de dattes comme les grains de café pour préparer une boisson très proche du café.

8-3-2-Fabrication du pain

La richesse des noyaux de dattes en fibres diététiques totale est une caractéristique très recherchée pour la fabrication du pain. Avec un taux de 10%, la poudre de noyau de datte peut remplacer les autres sources de fibres non céréalières comme le son de blé par exemple. surtout dans les pays dont les conditions climatiques ne permettent pas de cultiver ce type de céréales et dont la production de datte est importante (Almana et *al.*, 1994).

8-3-3-Alimentation de bétail

Les sous produits de palmier dattier peuvent être utilisés comme aliment de bétail.En effet une étude à été faite par (Chehma et Longo., 2001) sur la valeur alimentaire de ces sous produits chez le dromadaire et le mouton ,cette étude à révélee une grande efficacité dans l'alimentation de ces animaux. La poudre du noyau de datte est additionnée à l'alimentation de bétail Pour augmenter le taux de croissance chez les animaux, elle a une action qui contribue à une augmentation des oestrogènes et /ou testostérones dans le plasma (Jassim et Naji., 2007). La farine des noyaux de datte peut être incorporer avec un taux de 10% dans l'alimentation de poissons et des poulets sans influencer négativement leurs performances (Gualtieriet Rappacci.,1994 ;Yuccif et *al.*,1996 ;Rahman et *al.*,2007). Actuellement, les noyaux de différentes variétés de dattes sont principalement utilisés dans l'alimentation du bétail (bovin, mouton, chameaux, et les volailles) (Al-Farsi., 2008 ; Rahman et *al.*, 2007).

8-3-4-Extraction de polysaccharides

Les noyaux de dattes ont une fraction polysaccharidique très importante et ce qui peut être exploitée. Un travail visant à valoriser la fraction polysaccharidique du noyau de datte variété Degla Baïda algérienne a donné des résultats encourageants (Bouanani et al., 2007). Les

polysaccharides végétaux sont des macromolécules qui forment au contact de l'eau des solutions colloïdales ou des gels, ces propriétés permettent d'obtenir des gélifiants, épaississants à usage industriel intéressant.

8-3-5-Préparation de crèmes

Les noyaux de dattes entrent dans le domaine cosmétique dans la préparation des crèmes. Ces crèmes apportent beaucoup de bénéfices comme l'effet anti-ride, protection de derme...etc (Lecheb., 2008).

8-3-6-Effet protecteur à l'hépatotoxicité

Les noyaux de dattes ont un effet de diminution l'hépatotoxicité, et selon (Abdlazize et *al.*,2014), après les tests sur des souris à une intoxication du foie, et après un traitement par les noyaux de dattes l'intoxication diminue significativement.

8-3-7- Fabrication de charbon actif

Les travaux de (Hazourli et *al.*,2007); et (Bouchemal et *al.*, 2008), ont permis de fabriquer le charbon actif naturel à base de noyaux de dattes, et selon (El nemer et *al.*, 2007), ce charbon actif peut être utilisé dans le traitement des eaux usées pour éliminer le chrome (Cr).

XYLENE

1-définition de xylène

Le xylène est un liquide incolore à la température ambiante avec un' odeur aromatique. la pression de vapeur est comprise entre 0,66 et 0,86 kPa pour les trois isomères. Environ 92% des xylènes mélangés sont mélangés à de l'essence. C'est aussi utilisé dans une variété d'applications de solvants, en particulier dans la peinture et industries de l'encre d'imprimerie .

Le xylène existe sous trois formes isomères, ortho, méta et le para-xylène. Le produit commercial est un mélange des trois isomères avec prédominance de m-xylène, généralement 60 à 70%. Le produit technique, "xylènes mélangés", contient environ 40% de m-xylène et 20% d'éthylbenzène, d'o-xylène et de p-xylène. De petites quantités de toluène et de fractions aromatiques en C9 peuvent également être présentes.(Fishbein, 1988).

1-1-Formule chimique

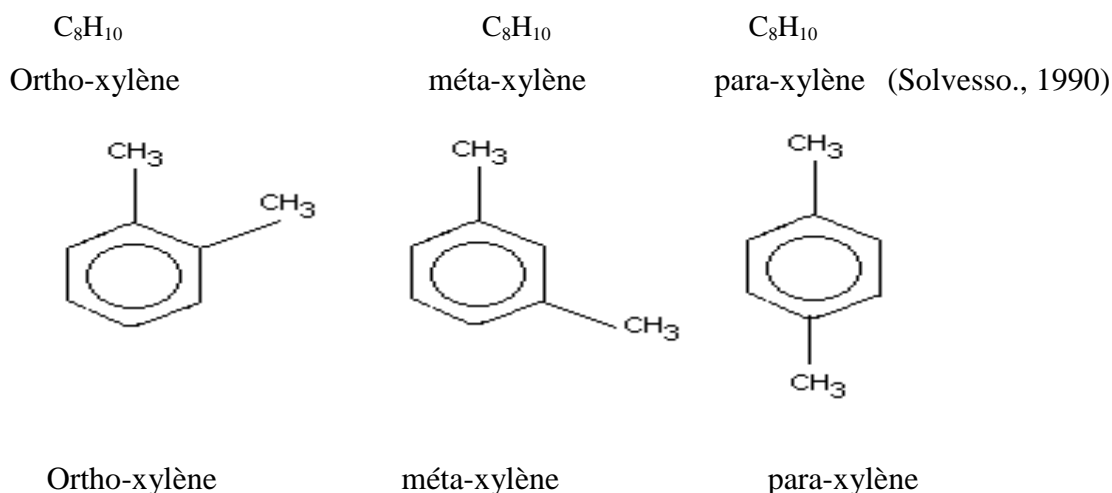


Figure 04 :la formule chimique de Xylène et son isomères(Solvesso.,1990)

1-2- Propriétés physiques et chimiques

Les trois isomères du xylène sont solubles dans les solvants organiques tels que sous forme d'éthanol, d'éther diéthylique, d'acétone et de benzène (ECETOC., 1986; IARC., 1989; DECOS., 1991). À la température ambiante, les xylènes sont incolores liquides à odeur aromatique (DECOS., 1991). Le seuil d'odeur pour le xylène mélangé dans l'air est d'environ 4,35 mg / m³ (1 ppm) (Carpenter et al., 1975; Amoore & Hautala., 1983; DECOS., 1991).

2- Processus de production

Avant 1940, presque tous les solvants aromatiques, y compris le xylène, étaient fabriqués à partir de charbon. Par la suite, la production de xylène à partir de pétrole a commencé. La plupart du

xylène mélangé est actuellement produit par reformage catalytique du pétrole. Il est également obtenu à partir d'essence de pyrolyse en tant que sous-produit de la fabrication d'oléfines lors du craquage d'hydrocarbures. De petites quantités de xylènes mélangés sont également obtenues à partir de l'huile légère provenant de fours à coke dérivés du charbon et de la disproportionation du toluène (Fishbein, 1988; OMS.,1981).

3- Utilisations

Environ 92% des xylènes mélangés produits sont mélangés à de l'essence. Le reste est utilisé dans diverses applications de solvants ainsi que pour produire les isomères individuels du xylène. Les xylènes sont utilisés comme solvant, en particulier dans la peinture et l'encre d'imprimerie les industries. La plus grande utilisation finale de xylènes mélangés se situe dans la production de l'isomère de p-xylène. Les principaux dérivés produits parmi le p-xylène, on utilise le téréphtalate de diméthyle et l'acide téréphtalique dans la production de fibres de polyester, de films et d'articles fabriqués (ECETOC., 1986; Fishbein., 1988).

L'o-xylène est presque exclusivement utilisé pour la fabrication de phtaliques. anhydride pour les plastifiants phtalates, et le m-xylène est utilisé pour la production d'acide isophtalique, intermédiaire dans la fabrication de résines de polyester (ECETOC.,1986; Fishbein.,1988).

Les xylènes en mélange sont également utilisés dans la fabrication de parfums, pesticides, des produits pharmaceutiques et des adhésifs, ainsi que dans industries de la peinture, de l'impression, du caoutchouc, du plastique et du cuir (CIRC.,1989).

Tableau03 : Répartition des utilisations de xylène en tant que solvant (I N E R I S., 2006)

secteur	En tant que composant d'un produit				Utilisé tel que			
	Produit détergent	Produit Agro chimique	Secteur des peintures Vernis encre	Autres Produits Chimiques à usages industriel	peinture	Fabrication De pièces techniques on matières plastiques	Fabrication de meubles meublants	Fabrication de meuble de cuisine
pourcentage	2.8	20	57	0.6	1	7	0.8	1.8

4- Biodégradation

Dans le sol et dans l'eau, les o et p-xylène sont facilement biodégradés dans une large gamme de conditions aérobies et anaérobies, mais l'o-xylène est beaucoup plus persistant dans des conditions similaires (Davis et al., 1967; Omori et al., 1967; Omori & Yamada., 1970; Davey & Gibson., 1974).

4-1- Transformation métabolique (Chez l'homme)

La Figure 04 montre schématiquement les voies métaboliques du xylène, (le m-xylène est utilisé à titre d'exemple) chez l'homme. Le métabolisme des xylènes chez l'homme consiste principalement en chaînes latérales. L'oxydation pour former de l'acide méthylbenzoïque (Sedivec & Flek., 1976; Riihimäki *et al.*, 1979). L'acide méthylbenzoïque est conjugué principalement à la glycine et excrété dans l'urine sous forme de l'acide méthylhippurique (Riihimäki., 1979).

Une petite quantité de l'ester de glucuronide de l'acide méthylbenzoïque et des traces d'alcool méthylbenzylique ont été détecté dans l'urine humaine (Ogata *et al.*, 1980; Engström *et al.*, 1984; Campbell *et al.*, 1988).

Hydroxylation du cycle aromatique avec formation de les diméthylphénols semblent être une voie mineure chez l'homme. Le suivant des isomères de diméthylphénol ont été identifiés dans l'urine humaine: 2,3 et 3,4-diméthylphénol (avec o-xylène), 2,4-diméthylphénol (avec m-xylène) et le 2,5-diméthylphénol (avec le p-xylène) (Sedivec & Flek., 1976; Engström *et al.*, 1984).

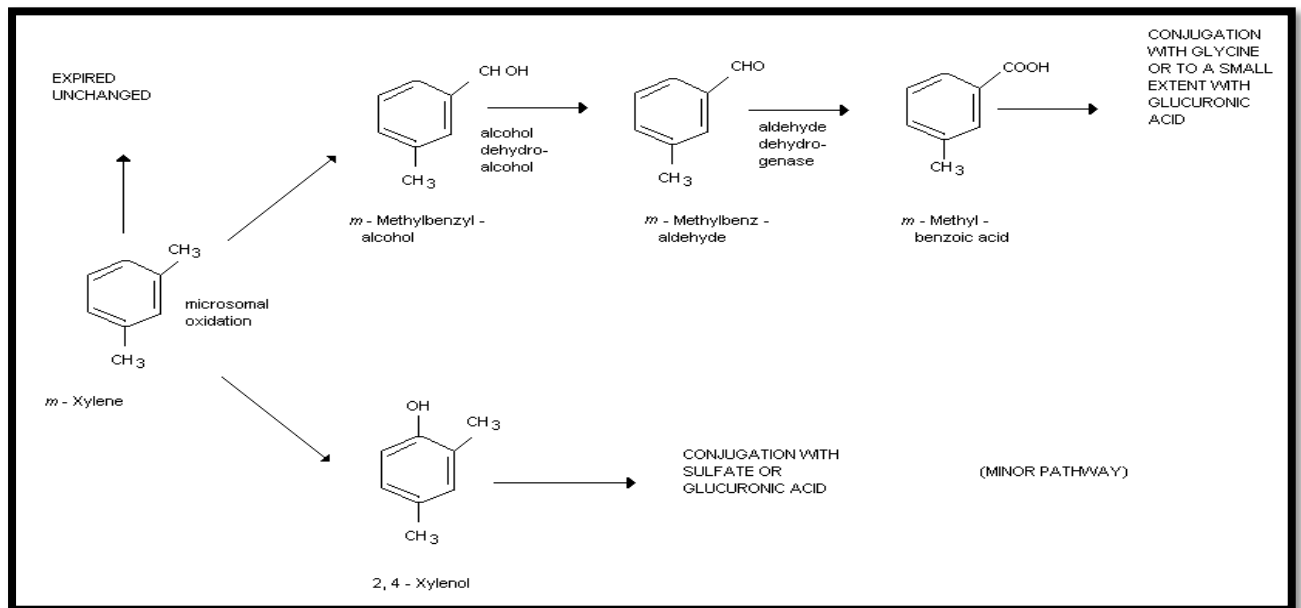


Figure 05: la biotransformation de m-xylène (Riihimaki et Hanninen.,1987)

5- Effets d'exposition de xylène

5- 1-Exposition aiguë et accidentelle

Des intoxications aiguës et des décès ont été rapportés après une surexposition ou ingestion orale de quantités substantielles de xylène. L'exposition niveau requis pour la perte de conscience a été estimé à 10 000 ppm (Morley et *al.*, 1970).

5- 2-Effets gastro-intestinaux

Différentes études ont rapporté des symptômes tels que nausées, vomissements, manque d'appétit et inconfort gastrique du tractus gastro-intestinal chez des travailleurs exposés aux vapeurs de xylène (Klaucke et *al.*, 1982; Uchida et *al.*, 1993; Nersesian et *al.*, 1985).

5- 3-Effets musculo-squelettiques

Une étude menée sur des travailleurs exposés au xylène (14 ppm) a montré une réduction de la saisie et du pouvoir musculaire aux extrémités (Uchida et *al.*, 1993).

5- 4-Effets cardiovasculaires

En ce qui concerne les effets cardiovasculaires dans une étude, la tachycardie n'a été rapportée que dans un cas sur neuf personnes exposées au xylène. Bien que la tachycardie n'ait pas d'effet néfaste sur la fonction cardiaque, le rythme cardiaque ou la pression artérielle soumise au mélange mixte de xylène pendant de courtes périodes (Gamberale et *al.*, 1978).

5- 5-Effets sur les voies respiratoires

L'exposition des volontaires au xylène pendant une courte période dans des conditions contrôlées a provoqué un dysfonctionnement du système pulmonaire et une irritation de la muqueuse respiratoire. Une étude a montré une irritation du nez et de la gorge chez l'homme exposés pendant 3 à 5 minutes à du xylène mélangé (Nelson et *al.*, 1943). Une autopsie réalisée par (Morley et *al.*, 1970) ont montré que 10 000 ppm de xylène devaient entraîner un œdème pulmonaire grave et une obstruction pulmonaire avec hémorragie dans les alvéoles. Une exposition excessive ou excessive au xylène peut entraîner un œdème pulmonaire menaçant la vie du fait de l'accumulation de liquide dans les poumons.

5- 6-Effets hépatiques

Deux peintres et travailleurs soumis à une quantité différente de xylène présentaient des taux élevés de transaminases sériques (Morley et *al.*, 1970; Klaucke et *al.*, 1982). L'examen histopathologique a révélé une toxicité hépatique mineure impliquant une augmentation du réticulum endoplasmique rugueux (RER), des organes autophages, la séparation des ribosomes

du RER, une diminution de la quantité de glycogène, une mitochondrie déformée, un changement dans la propagation des noyaux hépatocellulaires (Ungváry.,1989;Tatrai et Ungváry.,1979). L'enzyme primaire humaine est le CYP2E1, qui convertit le xylène en alcools méthylbenzyliques en acide méthylhippurique (Tassaneeyakul et *al.*, 1996). Ceci est ensuite excrété à travers le urine. Les travailleurs exposés au xylène et à d'autres produits chimiques par différentes voies entraînent une concentration élevée d'acide D-glucarique dans l'urine, ce qui montre une augmentation des activités enzymatiques hépatiques (Dolaro et *al.*, 1982). Des études effectuées chez l'animal chez le rat indiquent que le xylène en mélange ou leurs isomères individuels persuadent en général le contenu du cytochrome P-450 hépatique et qu'ils augmentent également l'activité des enzymes hépatiques.

5- 7-Effets sur les reins

Diverses études ont révélé une augmentation de l'acidité des tubules rénaux (Sarmiento et *al.*, 1989), une baisse de la créatinine dans l'urine et une hématurie à la suite d'une exposition au xylène (Morley et *al.*, 1970). Les effets sur les reins dus au xylène dépendaient de la concentration et de la dose qui conduisaient à l'agrégation du m-xylène dans les graisses des reins situées à la périphérie (Toftgård et Nilsen.,1982; Elovaara.,1982; Carpenter et *al.*,1975). D'autres activités enzymatiques et une augmentation du poids relatif du rein ont également été détectés chez des rats présentant différentes concentrations de xylène (Wolfe.,1988;Elovaara et *al.*, 1989). L'évaluation histopathologique a révélé une insuffisance rénale chronique minime. Bien que les résultats urinaires soient habituels, les principaux effets indésirables détectés ont été une modification de la gouttelette hyaline chez le rat mâle et une atteinte rénale chez le rat femelle, ce qui a endommagé les cellules (Condle et *al.*, 1988).

5- 8-Effets neurologiques

De nombreuses études expérimentales ont révélé que le xylène peut provoquer une anomalie du système nerveux chez l'homme. Le xylène et ses isomères individuels conduisent à une réaction lente aux stimuli externes, à une altération de la mémoire, à un déséquilibre de la démarche corporelle et à une incoordination (Savolainen et al.,1979; Dudek et al., 1990; Savolainen et Riihimäki.,1981; Savolainen et al.,1985 ; Riihimäki et Savolainen.,1980; Savolainen et al.,1984).

5- 9-Effets sur la reproduction

Peu d'études épidémiologiques ont rapporté une toxicité sur la reproduction du xylène. En Chine, une étude a été menée sur des travailleurs exposés à des solvants organiques mélangés dans

l'industrie pétrolière. Les résultats de cette étude ont montré qu'un tel mélange de solvants organiques entraînait une augmentation de la prévalence de l'oligoménorrhée (Cho et *al.*, 2001). Il existe un autre rapport sur les solvants exposés aux femmes contenant des hydrocarbures organiques aliphatiques et aromatiques. Et l'exposition à ces solvants a eu des conséquences néfastes sur les hormones de la reproduction, telles que la réduction du 3-glucuronide de prégnanediol (pd3G) dans la phase du corps jaune, l'hormone lutéinisante pré-ovulatoire (LH) et l'oestrone 3-glucuronide et la phase folliculaire supérieure pd3G. De plus, la contribution du xylène à l'incidence d'un tel effet était supérieur à 50% (Reutman et *al.*, 2002).

GLANDE THYROÏDIENNE

1- Anatomie de la glande thyroïdienne

La glande thyroïde est un corps impair et médian implanté sur la partie antérieure de l'axe laryngo-trachéal. Elle présente une partie moyenne, mince et étroite, appelée isthme et deux parties latérales volumineuses, les lobes droit et gauche. Du bord supérieur de l'isthme part inconstamment un prolongement supérieur, le plus souvent latéralisé à gauche, de hauteur variable (au maximum jusqu'à l'os hyoïde) : le lobe pyramidal (ou pyramide de Lalouette) Ses dimensions, variables selon les individus, sont approximativement de 5 cm de large (à la partie moyenne des deux lobes) et de 5cm de haut (pour chaque lobe). L'épaisseur est d'environ 1,5 cm. Ces dimensions sont significativement plus importantes chez la femme que chez l'homme.(Bommas-Ebert et *al.*, 2008).

Le volume total de la glande est de l'ordre de 10 à 28 ml, son poids d'environ 30 g. Située au tiers inférieur du cou, elle est maintenue par sa capsule fibreuse et surtout par des adhérences à la trachée et à la gaine carotidienne. En position habituelle, elle se place en avant des 2ème et 3ème anneaux trachéaux (Lacombe.,2006).

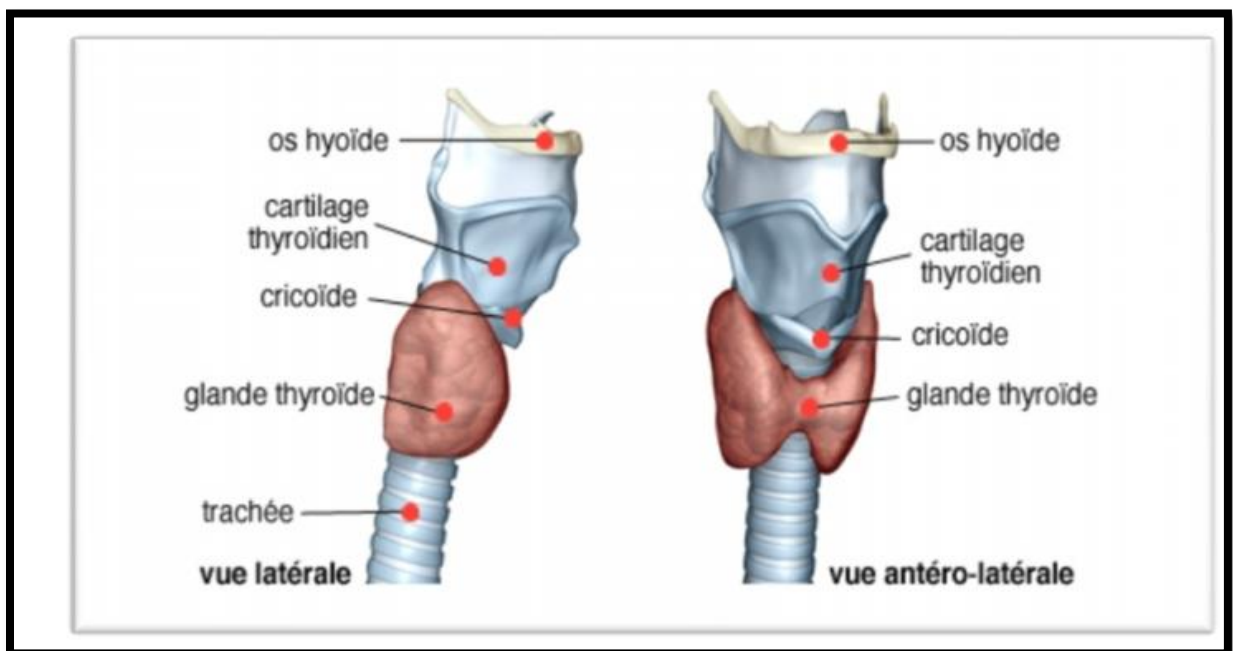


Figure06: Schéma anatomique de la thyroïde (Tramalloni et Monpeyssen.,2013).

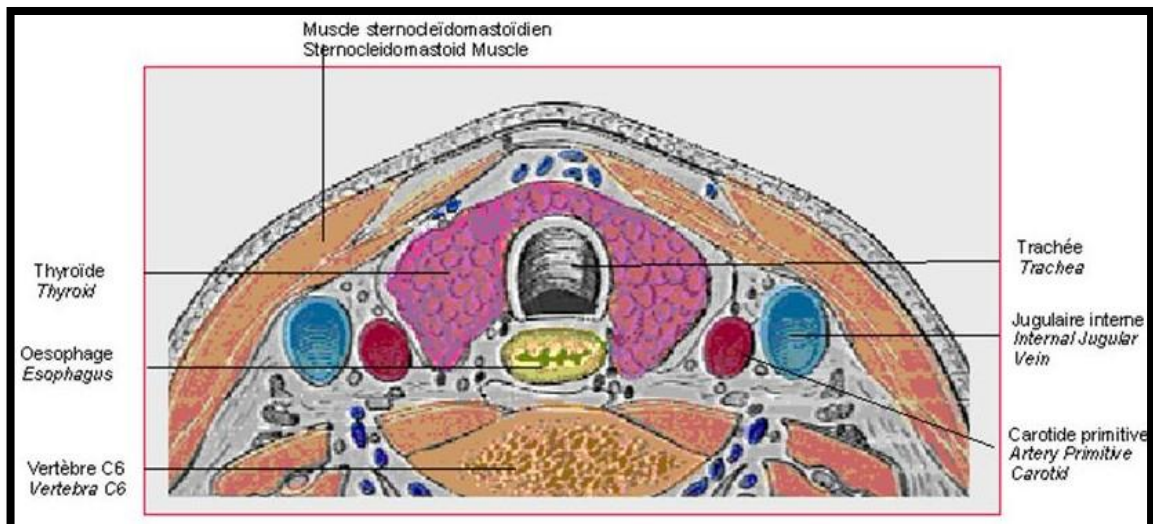


Figure 07 : Coupe transversale de la thyroïde (Ryndak-Swiercz.,2010).

2- Histologie

La thyroïde est constituée de lobules, eux-mêmes divisés en 20 à 40 follicules. Ce follicule thyroïdien, ou vésicule, est l'unité anatomique et fonctionnelle. On en trouve environ trois millions dans une glande adulte. (De Felice et Di Lauro.,2011) .

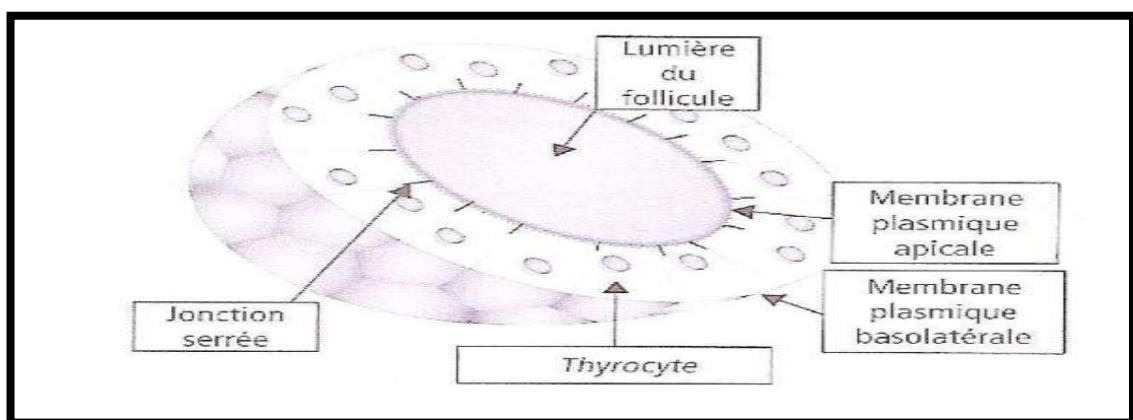


Figure 08: Structure schématique d'un follicule thyroïdien (Iullmann-rauch.,2008)

Ces follicules sont constitués d'une paroi épithéliale délimitant un espace rempli par une substance amorphe appelée colloïde. Deux types de cellule composent l'épithélium :

- les cellules folliculaires proprement dites, ou thyrocytes, responsables de la synthèse des hormones thyroïdiennes
- les cellules C ou parafolliculaires sécrétant la thyrocalcitonine (Iullmann rauch.,2008).

2-1-Cellules folliculaires

Ces cellules forment un épithélium simple, posé sur une lame de tissu conjonctif. Leur pôle apical présente des microvillosités pénétrant dans la colloïde. Le pôle basal est lui en contact avec le réseau sanguin. Cette différence entre les deux pôles permet de définir les thyrocytes comme des cellules polarisées. Cette polarité est visible également au niveau des organites intracellulaires : le noyau est localisé dans la partie basale de la cellule, entouré du réticulum endoplasmique, avec un appareil de Golgi encore au-dessus, orienté vers les microvillosités du pôle apical (Fagman et *al.*, 2011).

De plus, comme pour toute cellule sécrétoire, le réticulum endoplasmique rugueux et l'appareil de Golgi sont particulièrement développés. Les cellules folliculaires sont maintenues entre elles par des jonctions serrées ou *tight junctions*, délimitant un compartiment étanche appelé lumière folliculaire. Ces jonctions ne sont retrouvées que du côté apical.

Ce sont ces cellules qui synthétisent les hormones thyroïdiennes. Leur taille et leur morphologie varient selon l'activité de la glande :

- une cellule plate est relativement inactive, rencontrée lorsqu'il y a beaucoup de colloïde dans la lumière folliculaire .
- une cellule cubique est au contraire en état d'activité (la cellule cylindrique est rencontrée plus rarement, signe d'une hyperactivité) (Porreca et *al.*, 2012).

2-2-Cellules C ou parafolliculaires

Ces cellules sont beaucoup moins nombreuses que les thyrocytes (moins de 0,1% de parenchyme thyroïdien). Non concernées par l'activité thyroïdienne, elles ne sont pas en contact avec la colloïde, mais touchent les capillaires.

Elles sécrètent une hormone appelée calcitonine, qui a une action hypocalcémiante. Ce taux de calcitonine est utilisé comme un marqueur spécifique du cancer médullaire de la thyroïde (Tramalloni., 2011).

2-3- Colloïde

La colloïde est une masse pâteuse jaune plus ou moins abondante selon l'activité de la glande, contenue dans la lumière folliculaire. Elle constitue une réserve d'hormones thyroïdiennes (Lullmann-rauch., 2008).

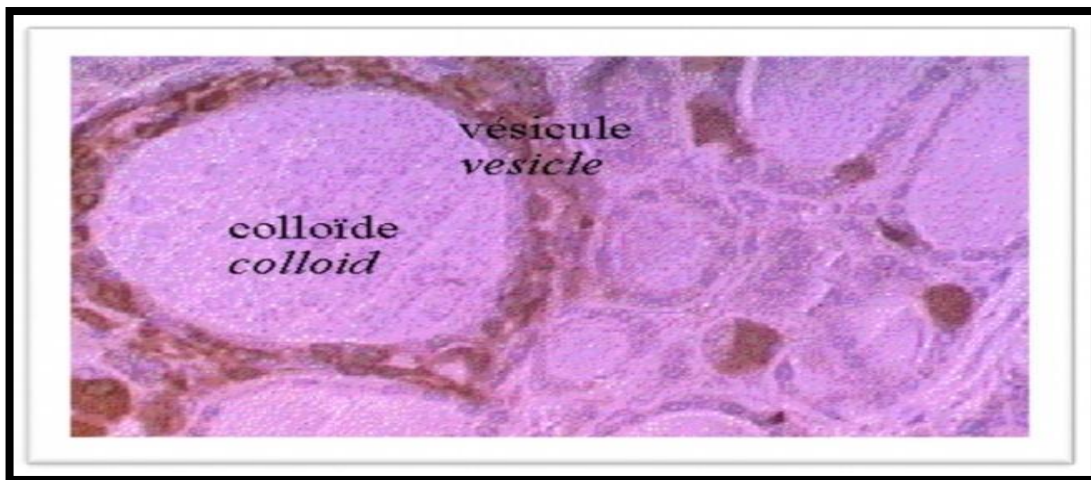


Figure 09: tissu thyroïdien sain (Tramalloni., 2011)

3-Hormonologie

3-1-Structure des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes possèdent une même structure organique : la tyrosine, formée par deux noyaux aromatiques reliés par un pont éther. Les hormones se différencient entre elles par le nombre et la place variables des atomes d'iode qu'elles portent (Brooker.,2001).

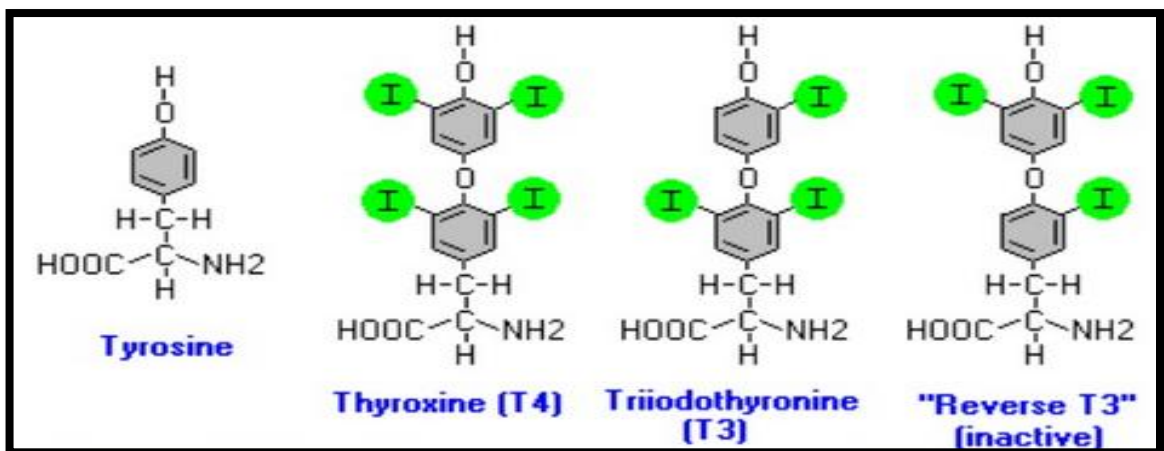


Figure10 : structure chimique des hormones thyroïdiennes (Poortmans et Boisseau.,2003)

3-2-Transport hormones thyroïdiennes

Une fois dans la circulation sanguine, les hormones thyroïdiennes se lient immédiatement aux protéines plasmatiques, dont la plus importante est la thyroxine binding globulin (TBG) produite par le foie. La T4 est moins active biologiquement que la T3, c'est pourquoi sa concentration sanguine est 10 fois plus élevée. Après la sécrétion, la plus grande partie de T4 est transformée en T3 (Modigliani et al.,1998).

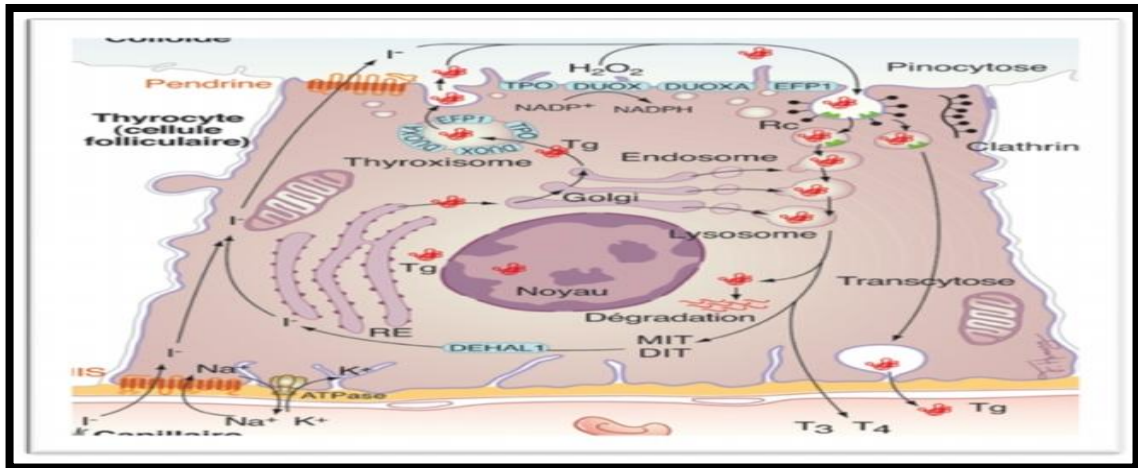


Figure11 : la biosynthèse des hormones thyroïdiennes (Vlaeminck-Guillem.,2011)

3-3- Régulation de la fonction thyroïdienne

Le principal système de régulation est représenté par l'axe thyroïdienne. Il est complété par un système d'auto-régulation thyroïdienne. Par ailleurs, le statut nutritionnel influence également la fonction thyroïdienne et en particulier le catabolisme des hormones. (Porreca et al., 2012). La TSH agit à différents niveaux:

- Elle contrôle et stimule les différentes étapes de l'hormonosynthèse.
- Elle entretient le phénotype des thyrocytes en régulant l'expression et la synthèse de thyroglobuline, des pompes à iodures et de la thyroperoxydase
- La TSH est un facteur de croissance pour la thyroïde.
- L'auto-régulation thyroïdienne correspond à des mécanismes transitoires permettant:
- Un blocage de l'iodation et de la sécrétion en cas d'excès d'iode (effet Wolf Chaikoff)
- Une plus grande sensibilité des thyrocytes à l'action de la TSH en cas de carence iode.
- La captation d'iode est d'autant plus forte et plus prolongée que la glande est pauvre en iode et inversement (Vlaeminck-Guillem.,2011).

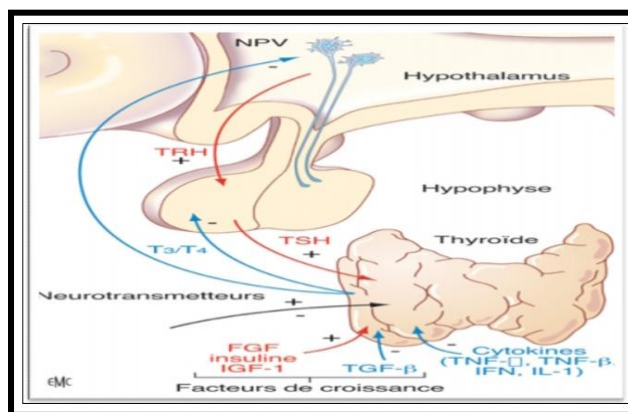


Figure12 : La Régulation centrale de la synthèse hormonale (Vlaeminck-Guillem.,2011)

3-4- Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes

Après passage transmembranaire, (et éventuellement conversion de T4 en T3), les hormones thyroïdiennes vont agir à différents niveaux:

- sites d'actions nucléaires (La T3 se lie à un récepteur cytosolique nucléotrope ; le complexe entre dans le noyau et participe à la régulation de l'expression génique).
- sites d'actions extra nucléaires (La T3 exerce des actions membranaires avec un effet facilitateur du métabolisme cellulaire potentialisation des récepteurs adrénergiques et des pompes ioniques, facilitation du passage de substrat énergétiques tels que le glucose et les acides aminés) (Guénard.,2001) .

4-Effets biologiques des hormones thyroïdiennes**4-1-Effets sur la croissance et le développement**

Les hormones thyroïdiennes sont indispensables à la croissance et au développement ,en particulier pour le système nerveux central et pour l'os (Porreca et *al.*, 2012).

4-1-1- Croissance et développement du système nerveux central

Sur le système nerveux central, leur rôle est primordial en particulier durant les premiers mois de vie. Elle participe aux mécanismes de maturation et de mise en place des connexions neuronale ainsi qu'à la myélinisation. Une carence durant cette période s'accompagne d'un retard mental pouvant être sévère (crétinisme). L'excès d'hormones thyroïdiennes est également délétère, la différenciation étant accélérée au détriment de la prolifération neuronale. Chez l'adulte, les hormones thyroïdiennes participent également au fonctionnement du système nerveux central, hypothyroïdie pouvant s'accompagner d'un ralentissement et de somnolence, l'hyperthyroïdie étant caractérisée par une excitabilité et une irritabilité(Poortmans et Boisseau.,2003).

4-1- 2Croissance et développement du squelette

Pendant la période fœtale, les hormones thyroïdiennes ne sont pas nécessaires à la croissance mais à la différenciation et à la maturation osseuse, leur absence s'accompagnant d'un retard d'apparition des centres d'ossification épiphysaires.Durant la période postnatale, les HT deviennent indispensables à la croissance et continuent de contrôler la maturation et la différenciation osseuses. Elles agissent en synergie avec l'hormone de croissance (GH). Cette dernière favorise la chondrogenèse et la croissance du cartilage, tandis que les hormones thyroïdiennes permettent la maturation et une ossification du cartilage. En outre, elles favorisent

la sécrétion de GH et potentialise les effets de l'IGF-1. L'hypothyroïdie durant l'enfance aboutit à un nanisme disharmonieux (Di Palma et *al.*, 2011; Ruiz-Llorente et *al.*, 2012).

Chez l'adulte, les hormones thyroïdiennes sont également impliquées dans les phénomènes d'ostéosynthèse et de résorption osseuse, l'hyperthyroïdie s'accompagnant d'un risque d'ostéoporose (Raven et *al.*, 2011).

4-2- Effets métaboliques

4-2-1- Métabolisme basal

Les hormones thyroïdiennes augmentent la thermogénèse obligatoire. Ainsi, l'hypothyroïdie peut s'accompagner de frilosité tandis que l'hyperthyroïdie est caractérisée par une thermophobie (Di Palma et *al.*, 2011; Ruiz-Llorente et *al.*, 2012).

4-2-2- Métabolisme protéique

Les hormones thyroïdiennes augmentent la synthèse protéique mais ont également un effet catabolisant, qui devient prépondérant à doses supra physiologiques (Parlato et *al.*, 2004).

4-2-3- Métabolisme hydro minéral

Les hormones thyroïdiennes augmentent la filtration glomérulaire et le débit sanguin rénal. L'hypothyroïdie s'accompagne ainsi d'œdème (Fagman et *al.*, 2011).

4-3- Effets tissulaires

Par leur action ubiquitaire, les hormones thyroïdiennes sont impliquées dans la régulation de très nombreuses fonctions tissulaires dont quelques exemples sont donnés ici (Parlato et *al.*, 2004).

4-3- 1-Au niveau cardiaque

Les hormones thyroïdiennes exercent un effet chronotrope positif et inotrope positif. L'hypothyroïdien est bradycardique tandis que le l'hyperthyroïdien est tachycard (Di Palma et *al.*, 2011; Ruiz-Llorente et *al.*, 2012).

4-3- 2-Au niveau digestif

Les hormones thyroïdiennes favorisent le transit. Les HT participent à la régulation de l'hématopoïèse et du métabolisme du fer (Raven et *al.*, 2011).

ETUDE EXPERIMENTAL

MATERIEL ET METHODES**1- Matériels utilisés****1- 1-Matériel végétal**

L'origine des noyaux des dattes est la région de Biskra parmi la plus productive des dattes sur le territoire national. Dans cette étude, Les noyaux étudiés proviennent des trois variétés Gars, Deglet Nour et Mech-Degla .La récolte a été réalisée en mois de Octobre 2017. Les noyaux sont séchés à l'aire libre puis finement broyés pour obtenir une poudre fine et à l'abri de la lumière. (Besbes *et al.*, 2005) .



Figure13 : Aspect de poudre et noyaux de variété de Ghars (photo personnelle, 2019).



Figure14 : Aspect de poudre et noyaux de variété de Mech-degla (photo personnelle, 2019).



Figure15 : Aspect de poudre et noyaux de variété de Deglat-Nour (photo personnelle, 2019).

1- 1-1-Situation géographique

La wilaya de Biskra connue sous le nom porte de sahara est située au sud-est Algérien a environ 470 Km au sud-est d' Alger s'étend sur une superficie de 21509.80 Km² et compte actuellement 12 daïra et 33 communes . Elle est limité au : Nord par la wilaya de Batna, le Nord-est par la wilaya de Khanchla , le Nord-ouest par la wilaya de M'sila , au Sud par la wilaya d' El oued et au sud-ouest par la wilaya de Djelfa (A.N.A.T, 2009).

1- 1-2-Présentation des stations

La Palmeraie de l'ITDAS se localise précisément dans la parcelle expérimentale de l'I.T.D.A.S (Institut Technologique de Développement de l'Agriculture Saharienne), la surface globale de la palmeraie est de 20,4 hectares, dont 14 hectares est la surface plantée par le palmier dattier le nombre total de palmiers est de 1645 et réparti comme suivant :1262 Deglet-Nour ,152 Mech-Deglet., 124 Ghars, et 107 Degoules (autres cultivars) (Anonyme., 2010).

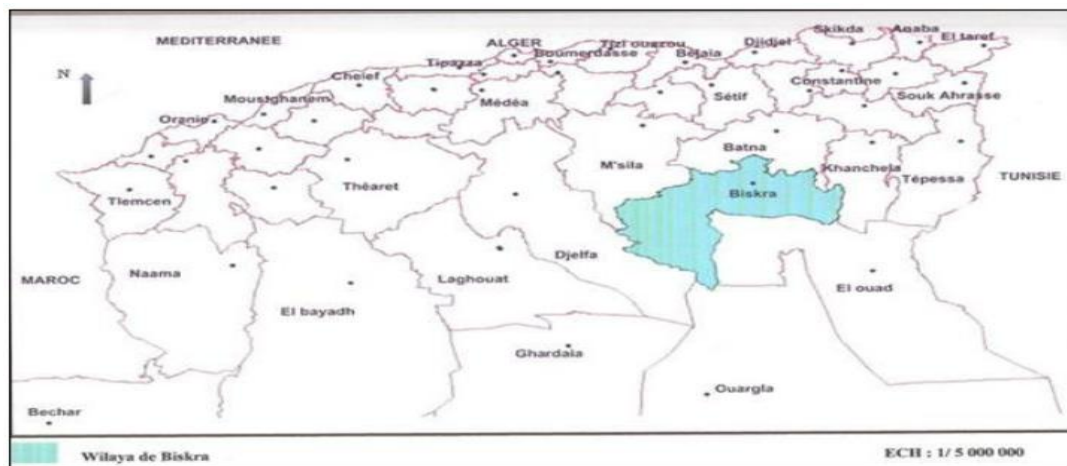


Figure 16: Situation géographique de la wilaya de Biskra(DSA.,2018)



Figure17 : Image satellite de la région Ain Ben Naoui (www.google earth.com., 2019)

1-2-Animaux

1-2-1-Animaux de laboratoire

Notre étude a été réalisée sur trente ratte femelle adultes (30 ratte) de type *Wistar Albinos* pesant de moyenne 230-250g. Ces animaux amenés de l'institut pasteur d'Alger, et élevés à l'animalerie au niveau de département de biologie, faculté de science de la nature et de vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar .El Oued.

1-2- 2-Conditions d'élevage

les ratte ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours, aux conditions de l'animalerie; où la température et l'humidité sont 24 ± 0.35 °C et $65.2\pm 0.46\%$ respectivement et un cycle de lumière obscurité de 12 h , Étaient mis dans des cages plastiques, celles-ci sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois, Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation, les animaux ont accès à volonté à la nourriture et à la boisson, l'expérience s'est déroulée sur une période de 25 jours.

1-2-3-Poids

Les ratte sont pesées chaque deux jours en utilisant une balance électronique (10-3) de type KERN EMB (2200-O) .

1-3-Xylène

Pour provoquer une intoxication chez notre modèle animal *WISTAR Albinos* et pour provoquer d'une part des perturbations au niveau des paramètres biochimiques et hormonales et d'autre part, des modifications sur l'aspect histologiques des organes précisément le foie, on a utilisé le xylène. Ce produit toxique manifeste sa toxicité sur l'organisme animal en provoquant d'importantes lésions sur plusieurs organes ; notamment le foie par conséquence des lésions de nécrose qui à long terme peuvent évoluer en cirrhoses hépatiques . On a détaillé ces informations dans la partie bibliographique .

2-Méthode suivies

2-1 -Détermination du rendement

Le rendement de la plante en extrait sec a été quantifié selon la formule :

$$\mathbf{R \% = PEB/PMV \times 100 R.}$$

R : Rendement.

PEB : Poids de l'Extrait Brut (g).

PMV: Poids de Matière Végétale(g).

2-2-Dosage des composés phénoliques totaux**Principe :**

Les composés phénoliques totaux ont été estimés selon la méthode colorimétrique basée sur le réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999). Le réactif est formé d'acide phosphotungestique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_4$) qui sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3).

Mode opératoire

Pour cela 100 μ l de l'extrait de chaque variétés des noyaux est mélangés à 200 μ l du réactif de Folin et 3,16 ml de H_2O . Le mélange est incubé à température ambiante pendant 3 minutes. Ensuite 600 μ l de la solution carbonate de sodium (Na_2CO_3) anhydre 20 % sont ajoutés au mélange. Les composés phénoliques totaux sont déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre à UV (Ultra Violets) visible après 2 heures d'incubation à température ambiante par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 765 nm. On prépare dans les mêmes conditions un témoin avec de l'eau distillée à la place de la solution de l'extrait brut. La quantification est faite selon une gamme-étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique (0 à 100 μ g/ml). Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique par ml d'extrait.

2-3-Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)**Principe**

De point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant SH, NH et OH groupes (Salah et *al.*, 1995). Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophiles très riches en composés phénoliques (Yi-Zhong et *al.*, 2006, Hatzidimitriou et *al.*, 2007). L'activité antiradicalaire des différents extraits à tester a été déterminée selon la méthode de Sanchez-moreno, (2002) qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde λ de 517 nm. (Schaich et *al.*, 2015) .

La technique consiste à mettre le radical libre DPPH (de couleur violette), en présence de l'antioxydant va être réduit et vire vers le jaune. Ce changement se traduit par une diminution de l'absorbance. La réaction de DPPH est représentée dans la figure suivante :

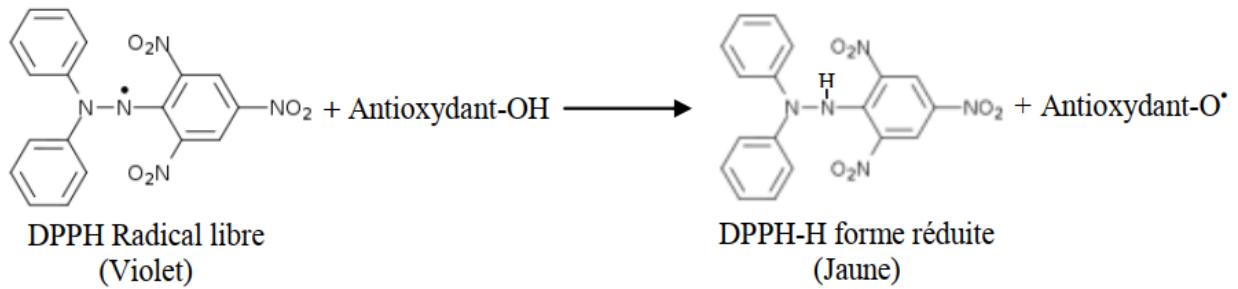


Figure18 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant.

Mode opératoire

La solution du DPPH est préparée à l'avance par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol absolu. 25 µl de l'extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 975 µl de DPPH. Des solutions d'antioxydant de référence ou acide ascorbique sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif. Le témoin négatif est constitué uniquement de DPPH et du méthanol. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min jusqu'à décoloration. Le dosage est réalisé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm. (Schaich et *al.*,2015).

Pourcentage de l'activité antiradicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ de l'activité antiradicalaire} = \frac{A1-A2}{A1} \times 100$$

A1 : Absorbance du témoin négatif sans extrait

A2 : Absorbance

2-4-Détermination de la DL₅₀ de les extraits de noyaux de dattes de trois cultivas

La DL₅₀ (Dose Létale 50) ou la dose de substance provoquant 50% de mortalité dans la une population d'organismes étudiée, pendant un temps donné. Pour l'évaluation de ce paramètre, nous avons choisi la méthode de Litchfield et Wilcoxon (1949). La DL₅₀ de les extraits de noyaux de dattes de trois cultivas n'est pas connue dans la littérature consultée ainsi la recherche d'une éventuelle toxicité de noyaux est nécessaire. Pour ce faire, des solutions à différentes concentrations (500, 1000, 2000 mg/kg/j) de les extraits de noyaux de dattes de trois cultivas, sont préparées dans une solution d'eau physiologique stérile (NaCl 0.9%) puis administrées à raison d'un volume de 1 ml par gavage à l'aide d'une sonde à trois lots de six souris ($n = 6$). Un

quatrième lot servant de témoin est gavé à l'aide de la solution physiologique sans extrait. en présence de l'extrait.

2-5-Protocole expérimental

2-5-1- Préparation de l'extrait aqueux

Pour assurer une bonne comparaison entre l'activité de xylène et les noyaux des dattes on a choisi la dose de la variété 100mg de poudre des trois variétés différent des dattes dissous dans 10ml d'eau filtre bouillante et laisser pendant 30min , Après filtration sur papier filtre (Lecheb ., 2010).

2-5-2-Préparation de xylène

Les animaux de la laboratoire sont reçoives une dose de 1.2ml/kg/j de xylène cette dose est mélangée avec Léau du boire dans la biberon de100ml . (Elovaara et *al.*, 1989)

2-5-3-Traitement des animaux :

Après une phase d'adaptation de 15 jours, Les rattes sont répartissent en cinq (05) groupes, gardés dans les mêmes conditions à raison de six rattes pour chaque lot (n=06), il s'agit :

Groupe 1: témoin sain (Témoin) : les rattes témoins ont reçu un régime standard pendant 25 jours .Groupe 2: recevant chaque jour un 1.2 ml de xylène dans l'eau de 08.00 Am jusqu'a 16.00 Pm et le reste de jour recevant juste l'eau sans xyléne .Groupe 3, 4 et 5: recevant chaque jour la dose de xyléne (1.2ml) de 08.00 Am a jusqu'à 16.00 Pm et le reste de jour recevant les extraits des noyaux des trois variétés Ghars Mch deglat et Deglet Nour avec une dose de l'ordre de 100mg/kg/j dans l'eau.

Tableau04: résumé du protocole experimental suivi et concentrations utilisées

	Xylène (1.2ml/kg/j)	Variété1:Ghars (100mg/kg/j)	Variété2:Mech Deglet(100mg/k g/j)	Variété3:Deglet Nour(100mg/kg/j)	Eau
Lot : T₀	-	-	-	-	+
Lot : Xylène	+	-	-	-	+
Lot : X+V₁	+	+	-	-	+
Lot : X+V₂	+	-	+	-	+
Lot : X+V₃	+	-	-	+	+

2-5-4-Prélèvement de sang

Les individus sont sacrifiés au bout du 16^{ème} jour, 24 heures après la dernière administration des extraits étaient préparés. Les animaux sont sacrifiés par décapitation après l'anesthésie par l'éther. Le sang est recueilli dans des tubes héparines puis centrifugé par Centrifuge (Modèle SIGMA) à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Le sérum est récupéré puis conservé au froid (4°C) en vue des analyses biochimiques et des analyses hormonales.

2-5-5-Prélèvement du foie

L'extraction du foie se fait par dissection de l'abdomen. Après prélèvement, le foie est bien rincé par une solution physiologique, puis mesuré le poids relatifs de foie.

2-6-Dosage des paramètres biochimiques et hormonales

Les paramètres analysés sont: Glutamate Oxaloacétate-Transaminase (TGO), Transaminase glutamique pyruvique (TGP). Phosphatase Alcaline (PAL), Urée, Créatinine, Cholestérol, Triglycéride, Glucose, Protéine Totaux, Bilirubine, TSH, FT3 et FT4. Les dosages sont réalisés grâce à un analyseur automatique Technicon R.A.-1000. Les mesures sont effectuées à une longueur d'onde caractéristique pour chaque dosage. Le dosage des paramètres biochimiques analysés est accompli par des kits "Bio Maghreb" mais les hormones accompli par DiaSorin. Les détails des méthodes analytiques utilisées pour les analyses biochimiques sériques et hormonales sont présentés dans les annexes.

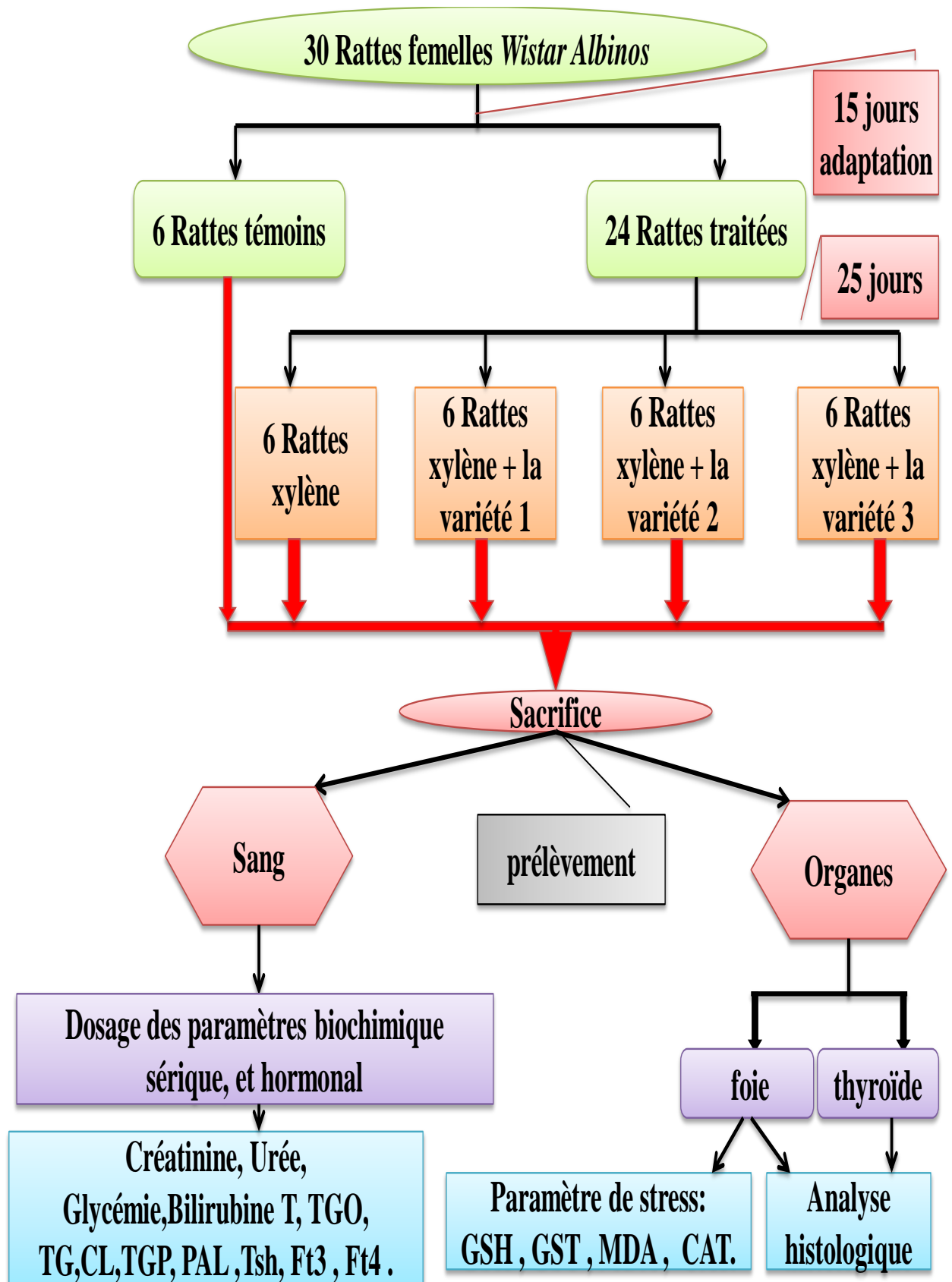


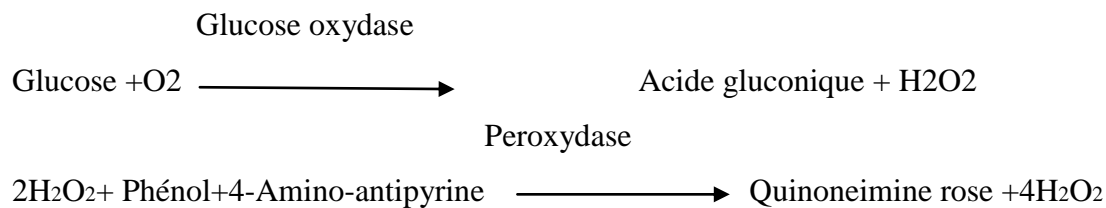
Figure 19: Schéma récapitulatif du protocole expérimental .

2-6-1-Méthodes de dosage des paramétrés biochimiques sérique

1-Dosage de la glycémie

Principe

La glycémie est la détermination enzymatique du glucose se fait selon les réactions suivantes (SHEN., 2009) :



2-Méthode de dosage de bilirubine totale

Principe

La bilirubine totale a été déterminée suivant la méthode d'acide sulfanilique. Réaction entre la bilirubine et l'acide sulfanilique diazoté qui conduit à un composé, l'azobilirubine, coloré en milieu très acide ou basique. Principe de Malloy-Evelyn modifié par Walters et al., 1970 en solution aqueuse, seule la BD réagit. Pour doser la BT il est nécessaire de rompre la liaison entre la bilirubine indirecte et l'albumine. Cette étape est réalisée par l'addition de diméthyl sulfoxyde (DMSO). L'absorbance de l'azobilirubine ainsi produite est proportionnelle à la concentration en bilirubine et est mesurée à 550 nm (530-580) (Walters & Gerarde., 1970).

3-Méthode de dosage de créatinine

Principe

La créatinine a été déterminée suivant une méthode cinétique colorimétrique sans déprotéinisation. 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 (Larsen., 1972).

4-Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (AST)

Principe

Le dosage de l'activité de l'Aspartate aminotransférase (AST ou TGO) est selon une méthode développée par Karmen et optimisée par Henry (Conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant:

AST

$$\text{L-Aspartate} + \text{2-Oxoglutarate} \longrightarrow \text{Oxaloacétate} + \text{L-Glutamate}$$

MDH

$$\text{Oxaloacétate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{L-Malate} + \text{NAD}$$

La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD est proportionnelle à l'activité AST dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (Henry., 1960).

5-Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT)

Principe

Le dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT ou TGP), est selon une méthode développée par Wroblewski et La Due, et optimisée par Henry et Bergmeyer (conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant:

ALT

$$\text{L-Alanine} + \text{2-Oxoglutarate} \longrightarrow \text{Pyruvate} + \text{L-Glutamate}$$

LDH

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{L-Lactate} + \text{NAD}^+$$

La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺ est proportionnelle à l'activité ALT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (Bergmeyer., 1978).

6-Méthode de dosage de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL)

Principe

L'activité de la phosphatase alcaline a été déterminée suivant une méthode cinétique p-Nitrophénylphosphate DGKC. La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (pNPP) à pH 10,4 libérant du p-nitrophénole et du phosphate en fonction de la réaction suivante:

PAL

$$\text{p-Nitrophénylphosphate} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{p-Nitrophénole} + \text{Phosphate}$$

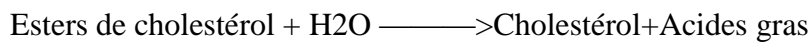
La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé (Rosalki., 1993).

7-Méthode de dosage de cholestérol total

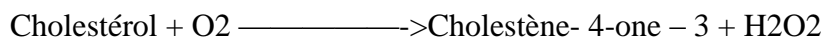
Principe

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phenol et de peroxydase. Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :

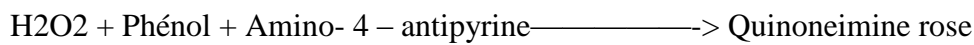
Cholestérol estérase



Cholestérol oxydase



Péroxydase



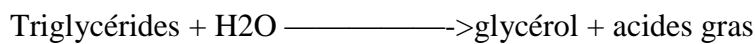
La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol (Allain C. C. et *al.*, 1974).

8-Méthode de dosage de Les triglycérides

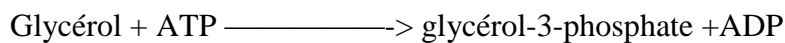
Principe

Les triglycérides sont dosés après hydrolyse enzymatique par des lipases. L'indicateur est une quinone-imine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de 4-aminophénazone et de 4 chlorophénol, la réaction étant catalysée par la peroxydase.

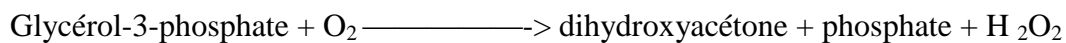
Lipases



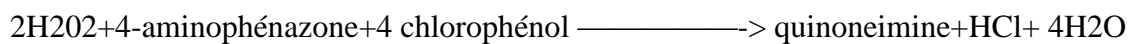
GK



GPO



POD



(Fossati P., Prencipe L.,1982) .

2-6-2-Méthodes de dosage des paramétrés hormonales

1-Dosage de thyroéotrope (TSH)

Principe

La méthode de détermination quantitative de la TSH est un dosage immunologique par chimiluminescence de type sandwich. Les particules magnétiques (phase solide) sont revêtues d'un anticorps monoclonal de souris spécifique ; un autre anticorps monoclonal est lié à un

dérivé de l'isoluminol (conjugué isoluminol-anticorps). Pendant l'incubation, la TSH présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles se lie à l'anticorps monoclonal de la phase solide, puis le conjugué réagit avec la TSH déjà liée à la phase solide. Après l'incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage. Ensuite, la réaction de chimiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs Starter dans les modules réactionnels. Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU, relative light units) et indique la concentration de TSH présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

2-Dosage de triiodothyronine (T3)

Principe

La méthode de détermination quantitative de la FT3 repose sur la méthode SPALT (Solid Phase Antigen Linked Technique). Les particules magnétiques (phase solide) sont revêtues d'un complexe T3-protéine ; un anticorps monoclonal est lié à un dérivé de l'isoluminol (conjugué). Pendant la première incubation, l'hormone libre (FT3) présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles se lie à l'anticorps monoclonal (conjugué). Pendant la seconde incubation, le conjugué réagit avec le complexe T3-protéine lié à la phase solide. Après l'incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage. Ensuite, la réaction de chemiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs starter dans les modules réactionnels. Le signal lumineux, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU, relative light units) et indique la concentration de la FT3 présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

3-Dosage de thyroxine (T4)

Principe

La méthode de détermination quantitative de la FT4 repose sur la méthode SPALT (Solid Phase Antigen Linked Technique). Les particules magnétiques (phase solide) sont revêtues d'un complexe T4-protéine ; un anticorps monoclonal est lié à un dérivé de l'isoluminol (conjugué anticorps-isoluminol). Pendant l'incubation, la FT4 entre en compétition avec le complexe T4-protéine pour les sites de liaison sur l'anticorps marqué. Après l'incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage. Ensuite, la réaction de chimiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs Starter dans les modules réactionnels. Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un

photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU, relative light units) et indique la concentration de FT4 présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

2-7-Dosage des enzymes antioxydants du foie

L'évaluation du stress oxydatif au niveau du foie a été déterminée par les paramètres suivant : Protéines tissulaires, Glutathion (GSH), Glutathion S-Transférase (GST) et la Catalase (CAT) malondialdéhyde (MDA) tissulaires .

1-Préparation de l'homogénats des organes

Un gramme de tissu (foie) de chaque rat des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris-Buffered Saline) (Tris 50 MmNaCl 150m M, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (3000 tours/min, 15 min) à l'aide de centrifugeuse horizontale de type SIGMA, puis le surnageant obtenu est conservés à -20°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

2- Dosage des protéines tissulaire

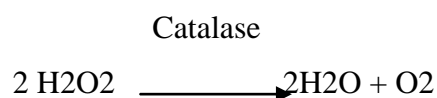
Principe

Le dosage des protéines par la méthode de (Bradford,1976) permet de déterminer des concentrations tissulaires de protéines. C'est une méthode colorimétrique, qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif qui s'associe au groupement amine (-NH₂) des résidus protéiques pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines). L'absorption est mesurée à 595nm à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique de type SHIMADZU AA-6200.

3–Dosage de la catalase (CAT)

Principe

L'activité enzymatique de la catalase est déterminée par la méthode de Clairborne (1985). Le principe est basé sur la disparition de l'H₂O₂ en présence de la source enzymatique à 25 C° selon la réaction suivante :



Mode opératoire

Un mélange est constitué de 750 µl de tampon phosphate (0.1 M, pH 7.4), 200 µl de H₂O₂ fraîchement préparé (500 mM) et de 50 µl de la source d'enzyme (homogénat à doser). L'absorbance est lue deux fois à 240 nm chaque 15 secondes à l'aide d'un spectrophotomètre type GENENSYS 8 et l'activité enzymatique est calculée en µmoles par minute et par mg de protéine (µmoles/min/mg de protéine) selon la formule suivante :

$$\text{Activité catalase} = \frac{\Delta Do/mn}{0,040 \times \text{mg de protéines dans la cuve}} = \mu\text{moles/min/mg de protéine}$$

On utilise le coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée à 240 nm = 0,040 cm⁻¹.mmiles⁻¹.

4–Dosage du glutathion (GSH)**Principe**

Le dosage du GSH est basé sur la méthode colorimétrique de Wechberker et Cory (1988). Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm .

Mode opératoire

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M [7,448 g EDTA, 1000 ml eau distillée]. Afin de protéger les groupements thiol du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % [0,25 g ASS, 100 ml eau distillée] où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Après agitation, le mélange est plongé dans un bain de glace pendant 15 min, puis centrifugé à 1000 trs/min (Centrifugeuse SIGMA 6k15) pendant 5 min. Une partie aliquote de 500 µl de surnageant récupéré est ajoutée à 1 ml du tampon tris/EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm (Spectrophotomètre GENENSYS 8) après 5 min de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où le surnageant est remplacé par de l'eau distillée. Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do}{13,1} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : Micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (μM / mg de protéines).

ΔDo : Différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1 : Coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH).

Vd : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : Volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

Vt : Volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris/EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : Volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

5–Dosage du glutathion S-transférase (GST)

Principe

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.*, (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm par spectrophotométrie visible/UV.

Mode opératoire

Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6), puis centrifugé à 14000 trs/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage consiste à faire réagir 200 μl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GST (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 min à une longueur d'onde de 340 nm (Spectrophotomètre GENENSYS 8) contre un blanc contenant 200 μl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do / mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines).

ΔDo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB.

Vt : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH]

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

6-Dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires

Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532nm à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique de type SHIMADZU AA-6200 (Yagi, 1976).

Mode opératoire

Prélever 100ul d'échantillon (homogénat) et 400ul de réactif TBA (Thiobarbiturique) dans les tubes à essai en verre et à vis, et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie de type MEMMERT à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Après centrifuger par centrifugeuse horizontale de type SIGMA à 3000 tours/minutes pendant 5minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique de type SHIMADZU AA-6200.

Expression des résultats

La concentration de TBARS (Thiobarbiturique Substance Réactif) a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol/l}$. $\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = (\text{Do échantillon} / 1.53 \times 10^5) / \text{mg de protéine}$.

2-8- Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire "ABI MILOUD HISTOPHATOLOGIE" à touggourt, la technique utilisée est celle décrite par Houlot (1984).

- Préparation des blocs

Les fragments de foie préalablement fixés dans le formol à 10 % sont disposés dans des cassettes qui sont ensuite placées dans un automate (Leica TP1020). Les fragments d'organes sont d'abord déshydratés par submersion dans des bains d'éthanol à des concentrations croissantes (60 %, 70 %, 80%, et 100%). les échantillons subissent deux bains de xylène et deux autres de paraffine fondue. Le xylène occupe la place de l'eau et par conséquent facilite la pénétration de la paraffine puisque cette dernière est hydrophobe. La durée des bains est de 24 heures. A l'aide d'un appareil d'inclusion, les échantillons du foie sont placés dans des moules métalliques et recouverts de paraffine fondue. Après refroidissement, les blocs sont prêts à la coupe.

-Réalisation des coupes et coloration

Les blocs sont placés dans le microtome afin de réaliser des coupes de 3µm d'épaisseur. A l'aide d'une pince très fine, les coupes sont placées sur des lames qui sont ensuite déparaffinées par chauffage à l'étuve pendant une heure. Pour mettre en évidence les hépatocytes, les coupes sont d'abord réhydratées par submersion successive dans les bains suivants : bain de xylène (5 min), bains d'éthanol (5 min). Après rinçage dans de l'eau distillée (5 min), les coupes réhydratées sont placées dans un bain d'hématoxyline (5 à 6 min) pour colorer les noyaux. L'excès de colorant est enlevé par un bain d'eau additionné de quelques gouttes d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH), ensuite elles sont mises dans un bain d'éosine (5 min) pour colorer le cytoplasme et l'excès de colorant est enlevé par l'éthanol. Les lames ainsi colorées sont couvertes de lamelles et prêtent à l'observation microscopique.

2-9-Analyses statistiques

L'évaluation statistique est effectuée par le test *T student*. Les résultats sont donnés sous forme des moyennes et écart-types pour 30 rattes n=6. Alors, en utilisant des logiciels *MINITAB.18* et *EXCEL* qui nous aide pour faire ce travail, et le résultat de comparaison comme suivant:

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative,
- (*, a, α) $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative,
- (**, b, β) $0,01 > P > 0,001$ = la différence est hautement significative,
- (***, c, γ) $P < 0,001$ = la différence est très hautement significative

1- Résultats

1-1-Rendement de l'extrait des noyaux de trois variétés des dattes

Les moyens du rendement de l'extrait aqueux a été calculé en fonction de poudre de noyau de cultivar Ghars et Deglet-Nour et Mech-Deglat .

Tableau (04) : Rendement de l'extrait de trois variétés des noyaux des dattes .

	V ₁	V ₂	V ₃
Le rendement (%)	3.16	4.55	2.07

1-2-Teneur des composés phénoliques totaux dans l'extrait des noyaux des dattes

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait de trois variétés des noyaux des dattes à été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence, l'acide gallique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique par ml d'extrait (mg EAG/ml d'extrait). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,99$.

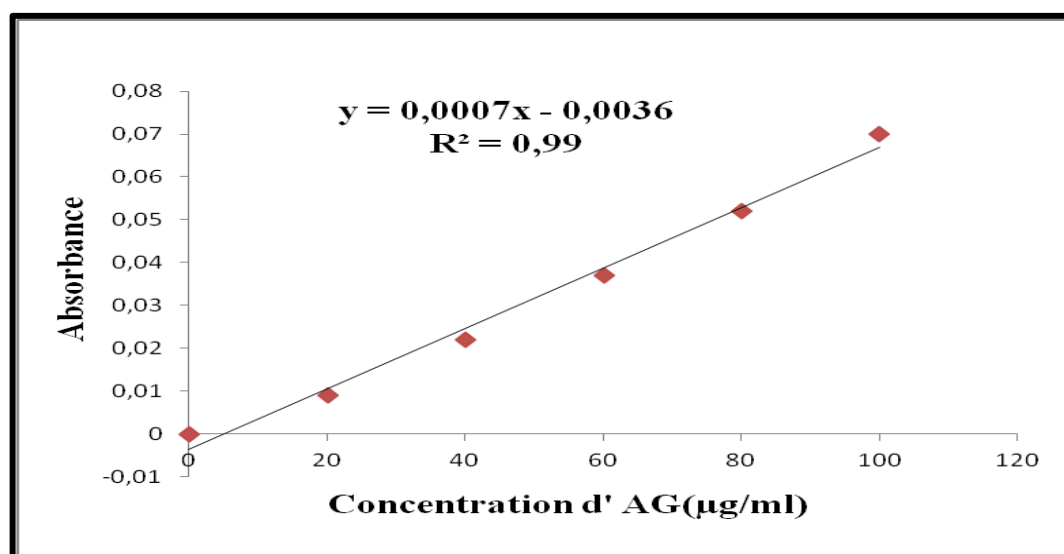


Figure (20) : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

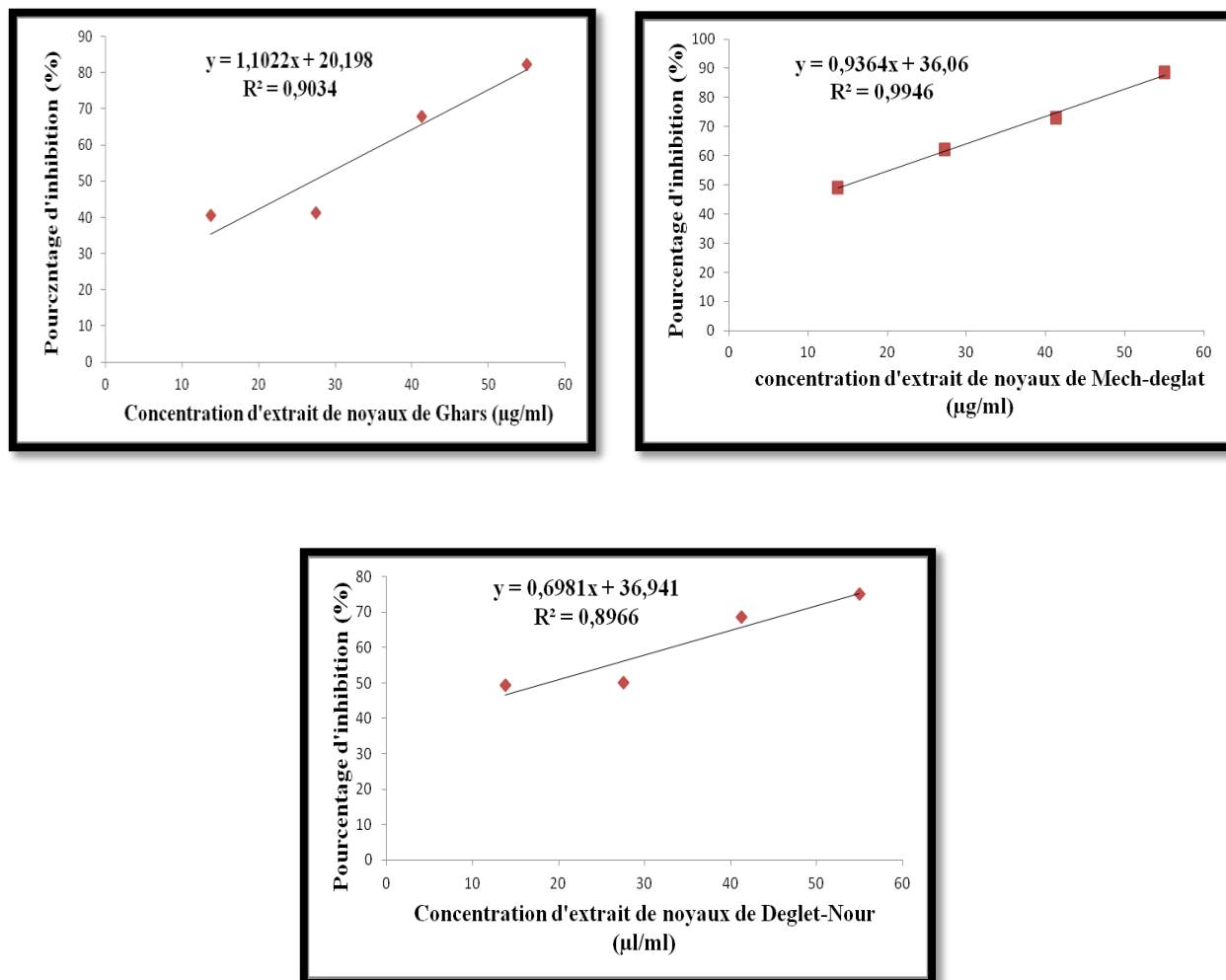
Tableau (05) : Teneur en composés phénoliques variétés des noyaux des dattes .

	Teneur en composés phénoliques (mg EAG/ml dE)		
	Moy ± ES		
Variétés	V1	V2	V3
l'extrait brut de trois variétés de noyaux de dattes	0,129±0,00473	0,13267±0,00318	0,169±0,00252

1-3-Etude de l'activité antioxydant

✓ Test du piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydant de notre extrait de trois cultivars a été évaluée par test DPPH ; Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans la courbe d'étalonnage .



Figure(21) : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits de trois cultivars

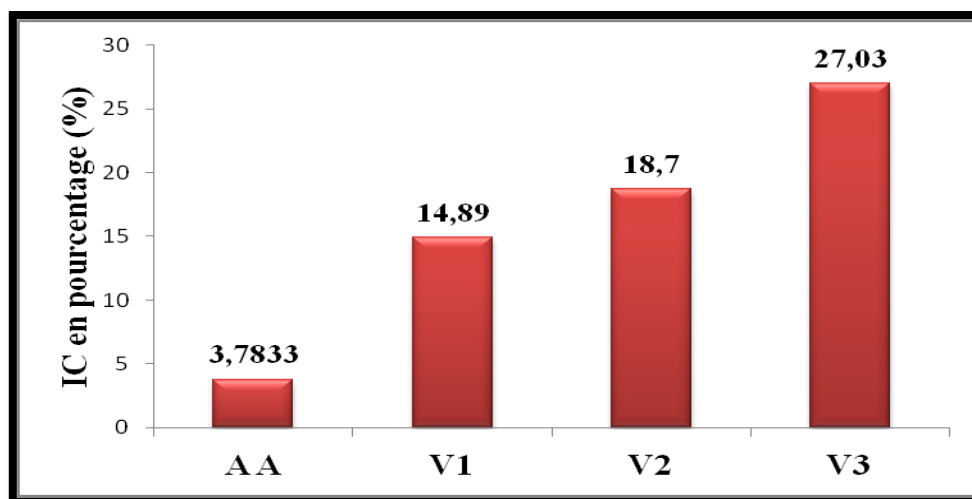


Figure (22): Valeur IC₅₀ de trois extraits des cultivars et de composé standard (acide ascorbique)

1-4-Détermination de la DL₅₀ de Les extraits des noyaux de trois cultivars

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau (06): Taux de mortalité des souris en fonction des concentrations de Les extraits des noyaux de trois cultivars

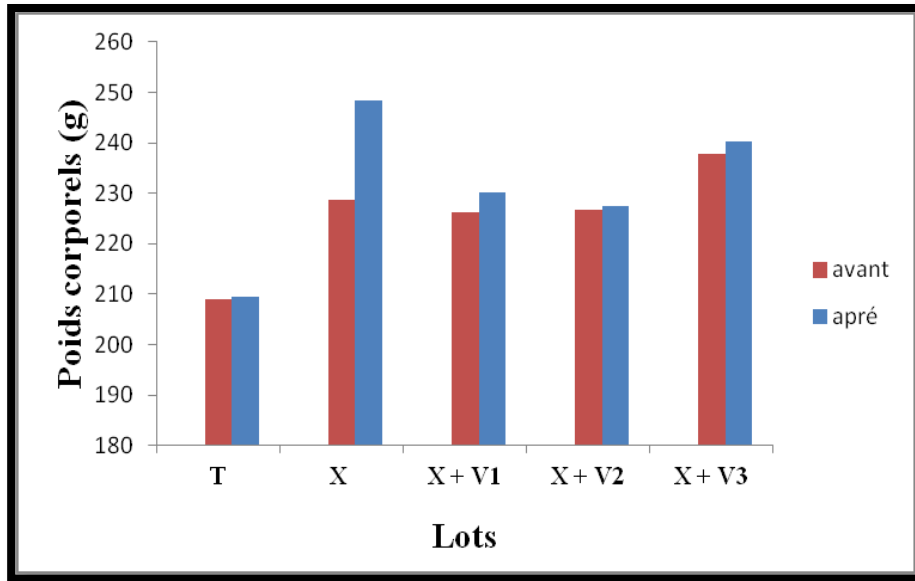
Lots	Traitements	Nombre de morts
Lot 1 : noyaux de variété Ghars	500 mg/kg d'extrait	0/6
	1000 mg/kg d'extrait	0/6
	2000 mg/kg d'extrait	0/6
Lot 2 : noyaux de variété Mech-Deglat	500 mg/kg d'extrait	0/6
	1000 mg/kg d'extrait	0/6
	2000 mg/kg d'extrait	0/6
Lot 3 : noyaux de variété Deglat-Nour	500 mg/kg d'extrait	0/6
	1000 mg/kg d'extrait	0/6
	2000 mg/kg d'extrait	0/6

1-5- Effets de xylène sur les paramètres de la croissance globale des animaux

Les résultats de l'évaluation des paramètres de croissance en terme de poids corporel, le poids relatif durant les 25 jours de traitement des différents groupes des animaux par le xylène sont illustrés par des figures .

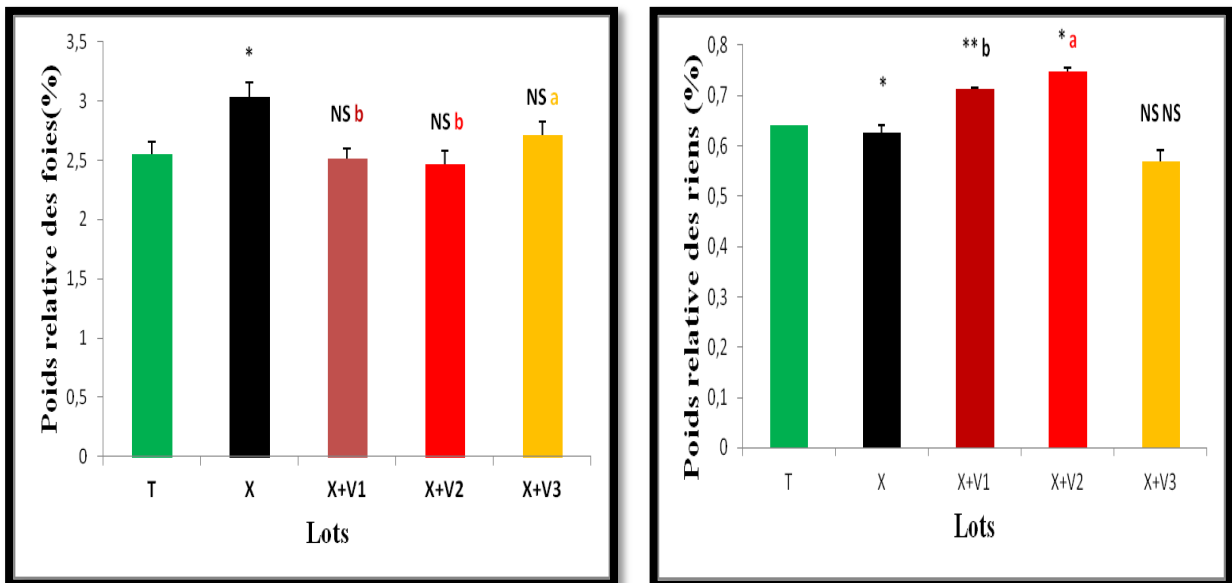
1-5- 1-Poids corporel

Les résultats de l'évaluation du poids corporel chez les différents groupes traités durant 25 jours par le xylène (Figure 23).



Figure(23) : Poids corporel (PC) chez les rats témoins et traités: Différence entre poids initial et final .

1-5-2-Poids relatif (PR) :



Figure(24) : Poids relatif des organes (foie, reins,) après 25 jours de traitement par le xylène.

Comparaison avec groupe témoin (T): *p < 0,05 ; ** p<0,01.

avec groupe traité par l'xylène : a p < 0,05 ; b p < 0,01.

D'après notre résultats on observe une augmentation significative (p<0,05) de poids relatif du foie et une diminution significative (p<0,05) de poids relatif du rein chez le groupe toxique seulement par rapport le témoin , le résultats obtenir après le traitement par les trois types des cultivars montrent une diminution hautement significative de poids relatif du foie chez les groupes traités par les cultivars Ghars et Mech-Deglet ,et diminution significative de poids relatif

du foie chez les groupes traités par les cultivars Deglet-Nour par rapport au groupe toxique par xylène .

Ainsi, le traitement par les trois types des cultivars montrent une augmentions hautement significative ($p < 0,01$) de poids relatif du rein chez les groupes traités par les cultivars Ghars ,et augmentation significative de poids relatif du rein chez les groupes traités par les cultivars Mech Deglet , et n'ont aucun effet significative sur le poids relative de rein chez les groupes traités par les cultivars Deglet-Nour par rapport au groupe toxique par xylène.

1-6-Effets de xylène et les trois variétés des noyaux des dattes sur les enzymes sériques :

Les résultats obtenus suite à l'évaluation des enzymes sériques sont illustrés dans (la figure 2

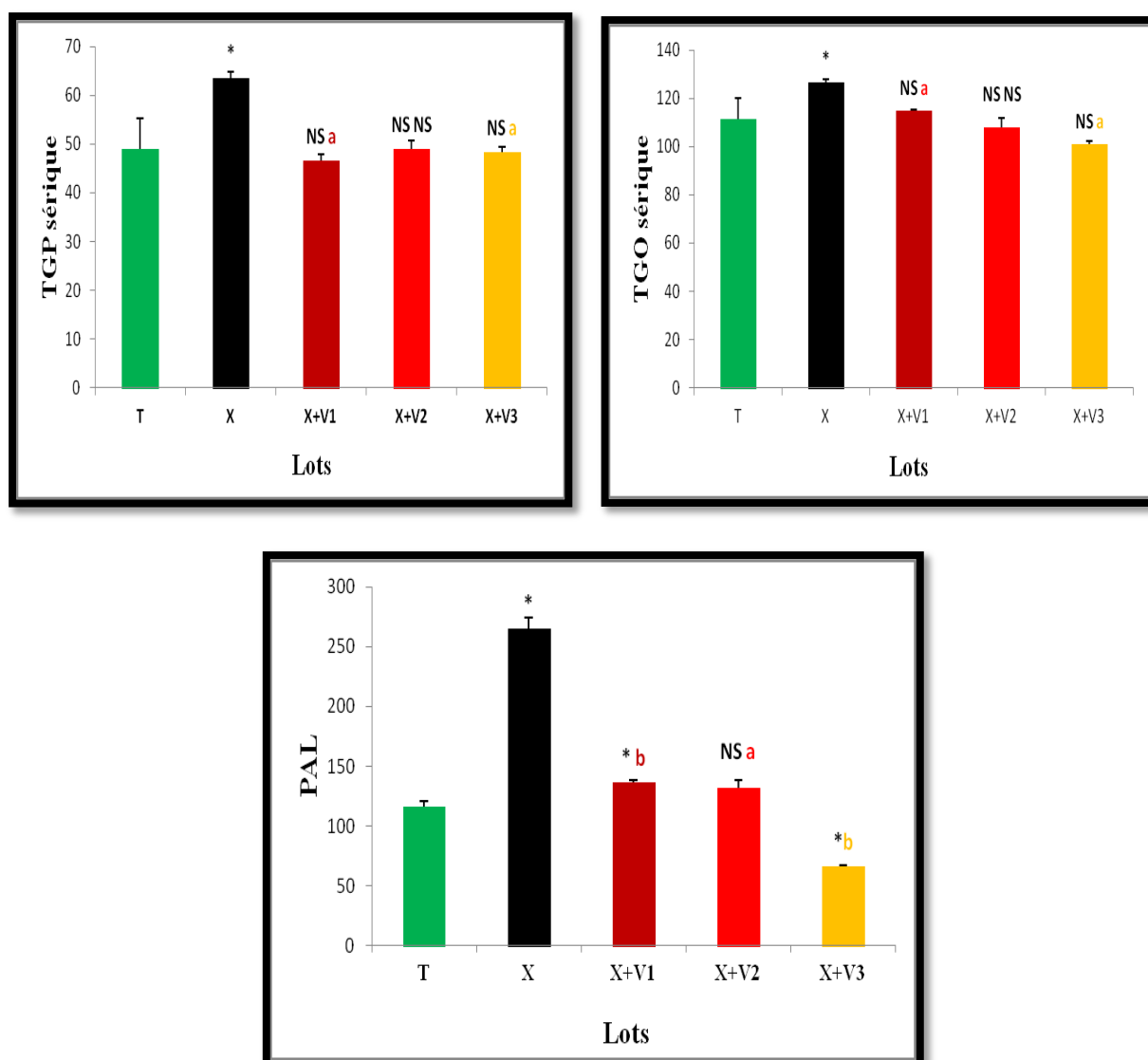


Figure (25) : Activité enzymatique de TGO, de TGP et de phosphatase alcaline chez le groupe témoin et les groupes traités.

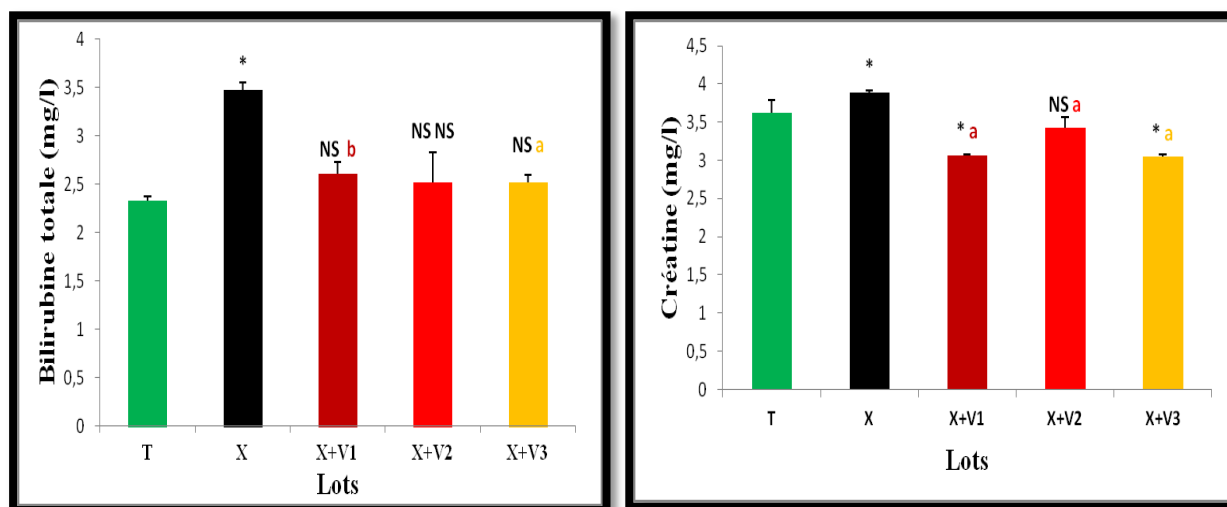
Comparaison avec groupe témoin (T): *p < 0,05 ; ** p<0,01.

avec groupe traité par le xylène :a p < 0,05 ; b p < 0,01.

Nos résultats montrent une augmentation significative de l'activité de TGO, TGP et phosphatase alcaline (PAL) chez le groupe l'xylène seulement par rapport au témoin. Ainsi, les résultats obtenus montrent que après le traitement par les cultivars Ghars et Deglet- Nour provoque une diminution significative de l'activité de TGO, TGP et hautement significative de l'activité phosphatase alcalin par rapport le groupe contaminé par le xylène et le groupe qui traité par le cultivars Mech- Deglet provoque une diminution non significative de l'activité de TGO, TGP et significative de l'activité phosphatase alcalin par rapport le groupe traité par le xylène.

1-7- Effets de xylène et les trois variétés des noyaux des dattes sur les paramètres biochimiques

Les résultats obtenus suite à l'évaluation des paramètres biochimiques sont illustrés dans le (figure 26).



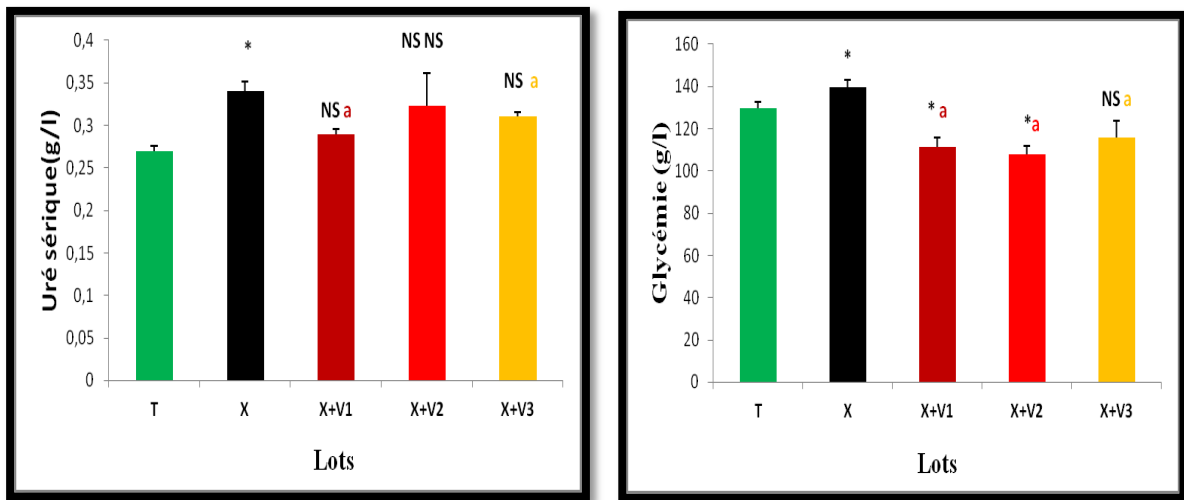


Figure (26): Concentration sérique du glucose, bilirubine totale, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités

comparaison avec le groupe témoin, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

comparaison avec le groupe du xylène ,a $p < 0,05$; b $p < 0,01$

Pour la glycémie, les résultats obtenus montrent une augmentation significative chez le groupe toxique par rapport au témoin .Le traitement par les cultivars Ghars et Deglet-Nour aux rattes intoxiquées par le xylène a induit une diminution hautement significative de la glycémie et une diminution significative chez les groupes traités par cultivar Mch-Deglet par rapport au groupe toxique par xylène .

La concentration de la bilirubine totale augmentation de façon significative chez le groupe toxique seulement par rapport au témoin ,et le traitement par la cultivars Ghars aux rattes intoxiquées par le xylène a induit une diminution hautement très significative de la concentration de la bilirubine totale et une diminution significative chez les groupes traités par cultivar Deglet-Nour et pour les groupes traités par cultivar Mch-Deglet les résultats montrent une diminution non significative par rapport au groupe toxique par xylène .

Notre étude indique une augmentation significative de la concentration de la créatinine et urée sérique chez le groupe contaminé par le xylène par rapport au témoin ,et la diminution des concentrations de la créatinine et urée sérique de façon significative chez les groupes traités les cultivars Ghars et Deglet-Nour par rapport au groupe traité par le xylène , mais traitement par la cultivars Mch-Deglet aux rattes intoxiquées par le xylène induit une diminution significative de la concentration de la créatinine et non significative de urée sérique par rapport au groupe toxique par xylène .

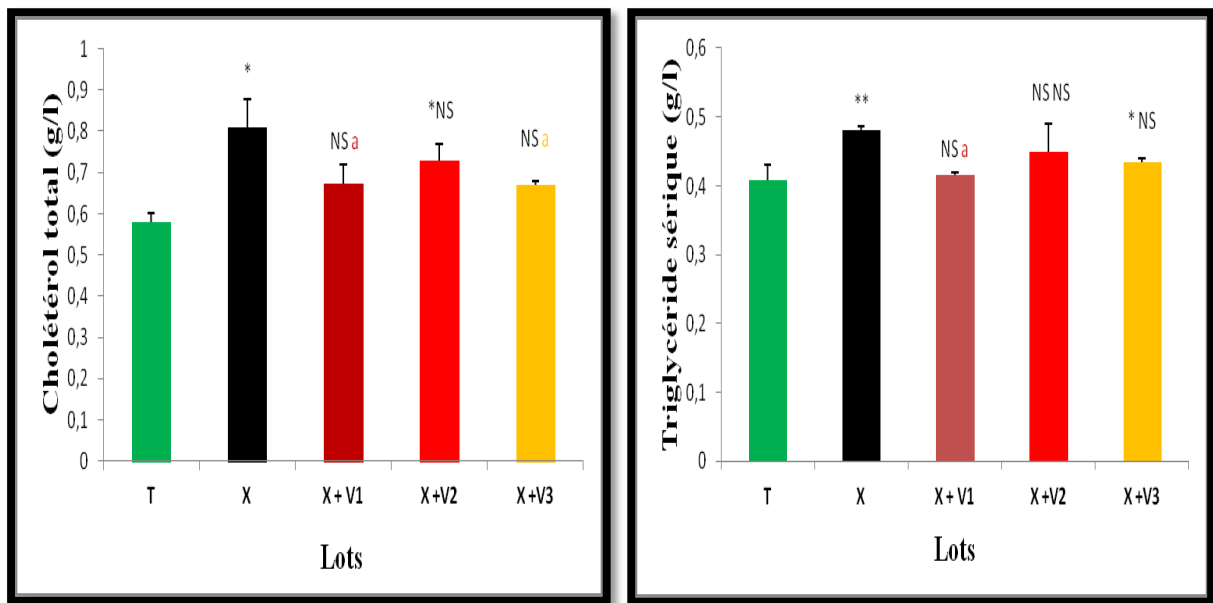


Figure (27): Concentration sérique du triglycéride et cholestérol total chez le groupe témoin et les groupes traités.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ comparaison avec le groupe témoin.

a $p < 0,05$; b $p < 0,01$ comparaison avec le groupe de le xylène .

Les résultats montrent une augmentation hautement significative de triglycéride dans le foie chez le groupe contaminé par le xylène uniquement par rapport au groupe témoin. et le résultats obtenir après le traitement par la cultivars Ghars montrent une diminution significative de triglycéride chez le groupe traité par la cultivars Ghars , et le traitement par les cultivars Deglet-Nour et Mch-Deglet montrent une non significative de triglycéride chez les groupes traité par les cultivars Deglet-Nour et Mch-Deglet par rapport au groupe toxique par xylène .

Notre étude indique une augmentation significative de cholestérol dans le foie chez le groupe contaminé par le xylène seulement par rapport au groupe témoin. et le résultats obtenir après le traitement par les cultivars Ghars et Deglet-Nour montrent une diminution significative de cholestérol, et le traitement par la cultivars Mch-Deglet montrent une diminution non significative de triglycéride par rapport au groupe toxique par xylène .

1-8- Effets de xylène et les trois variétés des noyaux des dattes sur des paramètres de stress oxydant chez les rattes :

1-8-1- Etude de la peroxydation lipidique MDA et le glutathion réduit GSH :

Les résultats obtenus suite à l'évaluation MDA et GSH illustre sont dans le (figure 28).

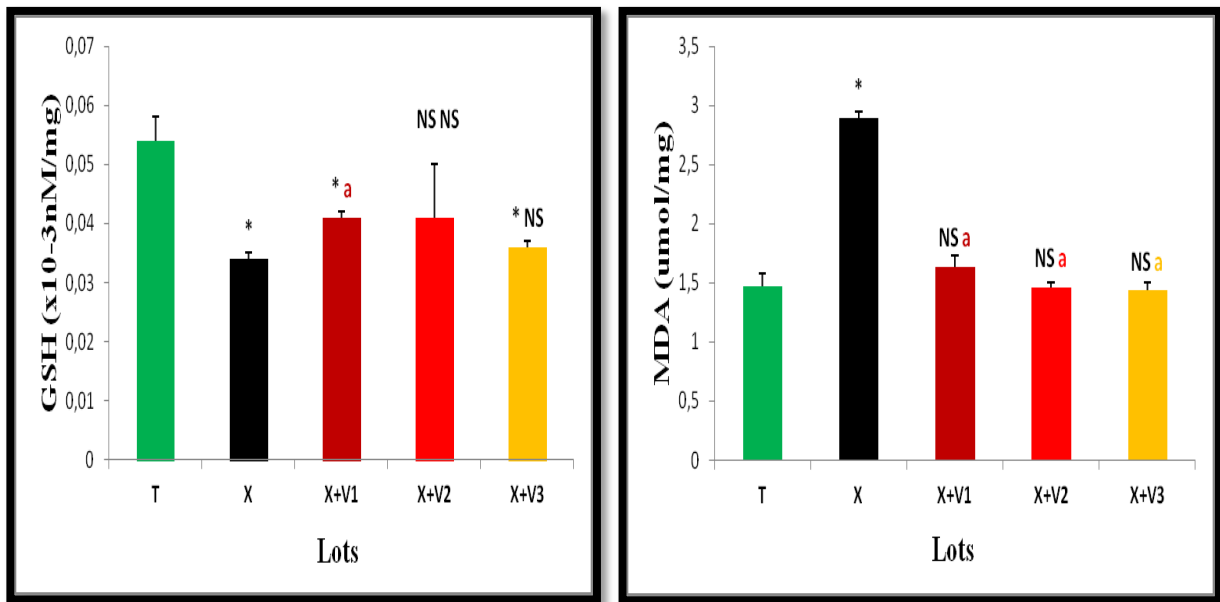


Figure (28):Concentrations tissulaires de Malondialdéhyde (MDA) et glutathion réduit (GSH) chez le groupe témoin et les groupes traités.

*p < 0.05 ; **p < 0.01 comparaison avec le groupe témoin.

a p < 0.05 ; b p < 0.01 comparaison avec le group traité par xylène.

Les résultats clarifient une augmentation significative de concentrations MDA dans le foie chez le groupe contaminé par le xylène par rapport au groupe témoin. D'autre part le résultats obtenir après le traitement par les trois types des cultivars montrent une diminution significative de concentrations MDA chez les groupes traités par les cultivars Ghars , Deglet-Nour et Mech-Deglet par rapport au groupe toxique par xylène .

Aussi les résultats présentent une diminution significative de la concentration de GSH dans le foie chez le groupe contaminé par le xylène par rapport au groupe témoin et le résultats obtenir après le traitement par la cultivars Mech-Deglet montrent une augmentation non significative de concentrations GSH par rapport au groupe toxique par xylène . D'autre part, ils illustrent une augmentation significative de concentrations GSH chez les groupes traité par les cultivars Ghars et Deglet-Nour par rapport au groupe contaminé par xylène.

1-8-2- Etude de l'activité de de catalase CAT, Glutathion S Transférase GST :

Les résultats obtenus suite à l'évaluation des GST et CAT illustre dans le (figure 29).

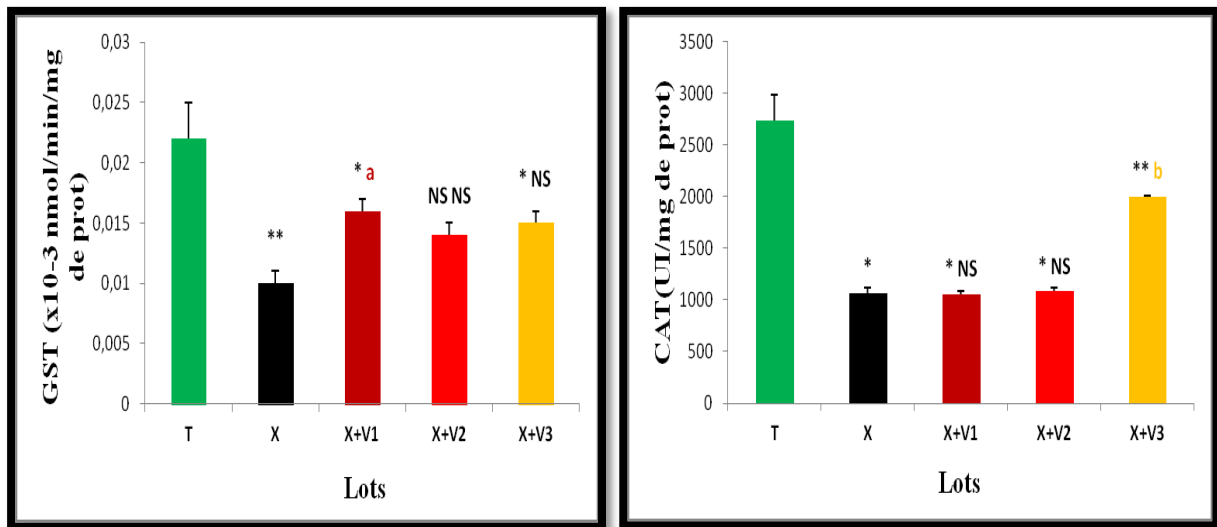


Figure (29): Activités tissulaires de catalase, CAT et GST chez le groupe témoin et les groupes traités.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ comparaison avec le groupe témoin.

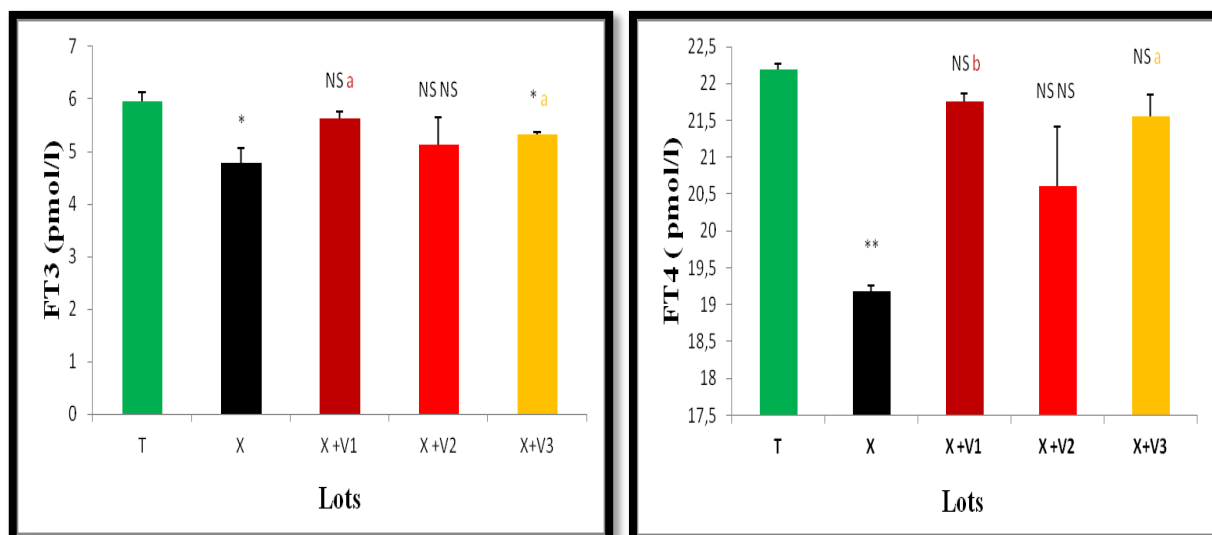
a $p < 0,05$; b $p < 0,01$ comparaison avec le group traité par xylène.

Les résultats montrent une diminution significative de la concentration de CAT dans le foie chez le groupe toxique par xylène seulement par rapport au groupe témoin. Notre étude indique après le traitement par les cultivars Ghars et Mch-Deglet présentent une augmentation significative de concentrations CAT par rapport au groupe contaminé par xylène . D'autre par, ils exposent une augmentation hautement significative de concentrations CAT chez le groupe traité par le cultivars Deglet-Nour par rapport au groupe contaminé par xylène .

Les résultats présentent aussi une diminution hautement significative de la concentration de GST dans le foie chez le groupe toxique uniquement par rapport au groupe témoin. D'autre par, les résultats obtenir apparaissent une augmentation significative de concentrations GST dans le foie chez les groupes traités par les cultivars Ghars et Deglet- Nour par rapport au groupe contaminé par xylène . En plus, Ils apparaissent une augmentation non significative de concentration GST chez le groupe traité par le cultivars Mech-Deglet par rapport au groupe toxique seulement .

1-9-Effet de traitement par le xylène sur les hormones (TSH ,FT3,FT4)

Les résultats d' analyse les trois hormones chez les groupes traités et le groupe témoin sont présentés dans la **figure(30)**



Figure(30): Activité des hormones (FT3,FT4) , chez le groupe témoin et les groupes traités.

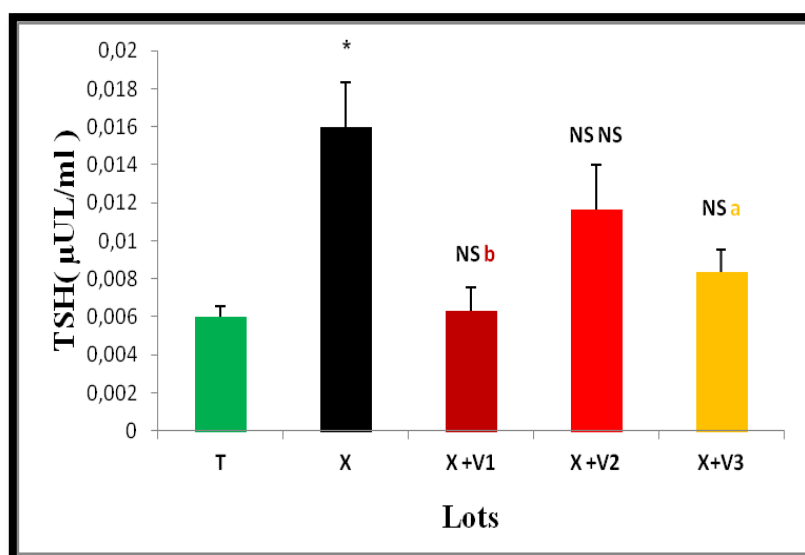


Figure (31): Activité de hormone TSH , chez le groupe témoin et les groupes traités.

*p < 0,05 ; **p < 0,01 comparaison avec le groupe témoin.

a p < 0,05 ; b p < 0,01 comparaison avec le group traité par xylène..

Les résultats apparaissent une diminution significative de FT3 et hautement significative de FT4 chez le groupe contaminé par le xylène uniquement par rapport au groupe témoin. D'autre part les résultats obtenir après le traitement par les cultivars Ghars présentent une augmentation significative de FT3 et hautement significative de FT4 , et montrent une augmentation significative de FT3 et FT4 chez le groupe traité par la cultivars Deglet Nour , et aussi le traitement par la cultivars Mch Deglet exposent une augmentation non significative de FT3 et FT4 par rapport au groupe toxique par xylène .

Les résultats clarifient une augmentation significative de TSH chez le groupe contaminé par le xylène seulement par rapport au groupe témoin, et les résultats obtenus exposent une diminution hautement significative de TSH chez les groupes traités par le cultivar Ghars, et le traitement par les cultivars Deglet Nour illustrent une diminution significative de TSH, et le traitement par les cultivars Mch Deglet montrent une diminution non significative de TSH par rapport au groupe toxique par xylène.

1-10- Effets de xylène et les trois variétés des noyaux des dattes sur l'analyse histologie

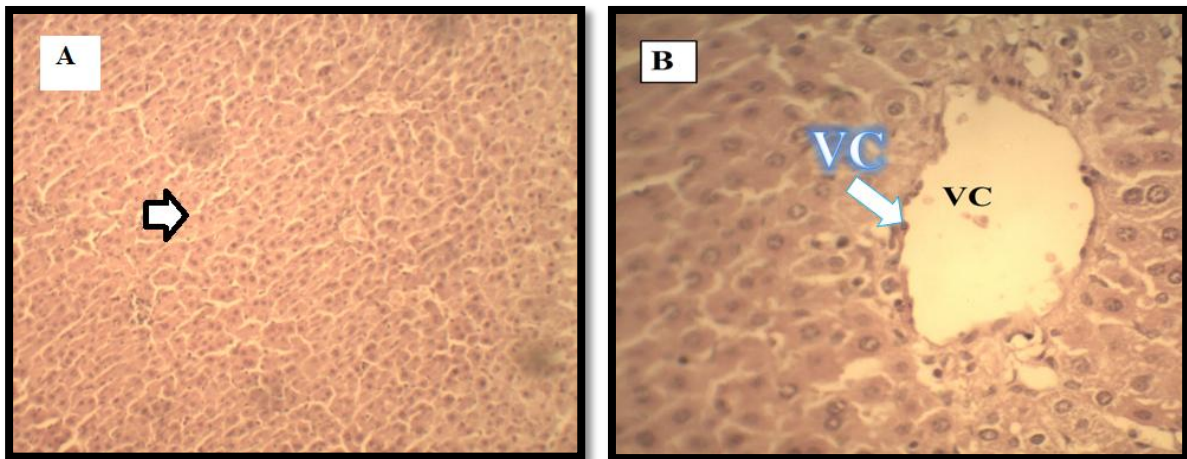


Figure (32) : foie du ratte témoin sain : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40

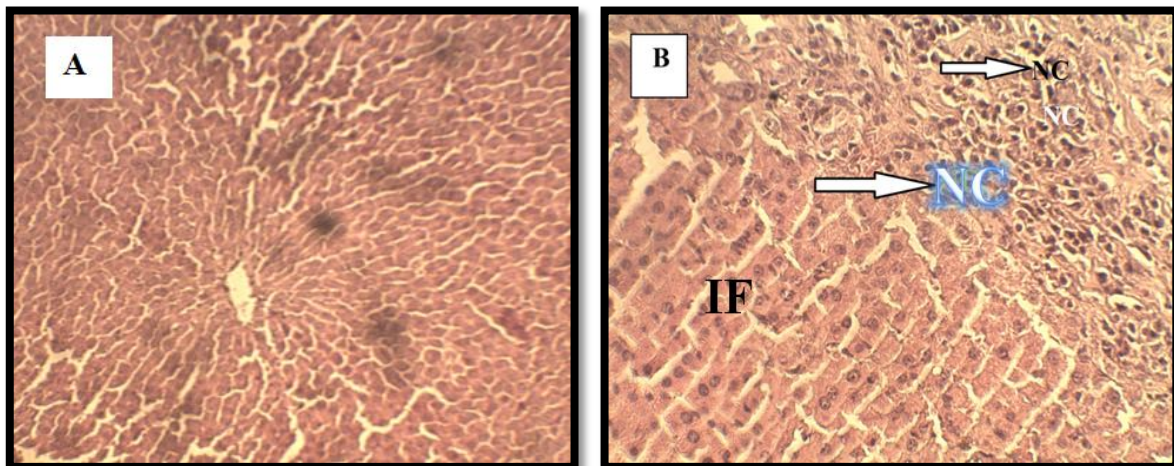


Figure (33) : foie du ratte traité par le xylène : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40

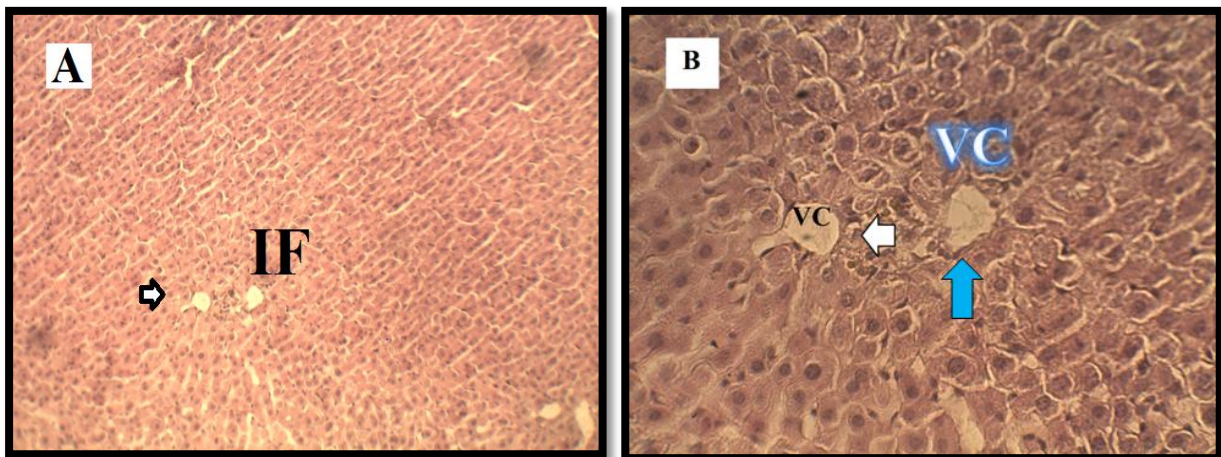


Figure (34) : foie du ratte traité par l'extrait de noyaux de dattes Ghars et contaminé par le xylène : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40

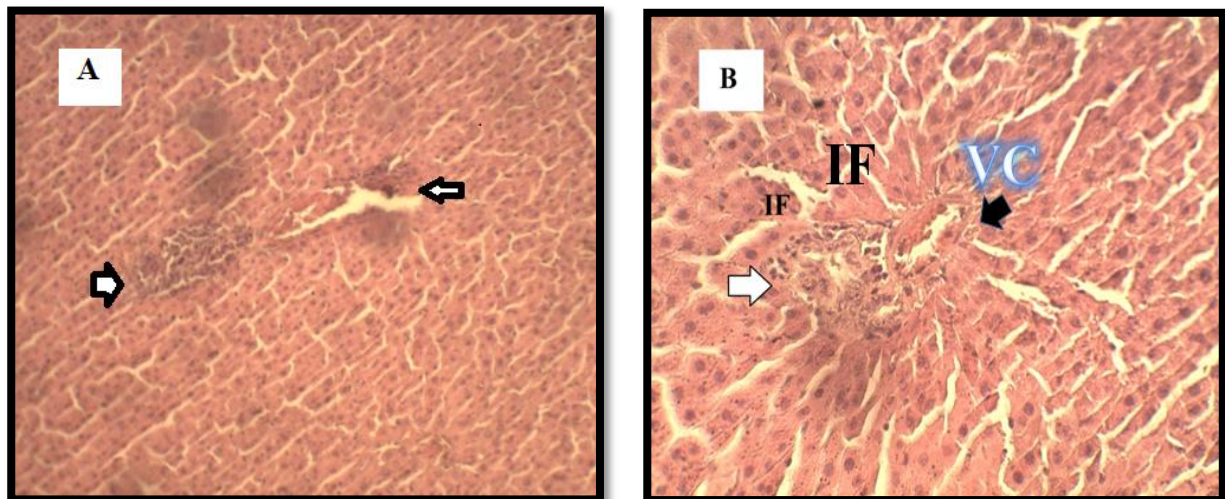


Figure (35) : foie du ratte traité par l'extrait de noyaux de dattes Mech-Deglat et contaminé par le xylène : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40

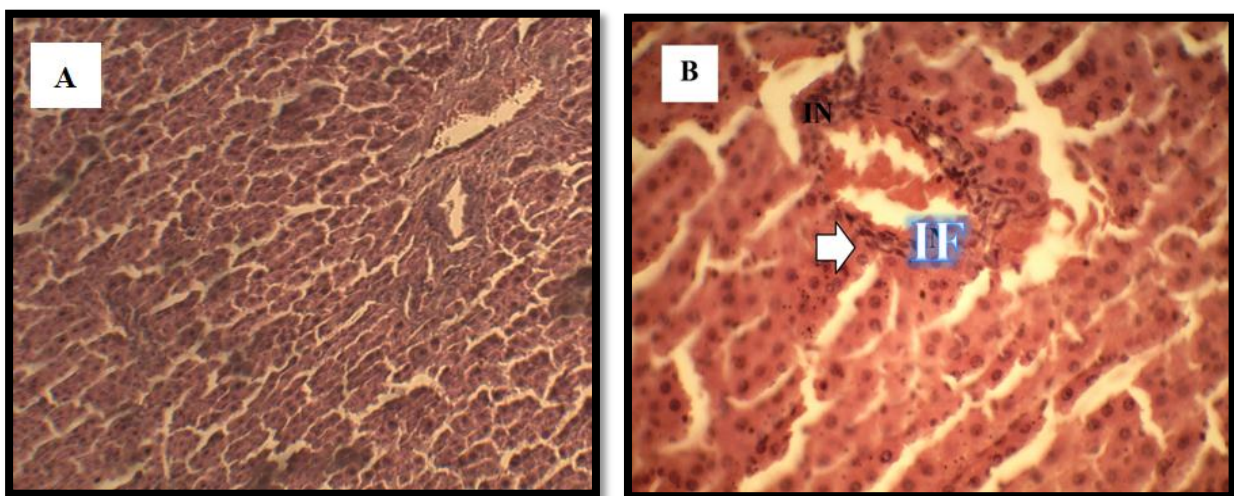


Figure (36) : foie du ratte traité par l'extrait de noyaux de dattes Deglet-Nour et contaminé par le xylène : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40

2- Discussion

L'exposition au xylène peut se produire par inhalation, ingestion, contact avec les yeux ou la peau. Il est principalement métabolisé dans le foie par oxydation d'un groupe méthyle et conjugaison avec de la glycine pour donner de l'acide méthylhippurique, qui est excrété dans l'urine.(Sedivec V, Flek J 1976).Le xylène a des effets sur la santé, qu'ils soient aigus ou chroniques. Le type et la gravité des effets sur la santé dépendent de plusieurs facteurs, notamment la quantité de produit chimique à laquelle vous êtes exposé et la durée de votre exposition(Ogata M, Tomokuni K, Takatsuka Y1970).

La glande thyroïde fabrique la thyroxine et la triiodothyronine. Ces hormones participent à la croissance et au développement mental. Elles aident aussi à réguler le métabolisme (Di Palma, T., Conti, A., de Cristofaro, T., Scala, S., Nitsch, L., Zannini, M.S., 2011).., c'est-à-dire le processus chimique qui se produit dans le corps pour fabriquer et utiliser l'énergie. La glande thyroïde est contrôlée par l'hypophyse. L'hypophyse produit la thyrostimuline (TSH). La TSH est libérée par l'hypophyse en réaction aux taux de thyroxine et de triiodothyronine dans le sang.(Di Palma, T., Filippone, M.G., Pierantoni, G.M., Fusco, A., Soddu, S., Zannini, M., 2013.).

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet toxique de xylène au niveau de la glande thyroïdienne et le foie,. Et de valider l'effet antidote de d'extrait des noyaux des dattes chez les rattes Albinos Wistar.

Le DPPH est un radical libre stable, accepte un électron ou un proton pour donner une molécule stable. Il est très utilisé dans le criblage des activités de piégeage des radicaux libres(Pokorny et al, 2001); celui-ci est souvent utilisé pour la rapidité des résultats comme il est employé pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits des végétaux (Yi-Zhong C et al., 2006). Concernant notre résultats , la vitamine C présente un pouvoir anti-radicalaire très puissant par rapport à nos extraits. De toute façon, selon Hatzidimitriou et al., (2007), les antioxydants naturels indiquent souvent un pouvoir antioxydant inférieur à celui des antioxydants synthétiques. Aussi , , nos résultats indiquent que l'extrait des noyaux des dattes de cultivars

Ghars4,Mch Deglet 5 et Deglet Nour 9 fois plus faible que l'acide ascorbique .

Concernant l'étude de la toxicité de la noyau de datte , les résultats obtenus montrent bien que l'extrait des noyaux des dattes (500, 1000, 2000 mg/kg/j). n'a aucun signe de toxicité ; pas de mortalité, pas des comportement neurologiques ou physiologiques anormale et pas d'effet néfaste sur l'organisme.ce qui nous encourageons d'utiliser la noyau de datte dans notre étude.

Concernant les marqueurs de la fonction rénale, notre étude montre qu'il y a une augmentation de la concentration d'urée sérique, chez le groupe traité par xylène par rapport le témoin. L'urée est la principale forme d'élimination des déchets azotés du catabolisme protéique, formée dans le foie à partir de l'ammoniac (produit par la désamination des acides aminés) (Kubab et *al.*, 2015). En effet, El Nekeety et *al* (2009) ont montré que l'augmentation des taux d'urée dans le sang avec la diminution des taux de protéines sanguines peut indiquer par l'augmentation de catabolisme des protéines et/ou d'un dysfonctionnement rénal. Mais les groupes traité par l'extrait des noyaux des dattes Ghars et Dglet-Nour diminué le taux de urée par rapport le groupe toxique ,alors là consulté l'effet d'extrait sur l'urée .

L'accumulation de xylène peut provoquer un stress oxydative qui peut affecter à les cellules rénales endothéliales et épithéliales conduisant à une dysfonction rénale .La créatinine est dérivée du métabolisme de créatine, qui dans le muscle squelettique est phosphorylée en créatinephosphate, un composé riche en énergie libre (Bossuyt & Boeynaems , 2001) (Rennke & Denker., 2007). Nos résultats indiquent l'augmentation significative de taux de créatinine sérique dans le groupe traité par xylène seulement par rapport le témoin , Un taux élevé de créatinie dans le sang, qui peut affecter à la fois les cellules rénales endothéliales et épithéliales conduisant à une dysfonction rénale (Schetz et *al.*, 2010).

D'autre parte, dans notre étude, on obtenu une diminution des taux créatinine sérique et urée dans le sang chez les groupes traité par l'extrait des noyaux des dattes de trois cultivars par rapport le groupe toxique par xylene seulement ,et D'après l'étude de Dalia H. et al (2014), l'extrait des noyaux des dattes permet d'améliorer l'activité rénale

La bilirubine est un pigment de couleur jaune qui provient de la dégradation de l'hémoglobine. On la retrouve principalement dans la bile et en faible quantité dans le sang (Haleng et *al.*, 2007). La bilirubine est produite par les cellules de la rate et de la moelle osseuse. Elle est transportée par le sang jusqu'au foie où elle est transformée en pigments biliaires qui sont réabsorbés ou éliminés dans les selles (elle est en partie éliminée dans les urines) On peut expliquer l'augmentation de bilirubine chez le groupe toxique par une dysfonctionnement du foie et la vésicule biliaire est suspecté. c'est-à-dire un problème au niveau de l'étape qui permet l'excrétion de la bilirubine dans la bile (Vaishnav et *al.*, 2015).

En autre, nos résultats montrent que l'extrait de noyaux des dattes de cultivars Ghars ,indiquent leur rôle dans l'augmentation de l'excrétion biliaire de la bilirubine, par conséquent, la diminution du taux de bilirubine sérique (Weber, L et *al.*,2003)

Ainsi que l'administration de le xylène induit plusieurs changements métaboliques. Les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative des teneurs sériques en glucose

chez les rattes exposé aux le xylène ces variations sont liées à la perturbation de l'axe hypothalamohypophyso-surrénalien traduisant une hyperglycémie liée à l'activation du système orthosympathique, la réaction dans le système limbique actif l'hypothalamus pour produire la corticolibérine (CRH). Ce dernier stimule l'hypophyse pour libérer l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) qui est un activateur de glandes surrénales pour la production et la sécrétion de cortisol dans le sang (Pourramzanzidesaraei et *al.*, 2013). Le cortisol a de nombreuses actions (Jacotot & Campillo, 2003). dont certaines conduisent à du grand catabolisme du glycogène hépatique (Kumar & Rajini, 2009 ; Ksheerasagar & Kaliwal, 2006 ; Yousef et *al.*, 2006). D'autre côté , nos résultats montrent que l'extrait de noyaux des dattes indiquent leur rôle dans la diminution de glucose dans le sang .

La possibilité de perturbation Les lipides jouent un rôle essentiel dans la différent pathogénèse. L'accumulation de la graisse est généralement associé à une hyperlipémies (hypertriglycéridémie et hypercholestérolémie) (Kumar et *al.*, 2012). Les résultats obtenus de la présente étude montrent une augmentation hautement significative et significative de triglycéride et cholestérol respectivement chez les rattes contaminées par xylène seulement par rapport le témoin . l'augmentation de la concentration des triglycérides et cholestérol est associée à la métabolisme lent sur les lipides à cause de manque de la sécrétion des hormones thyroïdienne (Dunn et *al.*, 1984). Dans cette étude, on a observé aussi une diminution significative ($P < 0.05$) du taux plasmatique de triglycéride et de cholestérol chez les groupes traité par l'extarite des noyaux des dattes de cultivars Ghars et Deglet Nour par rapport au groupe toxique ce .L'administration d'extrait riche en flavonoïdes a diminué de manière significative des triglycérides et du cholestérol sériques chez les groupes traité par l'extrait des noyaux des dattes des cultivars Ghars et Deglet Nour.

Ces résultats sont en accord avec l'étude de Dalia H et *al* (2014) qui indiquent que l'activité de TGO, de TGP, et de PAL sur le groupe traité par xylène augmentent significativement par rapport le groupe témoin. Ces enzymes sont normalement contenues dans des cellules de foie. Si le cas lésions hépatiques, donc cellules hépatiques endomagées, les cellules de foie renversent les enzymes dans le sang (Singh et *al.*, 1998, Ozturk et *al.*, 2009)

Nos données ont révélé que le traitement avec l'extrait des noyaux des dates des cultivars Ghars et Deglet Nour diminuait significative considérablement l'élévation des paramètres de la fonction hépatique induits par le xylène (TGO, TGP et PAL) dans le sérum. La réduction de ces paramètres vers les valeurs normales est un signe de la stabilisation des membranes plasmiques ainsi que de la réparation des lésions hépatiques. D'après l'étude de (Tassaneeyakul et *al.*, 1996). En conséquence, la peroxydation anti-lipide obtenue par l'extrait des noyaux des dattes a permis

de mettre fin aux effets néfastes des radicaux libres générés par le xylène., ce qui a entraîné la guérison du parenchyme hépatique et la régénération des hépatocytes. De plus, l'amélioration de l'intégrité hépatique chez les groupes traités avec l'extrait des noyaux des dattes était très évidente chez nous.

D'autres part, dans notre étude l'examen histologique montre que le xylène a causé de grave dommages sont représenté d'Hépatite et la nécrose dans les tissus du foie chez le groupe traité par xylène seulement (Morley et *al.*, 1970; Klaucke et *al.*, 1982). , ce qu'explique que l'augmentation de ces enzymes est induit par la surcharge en xylène.mais aussi l'examen histologique montre que l'extrait des noyaux des dattes a causé diminué la gravité des dommages hépatiques causés par le l'excès de xylène dans les tissus du foie chez les groupes traité par l'extrait des noyaux des dattes.Cependant, l'extrait des noyaux des dattes a révélé un effet supérieur pour stimulant la capacité antioxydante enzymatique des cellules du foie (Wiar., 2006). D'après les études de. Dalia H et *al* (2014).

A l'état de santé, il existe un mécanisme de défense efficace pour empêcher et neutraliser les dommages induits par les radicaux libres. Ce mécanisme est assuré par un ensemble d'enzymes antioxydants endogènes tels que : MDA, GSH, et catalase. Ces enzymes constituent une équipe mutuellement de support de la défense contre les espèces réactives oxygénées (Ozenda.,2004).

Mêmes résultats ont été obtenus par .A. Abdelaziz et *al* (2014), Ils suggèrent que le traitement des rats par le xylène a induit une augmentation du taux du MDA tissulaire de foie. Ce résultat est expliqué par l'accumulation des radicaux libres(Ayala et *al.*, 2014).et aussi la perturbation de l'équilibre pro-oxydant / antioxydant induite par le CC14 est attribuée à la quantité massive de radicaux libres réactifs générés au cours de son métabolisme. On pense que ces radicaux libres sont responsables de la peroxydation lipidique de la membrane plasmique avec nécrose cellulaire ultérieure (Comporti, 1985; Weber et *al.*, 2003).

le marqueur de la peroxydation lipidique, MDA, a diminué dans les groupes traité avec l'extrait des noyaux des dattes à des niveaux proches de ceux du témoin. Cette constatation est conforme à une récente étude de Habib et Ibrahim (2011), qui a démontré que le fait de nourrir des rats normaux avec un régime alimentaire contenant 300 mg / kg de l'extrait des noyaux des dattes diminuait considérablement le MDA dans les tissus hépatiques. Cela signifie que l'extait des noyaux des dattes de trois cultivars, avec son contenu en antioxydants, ont l'activité de piégeage des radicaux libres qui contrôle le stress oxydatif induit par le xylène dans les tissus du foie(Kujawska et *al.*, 2011).

D'après les études de Narvaez et Song (2003)ont montrés l'accumulation de xylène dans les cellules de foie avec une augmentation de peroxydation des lipides hépatiques .

Nos résultats indiquent aussi une diminution de la concentration de glutathion réduit (GSH) dans le groupe traité par xylène . Le glutathion constitue la première ligne de défense contre les radicaux libres .Il est le principal agent antioxydant non enzymatique intracellulaire (Jacob, 2007). Une fonction majeure de GSH est la détoxification et l'élimination d'espèces réactives de l'oxygène. Ces composés sont conjugués avec GSH soit spontanément, soit par voie enzymatique dans des réactions catalysées par la GSH-S-transférase (GSTs). Les conjugués formés sont généralement éliminés à partir des hépatocytes ou dans la bile. Bien que la plupart des réactions de conjugaison GSH entraînent détoxification du composé, (DeLeve & Kaplowitz, 1990). GSH conjugaison consomme de manière irréversible le GSH intracellulaire, ce qui peut être expliqué la diminution de concentration tissulaire de GSH dans le foie. D'autre part, une restauration des activités des enzymes antioxydants chez les rattes intoxiquées par le xylène après l'administration d'extrait des noyaux des dattes de cultivars Ghars a été observé ce qui suggère l'effet protecteur de ces molécules contre les dommages oxydatifs induits par le xylène.

Pour neutraliser les effets indésirables des molécules oxydantes dans les tissus, les cellules utilisent des enzymes d'antioxydant comme Catalase et GST (Ghosh et *al.*, 2012 ; Ercal et *al.*,1996). Nos résultats ont montré une diminution significative et hautement significative de l'activité de catalase et GST respectivement chez les rattes contaminées par xylène par rapport le témoin . Le catalase est un enzyme détoxifiant H₂O₂ en le réduisant à l'eau et l'oxygène (Birben et *al.*, 2012).Ce résultat est en accord l'étude Sahar A. Ali1 et *al* (2014) qui montre que l'excès de xylène diminue l'activité de catalase dans le foie. on peut expliquer la diminution de l'activité de catalase par l'accumulation de xylène intracellulaires a diminué l'activité de cette enzyme d'antioxydant (Khan et *al.*, 2012).les groupes traité par l'extrait des noyaux des dattes de cultivars Ghars et Deglet Nour qui montré l'augmentation de l'activité de ces enzymes peut expliquer par la capacité de défense équipé par l'organisme (le système antioxydant) qui servent à contrebalancer l'effet des oxydants. Donc, on peut dire que dans le cas de stress oxydatif, l'organisme induit une augmentation de l'activité des enzymes antioxydants pour réduire l'effet des oxydants .

Le système enzymatique contient également la glutathion S-transférase qui catalyse la réaction entre le glutathion réduit et les molécules oxydantes avec la formation des métabolites glutathion-conjugués (GSSG). Nos résultat est confirmé par l'étude dalia H et al (2014). qui montre la présence d'une corrélation entre la diminution de GSTs et l'apparition de stress oxydatif.

Dans la présente étude, l'extrait des noyaux des dattes de cultivars Ghars renforcent la capacité antioxydante des tissus du foie, comme le montre l'augmentation des niveaux de GST. Fait

intéressant, ces enzymes atteignent des valeurs voisines à celles du groupe témoin par rapport le groupe traité par xylène.. (Paranthaman et *al.*, 2012).

En général Selon. (Habib et *al.*, 2014), l' analyse phytochimique préliminaire a révélé que l'extrait des noyaux des dattes possédaient des quantités substantielles de composés phénoliques totaux et de flavonoïdes. Cela concorde avec plusieurs rapports selon lesquels l'extrait des noyaux des dattes contiennent une vaste gamme d'antioxydants (phénoliques et flavonoïdes) (Al-Farsi et *al.*, 2007; Al-Farsi et Lee, 2008). Notamment, le concept d'utilisation de produits naturels comme supplémentation en antioxydants .

La synthèse des hormones thyroïdiennes est sous le contrôle de TSH, Les hormones thyroïdiennes ont un rôle général d'accélérateur des métabolismes de l'organisme., et jouent un rôle important dans le métabolisme des lipides et du glucose, la prise de nourriture et l'oxydation des graisses. Le dysfonctionnement thyroïdien est associé à des modifications du poids (Normand Blanchard H.,2009),Nos résultats indiquent une diminution dans le taux des T4 et T3 et une augmentation de taux de TSH dans le groupe traité par xylène par rapport le témoin donc en peut explique cette résultat comme un cas L'hypothyroïdie, l'hypothyroïdie est un déficit en hormones thyroïdiennes et augmentation de la sécrétion de hormone TSH, La glande thyroïdienne n'en fabrique plus suffisamment.il Entraînant un métabolisme lent ,c'est-à-dire une diminution du taux métabolique Conduisant à une accumulation de graisse parce que il y a d'accumulation d'xylène dans le foie pour ce la nous obtenu dans notre résultats augmentation dans le taux de cholestérol, et il a également été démontré qu'elle est corrélée à un indice d'augmentation de masse corporelle (IMC). (Hazard Jet *al.*, 2000) Cela réduit la capacité du corps à brûler les calories consommées, Avec fatigue et manque de mouvement, et ça ce que nous avons observé chez les rats de ce groupe (Hennen., 2001).

Aussi chez les groupes traité par l'extrait des noyaux des dattes des cultivars Ghars et Deglet Nour montré une augmentation significative des valeurs proche de témoin par rapport le groupe contaminé par le xylène seulement, c'est-à-dire l'extrait de noyaux des dattes diminué le manque des hormones thyroïdiennes , Et cela a un effet sur Le glande thyroïdienne et le foie .

D'après (Gallois M., 2008) Diverses associations entre thyroïdites et hépatopathies, Nous avons déjà signalé que le foie de ce groupe souffrait d'inflammation et la nécrose, Donc, il y a une relation entre thyroïdites et hépatopathies

Les altérations histologiques observées au niveau des hépatocytes sont caractérisées par l'apparition des inflammations et des nécroses dans le groupe contaminé par xylène seulement , Ces dommages pourraient être dus probablement à la génération de radicaux libre et à la peroxydation lipidique induite par xylène. Tandis que la morphologie générale des lésions

hépatocytaires des rattes contaminé par xylène avec l'extrait des noyaux des dattes des trois cultivars était bien améliorée et semblait d'apparence tout à fait normale par rapport à celle des rattes contaminé par xylène seulemnt.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le tonnage des noyaux des dattes a été estimé à 69.000 , Cette quantité est exploitée uniquement dans la nutrition des bétails. Dans le cadre de la valorisation de cet élément dans l'alimentation humaine, nous avons entrepris une étude physico-chimique et organoleptique pour juger à la possibilité d' utiliser la poudre des noyaux des dattes torréfiés des variétés (Ghars ,Deglet-Nour ,Mech-deglat) comme une boisson chaude.

À ce jour, beaucoup des études ont porté sur les effets biologiques de xylène qui ont attiré beaucoup d'attention en raison de leur grand potentiel dans plusieurs applications cliniques et in vivo. Malgré la large gamme d'applications, il y a un grave manque des informations sur l'impact toxique de ces produits sur la santé.

L 'objectif ce travail principal d'étudier l'effet toxique de xylène et l'effets protectrices des variétés des noyaux des dattes (*Ghars ,Deglet-Nour ,Mech-deglat*)chez les rattes *Wistar Albinos* sur la fonction hormonale et le stress oxydatif .La dose utilisée pour le traitement est 1,2ml de xylène dans 100 ml d'eau et pour l'extrait des variétés sont 100mg de poudre des noyaux des datte (*Ghars ,Deglet-Nour ,Mech-deglat*) dans 120ml d'eau normale .

Pour cela, nous avons porté notre attention sur l'étude des paramètres de croissance globale (Poids corporel, Gain de poids, Poids relative); biochimiques (Teneurs sérique en glucose, bilirubine totale, urée et créatinine); activité des enzymes sériques (TGO, TGP, PAL), les paramètres de stress oxydant (MDA, GSH, GST, CAT), du foie et les hormones (TSH ,FT3,FT4) , et des coupes histologiques de la thyroïde et le foie chez le groupe des témoins et le groupe des rattes traités pour faire une comparaison entre elles , Cette étude a permis de tirer les conclusions suivantes:

- L'étude phytochimique des trois variétés a permis d'obtenir un rendement en termes d'extrait brut aqueux (3.16 , 4.55 et 2.07 % pour les trois variétés respectivement).
- Les extraits bruts renferment une teneur non négligeable en phénols totaux égal à 0,129 , 0,132 et 0,169 mg EAG/mg d'extrait.
- Un pouvoir antiradicalaire importante est noté pour les trois variétés représenté par une inhibition de l'ordre de 14,89, 18,70 et 27,03.

Les résultats obtenus montrent que le traitement par le xylène induit une hyperglycémie, augmentation d'urée, créatinine, aussi une augmentation de l'activité des transaminases (TGO, TGP), de phosphatase alcaline qui montre que le xylène induit une perturbation de fonction hépatique d'une part , et d'autre part les noyaux des dattes diminuent cette activité , Nos résultats révèlent également une toxicité stress oxydatif chez le groupe contaminés par le xylène

, une diminution de taux GSH, l'activité des CAT, GST, avec une augmentation du taux de MDA dans le tissu étudié (foie) qui indique une perturbation des paramètres de stress oxydatif par contre les groupes traité par l'extrait de trois cultivas il y a une augmentation de taux GSH, l'activité des CAT, GST, avec une diminution du taux de MDA par rapport le groupe contaminés par xylène.

En plus , les résultats présenté aussi une diminution de taux de FT4 et FT3 et une augmentation de taux de TSH dans le cas de traitement par le xylène , par contre dans le cas de trois cultivas il y a une augmentation de FT4 et FT3 et une diminution de TSH .

En outre, les résultats obtenus d'après l'étude histologique, montre la présence d'une inflammation dans les tissus étudiés, et la présence d'un nécrose hépatique induit par le stress oxydatif.

Cependant, l'administration orale du trois cultivas des noyaux des dattes sont provoqué une diminution de l'effet toxique de xylène en maintenant la fonctionnement de foie dans l'organisme .

l'accumulation du xylène dans les tissus hépatique peut augmenter les dégâts oxydatifs favorisant la possibilité d'apoptose et ainsi L'étude histologique du foie confirme nos résultats car elle indique la présence d'un dommage hépatique qui est exprimé par l'existence d'une nécrose des hépatocytes.

Selon les études précédentes, l'exposition à xylène induit une cytotoxicité au niveau des tissus du foie, des inflammations cellulaires et des altérations cellulaires via le stress oxydatif.

D'autre part, Un grand nombre des preuves indiquent que les trois variétés possèdent des puissantes propriétés antioxydantes. Elle est connue pour être une molécule anti-inflammatoire, et protecteur contre les dommages de stress oxydatif par l'élimination des actions délétères des radicaux libres et par leur capacité à moduler intracellulaire des signaux favorisant la survie cellulaire du foie.

Pour mieux évaluer d'autres pouvoirs biologiques des substances actives des extraits des notre noyaux des dattes ; des études similaires *in vitro* seraient intéressantes et plus prometteuse visant d'autres activités biologiques .

Des études concernant l'identification des molécules bioactives. De même, des études approfondies sur la pharmacodynamique (modes d'action) de ces principes actifs.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abu Al Ragheb S, Salhab AS, Amr SS. Suicide by xylene ingestion. A case report and review of literature. *Am J Forensic Med Pathol.* 1986;7:327-9.
- Al-Farsi M.A., Lee C. Y., - Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, Volume 108, Issue 3, Pages 977-985.
- Al-Farsi, M.A., Lee, C.Y., 2008. Nutritional and functional properties of dates: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48, 877–887.
- Allain C. C. et al., *Clin. Chem.* (1974), 20/4, p.470-475.
- Almana, H. A., & Mahmoud, R. M. (1994). Palm date seeds as an alternative source of dietary fibre in Saudi bread. *Ecology of Food and Nutrition*, 32, 261–270.
- AMELLAL, H., Aptitudes Technologiques de Quelques Variété Communes de Dattes : Formulation d'un Yaourt Naturellement Sucré et Aromatisé. Thèse de Doctorat. Université de M'HAMED BOUGARA, Boumerdès. 131 p.
- AMRANI .Y. (2002). Comportement d'un stock de la pâte de datte traitée par thermisation en atmosphère modifié et au froid, mémoire d'ingénieur d'état en agronomie, Mostaganem, 16 p.
- ANAT .,2009-Schéma directeur des ressource en eau . Wilaya de Biskra . Rapport de synthèse , 100 p.

-Anonyme a, 2010 – A la découverte des insectes. Adresse URL : [www. smlc. asso. fr/smlc/dmla /entomologie / a la découverte des insectes. Html.](http://www.smlc.asso.fr/smlc/dmla/entomologie/a_la_d%C3%A9couverte_des_insectes.html)

- Ardekani M R S., Khanavi M., Hajimahmoodi M., Jahangiri M., Hadjiakhoondi A., Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenol Contents of some Date Seed Varieties from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* volu;r , Pages141-146.
- Ardekani M R S., Khanavi M., Hajimahmoodi M., Jahangiri M., Hadjiakhoondi A., .- Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenol Contents of some Date Seed Varieties from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* volu;r , Pages141-192.
- Ayala, A., Muñoz, M.F., & Argüelles, S., 2014. Lipid peroxidation: production metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-31.

B

- Baliga M.S., Baliga B. R.V., Kandathil S. M., Bhat H.P., Vayalil P. K.,2011 .- A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.) *Food Research International.* *Food Research International*, Volume 44, Issue 7, Pages 1812-1822.

- Barreveled W H. Fao.(1993). Agricultural Services Bulletin N° 101, Date Palm Products. FAO, Rome, 39p.
- BEN ABBES F. (2011). Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera* L. ».Mémoire de Magister en Génie des procédés pharmaceutiques. Université Ferhat Abbas-Setif: 1-11 p.
- BEN ABDALLAH, A., La phoeniciculture. CIHEAM- Options Mediteraneennes. PDF.
- Bergmeyer, H.U., 1978. *Clin Chem*, 24, 58-73. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80027.
- Besbes S., Blecker C., Deroanne C., Drira N E., Attia H.2004 -Date seeds: chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction. *Food Chemistry*, volume 84 pages 577–584.
- Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Lognay, G., Drira, N. E., & Attia, H. (2005). Heating effects on some quality characteristics of date seed oil. *Food Chemistry*, 91(3), 469-476. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.037>.
- Bommas-Ebert, U., Teubner, P., and Voss, R. (2008). *Cours d'anatomie (De Boeck Supérieur)*.
- Lacombe, M. (2006). *Abrégé d'anatomie et de physiologie humaines (De Boeck)*.
- Bouanani, S; Zeggar, M ; Alouadi, S., 2007. Valorisation des noyaux de dates (*Phoenix dactylifera*) variété Degla Baida par fractionnement des polysaccharides. *Revue des régions arides*, 2007, pp. 40-45.
- Bouchemal N., Merzougui Z., Addoun F., 2011. - Adsorption en milieux aqueux de deux colorants sur charbons actifs a base de noyaux de datte.*Journal de la Société Algérienne de Chimie*. 21(1), 1-14.
- Boudechiche, L., Araba, A., Tahar, A., Ouzrout, R., 2009.- *Etude de la composition chimique des noyaux de dattes en vue d'une incorporation en alimentation animale. Institut d'Agronomie Centre Universitaire d'El Tarf*.
- Brooker, C. (2001). *Le corps humain: Étude, structure et fonction (De Boeck Supérieur)*.

C

- Campbell L, Wilson HK, Samuel AM, & Gompertz D (1988) Interactions of *m*-xylene and aspirin metabolism in man. *Br J Ind Med*, 45: 127-132.
- Carpenter CP, Kinkead ER, Geary DL, Sullivan LJ, King JM. Petroleum hydrocarbon toxicity studies. V. Animal and human response to vapors of mixed xylenes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1975;33:543-58.

- Chaira N., Ferchichi A., Mrabet A., Sghairoun M., .2007 - Chemical Composition of the Flesh and the Pit of Date Palm Fruit and Radical Scavenging Activity of Their Extracts. Pakistan Journal of Biological Sciences.2202-2207 P.
- Chehma ,A., et Longo.,H.F.,(2001) .Valorisation des sous produits du palmier dattier en vue de leur utilisation en alimentation du bétail. Revue des énergies renouvelables (U.N.E.S.C.O).Numéro spécial ;Biomasse :production et valorisation .pp59.
- Cho SI, Damokosh AI, Ryan LM, Chen D, Hu YA, Smith TJ, et al. Effects of exposure to organic solvents on menstrual cycle length. J Occup Environ Med. 2001;43:567-75.
- Claiborne A., 1985. Catalase activity. Handbook of methods of oxygen radicals research. CRC Press, pp. 283-284.
- Comporti, M., 1985. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. Laboratory Investigation 53, 599–623.
- Condle LW, Hill JR, Borzelleca JF. Oral toxicology studies with xylene isomers and mixed xylenes. Drug.

Ⓓ

- Dakhia N., Bensalah M.K., Romani M., Djoudi1 Am., Belhamra M., 2013. État Phytosanitaire Et Diversité Variétale Du Palmier Dattier Au Bas Sahara Algérien, Journal Algérien Des Régions Arides, Crstra .7 P.
- Davey JF & Gibson DT (1974) Bacterial metabolism of *para*- and *meta*-xylene: Oxidation of a methyl substituent. J Bacteriol, 119: 923-929.
- Davis RS, Hossler FE, & Stone RW (1967) Oxidation of *m*- and *p*- xylenes by *Pseudomonas*. Bacteriol Proc, P162: 129.
- DECOS (1991) Health-based recommended occupational exposure limit for xylene. The Hague, Directorate-General of Labour.
- De Felice, M., Di Lauro, R., 2004. Thyroid development and its disorders: genetics and molecular mechanisms. Endocr. Rev. 25, 722–746.
- De Felice, M., Di Lauro, R., 2011. Intrinsic and extrinsic factors in thyroid gland development: an update. Endocrinology 152, 163–175. 3.
- DeLeve, L., Kaplowitz, N., 1990. Importance and regulation of hepatic GSH. Sem Liver Di 266-251 .10.
- D.H.A. Abdelaziz, S.A. Ali / Journal of Ethnopharmacology 155 (2014) 736–743.
- Di Palma, T., Conti, A., de Cristofaro, T., Scala, S., Nitsch, L., Zannini, M.S., 2011. Identification of novel Pax8 targets in FRTL-5 thyroid cells by gene silencing and expression microarray analysis. PLoS ONE 6, e25162.

- Di Palma, T., Filippone, M.G., Pierantoni, G.M., Fusco, A., Soddu, S., Zannini, M., 2013. Pax8 has a critical role in epithelial cell survival and proliferation. *Cell Death Dis.* 4, e729.
- DJERBI M. (1994). Précis de phoeniciculture. Ed FAO, Rome : 23-191 .
- Dolara P, Lodovici M, Buffoni F, Buiatti E, Baccetti S, Ciofini O, et al. Variations of some parameters of enzyme induction in chemical workers. *Ann Occup Hyg.* 1982;25:27-32.
- Dowson W. , ATEN B.(1963). Composition et maturation, récolte et conditionnement des dattes, collection F.A.O. Rome, 397 p.
- Dubost D. 1991 Ecologie, aménagement et développement des oasis algériennes. Thèse Doctorat d'Etat de l'Université de Tour, France 550p.
- Dudek B, Gralewicz K, Jakubowski M, Kostrzewski P, Sokal J. Neurobehavioral effects of experimental exposure to toluene, xylene and their mixture. *Pol J Occup Med.* 1990;3:109-16.
- Durand, G., and Beaudoux, J.-L. (2011). *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives (Lavoisier)*.

Æ

- ECETOC (1986) Joint assessment of commodity chemicals No. 6: Xylenes. Brussels, European Chemical Industry Ecology and Toxicology Centre.
- El-Nekeety, A.A., El-Kady, A.A., Soliman, M.S., Hassan, N.S. et Abdel-Wahhab, -M.A., 2009. Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9).
- El- Nemr A., Abdelwahab O., El-Sikaily A., 2007. - Treatment of waste water containing toxic chromium using new activated carbon developed from date palm seed. *J.Hazard. Mater.*
- Elovaara E. Dose-related effects of m-xylene inhalation on the xenobiotic metabolism of the rat. *Xenobiotica.* 1982;12:345-52.
- Elovaara E, Engström K, Häyri L, Hase T, Aitio A. Metabolism of antipyrine and m-xylene in rats after prolonged pretreatment with xylene alone or xylene with ethanol, phenobarbital or 3-methylcholanthrene. *Xenobiotica.* 1989;19:945-60. *Chem Toxicol.* 1988;11:329-54.
- Engström K, Riihimäki V, & Laine A (1984) Urinary disposition of ethylbenzene and m-xylene in man following separate and combined exposure. *Int Arch Occup Environ Health*, 54: 355-363.
- Ercal, N., Treeratphana, P., Lutz, P., Hammond, T.C., Richard, H., Matthews, C., 1996. IV-acetylcysteine protects Chinese hamster ovary (CHO) cells from lead-induced oxidative stress. *Toxicology*, 108(162): 57-64.
- Espiard E., 2002.- Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc-Lavoisier, 360 p.

F

-Fagman, H., Amendola, E., Parrillo, L., Zoppoli, P., Marotta, P., Scarfo, M., et al., 2011. Gene expression profiling at early organogenesis reveals both common and diverse mechanisms in foregut patterning. *Dev. Biol.* 359, 163–175.

-Fang Z, Sonner J, Laster MJ, Ionescu P, Kandel L, Koblin DD, et al. Anesthetic and convulsant properties of aromatic compounds and cycloalkanes: implications for mechanisms of narcosis. *Anesth Analg.* 1996;83:1097-104.

-Fishbein L (1988) Xylenes: Uses, occurrence and exposure. In: Fishbein L & O'Neill IK ed. *Environmental carcinogens: Methods of analysis and exposure measurement. Volume 10: Benzene and alkylated benzenes.* Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp 109-120 (IARC Scientific Publications No. 85).

-Fossati P., Prencipe L., *Clin. Chem.* (1982), 28, p.2077-2080.

G

-Gallois M., *L'hypothyroïdie : quand la thyroïde se dérègle ?*, thèse de diplôme d'Etat de docteur en pharmacie de Lille 2, 2008.

-Gamberale F, Annwall G, Hultengren M. Exposure to xylene and ethylbenzene: III: Effects on central nervous functions. *Scand J Work Environ Health.* 1978;4:204-11.

-Gualtieriet M., Rapaccini S., 1994. *Date stones in broiler's feeding in technologie de la date*. Ed. Gridao, p35.

-Guénard, H. (2001). *Physiologie humaine (Wolters Kluwer France)*.

H

-Habib, H.M., Platat, C., Meudec, E., Cheynier, V., Ibrahim, W.H., 2014. Polyphenolic compounds in date fruit seed (*Phoenix dactylifera*): characterisation and quantification by using UPLC-DAD-ESI-MS. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94, 1084–1089.

-Habib, H.M., Ibrahim, W.H., 2011. Effect of date seeds on oxidative damage and antioxidant status in vivo. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91, 1674–1679

-Habig W.J., Pabst M.J., Jacoby W.B., 1974. Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry.* 249: 7130-7139.

-Hatzidimitriou E.F., Nenadis N., Tsimidou M.Z., 2007. Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. *Food Chemistry.* 105: 1504-1511.

-Hazard J., Perlemuter L., *Endocrinologie*, 4ème édition, Editions Masson (2000), 484 pages, p.125 à 222 .

-Hazourli, S., Ziati, M., Hazourli, A., Cherifi, M., 2007. Valorisation d'un résidu naturel lignocellulosique en charbon actif- exemple des noyaux de dattes. *Revue des Energies Renouvelables*,187-192.

-Hennen, G. (2001). *Endocrinologie (De Boeck Supérieur)* page 79 .

-Henry, R.J., 1960. *Am J clin Path.*, 34, 381-398. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80025.

-Hipolito RN. Xylene poisoning in laboratory workers: case reports and discussion. *Lab Med.* 1980;11:593-5.

-Houlot R. (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie.* Ed. Maloine. 1921, 225-227.

I

-I N E R I S - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France XYLENE J.-M. BRIGNON Dernière mise à jour : 03/04/2006.

-Ishurd O., Ali Y., Wei W., Bashir. F., Ali A., Ashour A., Pan Y., . - An alkali-soluble heteroxylan from seeds of Phoenix dactylifera L. *Carbohydrate Research*, Volume 338, Issue 15, Pages 1609-1612.

-Ishrud O., Zahid M., Zhou H., Pan Y. . - A water-soluble galactomannan from the seeds of Phoenix dactylifera L. *Carbohydrate Research*, Volume 335, Issue 4, Pages 297-301.

J

-Jassim S.A. A., Naji M.A., 2007. In vitro Evaluation of the Antiviral Activity of an Extract of Date Palm (Phoenix dactylifera L.) Pits on a Pseudomonas Phage. *General Authority for Health Services for the Emirate of Abu Dhabi Journal of Ethnopharmacology*, vol.98, pp. 313- 317.

K

-Khan, M.I., Mohammad, A., Patil, G., Naqvi, S.A., Chauhan, L.K., Ahmad, I .2012 .*Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelia.*

-Kilburn KH, Seidman BC, Warshaw R. Neurobehavioral and respiratory symptoms of formaldehyde and xylene exposure in histology technicians. *Arch Environ Health.* 1985;40:229-33.

-Klaucke DN, Johansen M, Vogt RL. An outbreak of xylene intoxication in a hospital. *Am J Ind Med.* 1982;3:173-8.

-Klaucke DN, Johansen M, Vogt RL. An outbreak of xylene intoxication in a hospital. *Am J Ind Med.* 1982;3:173-8.

-Kubab, N., Hakawati, I.& Alajati ,K . S., (2015).Guide des examens biologiques. Ed: 6. Initiatives Sante, Malakoff. 792p .

L

-Laouini S. 2014. Etude Phytochimique Et Activité Biologique D'extrait Des Feuilles De Phoenix Dactylifera L Dans La Région Du Sud D'algerie (La Région D'oued Souf).Thèse Doctorat.Université Mohamed Khider Biskra. Pp 21, 22.

-Larsen, K., 1972. *Clin. Chim. Acta*, 66, 209. Cité par fiche technique BIOMAGHREB. Réf. 20151.

-LECHEB, F., 2010. Extraction et caractérisation phyco-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin. Thèse Magister, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdès. 114 p.

M

-MESSAR E.M., 1995 Le secteur phœnicicole algérien: Situation et perspectives à l'horizon 2010. CIHEAM, Options Méditerranéennes, pp 23-44.

-MEHAOUA, (2006). Etude de niveau d'infestation par la cochenille blanche *Parlatoria Blanchardi* .Targ. 1868 (Homoptera, Diaspididae) sur une variété de palmier dans une palmeraie à Biskra. Thèse Magistère en sciences agronomiques. I.N.A. El Harrach. Alger, 142 p.

-Munier P., - Le palmier dattier, techniques agricoles et productions tropicales. Ed maison neuve et la rosse, Paris, 221 p.

-MUNIER P.(1973). Le palmier dattier, Maison neuve et larose, Paris. 25-28-31-32-40-48-141-142-221-367p.

-Morley R, Eccleston DW, Douglas CP, Greville WEJ, Scott DJ, Anderson J. Xylene poisoning: a report on one fatal case and two cases of recovery after prolonged unconsciousness. *BMJ*. 1970;3:442-3.

-Morley R, Eccleston DW, Douglas CP, Greville WEJ, Scott DJ, Anderson J. Xylene poisoning: a report on one fatal case and two cases of recovery after prolonged unconsciousness. *BMJ*. 1970;3:442-3.

-Modigliani, E., Cohen, R., and Legrand, M. (1998). *Pathologie thyroïdienne en pratique courante (Wolters Kluwer France)*.

N

-Nahili N. (2006). Valorisation De Quelques Variétés De Dattes. Mémoire D'ingénieur D'état En Agronomie Spécialité Sciences Alimentaires, Université Saad Dahlab-Blida, 71p.

-Nelson KW, Ege JF Jr, Ross M, Woodman LE, Silverman L. sensory response to certain industrial solvent vapors. *J Ind Hyg Toxicol.* 1943;25:282-5.

-Nersesian W, Booth H, Hoxie D, Hinckley W, Shehata T. Illness in office attributed to xylene. *Occup Health Saf.* 1985;54:88.

-Normand Blanchard H., Prise en charge actuelle de l'hyperthyroïdie en France, thèse de diplôme d'Etat de docteur en pharmacie de Lille 2, 2009.

-NTP. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Xylenes (Mixed) (60 % M-Xylene, 14 % P-Xylene, 9 % O-Xylene, and 17 % Ethylbenzene) (Cas No. 1330-20-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage Studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser.* 1986;327:1.

O

-Ogata M, Tomokuni K, Takatsuka Y. Urinary excretion of hippuric acid and m-or pMethylhippuric acid in the urine of persons exposed to vapours of toluene and m-or p-xylene as a test of exposure. *Br J Ind Med.* 1970;27:43-50.

-Ogata M, Yamazaki Y, Sugihara R, Shimada Y, & Meguro T (1980) Quantitation of urinary *o*-xylene metabolites of rats and human beings by high performance liquid chromatography. *Int Arch Occup Environ Health*, 46: 127-139.

-Omori T, Horiguchi S, & Yamada K (1967) Studies on the utilisation of hydrocarbons by microorganisms. Part X. Screening of aromatic hydrocarbon assimilating microorganisms and *p*-toluic acid formation from *p*-xylene. *Agric Biol Chem*, 31: 1337-1342.

-Omori T & Yamada K (1970) Studies on the utilisation of hydrocarbons by microorganisms. Part XVI. Detection of metabolic intermediates of xylene and pseudocumene. *Agric Biol Chem*, 34: 659-663.

-Ozenda P., 2004. Flore et végétation des sahara. 3ème Ed : CNRS édition. Paris. pp.399-402

-Ozturk, I.C., Ozturk, F., Gul, M ., Ates, B.,& Cetin, A., (2009). Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of Wistar rats. *Cell Biochemistry and Function.* 27: 309–315. 91.

P

-Paranthaman, R., Praveen Kumar, P., Kumaravel, S., 2012. HPLC and HPTLC determination of caffeine in raw and roasted date seeds (*Phoenix Dactylifera L.*). *The Journal of Chromatography and Separation Techniques* 1, 249–253.

-Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M., 2001. Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463X.

-Poortmans, J.R., and Boisseau, N. (2003). Biochimie des activités physiques (De Boeck Supérieur). 638 pages. pp 18-22. Bruxelles, Belgique. 28

-Porreca, I., De Felice, E., Fagman, H., Di Lauro, R., Sordino, P., 2012. Zebrafish bcl2l is a survival factor in thyroid development. *Dev. Biol.* 366, 142–152. Post.

R

-Rahman M.S., Kasapis S., Al-Kharusi N.S.Z., Al-Marhubi I.M., Khan A.J., 2008. Composition characterisation and thermal transition of date pits powders. *Journal of Food Engineering*, Volume 80, Issue 1, Pages 1-10.

-Raven, P.H., Johnson, G.B., Mason, K.A., Losos, J.B., and Singer, S.S. (2011). *Biologie* (De Boeck Supérieur).p 20

-Recchia G, Perbellini L, Prati GF, Dean P, Ancona G. Coma caused by probably accidental ingestion of xylene: treatment with hemoperfusion using activated charcoal. *Medicina del Lavoro.* 1984;76:67-73.

-Reutman SR, LeMasters GK, Knecht EA, Shukla R, Lockey JE, Burroughs GE, et al. Evidence of reproductive endocrine effects in women with occupational fuel and solvent exposures. *Environ Health Perspect.* 2002;110:805-11.

-Riihimäki V (1979a) Conjugation and urinary excretion of toluene and *m*-xylene in man. *Scand J Work Environ Health*, 5: 135-142.

-Riihimäki V (1979b) Percutaneous absorption of *m*-xylene from a mixture of *m*-xylene and isobutyl alcohol in man. *Scand J Work Environ Health*, 5: 143-150.

-Riihimäki V & Hänninen O (1987) Xylenes. In: Snyder R. ed. *Ethel Browning's toxicity and metabolims of industrial solvents*, 2nd ed. Amsterdam, Oxford, New York, Elsevier Science Publishers, vol 1, pp 64-84.

-Rosalki, S., 1993. *Clin Chem*, 39(4), 648-652. Cité par fiche technique SPINREACT. Réf. 1001130.

-Ryndak-Swiercz, A. (2010). Chapitre 1 - Ontogenèse, anatomie, histologie et physiologie de la thyroïde. In *Les Maladies de La Thyroïde*, J.-L. Wémeau, ed. (Paris: Elsevier Masson), pp. 3–11.

S

-Sanchez-Moreno C., 2002. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International.* 8: 121-137.

- Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G.P., Rice-Evans C.A., 1995. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 339-346.
- Savolainen K, Kekoni J, Riihimäki V, Laine A. Immediate effects of m-xylene on the human central nervous system. *Arch Toxicol (Suppl)*. 1984;7:412-7.
- Savolainen K, Riihimäki V. An early sign of xylene effect on human equilibrium. *Acta Pharmacol Toxicol*. 1981;48:279-83.
- Savolainen K, Riihimäki V, Luukkonen R, Muona O. Changes in the sense of balance correlate with concentrations of m-xylene in venous blood. *Brit J Ind Med*. 1985;42:765-9.
- Sarmiento MJ, Guardiola SJJ, Martinez VA, Campaña CE. Renal tubular acidosis with an elevated anion gap in a 'glue sniffer'. *Hum Toxicol*. 1989;8:139-40.
- Sawaya W.N., Khalil J.K., Safi W.M., Al-Shalat A.(1983). Physical And Chemical Characterization Of Three Saudi Date Cultivars At Various Stages Of Development.*Can. Ins. Food Sci. Technol. J.* 16, 2, Pp 87-93.
- Sedivec V & Flek J (1976) The absorption, metabolism, and excretion of xylenes in man. *Int Arch Occup Environ Health*, 37: 205-217.
- Seppäläinen AM, Laine A, Salmi T, Riihimäki V, Verkkala E. Changes induced by short-term xylene exposure in human evoked potentials. *Int Arch Occup Environ Health*. 1989;61:443-9.
- shen Y., 2009- Preparation and application of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles for wastewater purification. *Annale de SPT*. vol. 68(3) : 1-8.
- SIDAB, 2015, Salon international de dattes de Biskra. Mars 2015.
- Singh ,B., Saxena, A.K., Chandan B.K., Anand, K.K., Suri O.P., SuriSatti K.A., & SuriSatti, N.K. (1998). Hepatoprotective activity of verbenaquin on experimental liver damage in rodents. *Fitoterapia*. 69: 134–140.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Orlando Academic Press: 152-178.
- Southon ,S., Gee ,J., Johnson, I.T.(1984).Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *Brit J Nutr*, 52(5): 371.

T

- Tatrai E, Ungváry G. Changes induced by o-xylene inhalations in the rat liver. *Acta Med Acad Sci Hung*. 1979;37:211-6.

-Tassaneeyakul W, Birkett DJ, Edwards JW, Veronese ME, Tukey RH, Miners JO. Human cytochrome P450 isoform specificity in the regioselective metabolism of toluene and o-, m- and p-xylene. *J Pharmacol Exper Ther.* 1996;276:101-8.

-Toftgård R, Nilsen OG. Induction of cytochrome P-450 in rat liver after inhalation of aromatic organic solvents. In: Gut I et al. (ed): *Industrial and environmental xenobiotics* (pp 307-17). Berlin: Springer-Verlag, 1981.

-Tramalloni, J., and Monpeyssen, H. (2013). 1 - Thyroïde normale et variantes. In *Echographie de La Thyroïde (2e Édition)*, J. Tramalloni, and H. Monpeyssen, eds. (Paris: Elsevier Masson), pp. 1–26.

-Tramalloni, J. (2011). *Imagerie de la thyroïde et des parathyroïdes (Lavoisier)*.

U

-Uchida Y, Nakatsuka H, Ukai H, Watanabe T, Liu YT, Huang MY, et al. Symptoms and signs in workers exposed predominantly to xylenes. *Int Arch Occup Environ Health.* 1993;64:597-605.

-Ungváry G. The effect of xylene exposure on the liver. *Acta Morphol Hung.* 1989;38:245-58.

V

-Vlaeminck-Guillem, V. (2011). *Structure et physiologie thyroïdiennes.* EMC - Endocrinol. - Nutr. 8, 1–16.

W

-Walters, M., & Gerarde, H., 1970. *Microchem J*, 15, 231-243. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80403.

-Wang, H.X., Ng, T.B., (1999). Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and anti thrombotic activities. *Life Sciences* 65: 2663-2677.

-Weber, L.W.D., Boll, M., Stampfl, A., 2003. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology* 33, 105–136

-Weckberker G., Cory G., 1988. Ribonucléotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia 1210 cells *in vitro*. *Cancer letters.* 40 : 257-264.

-Wiat, C., 2006. *Anti-inflammatoire plantes ethnopharmacologie of medicinal plants:asia and the pacific.* USA: Totowa .

-Wolfe GW. Subchronic toxicity study in rats with pxylene: Report by Hazleton Laboratories America, Inc. Rockville, MD: Dynamac Corporation, 1988.

X

-Xiao GB, Pan CB, Cai YZ, Lin H, Fu ZM. Effect of benzene, toluene, xylene on the semen quality and the function of accessory gonad of exposed workers. *Ind Health*. 2001;39:206-10.

Υ

-Yagi, K. (1976). Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* Vol. (15), 212-216.

-Yamada K (1993) Influence of lacquer thinner and some organic solvents on reproductive and accessory reproductive organs in the male rat. *Biol Pharm Bull*, 16: 425-427.

-Yi-Zhong C., Mei S., Jie X., Qiong L., Corke H., 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*. 78(25): 2872-2888.

-Yuccif e,A.k.,Benjamin ,N.D., Kado,A.,Alddin,S.M.,Ali,S.M.,1996 .Chemical Composition of four Iraqi Date Cultivars.*Date Palm Journal*,1(2),285-297.

- www.google earth.com., 2019

ANNEXES

PRESENTATION

Réf. 20103, (160 Tests)
R1 : 4 x 80 ml
R3 : 1 x 15 ml
R4 : 1 x 3 ml (Lyoph)

PRINCIPE

L'acide sulfanilique réagit avec le nitrite de sodium pour donner de l'acide sulfanilique diazoté. En présence de diméthyl sulfoxyde (DMSO), la bilirubine totale se couple avec l'acide sulfanilique diazoté pour donner l'azobilirubine.

REACTIFS

Réactif 1	Acide sulfanilique	30 mmol/l
	Acide Chlorhydrique	150 mmol/l
	Diméthylsulfoxyde	7 mmol/l
Réactif 3	Nitrite de sodium	20 mmol/l
Réactif 4	Etalon Voir préparation de l'étalon	

ECHANTILLON

Sérum ou plasma recueilli sur EDTA héparine, citrate ou fluorure et conservé à l'abri de la lumière.

MODE OPERATOIRE

Préparation de l'Etalon (R4)

Reconstituer le lyophilisat R4 avec exactement 3ml d'eau distillée. Attendre 15 minutes. Compléter la dissolution du lyophilisat par retournements successifs du flacon. Les concentrations exacts sont indiqués sur chaque flacon La stabilité à l'obscurité après reconstitution est de :

- 2 Jours à 20-25°C
- 4 Jours à 2-8°C
- 6 semaines à -20°C

Il est indispensable d'établir un facteur de calibration dans les conditions du laboratoire dès la reconstitution de l'étalon R4.

$$F = \frac{(\text{Conc. Bilirubine Total}) \text{ étalon}}{\text{Abs (étalon)} - \text{Abs (Blanc étalon)}}$$

LECTURE

Longueur d'onde : 555 nm (546 Hg)
Température : 37°C
Cuve : 1 cm d'épaisseur
Zéro de l'appareil : Blanc étalon ou Blanc échantillon

Solution de travail (B.T)

Mélanger 20 vol R1 avec 1 vol. R3

Stabilité à l'obscurité

6H à 20 - 25°C / 2 Jours à 2-8°C

BILIRUBINE TOTALE

	Etalon		Echantillon	
	Blanc	Dosage	Blanc	Dosage
Etalon R4	50 µl	50 µl		
Echantillon			50 µl	50 µl
Réactif R1	1 ml		1 ml	
Solution de travail (B.T)		1 ml		1 ml

Mélanger et incuber exactement 5 minutes à 37°C lire l'absorbance (A) de l'étalon et l'échantillon contre leurs blancs.

N.B : Diluer les échantillons de nouveau-nés ou très icteriques au 1/5 dans une solution de NaCl à 9g/l

CALCUL (B.T)

$$[\text{Bilirubine Totale}] = \frac{\text{Abs (A) échantillon}}{\text{Abs (A) étalon}} \times [\text{Conc. étalon}]$$

$$[\text{Bilirubine Totale}] = \text{Abs (A) échantillon} \times F$$

NOTE

$$\mu\text{mol} / \text{l} \quad \begin{array}{c} 0,585 \text{ mg/l} \\ \rightleftharpoons \\ 1,710 \end{array}$$

LINEARITÉ

20 mg/dl ; 200 mg/l (340 µmol).

VALEURS USUELLES

0,2 - 1,0 mg/dl ; 2 - 10 mg / l (3,4 -17 µmol/l)

BIBLIOGRAPHIE

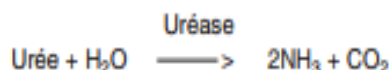
Hijmans Van den Bergh A.A., Muller P., Biochem, 77, 90 (1916).
Walters M.I., Gerarde R.W., Microchem.15, 231 (1970).

PRESENTATION

Réf. 201 41, (200 Tests)	Réf. 20146, (500 Tests)	Réf. 20148, (1000 Tests)
R1 : 2 x 100 ml	R1 : 1 x 500 ml	R1 : 2 x 500 ml
R2 : 2 flacons (lyoph)	R2 : 1 flacons (lyoph)	R2 : 2 flacons (lyoph)
R3 : 1 x 4ml	R3 : 1 x 5 ml	R3 : 2 x 5 ml
R4 : 2 x 10 ml (10 x conc)	R4 : 1 x 50 ml (10 x conc)	R4 : 2 x 50 ml (10 x conc)

PRINCIPE

L'urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante :



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.

REACTIFS

Réactif 1 Tampon		
Réactif 2	EDTA	2 mmol/l
	Salicylate de sodium	60 mmol/l
	Nitroprussiate de sodium	32 mmol/l
	Uréase	30000 U/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 x []	Hydroxyde de sodium	150 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Le réactif 4 est à compléter avec 90 ml d'eau distillée :
Réf. 20141, 450 ml d'eau distillée Réf. 20146 ou Réf. 20148

Dissoudre le flacon R2 dans le tampon R1 : réactif A.

Les réactifs de travail sont stables : 6 mois à 2-8°C,
14 Jours à 20-25°C

ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueilli sur héparine.

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

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde : _____ 590 nm (578 Hg)

Température : _____ 25-30-37°C

Cuve : _____ 1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

UREE COLOR

Méthode Berthelot modifiée

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif de travail A	1 ml	1 ml	1 ml
Mélanger, incubé 5 min. à 37° C ou 10 min. à 20-25°C. Ajouter ensuite.			
Réactif 4	1 ml	1 ml	1 ml
Mélanger, incubé 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

$$\text{Urée} = \frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Etalon}} \times n$$

$$\text{g/l} : n = 0,50$$

$$\text{mmol/l} : n = 8,325$$

LINEARITE

La méthode est linéaire jusqu'à 4 g/l (66,6 mmol/l)

Dans les urines, la méthode est linéaire jusqu'à 100 g/l .

VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	0,15 - 0,40 g/l 2,49 - 6,66 mmol/l
Urine	20-35 g/24h

BIBLIOGRAPHIE

Balleter, W.G., Bushaman, C.S., Tidwell, P.W., Anal. Chim. 33,59

Berthelot, M.P.E., Report Chim. Appl. 284 (1859)

Mac Key, E.M., Rackeyll, J. Clin. Invest, J. Clin. Invest. 4,

PRESENTATION

Réf. 20151, (320Tests)	Réf. 20152, (3000Tests)	Réf. 20153, (1000Tests)
R1: 2 x 80 ml	R1 : 3 x 500 ml	R1 : 1 x 500 ml
R2 : 2 x 80 ml	R2 : 3 x 500 ml	R2 : 1 x 500 ml
R3 : 1 x 15 ml	R3 : 3 x 50 ml	R2 : 2 x 25 ml

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.

Réactif 1	Hydroxyde de sodium	1.6 mol/l
Réactif 2	Acide picrique	17.5 mmol/l
Réactif 3	créatinine	2 mg/dl
Standard		20 mg/l 176,8 µmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Les réactifs sont prêts à l'emploi, stables à température ambiante jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Réactif de travail: mélanger à parts égales R1 et R2

Stabilité : 1 mois à 20°-25°C.

ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueilli sur héparine

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

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde:492 nm (490 - 510)

Température:.....25 - 30 ou 37 °C

Cuve:.....1 cm 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	1 ml	1 ml

Mélanger et lire les densités optiques DO1 après 30 sec.

Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.

CREATININE

Méthode cinétique colorimétrique sans déprotéinisation

CALCUL

Calculer $\Delta DO = DO2 - DO1$ pour le standard et les échantillons.

$$\text{Créatinine} = \frac{\Delta DO \text{ Echantillon}}{\Delta DO \text{ Standard}} \times n$$

mg/dl: n = 2

mg/l: n = 20

µmol/l: n = 176.8

LINEARITE

La méthode est linéaire jusqu'à 150 mg/l (15 mg/dl - 1326 µmol/l).

Si la concentration en créatinine est supérieure à 150 mg/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et recommencer le test. Multiplier le résultat par 2.

VALEURS USUELLES

Sérum	0.7 - 1.4 mg/dl 7-14 mg/l 61.8 -132.6 µmol/l
Urine	15-25 mg/kg/24h

BIBLIOGRAPHIE

Henry J.B., Clinical Diagnosis and management 17th édition, Saunders Publisher 1984.

Larsen K., Clin. Chim. Acta 66, 209 (1972).

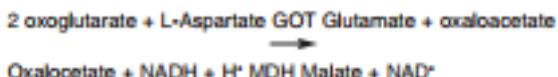
PRESENTATION

Ref.20042 (60 Tests)	Ref.20043 (100 Tests)	Ref.20050 (160 Tests)	Ref.20050 (220 Tests)
R1: 1 x 65 ml	R1: 1 x 110 ml	R1 : 9 x 50ml	R1 : 2 x 110 ml
R2: 30 x 3 ml (lyophil)	R2: 10 x 10 ml (lyophil)	R2 : 9 x 50 ml (lyophil)	R2 : 2 x 110 ml (lyophil)

PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité aspartate aminotransférase.

La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:



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

GOT: Transaminase glutamique oxaloacétique

MDH: Malate Dehydrogenase

REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris PH 7.8 à 30°C	80 mmol/l
Solution Tampon	L- aspartate	200 mmol/l
Réactif 2	NADH	0.18 mmol/l
Substrat	LDH	800 U/l
	MDH	600 U/l
	Oxoglutarate	12 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Reprendre le substrat R2 par 3 ml Réf (20042) ou 10 ml Réf (20043) de Tampon R1. Pour les Réf (20050) et (200492) reconstituer chaque R2 par un flacon R1. cette solution de travail est stable : 7 jours à 2-8°C.
: 24 heures à 20-25°C.

ECHANTILLON

Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde.....340 nm
Température.....25-30-37°C
Cuve.....1 cm d'épaisseur

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

Solution de travail	1 ml	3 ml
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.		

GOT-ASAT

Méthode cinétique IFCC
sans phosphate de pyridoxal

CALCUL

à 340 nm $\Delta DO/\text{min} \times 1750 = \text{UI}$

LINEARITE

Si la $\Delta DO/\text{min}$ à 340 nm est supérieure à 0.15, répéter le test en diluant l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Femmes	jusqu'à 16 UI	Jusqu'à 22 UI	Jusqu'à 31 UI
Hommes	jusqu'à 19 UI	Jusqu'à 26 UI	Jusqu'à 38 UI

REMARQUE

L'hémolyse peut interférer.

BIBLIOGRAPHIE

Bergmeyer H; Bower and Cols. Clin. Chim Acta 70, (1976)
Bergmeyer H et Wahiegeld Clin. Chem 24, 58 (1978). minutes.

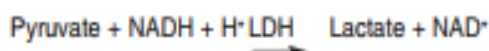
PRESENTATION

Réf. 20046, (60 Tests)	Réf. 20047, (100 Tests)	Réf. 20040, (450 Tests)	Réf. 200462, (200 Tests)
R1: 1 x 65 ml	R1: 1 x 110 ml	R1: 9 x 50 ml	R1: 2 x 110 ml
R2: 30 x 3 ml (lyophil)	R2: 10 x 10 ml (lyophil)	R2: 9 x 50 ml (lyophil)	R2: 2 x 110 ml (lyophil)

PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité Alanine amino transférase

La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:



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

GPT: Transaminase Glutamique pyruvique

LDH: Lactate Dehydrogenase

REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris PH 7.5 à 30°C	100 mmol/l
Solution Tampon	Alanine	500 mmol/l
Réactif 2	NADH	0.18 mmol/l
Substrat	LDH	1200 UI
	Oxoglutarate	15 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Reprendre le substrat R2 par 3 ml Réf (20046) ou 10 ml Réf (20047) de Tampon R1. Pour les Réf (20040) et (200462) reconstituer chaque R2 par 1 flacon R1.

Cette solution de travail est stable 7 jours à 2-8°C.

24 heures à 20-25°C.

ECHANTILLON

Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde.....340 nm

Température 25-30-37°C

Cuve.....1 cm d'épaisseur

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

GPT-ALAT

Méthode cinétique (IFCC)
sans phosphate de pyridoxal

solution de travail	1 ml	3 ml
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

à 340 nm $\Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750 = \text{UI}$

LINEARITE

Si la $\Delta\text{DO}/\text{min}$ à 340 nm est supérieure à 0,15 répéter le test en diluant l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Femmes	jusqu'à 16 UI	Jusqu'à 22 UI	Jusqu'à 31UI
Hommes	jusqu'à 22UI	Jusqu'à 29 UI	Jusqu'à 40UI

REMARQUE

L'hémolyse peut interférer.

BIBLIOGRAPHIE

Bergmeyer H. Schaibe and Walefeld. Clin. Chem. 24 58 - 73 (1978).

Bergmeyer and Horder Clin. Chem. Acta 105 147 F (1980).

PRESENTATION

Réf. 20015, (80 Tests) R1 : 20 x 3 ml R2 : 1 x 7 ml	Réf. 20016, (100 Tests) R1 : 10 x 10 ml R2 : 1 x 11 ml
Réf. 20017, (120 Tests) R1 : 4 x 30 ml R2 : 2 x 7 ml	Réf. 20018, (250 Tests) R1 : 5 x 50 ml R2 : 2 x 14 ml

PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité phosphatase alcaline (PAL) selon la méthode recommandée par la société allemande de chimie clinique (DGKG)

PAL

nitro-4 phénylphosphate $H_2O \rightarrow$ nitro 4 phénol+ phosphate.

REACTIFS

R1 : Réactif tampon Tampon diethanolamine (pH 9.8) Chlorure de magnésium	1 mol/l 0.5 mmol/l
R2 : substrat Nitro 4 phénylphosphate	10 mmol/l

PREPARATION

Réactif de travail :

Réf. : 20015	R1..... 3 ml R2.....0,3 ml
Réf. : 20016	R1.....10 ml R2.....1 ml
Réf. : 20017	R1.....30 ml R2.....3 ml
Réf. : 20018	R1.....50 ml R2.....5 ml

STABILITE

Stabilité du réactif de travail:

- 15 - 25°C5 jours
- 2 - 8°C.....15 jours

PRELEVEMENT

Sérum, plasma recueilli sur héparine, non hémolysé.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde:	405 nm (Hg 400-Hg 420)
Température:	25°, 30° ou 37°C
Cuve:	1 cm d'épaisseur
Zéro de l'appareil:	air ou eau distillée

Dans un tube à hémolyse introduire :	
Solution de travail	1 ml
Equilibrer à 25°, 30° ou 37°C	
Echantillon	20 µl

PHOSPHATASE ALCALINE

Détermination Cinétique
Méthode DGKC

attendre 1 minute puis mesurer l'augmentation moyenne de la D.O par minute pendant 1 à 3 minutes.

CALCUL

405 nmPAL (U/L) = $\Delta D.O/min \times 2750$

410 nmPAL (U/L) = $\Delta D.O/min \times 2910$

LINEARITE

Si la variation moyenne de D.O/min > 0,250 refaire le test en diluant l'échantillon au 1/5 dans une solution de NaCl à 9g/l et multiplier le résultat par 5.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Enfants	Jusqu'à 400 U/L	Jusqu'à 500 U/L	Jusqu'à 650 U/L
Adultes	40-190 U/L	50-230 U/L	70-300 U/L

BIBLIOGRAPHIE

Haussamen T.U. et al. Clin. Chim. Acta. 35, 271-273 (1977).

REMARQUE

La mesure de l'activité enzymatique est meilleure dans les quatre heures qui suivent le prélèvement.

PRESENTATION

Réactif 1 (250 Tests) R1 : 3 x 100 ml R2 : 3 flacons (lyophil) R3 : 1 x 5 ml	Réactif 2 (500 Tests) R1 : 6 x 100 ml R2 : 6 flacons (lyophil) R3 : 2 x 5 ml	Réactif 3 (250 Tests) R1 : 4 x 50 ml R2 : 4 flacons (lyophil) R3 : 1 x 5 ml	Réactif 3 (500 Tests) R1 : 8 x 100 ml R2 : 8 flacons (lyophil) R3 : 2 x 5 ml
---	---	--	---

PRINCIPE

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phénol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :

Cholestérol estérase

Esters de cholestérol + H₂O → Cholestérol + Acides gras

Cholestérol oxydase

Cholestérol + O₂ → Cholestène- 4-one + 3 + H₂O₂

Péroxydase

H₂O₂ + Phénol + Amino- 4 - antipyrine → Quinoneimine rose

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

REACTIFS

Réactif 1	Pipes pH 6.9	90 mmol/l
Solution tampon	Phénol	26 mmol/l
Réactif 2	Cholestérol oxydase	300 U/l
	Péroxydase	1250 U/l
	Cholestérol estérase	300 U/l
	Amino-4-antipyrine	0.4 mmol/l
Réactif 3		200 mg/dl
Standard		2 g/l
		5.17 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

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
4 mois à 2 - 8°C

ECHANTILLONS

Sérum

Plasma recueilli sur héparine

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde :505 nm (500 - 550)

Température :37°C

Cuve :1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

CHOLESTEROL

Test enzymatic colorimetric
(CHOD- PAP)

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

Mélanger, lire les densités optiques après une incubation de 5 min. à 37° C.
La coloration est stable 30 minutes.

CALCUL

D.O. Echantillon

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

D.O. Standard

mg/dl : n = 200

g/l : n = 2

mmol/l : n = 5,17

LINÉARITÉ

La méthode est linéaire jusqu'à 6 g/l (600 mg/dl - 15.4 mmol/l).

Si la concentration en cholestérol est supérieure à 6 g/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le test. Multiplier le résultat par 2.

VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	3,6 à 5,7 mmol/l
	1,4 à 2,2 g/l
	140 à 220 mg/dl

BIBLIOGRAPHIE

Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6, 24 (1969)

Richmond, Clin. Chem. 19, 1350 (1973)

Fasce C.F., Clin. Chem. 18901 (1982)

PRESENTATION

Réf 20131, (240 Tests) Réf 20132, (120 Tests)
R1 : 2 x 120 ml R1 : 4 x 30 ml
R2 : 2 flacons (lyoph) R2 : 4 flacons (lyoph)
R3 : 1 x 4 ml R3 : 1 x 3 ml

Réf : 20138, (600 Tests)
R1 : 5 x 120 ml
R2 : 5 flacons (lyoph)
R3 : 2 x 5 ml

PRINCIPE

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :

Lipoprotéine lipase
Triglycérides \longrightarrow Glycérol + Acides gras

Glycérokinase, Mg⁺⁺
Glycérol + ATP \longrightarrow Glycérol -3-P + ADP

Glycérol-3- Phosphate oxydase
Glycérol-3-Phosphate + O₂ \longrightarrow H₂O₂ + Dihydroxyacétone-P

Péroxydase
H₂O₂ + Amino-4-Antipyrine + chloro-4-phéno \longrightarrow Quinone rose + H₂O

REACTIFS

Réactif 1	Tampon pHPes pH 7,2	50 mmol/l
Solution tampon	Chloro-4-phéno	2 mmol/l
Réactif 2	Lipoprotéine lipase	150000 UI
enzymes	Glycérokinase	800 UI
	Glycérol 3-P-Oxydase	4000 UI
	Péroxydase	440 UI
	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

PREPARATION ET STABILITE

Dissoudre le lyophilisat R2 avec un flacon de tampon R1.
Stabilité du réactif de travail : 1 semaine à 20-25°C
4 semaines à 2-8°C.

ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueilli sur héparine.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde :505 nm (490-550)
Température :37°C
Cuve :1 cm d'épaisseur
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

TRIGLYCERIDES

Méthode colorimétrique enzymatique (GPO- PAP)

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

Mélanger et lire les DO après incubation de 5 min à 37°C ou de 10 min à 20-25°C. La coloration est stable 30 minutes.

CALCUL

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

mg/dl : n = 200
g/l : n = 2
mmol/l : n = 2,28

LINÉARITÉ

La méthode est linéaire jusqu'à 10 g/l (1000 mg/dl -11,4 mmol/l). Si la concentration est plus importante, diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le dosage. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

Femmes	40 - 140 mg/dl 0,40 - 1,40 g/l 0,46 - 1,60 mmol/l
Hommes	60 - 165 mg/dl 0,60 - 1,65 g/l 0,68 - 1,88 mmol/l

NOTE

Les triglycérides sont stables dans le sérum 3 jours à 2 - 8°C

BIBLIOGRAPHIE

Fossati P., Prencipe L., Clin. Chem. 28, 2077 (1982)
Young D., Pestaner L., Clin. Chem., 21,5 (1975)

LIAISON® FT4 (REF 311611)

1. UTILISATION

Dosage *In vitro* pour la détermination quantitative de la thyroxine libre (FT4) dans le sérum et le plasma humains. Le dosage doit être effectué sur les automates de la gamme LIAISON® Analyzer.

2. INTÉRÊT CLINIQUE

La glande thyroïde sécrète la thyroxine (T4) dans la circulation sanguine, où plus de 99,9 % de l'hormone est liée à des protéines de transport (1, 3). Cependant, seule la fraction libre de la T4 (FT4) est physiologiquement active (2, 6).

La FT4 induit une stimulation métabolique et agit par rétrocontrôle sur l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien. Contrairement à la mesure de la T4 totale, la mesure de la FT4 est indépendante des protéines de transport (TBG [Thyroxine Binding Protein], TBPA [Thyroxine Binding Prealbumin], albumine). En raison de sa sensibilité et de sa spécificité élevées pour le dysfonctionnement de la thyroïde, la FT4 devrait toujours être déterminée chez les patients présentant des anomalies des protéines de transport (4).

Des taux anormaux de protéines de transport peuvent avoir différentes causes (7) :

- congénitales : hyperthyroïxémie dysalbuminémique familiale (FDH syndrome), hyperthyroïxémie préalbumine-associée, diminution congénitale de la concentration de TBG
- physiologiques : grossesse, post-partum (5)
- prise de médicaments : contraceptifs oraux, salicylates, héparine
- graves pathologies sous-jacentes (maladies non thyroïdiennes (MNT)) : insuffisance rénale chronique, infarctus du myocarde, hépatite aiguë, cirrhose hépatique, anorexie nerveuse, infections graves, état post-opératoire et post-traumatisme.

La détermination de la concentration en T4 libre permet les différenciations cliniques entre l'hyperthyroïxémie euthyroïdienne et l'hyperthyroïdie, et entre l'hypothyroïxémie euthyroïdienne et l'hypothyroïdie.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

La méthode de détermination quantitative de la FT4 repose sur la méthode SPALT (Solid Phase Antigen Linked Technique).

Les particules magnétiques (phase solide) sont revêtues d'un complexe T4-protéine ; un anticorps monoclonal est lié à un dérivé de l'isoluminol (conjugué anticorps-Isoluminol).

Pendant l'incubation, la FT4 entre en compétition avec le complexe T4-protéine pour les sites de liaison sur l'anticorps marqué.

Après l'incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage.

Ensuite, la réaction de chimiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs Starter dans les modules réactionnels. Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-Isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU, relative light units) et indique la concentration de FT4 présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

4. MATÉRIEL FOURNI

L'ordre des réactifs est le même que celui des compartiments du réactif Integral.

Réactif Integral pour 100 déterminations		
2,3 mL	CORB	Phase solide : contenant des particules magnétique revêtues d'un complexe T4-protéine (IapIn), de la SAB (sérumalbumine bovine) et de l'azide de sodium à 0,09 %
1,0 mL	GAL1	Étalon 1, bas : contenant du sérum humain avec adjonction d'antigène T4 et de l'azide de sodium à 0,09 %
1,0 mL	GAL2	Étalon 2, haut : contenant du sérum humain avec adjonction d'antigène T4 et de l'azide de sodium à 0,09 %
23,0 mL	CONJ	Conjugué : contenant un anticorps monoclonal anti-T4 (souris) marqué à l'Isoluminol, de la SAB (sérumalbumine bovine) et de l'azide de sodium à 0,09 %

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

Matériel nécessaire, mais non fourni (relatif au système)

Automate LIAISON® XL Analyzer	Automate LIAISON® Analyzer
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)
LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)	LIAISON® Waste Bags (REF 450003)
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016)	LIAISON® Module (REF 319130)
LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Starter Kit (REF 319102) ou LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)
	LIAISON® Light Check 12 (REF 319150)

Matériel supplémentaire nécessaire

LIAISON® Control Thyroid 1 (REF 389219)
LIAISON® Control Thyroid 2 (REF 389229)
LIAISON® Control Thyroid 3 (REF 389239)

5. PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Tous les produits d'origine humaine utilisés pour la fabrication des composants de cette trousse ont été analysés et se sont avérés négatifs en Ag HBs, en anticorps anti-VHC et en anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2. Toutefois, puisqu'il n'existe aucune méthode de test garantissant l'absence totale d'agents pathogènes, tout matériau d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé avec précaution.

6. RÈGLES DE SÉCURITÉ

Ne pas manger, ni boire, ni fumer ou se maquiller pendant le dosage.

Ne pas pipeter avec la bouche.

Éviter tout contact direct avec l'ensemble du matériel potentiellement infectieux en portant des vêtements de laboratoire, des lunettes de protection et des gants à usage unique. Se laver soigneusement les mains à la fin de chaque dosage.

Éviter de provoquer des éclaboussures ou des vaporisations. Si cela arrivait, chaque goutte de réactif biologique doit être nettoyée avec une solution d'hypochlorite de sodium contenant 0,5 % de chlore actif et le moyen utilisé doit être traité comme un déchet infectieux.

Tous les échantillons et les réactifs contenant du matériel biologique utilisés pour effectuer le test doivent être considérés comme susceptibles de transmettre des agents infectieux. Les déchets doivent être manipulés avec précaution et être éliminés conformément aux directives du laboratoire ainsi qu'aux dispositions réglementaires en vigueur dans chaque pays. Le matériel réutilisable doit être stérilisé de manière appropriée conformément à la législation et aux directives locales. Vérifier l'efficacité du cycle de stérilisation/décontamination.

Ne pas utiliser de trousses ou de composants dont la date figurant sur l'étiquette est dépassée.

Réactifs contenant de l'azide de sodium (< 0,1 %) [CE No : 247-852-1] :

DIRECTIVE	CE No 1272/2008
MENTIONS DE DANGER/RISQUE	EUH 210 - Fiche de données de sécurité disponible sur demande

7. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

7.1. Réactif Integral

Suivre scrupuleusement les précautions suivantes concernant la manipulation des réactifs :

Remise en suspension des particules magnétiques

Les particules magnétiques doivent être remises en suspension intégralement avant de placer le réactif Integral dans l'automate. Suivre les étapes indiquées ci-après afin de garantir la mise en suspension complète des particules :

Avant d'ôter les opercules des compartiments, agiter légèrement le compartiment des particules magnétiques à l'aide de la molette jusqu'à ce que la solution soit marron. Le fait d'agiter horizontalement le réactif Integral doucement et avec soin favorisera la suspension des particules magnétiques (éviter cependant la formation de mousse). Contrôler visuellement le fond du compartiment des particules magnétiques pour s'assurer que toutes les particules sédimentées ont été effectivement remises en suspension. Si nécessaire, répéter la procédure jusqu'à ce que toutes les particules magnétiques aient été remises en suspension. Retirer les opercules et essuyer doucement la surface de chaque septum pour éliminer le liquide résiduel.

Formation de mousse dans les réactifs

Pour garantir les prestations optimales du réactif Integral, il est indispensable d'éviter toute formation de mousse. Observer les recommandations suivantes afin d'empêcher la formation de mousse :

Avant toute utilisation du réactif Integral, contrôler visuellement les réactifs et notamment les étalons (situés en deuxième et troisième position après le compartiment des particules magnétiques) pour exclure la présence de mousse. Si après la remise en suspension des particules magnétiques il y a formation de mousse, placer le réactif Integral dans l'automate et laisser la mousse se disperser. Le réactif Integral est prêt à l'emploi lorsqu'il a été laissé au repos à l'intérieur de l'automate, lorsque les particules magnétiques sont maintenues en agitation automatiquement et que la mousse a été entièrement dispersée.

Chargement du réactif Integral dans le compartiment à réactifs

Automate LIAISON® Analyzer

Placer le réactif Integral dans le compartiment à réactifs de l'automate d'immunoanalyse, en veillant à ce que l'étiquette à codes-barres soit à gauche et attendre 30 minutes avant utilisation. Pendant cette période, les particules magnétiques sont agitées et remises en suspension automatiquement.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate pour charger les échantillons et démarrer le test.

Automate LIAISON® XL Analyzer

L'automate LIAISON® XL Analyzer est pourvu d'un dispositif magnétique interne, à l'état solide, qui favorise la dispersion des microparticules avant de placer un réactif Integral dans le compartiment à réactifs de l'automate d'immunoanalyse. Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse pour avoir des renseignements détaillés.

Placer le réactif Integral dans la rainure prévue à cet effet.

Laisser reposer le réactif Integral à l'intérieur du dispositif magnétique à l'état solide pendant au moins 30 secondes (et jusqu'à plusieurs minutes). Répéter l'opération si nécessaire.

Placer le réactif Integral dans le compartiment à réactifs de l'automate d'immunoanalyse, en veillant à ce que l'étiquette soit à gauche et attendre 15 minutes avant utilisation. Pendant cette période, les particules magnétiques sont agitées et remises en suspension automatiquement.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate pour charger les échantillons et démarrer le test.

7.2. Contrôles

Consulter les Instructions des trousses LIAISON® Control Thyroid 1 / LIAISON® Control Thyroid 2 / LIAISON® Control Thyroid 3 pour la préparation et la manipulation adéquates des contrôles.

8. CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

8.1. Réactif Integral

Fermé : stable à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption.

Ouvert et à bord de l'automate ou à 2-8 °C : stable pendant 2 semaines (voir § 12).

Au terme de ce délai, il est possible d'utiliser le réactif Integral si les contrôles restent dans les limites attendues.

Toujours utiliser le même automate d'immunoanalyse LIAISON® Analyzer pour un réactif Integral déjà ouvert.

Le réactif Integral doit être conservé verticalement afin de faciliter la remise en suspension ultérieure des particules magnétiques.

Utiliser le portoir de stockage fourni avec les automates de la gamme LIAISON® Analyzer pour la conservation du réactif Integral en position verticale.

Conserver à l'abri de toute lumière directe.

9. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Suivre les Instructions générales pour le prélèvement des échantillons.

Type d'échantillon : sérum, plasma.

Si le test n'est pas effectué le jour du prélèvement de l'échantillon sanguin, séparer le sérum/plasma du sédiment et le conserver dans un tube distinct.

Conservation à 2-8 °C : 48 h.

Pour des durées plus longues, congeler à -20 °C.

Éviter de répéter les cycles de congélation-décongélation.

Les échantillons conservés doivent être bien mélangés avant le dosage (agitateur de type vortex).

Ne pas utiliser des échantillons fortement hémolysés ou lipémiques, ni des échantillons contenant des particules en suspension ou une contamination microbienne évidente.

Ne pas utiliser les échantillons coagulés.

Le volume minimum d'échantillon nécessaire pour une seule analyse est de 200 µL (50 µL d'échantillon + 150 µL de volume mort).

10. ÉTALONNAGE

L'utilisation des étalons spécifiques à chaque dosage permet d'ajuster les valeurs mesurées en unités relatives de luminescence (RLU) sur la courbe maître attribuée. Une solution d'étalonnage permet d'effectuer jusqu'à 6 étalonnages (au total).

Le ré-étalonnage en triplets est obligatoire chaque fois qu'au moins une des conditions suivantes s'applique :

- Un nouveau lot de réactifs Integral ou de réactifs Starter est utilisé.
- Le dernier étalonnage a été effectué il y a plus de 14 jours.
- L'automate d'immunoanalyse a subi un entretien.
- Les valeurs des contrôles sont en dehors des limites attendues.

Automate LIAISON® Analyzer : les valeurs des étalons sont enregistrées dans le code barres de l'étiquette du réactif Integral.

Automate LIAISON® XL Analyzer : les valeurs des étalons sont enregistrées dans l'étiquette d'identification par radiofréquence (Radio Frequency Identification transponder, étiquette RFID).

11. PROCÉDURE DE DOSAGE

Afin d'assurer les performances optimales du dosage, suivre attentivement les Instructions contenues dans le manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse.

Automate LIAISON® Analyzer : tous les paramètres du dosage sont identifiés par les codes-barres figurant sur l'étiquette du réactif Integral. Si l'étiquette à code-barres ne peut être lue par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif Integral. Ne pas jeter le réactif Integral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des Instructions.

Automate LIAISON® XL Analyzer : tous les paramètres du dosage sont identifiés par les Informations codées dans l'étiquette d'identification par radiofréquence (Radio Frequency Identification transponder, étiquette RFID) du réactif Integral. Si l'étiquette RFID ne peut être lue par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif Integral. Ne pas jeter le réactif Integral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des Instructions.

L'automate LIAISON® Analyzer exécute les opérations suivantes :

1. Distribution de l'échantillon, de l'étalon ou des contrôles dans le module de réaction
2. Distribution des particules magnétiques revêtues (phase solide) et du conjugué
3. Incubation
4. Lavage avec le WashSystem Liquid
5. Ajout du réactif Starter et mesure de la lumière émise

L'automate LIAISON® XL Analyzer exécute les opérations suivantes :

1. Distribution de l'échantillon, de l'étalon ou des contrôles dans la cuvette de réaction
2. Distribution des particules magnétiques revêtues (phase solide) et du conjugué
3. Incubation
4. Lavage avec le WashSystem Liquid
5. Ajout du réactif Starter et mesure de la lumière émise

LIAISON® FT3 (REF 311531)

1. UTILISATION

Dosage *in vitro* de la triiodothyronine libre (FT3) dans le sérum et le plasma humains. Le dosage est un test automatisé sur les automates de la gamme LIAISON® Analyzer.

2. INTÉRÊT CLINIQUE

Chez les sujets sains, la glande thyroïde sécrète environ 5 à 10 µg de triiodothyronine (T3) par jour. La T3 circulante est, pour sa majeure partie, produite par déiodination périphérique de la T4, ainsi le taux de sécrétion journalier de T3 totale est d'environ 20 µg (6). Dans le sérum, les hormones thyroïdiennes sont liées à des protéines de transport et, seule, leur fraction libre est physiologiquement active (2, 5). Dans l'hyperthyroïdie, les mesures de T3 totale et de T3 libre sont de bons indicateurs biochimiques de la sévérité de la thyrotoxicité. L'intérêt de la T3 libre vis-à-vis de la T3 est de ne pas être influencée par les variations en protéines de transport de la T3. La signification clinique principale de la mesure de la T3 libre (ou de la T3) est d'identifier les patients atteints de thyrotoxicose présentant des taux de T4 et de T4 libre normaux et des taux de T3 élevés. La détermination de la T3 libre est aussi utile pour identifier les patients présentant une hyperthyroïdie infraclinique avec des taux de TSH sériques nuls et des taux de T4 libre et de T3 libre normaux (3, 4). La grossesse, l'utilisation de contraceptifs oraux ou les œstrogènes peuvent augmenter les concentrations de T3 totale, alors que les concentrations en T3 libre restent inchangées (1).

3. PRINCIPE DU DOSAGE

La méthode de détermination quantitative de la FT3 repose sur la méthode SPALT (Solid Phase Antigen Linked Technique). Les particules magnétiques (phase solide) sont revêtues d'un complexe T3-protéine ; un anticorps monoclonal est lié à un dérivé de l'isoluminol (conjugué). Pendant la première incubation, l'hormone libre (FT3) présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles se lie à l'anticorps monoclonal (conjugué). Pendant la seconde incubation, le conjugué réagit avec le complexe T3-protéine lié à la phase solide. Après l'incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage. Ensuite, la réaction de chemiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs starter dans les modules réactionnels. Le signal lumineux, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU, relative light units) et indique la concentration de la FT3 présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

4. MATÉRIEL FOURNI

L'ordre des réactifs est le même que celui des compartiments du réactif Integral.

Réactif Integral pour 100 déterminations		
2,3	mL	SORB Phase solide : contenant des particules magnétiques revêtues d'un antigène conjugué, de la SAB (sérum albumine bovine), et de l'azide de sodium à 0,09 %.
1,0	mL	CAL1 Étalon 1, bas : contenant du sérum humain avec adjonction d'antigène T3 et de l'azide de sodium à 0,09 %.
1,0	mL	CAL2 Étalon 2, haut : contenant du sérum humain avec adjonction d'antigène T3 et de l'azide de sodium à 0,09 %.
12,0	mL	CONJ Conjugué : contenant un anticorps monoclonal anti-T3 (mouton) marqué à l'isoluminol, de la SAB (sérum albumine bovine), et de l'azide de sodium à 0,09 %.

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

Matériel nécessaire, mais non fourni (relatif au système)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)
LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)	LIAISON® Waste Bags (REF 450003)
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016)	LIAISON® Module (REF 319130)
LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Starter Kit (REF 319102) ou LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)
	LIAISON® Light Check 12 (REF 319150)

Matériel supplémentaire nécessaire

LIAISON® Control Thyroid 1 (REF 389219)
LIAISON® Control Thyroid 2 (REF 389229)
LIAISON® Control Thyroid 3 (REF 389239)

5. PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

Seulement pour usage diagnostique *In vitro*.

Tous les produits d'origine humaine utilisés pour la fabrication des composants de cette trousse ont été analysés et ont été trouvés négatifs en Ag HBs, en anticorps anti-VHC et en anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2. Toutefois, puisqu'il n'existe aucune méthode de test garantissant l'absence totale d'agents pathogènes, on doit considérer tout matériel d'origine humaine comme étant potentiellement infectieux. C'est pourquoi il faudra le manipuler avec précaution.

6. RÈGLES DE SÉCURITÉ

Ne pas manger, ni boire, ni fumer ou se maquiller pendant le dosage.

Ne pas pipeter avec la bouche.

Éviter tout contact direct avec l'ensemble du matériel potentiellement infectieux en portant des vêtements de laboratoire, des lunettes de protection et des gants à usage unique. Se laver soigneusement les mains à la fin de chaque dosage.

Éviter de provoquer des éclaboussures ou des vaporisations. Si cela arrivait, chaque goutte de réactif biologique doit être nettoyée avec une solution d'hypochlorite de sodium contenant 0,5 % de chlore actif et le moyen utilisé doit être traité comme un déchet infectieux.

Tous les échantillons et les réactifs contenant du matériel biologique utilisés pour effectuer le test doivent être considérés comme susceptibles de transmettre des agents infectieux. Les déchets doivent être manipulés avec précaution et être éliminés conformément aux directives du laboratoire ainsi qu'aux dispositions réglementaires en vigueur dans chaque pays. Le matériel réutilisable doit être stérilisé de manière appropriée conformément à la législation et aux directives locales. Vérifier l'efficacité du cycle de stérilisation/décontamination.

Ne pas utiliser de trousse ou de composants dont la date figurant sur l'étiquette est dépassée.

Reactifs contenant de l'azide de sodium (< 0,1 %) [CE No : 247-852-1] :

DIRECTIVE	CE No 1272/2008
MENTIONS DE DANGER/RISQUE	EUH 210 - Fiche de données de sécurité disponible sur demande

7. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

7.1. Réactif Intégral

Suivre scrupuleusement les précautions suivantes concernant la manipulation des réactifs :

Remise en suspension des particules magnétiques

Les particules magnétiques doivent être remises en suspension intégralement avant de placer le réactif intégral dans l'automate. Suivre les étapes indiquées ci-après afin de garantir la mise en suspension complète des particules :

Avant d'ôter les opercules des compartiments, agiter légèrement le compartiment des particules magnétiques à l'aide de la molette jusqu'à ce que la solution soit marron. Le fait d'agiter horizontalement le réactif intégral doucement et avec soin favorisera la suspension des particules magnétiques (éviter cependant la formation de mousse). Contrôler visuellement le fond du compartiment des particules magnétiques pour s'assurer que toutes les particules sédimentées ont été effectivement remises en suspension. Si nécessaire, répéter la procédure jusqu'à ce que toutes les particules magnétiques aient été remises en suspension. Retirer les opercules et essuyer doucement la surface de chaque septum pour éliminer le liquide résiduel.

Formation de mousse dans les réactifs

Pour garantir les prestations optimales du réactif intégral, il est indispensable d'éviter toute formation de mousse. Observer les recommandations suivantes afin d'empêcher la formation de mousse :

Avant toute utilisation, contrôler visuellement les réactifs et notamment les étalons (situés en deuxième et troisième position du réactif intégral, après le compartiment des particules magnétiques) pour exclure la présence de mousse. Si après la remise en suspension des particules magnétiques il y a formation de mousse, placer le réactif intégral dans l'automate et laisser la mousse se disperser. Le réactif intégral est prêt à l'emploi lorsqu'il a été laissé au repos à l'intérieur de l'automate, lorsque les particules magnétiques sont maintenues en agitation automatiquement et que la mousse a été entièrement dispersée.

Placer le réactif intégral dans le compartiment réactifs de l'automate d'immunoanalyse

LIAISON[®] Analyzer

Placer le réactif intégral dans le compartiment réactifs de l'automate d'immunoanalyse, en ayant soin que l'étiquette des codes-barres soit à gauche et attendre 30 minutes avant utilisation. Pendant cette période, les particules magnétiques sont agitées et remises en suspension automatiquement.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate LIAISON[®] pour charger les échantillons et démarrer le test.

LIAISON[®] XL Analyzer

L'automate LIAISON[®] XL Analyzer est pourvu d'un dispositif magnétique interne, à l'état solide, qui favorise la dispersion des microparticules avant de placer un réactif intégral dans le compartiment réactifs de l'automate d'immunoanalyse. Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse pour avoir des renseignements détaillés.

Placer le réactif intégral dans la rainure prévue à cet effet.

Laisser reposer le réactif intégral à l'intérieur du dispositif magnétique à l'état solide pendant au moins 30 secondes (et jusqu'à plusieurs minutes). Répéter l'opération si nécessaire.

Placer le réactif intégral dans le compartiment réactifs de l'automate d'immunoanalyse, en ayant soin que l'étiquette soit à gauche et attendre 15 minutes avant utilisation. Pendant cette période, les particules magnétiques sont agitées et remises en suspension automatiquement.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate LIAISON[®] pour charger les échantillons et démarrer le test.

7.2. Contrôles

Consulter les instructions des trousse LIAISON[®] Control Thyroid 1 / LIAISON[®] Control Thyroid 2 / LIAISON[®] Control Thyroid 3 pour la préparation et la manipulation adéquates des contrôles.

8. CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

8.1. Réactif Intégral

Avant ouverture : stable à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption.

Ouvert et à bord de l'automate LIAISON® ou à 2-8 °C : stable pendant 4 semaines (voir § 12).

Au delà de ce délai, il est possible d'utiliser le réactif Intégral si les contrôles restent dans les limites attendues.

Toujours utiliser le même LIAISON® Analyzer pour un réactif Intégral déjà ouvert.

Le réactif Intégral est à conserver verticalement afin de faciliter la remise en suspension des particules magnétiques.

Utiliser le support fourni avec les automates d'immunoanalyse de la gamme LIAISON® Analyzer pour la conservation du réactif Intégral en position verticale.

Conserver à l'abri de toute lumière directe.

9. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Suivre les instructions générales pour le prélèvement des échantillons.

Type d'échantillon : sérum, plasma (hépariné, citraté ou EDTA).

Si le test n'est pas effectué le jour du prélèvement de l'échantillon sanguin, séparer le sérum/plasma du sédiment et le conserver dans un tube séparé.

Conservation à 2-8 °C : 24 h.

Pour des durées plus longues, congeler à -20 °C.

Eviter de répéter les cycles de congélation-décongélation.

Les échantillons conservés doivent être bien mélangés avant le dosage (agitateur de type vortex).

Ne pas utiliser des échantillons fortement hémolysés ou lipémiques, ni des échantillons contenant des particules en suspension ou une contamination microbienne évidente.

Ne pas utiliser les échantillons coagulés.

Le volume minimum d'échantillon nécessaire pour une analyse est de 200 µL (50 µL d'échantillon + 150 µL de volume mort).

10. ÉTALONNAGE

Le test des solutions d'étalonnage spécifiques à chaque dosage permet d'ajuster les valeurs mesurées en unités relatives de luminescence (RLU) sur la courbe maître attribuée. Une solution d'étalonnage permet d'effectuer jusqu'à 6 étalonnages (au total).

Le ré-étalonnage triple est obligatoire chaque fois qu'au moins une des conditions suivantes s'applique :

- Un nouveau lot de pack de réactifs (Integral) ou de réactif Starter est utilisé.
- Le dernier étalonnage a été effectué il y a plus de 14 jours.
- L'automate d'immunoanalyse a subi un entretien.
- Les valeurs des contrôles sont en dehors des limites attendues.

LIAISON® Analyzer : les valeurs des étalons sont enregistrées dans le code barres de l'étiquette du réactif Intégral.

LIAISON® XL Analyzer : les valeurs des étalons sont enregistrées dans le tag pour les identifications à radiofréquence (Radio Frequency Identification transponder, RFID Tag).

11. PROCÉDURE DE DOSAGE

Afin d'assurer les performances optimales du dosage, suivre attentivement les instructions contenues dans le manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse.

Automate LIAISON® Analyzer : tous les paramètres du dosage sont identifiés par les codes-barres figurant sur l'étiquette du réactif Intégral. Si l'étiquette à code-barres ne peut être lue par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif Intégral. Ne pas jeter le réactif Intégral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des instructions.

Automate LIAISON® XL Analyzer : tous les paramètres du dosage sont identifiés par les informations codées dans l'étiquette d'identification par radiofréquence (Radio Frequency Identification transponder, étiquette RFID) du réactif Intégral. Si l'étiquette RFID ne peut être lue par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif Intégral. Ne pas jeter le réactif Intégral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des instructions.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse pour obtenir des renseignements détaillés.

L'automate LIAISON® Analyzer exécute les opérations suivantes :

1. Distribution de l'échantillon, de l'étalon ou des contrôles dans le module de réaction
2. Distribution du conjugué
3. Incubation
4. Distribution des particules magnétiques revêtues (phase solide) dans le module de réaction
5. Incubation
6. Lavage avec le Wash/System Liquid
7. Ajout du réactif Starter et mesure de la lumière émise

L'automate LIAISON® XL Analyzer exécute les opérations suivantes :

1. Distribution de l'échantillon, de l'étalon ou des contrôles dans la cuvette de réaction
2. Distribution du conjugué
3. Incubation
4. Distribution des particules magnétiques revêtues (phase solide) dans la cuvette de réaction
5. Incubation
6. Lavage avec le Wash/System Liquid
7. Ajout du réactif Starter et mesure de la lumière émise

1. UTILISATION

Dosage *in vitro* pour la détermination quantitative de l'hormone thyroïdienne (TSH) dans le sérum et le plasma humains. Le dosage est un test automatisé sur les automates de la gamme LIAISON® Analyzer.

2. INTÉRÊT CLINIQUE

La TSH est une hormone glycoprotéique de poids moléculaire d'environ 28 000 à 30 000 Daltons, composée de deux sous-unités liées de manière non covalente : hTSH α et hTSH β (7). Les glycoprotéines TSH, LH (hormone lutéinisante), FSH (hormone folliculo-stimulante) et hCG (gonadotrophine chorionique humaine) présentent une teneur relativement élevée en glucides et une homologie quasi-parfaite de la séquence d'acides aminés de leur sous-unité α (3, 4). Par contre, la sous-unité β possède une séquence d'acides aminés différente pour les quatre hormones (1).

La synthèse et la sécrétion de TSH par l'antéhypophyse sont stimulées par la TRH (Thyrotropin Releasing Hormone) (2). La TSH stimule la synthèse thyroïdienne de la thyroxine (T4) et de la triiodothyronine (T3), lesquelles sont liées respectivement à plus de 99,9 % et 99,7 % aux protéines de transport dans la circulation sanguine (5, 8).

Seules les hormones libres T3 et T4, non liées aux protéines de transport, sont physiologiquement actives au niveau des tissus périphériques et régulent la fonction thyroïdienne par un mécanisme de rétrocontrôle hypophysaire (8).

La détermination de la concentration en TSH est généralement suffisante pour le suivi des thérapies de substitution ou dans le cas de thérapies suppressives.

Le dosage de la TSH est également utile pour le diagnostic des troubles thyroïdiens.

TSH augmentée	TSH diminuée
Hypothyroïdie primaire	Hyperthyroïdie primaire
Thyroïdite d'Hashimoto et thyroïdite post-partum	Hypothyroïdie secondaire et tertiaire (hypophyso-hypothalamique)
Sécrétion ectopique de TSH (tumeurs pulmonaires, mammaires)	Sécrétion autonome d'hormones thyroïdiennes
Syndromes de résistance aux hormones thyroïdiennes	Maladie de Basedow
Carence en ou excès d'iode	Thyroïdite post-partum
Médicaments	Cancer métastatique de la thyroïde
	Goitre nodulaire toxique

Les troubles thyroïdiens prévalents sont l'hypothyroïdie et l'hyperthyroïdie primaires, avec une TSH augmentée ou diminuée.

L'hypothyroïdie primaire est due dans la plupart des cas à une maladie auto-immune (comme la thyroïdite d'Hashimoto) ou à une déficience congénitale du tissu thyroïdien. Des taux élevés de TSH sont également dus à une altération de la biosynthèse des hormones thyroïdiennes consécutive à une radiothérapie ou une intervention chirurgicale. L'hypothyroïdie secondaire est moins fréquente et elle a son origine dans une altération de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

L'hyperthyroïdie primaire est due à une hypersécrétion d'hormones thyroïdiennes. Les pathologies les plus sévères sont dues au goitre nodulaire toxique, tandis que les pathologies mineures prennent leur origine dans des processus inflammatoires comme la thyroïdite ou l'hypersécrétion de TSH pituitaire.

Le dosage des hormones libres T3 et T4 est utilisé dans les laboratoires d'analyses pour le diagnostic de l'hypothyroïdie et de l'hyperthyroïdie.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

La méthode de détermination quantitative de la TSH est un dosage immunologique par chimiluminescence de type sandwich. Les particules magnétiques (phase solide) sont revêtues d'un anticorps monoclonal de souris spécifique ; un autre anticorps monoclonal est lié à un dérivé de l'isoluminol (conjugué isoluminol-anticorps).

Pendant l'incubation, la TSH présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles se lie à l'anticorps monoclonal de la phase solide, puis le conjugué réagit avec la TSH déjà liée à la phase solide. Après l'incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage.

Ensuite, la réaction de chimiluminescence débute par l'injection automatique des réactifs Starter dans les modules réactionnels. Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU, relative light units) et indique la concentration de TSH présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.

4. MATÉRIEL FOURNI

L'ordre des réactifs est le même que celui des compartiments du réactif Integral.

Réactif Integral pour 100 analyses		
2,3 mL	SORB	Phase solide : contenant des particules magnétiques revêtues d'un anticorps monoclonal anti-TSH (souris), de la SAB (sérumalbumine bovine) et de l'azide de sodium à 0,09 %.
2,0 mL	CAL1	Étalon 1, bas : contenant un antigène TSH (d'origine humaine), de la gélatine de poisson, de la SAB (sérumalbumine bovine) et du ProClin® 300 à 0,1 %.
2,0 mL	CAL2	Étalon 2, haut : contenant un antigène TSH (d'origine humaine), de la gélatine de poisson, de la SAB (sérumalbumine bovine) et du ProClin® 300 à 0,1 %.
14,0 mL	CONJ	Conjugué : contenant un anticorps monoclonal anti-TSH (souris) marqué à l'isoluminol, de la SAB (sérumalbumine bovine) et de l'azide de sodium à 0,09 %.

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

Matériel nécessaire, mais non fourni (relatif au système)

Automate LIAISON® XL Analyzer	Automate LIAISON® Analyzer
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)
LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)	LIAISON® Waste Bags (REF 450003)
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0018)	LIAISON® Module (REF 319130)
LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Starter Kit (REF 319102) ou LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)
	LIAISON® Light Check 12 (REF 319150)

Matériel supplémentaire nécessaire

LIAISON® Control Thyroid 1 (REF 389219)
LIAISON® Control Thyroid 2 (REF 389229)
LIAISON® Control Thyroid 3 (REF 389239)

5. PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Tous les produits d'origine humaine utilisés pour la fabrication des composants de cette trousse ont été analysés et se sont avérés négatifs en Ag HBs, en anticorps anti-VHC et en anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2. Toutefois, puisqu'il n'existe aucune méthode de test garantissant l'absence totale d'agents pathogènes, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé avec précaution.

6. RÈGLES DE SÉCURITÉ

Ne pas manger, ni boire, ni fumer ou se maquiller pendant le dosage.

Ne pas pipeter avec la bouche.

Éviter tout contact direct avec l'ensemble du matériel potentiellement infectieux en portant des vêtements de laboratoire, des lunettes de protection et des gants à usage unique.

Se laver soigneusement les mains à la fin de chaque dosage.

Éviter de provoquer des éclaboussures ou des vaporisations. Si cela arrivait, chaque goutte de réactif biologique doit être nettoyée avec une solution d'hypochlorite de sodium contenant 0,5 % de chlore actif et le moyen utilisé doit être traité comme un déchet infectieux.

Tous les échantillons et les réactifs contenant du matériel biologique utilisés pour effectuer le test doivent être considérés comme susceptibles de transmettre des agents infectieux. Les déchets doivent être manipulés avec précaution et être éliminés conformément aux directives du laboratoire ainsi qu'aux dispositions réglementaires en vigueur dans chaque pays.

Le matériel réutilisable doit être stérilisé de manière appropriée conformément à la législation et aux directives locales.


Vérifier l'efficacité du cycle de stérilisation/décontamination.

Ne pas utiliser de trousse ou de composants dont la date figurant sur l'étiquette est dépassée.

Réactifs contenant de l'azide de sodium (< 0,1 %) [EC No : 247-852-1] :

DIRECTIVE	EC No 1272/2008
MENTIONS DE DANGER/ RISQUE	EUH 210 - Fiche de données de sécurité disponible sur demande

Réactifs contenant du ProClin® :

DIRECTIVE	EC No 1272/2008
RÉACTIFS	GAL1 GAL2
CLASSIFICATION DE LA SUBSTANCE	Sensibilisation cutanée, Catégorie 1
MENTION D'AVERTISSEMENT	Avertissement !
SYMBOLES/PICTOGRAMMES	 SGH07 – Point d'exclamation
MENTIONS DE DANGER/RISQUE	H317 – Peut provoquer une allergie cutanée.
CONSEILS DE PRUDENCE/ SÉCURITÉ	P261 – Éviter de respirer les brouillards ou les aérosols. P280 – Porter des gants et des vêtements de protection, et un équipement de protection des yeux. P363 – Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.
CONTIENT : (uniquement les substances prescrites conformément à l'article 18 du règlement CE 1272/2008).	masse de réaction de : 5-chloro-2-méthyl-4-Isothiazolin-3-one [EC No 247-500-7] et 2-méthyl-2H-Isothiazol-3-one [EC No 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

7. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

7.1. Réactif Integral

Suivre scrupuleusement les précautions suivantes concernant la manipulation des réactifs :

Remise en suspension des particules magnétiques

Les particules magnétiques doivent être remises en suspension intégralement avant de placer le réactif Integral dans l'automate. Suivre les étapes indiquées ci-après afin de garantir la mise en suspension complète des particules :

Avant d'ôter les opercules des compartiments, agiter légèrement le compartiment des particules magnétiques à l'aide de la molette jusqu'à ce que la solution soit marron. Le fait d'agiter horizontalement le réactif Integral doucement et avec soin favorisera la suspension des particules magnétiques (éviter cependant la formation de mousse). Contrôler visuellement le fond du compartiment des particules magnétiques pour s'assurer que toutes les particules sédimentées ont été effectivement remises en suspension. Si nécessaire, répéter la procédure jusqu'à ce que toutes les particules magnétiques aient été remises en suspension. Retirer les opercules et essuyer doucement la surface de chaque septum pour éliminer le liquide résiduel.

Formation de mousse dans les réactifs

Pour garantir les prestations optimales du réactif Integral, il est indispensable d'éviter toute formation de mousse. Observer les recommandations suivantes afin d'empêcher la formation de mousse :

Avant toute utilisation du réactif Integral, contrôler visuellement les réactifs et notamment les étalons (situés en deuxième et troisième position après le compartiment des particules magnétiques) pour exclure la présence de mousse. Si après la remise en suspension des particules magnétiques il y a formation de mousse, placer le réactif Integral dans l'automate et laisser la mousse se disperser. Le réactif Integral est prêt à l'emploi lorsqu'il a été laissé au repos à l'intérieur de l'automate, lorsque les particules magnétiques sont maintenues en agitation automatiquement et que la mousse a été entièrement dispersée.

Placer le réactif Integral dans le compartiment à réactifs de l'automate d'immunoanalyse

Automate LIAISON® Analyzer

Placer le réactif Integral dans le compartiment à réactifs de l'automate d'immunoanalyse, en veillant à ce que l'étiquette des codes-barres soit à gauche et attendre 30 minutes avant utilisation. Pendant cette période, les particules magnétiques sont agitées et remises en suspension automatiquement.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate pour charger les échantillons et démarrer le test.

Automate LIAISON® XL Analyzer

L'automate LIAISON® XL Analyzer est pourvu d'un dispositif magnétique interne, à l'état solide, qui favorise la dispersion des microparticules avant de placer un réactif Integral dans le compartiment à réactifs de l'automate. Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse pour avoir des renseignements détaillés.

Placer le réactif Integral dans la rainure prévue à cet effet.

Laisser reposer le réactif Integral à l'intérieur du dispositif magnétique à l'état solide pendant au moins 30 secondes (et jusqu'à plusieurs minutes). Répéter l'opération si nécessaire.

Placer le réactif Integral dans le compartiment à réactifs de l'automate d'immunoanalyse, en veillant à ce que l'étiquette soit à gauche et attendre 15 minutes avant utilisation. Pendant cette période, les particules magnétiques sont agitées et remises en suspension automatiquement.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'automate pour charger les échantillons et démarrer le test.

7.2. Contrôles

Consulter les Instructions des trousseaux LIAISON® Control Thyroid 1 / LIAISON® Control Thyroid 2 / LIAISON® Control Thyroid 3 pour la préparation et la manipulation adéquates des contrôles.

8. CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

8.1. Réactif Integral

Fermé : stable à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption.

Ouvert et à bord de l'automate ou à 2-8 °C : stable pendant 2 semaines (voir § 12).

Au terme de ce délai, il est possible d'utiliser le réactif Integral si les contrôles restent dans les limites attendues.

Toujours utiliser le même automate d'immunoanalyse LIAISON® Analyzer pour un réactif Integral déjà ouvert.

Le réactif Integral est à conserver verticalement afin de faciliter la remise en suspension des particules magnétiques.

Utiliser le portoir de stockage fourni avec les automates de la gamme LIAISON® Analyzer pour la conservation du réactif Integral en position verticale.

Conserver à l'abri de toute lumière directe.

9. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Suivre les instructions générales pour le prélèvement des échantillons.

Type d'échantillon : sérum, plasma.

Si le test n'est pas effectué le jour du prélèvement de l'échantillon, séparer le sérum/plasma du sédiment et le conserver dans un tube distinct.

Conservation à 2-8 °C : 24 h.

Pour des durées plus longues, congeler à -20 °C minimum.

Éviter de répéter les cycles de congélation-décongélation.

Les échantillons conservés doivent être bien mélangés avant le dosage (agitateur de type vortex).

Ne pas utiliser des échantillons fortement hémolysés ou lipémiques, ni des échantillons contenant des particules en suspension ou une contamination microbienne évidente.

Ne pas utiliser les échantillons coagulés.

Le volume minimum d'échantillon nécessaire pour une analyse est de 350 µL (200 µL d'échantillon + 150 µL de volume mort).

10. ÉTALONNAGE

L'utilisation des solutions d'étalonnage spécifiques à chaque dosage permet d'ajuster les valeurs mesurées en unités relatives de luminescence (RLU) sur la courbe maître attribuée. Une solution d'étalonnage permet d'effectuer jusqu'à 5 étalonnages (au total).

Le ré-étalonnage en triplets est obligatoire chaque fois qu'au moins une des conditions suivantes s'applique :

- Un nouveau lot de réactifs Integral ou de réactifs Starter est utilisé.
- Le dernier étalonnage a été effectué il y a plus de 14 jours.
- L'automate d'immunoanalyse a subi un entretien.
- Les valeurs des contrôles sont en dehors des limites attendues.
- Chaque fois que les changements de température ambiante excèdent 5 °C.

Automate LIAISON® Analyzer : les valeurs des étalons sont enregistrées dans le code-barres de l'étiquette de réactifs Integral.

Automate LIAISON® XL Analyzer : les valeurs des étalons sont enregistrées dans l'étiquette d'identification par radiofréquence (Radio Frequency Identification transponder, étiquette RFID).

11. PROCÉDURE DE DOSAGE

Afin d'assurer les performances optimales du dosage, suivre attentivement les instructions contenues dans le manuel d'utilisation de l'automate d'immunoanalyse.

Automate LIAISON® Analyzer : tous les paramètres du dosage sont identifiés par les codes-barres figurant sur l'étiquette du réactif Integral.

Si l'étiquette à code-barres ne peut être lue par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif Integral. Ne pas jeter le réactif Integral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des instructions.

Automate LIAISON® XL Analyzer : tous les paramètres du dosage sont identifiés par les informations codées dans l'étiquette d'identification par radiofréquence (Radio Frequency Identification transponder, étiquette RFID) du réactif Integral. Si l'étiquette RFID ne peut être lue par l'automate d'immunoanalyse, ne pas utiliser le réactif Integral. Ne pas jeter le réactif Integral ; contacter votre assistance technique DiaSorin locale pour obtenir des instructions.

L'automate LIAISON® Analyzer exécute les opérations suivantes :

1. Distribution de l'échantillon, de l'étalon et des contrôles dans la module de réaction
2. Distribution des particules magnétiques revêtues (phase solide) et du conjugué
3. Incubation
4. Lavage avec le WashSystem Liquid
5. Ajout du réactif Starter et mesure de la lumière émise

L'automate LIAISON® XL Analyzer exécute les opérations suivantes :

1. Distribution de l'échantillon, de l'étalon ou des contrôles dans la cuvette de réaction
2. Distribution des particules magnétiques revêtues (phase solide) et du conjugué
3. Incubation
4. Lavage avec le WashSystem Liquid
5. Ajout du réactif Starter et mesure de la lumière émise

Figure : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

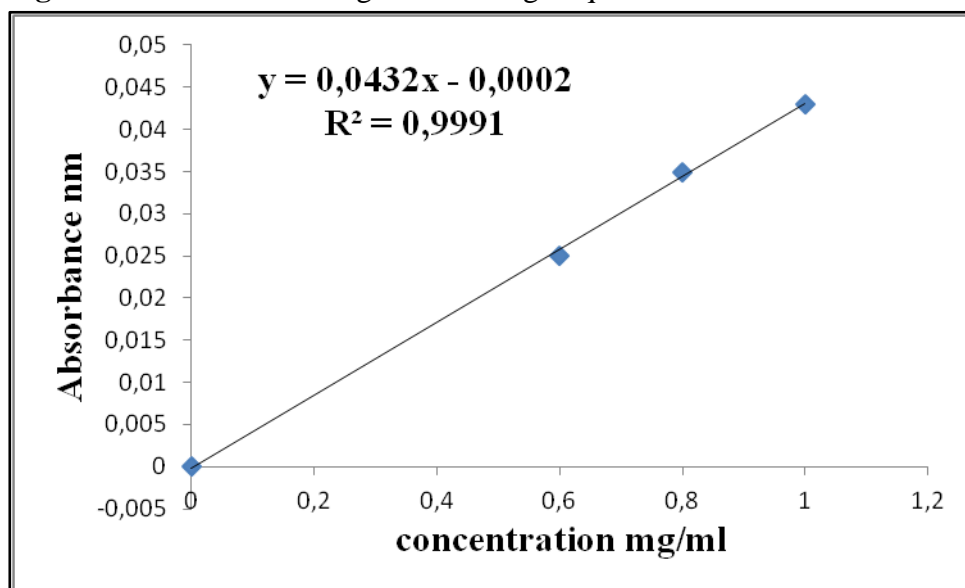


Figure : Courbe d'étalonnage utilisée BSA (mg/ml) pour le dosage des protéines tissulaire

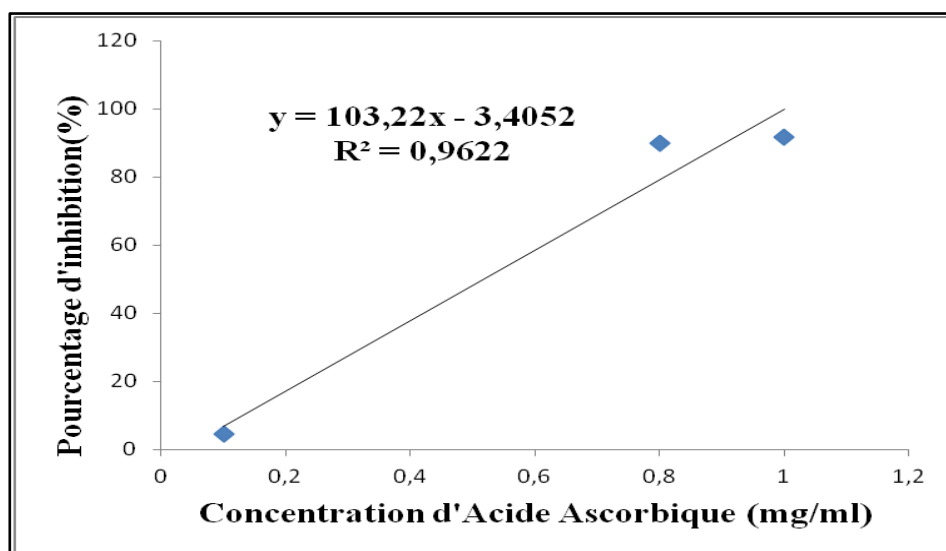


Figure : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique