

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
UNIVERSITÉ ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة
FACULTÉ DES SCIENCES NATURELLES ET VIE

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE



THÈSE

SOU MIS POUR OBTENIR LE DOCTORAT LMD 3^{ème} CYCLE

En sciences biologiques

Spécialité: Toxicologie fondamentale et appliquée

THÈME

**Synthèse, caractérisation et activités biologiques des
nanoparticules préparées à base de noyaux de dattes
des palmiers dattier (*Phoenix dactylifera*)**

Présenté par: Mme DOUDI Dalal

Soutenu: 00/00/2025

Membres du Jury:

ZAATAR Abdelmalek	MCA	Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued	Président
MAHBOUB Nasma	MCA	Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued	Directeur
SLIMANI Nouredine	Professeur	Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued	Co-directeur
HAMMOUDI Rokia	Professeur	Université Kasdi Merbah -Ouargla	Examineur
CHOUANA Toufik	MCA	Université Kasdi Merbah -Ouargla	Examineur
GHEMAM Amara Djilani	Professeur	Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued	Examineur
CHEMSA Ahmed Elkhalfa	Professeur	Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued	Examineur

2024/ 2025

Remerciements

Avant tout, "Je remercie Allah Tout-Puissant ", pour m'avoir accordé la force, l'endurance et la persévérance nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je tiens tout d'abord reconnaissance particulière est adressée à **Dr. ZAATAR Abdelmalek**, Doyen de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **Mme MAHBOUB Nasma** et **Pr SLIMANI Nouredine**, éminentes professeurs de l'Université Echahid Hamma Lakhdar, pour leurs précieux conseils et leur encadrement tout au long de ce travail. Leur disponibilité, leurs orientations et leur confiance en mes capacités ont été essentielles à l'aboutissement de cette étude.

J'exprime également ma reconnaissance à **Dr. GHANIA Ahmed**, pour son aide précieuse et son soutien constant.

Je remercie également les membres du jury :**Dr ZAATAR Abdelmalek, Dr. HAMMOUDI Rokia, Pr CHAMSSA Ahmed Elkhalfa, Pr GHAMAM Amara Djilani, et Dr CHOUANA Toufik** pour leur aimable consentement à évaluer mon travail.

Je remercie chaleureusement **M. TLIBA Ali**, ainsi que les responsables du laboratoire de biologie pour leur aide précieuse, leurs encouragements, leurs précieux conseils et leur bonne humeur inébranlable.

Je tiens à remercier **Dr. HAMIDATOU Mehieddine** pour son assistance inestimable en anatomie et en cytologie pathologique.

Mes remerciements les plus sincères vont à **Dr. CHERRADA Nezaret Dr. KHALEF Yahya** pour leurs efforts considérables, leur précieux travail et leurs conseils scientifiques avisés.

Je suis également reconnaissant envers **Dr. OUBIRI Khaoula, Dr. AZZI Manal, Dr. LAIB Ibtissam** et **Dr. GHARISSA Noura** pour leur soutien constant, leurs encouragements et leur bienveillance tout au long de ces années de recherche.

J'adresse aussi mes remerciements à l'ensemble de mes enseignants pour m'avoir inculqué les bases fondamentales des sciences et m'avoir inspiré à poursuivre l'excellence.

DOUDI Dalal

Dédicace

*À **mon mari, Dr. Ghania Ahmed** pour son rôle précieux et ses encouragements
continus qui m'ont permis d'achever ce travail.*

*À **mes parents**, pour leurs prières, leurs encouragements et leur soutien
inconditionnel dans chaque étape de ma vie.*

*À **mes enfants**, Mohamed Djamel, Amira et Mofida pour leur patience et leur
compréhension face aux difficultés liées à cette tâche.*

*À **mes sœurs** pour leur soutien constant et leur présence réconfortante.*

*À **mes frères** pour leurs encouragements inestimables.*

*À **mes chères amies** Amina, Mouna*

DOUDI Dalal

RÉSUMÉ

Cette étude vise à valoriser les sous-produits du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), sous formes de noyaux des dattes de la variété *Ghars* de la région d'El Oued, à travers la synthèse verte de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et de nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent 0.5% chacun (ZnO dopé Mg-Ag NPs), à partir de l'extrait aqueux des noyaux des dattes étudiés. L'objectif principal est d'évaluer les activités biologiques de ces nanoparticules et de réduire la toxicité des métaux utilisés dans leur synthèse dans l'*in vitro*. Et aussi l'*in vivo*, pour explorer leur potentiel thérapeutique contre les désordres physiologiques et biochimiques liés au diabète de type 2 chez les rats Wistar. Pour cela, un extrait aqueux des noyaux des dattes a été préparé par décoction, suivi d'analyses qualitatives et quantitatives pour détecter certains métabolites secondaires et identifier et quantifier les composés phénoliques par HPLC. Les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag ont été biosynthétisées à partir de l'extrait aqueux des noyaux de dattes étudiés, et leurs propriétés ont été caractérisées par les techniques UV, FTIR, SEM, EDAX et XRD. Les activités biologiques ont été évaluées *in vitro*: les activités antioxydantes (DPPH, FRAP, β -carotène, antihémodolysante, photocatalytique), antidiabétique (l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase et de l' α -amylase et dosage du glucose), anticoagulantes, et antibactériennes. Pour l'étude *in vivo*, 25 rats mâles Wistar ont été répartis en cinq groupes chacun avec cinq rats: un groupe témoin sain, un groupe diabétique non traité, et trois groupes diabétiques traités (métformine, ZnONPs, ZnO dopé Mg-AgNPs). Le diabète a été induit par une injection intrapéritonéale unique d'alloxane (150 mg/kg de poids corporel). Les traitements (5mg/kg) ont été administrés par voie orale pendant 21 jours, pour évaluer l'efficacité des nanoparticules en diminution du glucose et l'effet thérapeutique contre le diabète de type 2, on analyse les paramètres biochimiques, hématologiques, hormonaux, enzymatiques (pancréatiques et hépatiques), rénaux, ainsi que des analyses histologiques du foie et du pancréas pour déterminer les changements structuraux des coupes étudiées.

L'analyse chimique qualitative a révélé la présence de phénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, stérols, terpènes et glycosides dans l'extrait aqueux des noyaux des dattes. Les analyses quantitatives ont montré un niveau élevé de phénols totaux (85.8 ± 0.03 mg EAG/g Ex) et de flavonoïdes (59.9 ± 0.04 mg EQ/g Ex), ainsi qu'un niveau bas de tanins condensés (22.95 ± 0.03 mg EAC/g Ex). Mais pour l'analyse qualitative et quantitative ont montré dix composés phénoliques, dont le salicine est le plus abondant avec une concentration de ($6949.30 \mu\text{g/g Ex}$), l'acide caféique ($431.74 \mu\text{g/g Ex}$), et l'ascoline ($207.34 \mu\text{g/g Ex}$) et pyrocatecholé ($206.56 \mu\text{g/g Ex}$), catéchine ($155.06 \mu\text{g/g Ex}$) et l'acide ascorbique ($126.29 \mu\text{g/g Ex}$) ont été identifiés par HPLC.

Après la biosynthèse des nanoparticules à étudier, on a montré que l'analyse spectrale par UV-visible a un pic d'absorption avec une longueur d'onde de 373.2nm pour ZnO et 395.6nm pour ZnO dopé Mg-Ag. Mais pour les analyses spectrales de l'infrarouge on a montré la présence de plusieurs liaisons fonctionnelles: Zn-O, Mg-O et Ag-O. Le DRX a confirmé la nature structurale cristalline des nanoparticules de ZnO avec une taille moyenne de 12.8 ± 0.1 nm et 22.0 ± 0.1 nm pour ZnO dopé Mg-Ag, et les traitements des images de SEM, ont montré que la plupart de ces nanoparticules a été étudiée à une morphologie sub-sphérique. En plus, l'analyse de EDX a détecté les éléments chimiques des atomes d'oxygène et zinc pour le ZnO, et les atomes d'oxygène, zinc et magnésium et l'argent pour le ZnO dopé Mg-Ag.

Les tests *in vitro* concernant les activités biologiques appliquées à ces nanoparticules, l'activité antioxydante ont révélé les résultats suivants pour les nanoparticules d'oxyde de zinc et les nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent, respectivement: DPPH: IC₅₀: 4.93 ± 0.016 mg.mL⁻¹, 3.84 ± 0.033 mg.mL⁻¹. FRAP: EC₅₀: 0.84 ± 0.114 mg.mL⁻¹, 0.79 ± 0.026 mg.mL⁻¹ comparé au standard acide ascorbique. Beta-carotène: pourcentage d'inhibition d'oxydation après 48 heures $31.25 \pm 0.01\%$, $60.93 \pm 0.01\%$, comparé au standard positif BHT. Ces nanoparticules offrent également une protection notable contre la lyse des globules rouges avec IC₅₀: 1.05 ± 0.03 mg.mL⁻¹ pour ZnO, 0.74 ± 0.01 mg.mL⁻¹ pour ZnO dopé, comparées au standard quercétine. Quant à l'efficacité des nanoparticules dans l'élimination des polluants, les résultats montrent un taux de dégradation du bleu de méthylène après 120 minutes, à une concentration de 20mg.mL⁻¹, de $93.33 \pm 0.005\%$ pour ZnO, $53.33 \pm 0.71\%$ pour ZnO dopé. De plus, les nanoparticules ont démontré une efficacité élevée en tant qu'antidiabétique à travers leur pouvoir inhibiteur sur l'enzyme α -glucosidase, avec des taux d'inhibition enzymatique atteignant, à une concentration de 1mg.mL⁻¹, $47.20 \pm 1\%$ pour ZnO, $59.14 \pm 0.03\%$ pour ZnO dopé, de même sur l'enzyme α -amylase, les taux d'inhibition enzymatique étaient de $62.56 \pm 1.01\%$ pour ZnO, $75.33 \pm 0.01\%$ pour ZnO dopé à une concentration de 5 mg.mL⁻¹. La

méthode basée sur l'adsorption de l'absorption du glucose dans un milieu de prolifération des cellules de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) a révélé une absorption très élevée du glucose en présence des deux types de nanoparticules à une concentration de 5 mg.mL⁻¹, comparée au standard (Acarbose). En outre, les nanoparticules étudiées ont montré aucune efficacité contre l'activité anticoagulation. Cependant, les deux types de nanoparticules ont présenté une bonne activité antibactérienne contre 6 souches bactériennes sélectionnées.

Selon les résultats obtenus *in vivo*, l'étude de la toxicité subaiguë des deux types de nanoparticules n'a révélé aucun cas de mortalité, même à une dose de (20 mg/kg de poids corporel) administrée pendant 5 jours consécutifs, avec un suivi de 14 jours. Par ailleurs, le suivi du poids des rats a montré des améliorations significatives dans la récupération du poids corporel des rats traités avec les nanoparticules, ainsi qu'une régulation notable des niveaux de glycémie tout au long de la période de suivi. Les analyses des paramètres biochimiques (glycémie), hématologiques (HbA1c, globules rouges, globules blancs, plaquettes, hémoglobine), lipidiques (cholestérol, triglycérides, HDL, LDL), hormonaux (insuline), des enzymes pancréatiques (α -amylase), des enzymes hépatiques (AST, ALT, PAL, GGT), et des fonctions rénales (urée, créatinine, acide urique) ont indiqué des résultats positifs par rapport au groupe témoin et au groupe diabétique non traité. Ces observations ont été confirmées par l'analyse des images des coupes histologiques des foies et des pancréas, qui ont révélé une efficacité élevée des nanoparticules dans la réparation des tissus endommagés et la restauration de leur fonctionnalité.

En conclusion, ce travail visait à explorer la possibilité de biosynthèse des nanoparticules à partir de l'extrait aqueux des noyaux de dattes (*Phoenix dactylifera* L.). Les nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par magnésium et à l'argent ont démontré une efficacité biologique supérieure en améliorant les activités biologiques, les marqueurs fonctionnels, ainsi qu'en atténuant les altérations histologiques du pancréas et du foie, par rapport aux nanoparticules d'oxyde de zinc, par ailleurs, on note le potentiel thérapeutique efficace et sécurisé pour ces nanoparticules contre le diabète de type 2, ouvrant des nouvelles perspectives pour leur utilisation dans la nanomédecine et renforçant leur application dans les approches médicales.

Mots-clés: *Phoenix dactylifera* L., noyaux de dattes, synthèse verte, nanoparticules d'oxyde de zinc, nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par magnésium et à l'argent, diabète de type 2.

تصنيع و دراسة الخصائص و النشاطات البيولوجية للجسيمات النانوية المحضرة من نوى نخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*)

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تثمين مخلفات نخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*). المتمثل في النوى من فصيلة غرس في منطقة الوادي، وذلك من خلال التصنيع الأخضر لجسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) و جسيمات أكسيد الزنك المدعمة بالمغنيزيوم والفضة النانوية بنسبة 0.5 % لكل واحد منهما (ZnO dopé Mg-Ag NPs) من المستخلص المائي لنوى التمر المدروس. بغرض تقييم النشاطات البيولوجية للجسيمات النانوية و التقليل من سمية المعادن المستعملة في تصنيع هذه الجسيمات في المختبر و كذلك في الجسم الحي من أجل النظر في الإمكانية العلاجية لهذه الجسيمات. ضد الإختلالات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية الناجمة عن داء السكري من النوع الثاني عند جرذان سلالة ويستار. لهذا الغرض، تم تحضير المستخلص المائي لنوى التمر بواسطة الغليان و إجراء التحاليل الكمية و النوعية للكشف عن بعض مركبات الأيض الثانوية وتحديد وتقدير المركبات الفينولية في المستخلص المائي لنوى التمر بواسطة تقنية HPLC. تم تصنيع الحويصلات جسيمات أكسيد الزنك النانوية و جسيمات أكسيد الزنك المدعمة بالمغنيزيوم والفضة النانوية بالاعتماد على المستخلص المائي لنوى التمر و فحص خصائصها باستخدام التقنيات التالية: XDR / EDAX / SEM / FTIR / UV. تم اختبار مدى نشاط هذه الجسيمات في التجارب المخبرية: المضادة للأكسدة (Antihémolytique – Beta Carotène – FRAP – DPPH – Photocatalytique)، المضادة لارتفاع السكر (Absorption du glucose- α -amylase - α -glucosidase) والمضادة للتخثر الدم. المضادة للبكتيريا. أما عن الدراسة في الجسم الحي تم تقسيم 25 جرذا من ذكور سلالة ويستار إلى خمس مجموعات لكل منها خمس فئران: مجموعة أولى شاهدة، مجموعة ثانية مريضة بالداء السكري، و ثلاث مجموعات مريضة بداء السكري ومعالجة (بدواء مرجعي الميتفورمين، بأكسيد الزنك، بأكسيد الزنك المدعمة بالمغنيزيوم و الفضة). لإحداث داء السكري تم استعمال الألوكسان بجرعة واحدة (150 ملغ/كغ من وزن الجسم) داخل الصفاق. تم تلقي الأنظمة العلاجية بجرعة (5 ملغ/كغ من وزن الجسم) عن طريق الفم خلال 21 يوما، لتقييم مدى فاعلية هذه الجسيمات في تخفيض مستوى السكر والتأثير العلاجي لهذه الجسيمات النانوية ضد داء السكري النوع الثاني. تم قياس بعض المؤشرات البيوكيميائية والدموية والهرمونية، الإنزيمية البنكرياسية، الإنزيمية الكبدية، وظائف الكلى و إجراء الفحص النسيجي لأنسجة البنكرياس والكبد لتقييم التغيرات الهيكلية.

كشف التحليل الكيميائي النوعي على بعض مركبات الأيض الثانوية في المستخلص المائي لنوى التمر: الفينولات، الفلافونيدات، التانينات، الألكالويدات، الستيرويدات، التربينويدات، الجليكوزيدات. وكشف التحليل الكمي مستويات عالية من إجمالي الفينولات (85.8 ± 0.03 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ من المادة الجافة للمستخلص) ومحتويات الفلافينويدات (59.9 ± 0.04 ملغ مكافئ من الكيرسيتين / غ من المادة الجافة للمستخلص)، ومستويات منخفضة من مكثف التانين (22.95 ± 0.03 ملغ مكافئ لحمض كاتيشين/غ من المادة الجافة للمستخلص). أما عن التحليل النوعي والكمي فقد كشفنا عن 10 مركبات فينولية من بينها، الساليسين باعتبارها المركب الأكثر وفرة بتركيز قدر (6949.30 ميكروغرام/غ من المادة الجافة للمستخلص)، حمض الكافيك (431.74 ميكروغرام/غ من المادة الجافة للمستخلص)، والإسكولين (207.34 ميكروغرام/غ من المادة الجافة للمستخلص)، و البيروكاتيكول (206.56 ميكروغرام/غ من المادة الجافة للمستخلص)، الكاتيشين (155.06 ميكروغرام/غ من المادة الجافة للمستخلص)، حمض الأسكوربيك (126.29 ميكروغرام/غ من المادة الجافة للمستخلص).

بعد التصنيع الحيوي للجسيمات المدروسة كشف التحليل الطيفي بالأشعة فوق البنفسجية و المرئية بذروة امتصاص عند طول الموجة 373.2 نانومتر لجسيمات أكسيد الزنك، 395.6 نانومتر أكسيد الزنك المدعمة، بينما أظهر التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء وجود العديد من الروابط الوظيفية من بينها رابطة أكسيد الزنك و أكسيد المغنيزيوم و أكسيد الفضة. كما أكد جهاز الأشعة السينية الطبيعية البلورية لجسيمات أكسيد الزنك حيث بلغ متوسط حجم التوزيع (0.1 ± 12.8 نانومتر). و جسيمات أكسيد الزنك المدعمة بالمغنيزيوم و الفضة (0.1 ± 22.0 نانومتر). و أظهرت صورة المجهر الإلكتروني الماسح أن غالبية الجسيمات النانوية المدروسة شبة كروية الشكل، كما تم الكشف بواسطة التحليل الطيفي للأشعة السينية المتشعبة بالطاقة عن ذرات الأكسجين و ذرات الزنك لجسيمات أكسيد الزنك وكشف عن وجود ذرات الأكسجين و الزنك، المغنيزيوم، الفضة لجسيمات أكسيد الزنك المدعمة. بالنسبة للأنشطة البيولوجية المطبقة على هذه الجسيمات كشف اختبار مضادات الأكسدة لجسيمات أكسيد الزنك وجسيمات أكسيد الزنك المدعمة على التوالي: DPPH: IC_{50} 0.01 $\pm$ 4.93 ملغ/مل، 0.033 ± 3.84 ملغ/مل، FRAP: EC_{50} 0.114 $\pm$ 0.790 ملغ/مل مقارنة بالشاهد حمض الأسكوربيك. Beta carotène: نسبة تثبيط الأكسدة بعد 48 سا 0.01 $\pm$ 31.25 %، 60.93 $\pm$ 0.01 % مقارنة بالشاهد BHT، و توفر هذه الجسيمات حماية جيدة ضد تحلل كريات الدم الحمراء حيث كانت IC_{50} 1.050 $\pm$ 0.03 ملغ/مل، IC_{50} 500.74 $\pm$ 0.01 ملغ/مل مقارنة بالشاهد الكورسيتين. أما عن فاعلية الجسيمات النانوية في إزالة الملوثات بواسطة أزرق الميثيل كانت نسبة التفكك بعد 120 دقيقة عند التركيز 20 ملغ/مل (93.33 ± 0.005 %، 53.33 ± 0.71 %). بالإضافة إلى ذلك أوضحت الجسيمات النانوية فاعلية عالية كمضاد لارتفاع السكر من خلال قوة التثبيط مع الأنزيم ألفا غلوكوزيداز حيث بلغت نسبة تثبيط الإنزيمات عند التركيز 1 ملغ/مل (47.20 ± 1 %، 59.14 ± 0.03 %) لكل من جسيمات أكسيد الزنك وجسيمات أكسيد الزنك المدعمة على التوالي، و كذلك مع الأنزيم ألفا أميلاز حيث كانت نسبة تثبيط الإنزيمات عند التركيز 5 ملغ/مل (62.56 ± 1.01 %، 75.33 ± 0.01 %) لكل من جسيمات أكسيد الزنك وجسيمات أكسيد الزنك المدعمة على التوالي. و بينت الطريقة التي تعتمد على قياس نسبة امتصاص الجلوكوز في وسط تكاثر خلايا الخميرة (*Saccharomyces cerevisiae*)، على امتصاص كمية عالية جدا من الجلوكوز في وجود كلا النوعين من الجسيمات النانوية عند التركيز 5 ملغ/مل مقارنة بالشاهد الأكاربوز. علاوة على ذلك تظهر الجسيمات النانوية المدروسة فاعلية ضعيفة ضد تخثر الدم، و من ناحية أخرى أظهر كل من النوعين من الجسيمات النانوية نشاطا جيدا مضادا للبكتيريا ضد 6 أنواع من البكتيريا المنقاة.

وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها في الجسم الحي أظهرت دراسة السمية الشبه الحادة لكلا الجسيمات النانوية عدم وجود وفيات حتى الجرعة (20 ملغ/كغ من وزن الجسم) لمدة 5 أيام متتالية مع عملية مراقبة خلال 14 يوما. من جهة أخرى، أدت عملية تتبع وزن الفئران إلى تحسينات ملحوظة في استعادة أوزان الفئران المعالجة بالجسيمات و تعديلات جيدة لمستوى السكر في الدم طوال فترة المتابعة. أما عن المؤشرات: الكيمياء الحيوية

(Glycémie) الدموية (HbA1c_Globules rouges_Globulesblancs_Plaquettes_Hémoglobine) و الدهنية (Cholestérol) (GGT_PAL_ALT_AST) الإنزيمات الكبدية (α-amylase), الإنزيمات البنكرياسية (Insuline), الهرمونية (LDL_HDL_Triglycérides) وظائف الكلى (Acideurique _ Créatinine _ Urée) بينت التحاليل الحصول على نتائج إيجابية مقارنة بالمجموعة الشاهدة والمجموعة المريضة بالداء السكري النوع الثاني. كما تدعمت هذه النتائج بمجموعة من صور المقاطع النسيجية للكبد و البنكرياس فأظهرت كفاءة عالية للجسيمات النانوية المصنعة في إصلاح الأنسجة و استعادة نشاطها من جديد.

في الختام، هدف هذا العمل إلى إمكانية التصنيع الأخضر للجسيمات النانوية من المستخلص المائي لنوى التمر. حيث أظهرت جسيمات اكسيد الزنك المدعمة بالمغنيزيوم والفضة كفاءة بيولوجية عالية في تحسين النشاطات البيولوجية وتحسين الدلالات الوظيفية وتخفيف التغيرات النسيجية لبنكرياس والكبد مقارنة بجسيمات اكسيد الزنك، وفي الوقت نفسه، تجدر الإشارة إلى إمكانية العلاجية الجيدة و الأمانة لهذه الجسيمات النانوية ضد داء السكري النوع 2، مما يفتح آفاقاً جديدة لاستخدام العلاج بالجسيمات النانوية ويعزز تطبيقهما في النهج الطبي.

الكلمات المفتاحية: *Phoenix dactylifera L.*, نوى التمر, التصنيع الأخضر, جسيمات اكسيد الزنك, جسيمات اكسيد الزنك المدعمة بالمغنيزيوم والفضة, داء السكر النوع 2.

Synthesis, characterization and biological activities of nanoparticles prepared from date seeds of date palms (*Phoenix dactylifera* L.)

Abstract

This study aims to valorize the by-products of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.), specifically the date seeds of the *Ghars* variety from the El Oued region, through the green synthesis of zinc oxide nanoparticles and zinc oxide nanoparticles doped with magnesium and silver at 0.5% for each using an aqueous extract of the studied date seeds. The main objective is to evaluate the biological activities of these nanoparticles and reduce the toxicity of the metals used in their synthesis both *in vitro* and *in vivo*, exploring their therapeutic potential against the physiological and biochemical disorders associated with type 2 diabetes in Wistar rats. To achieve this, an aqueous extract of date seeds was prepared via decoction, followed by qualitative and quantitative analyses to detect some secondary metabolites and to identify and quantify phenolic compounds using HPLC. The ZnO NPs and ZnO doped Mg-Ag NPs were biosynthesized from the aqueous date seeds extract, and their properties were characterized using UV-Vis spectroscopy, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive X-ray analysis (EDAX), and X-ray diffraction (XRD). The biological activities were evaluated *in vitro*, including antioxidant activities (DPPH, FRAP, β -carotene, anti-hemolytic, and photocatalytic assays), antidiabetic (inhibition activities of α -glucosidase and α -amylase enzymes, and glucose absorption assays), anticoagulant properties, and antibacterial effects. For the *in vivo* study, 25 male Wistar rats were divided into five groups of five rats each: a healthy control group, an untreated diabetic group, and three diabetic treatment groups (treated with Metformin, ZnO NPs, or ZnO doped Mg-Ag NPs). Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of alloxan (150 mg/kg body weight). Treatments (5 mg/kg) were administered orally for 21 days to assess the nanoparticles efficacy in glucose reduction and their therapeutic effect against type 2 diabetes. Biochemical, hematological, hormonal, pancreatic, hepatic, and renal parameters were measured, along with histological analyses of the liver and pancreas to determine structural changes in the studied tissues.

Qualitative chemical analysis revealed the presence of phenols, flavonoids, tannins, alkaloids, sterols, terpenes, and glycosides in the aqueous date seeds extract. Quantitative analysis showed high levels of total phenols (85.8 ± 0.03 mg GAE/g Ex) and flavonoids (59.9 ± 0.04 mg QE/g Ex), along with low levels of condensed tannins (22.95 ± 0.03 mg CE/g Ex). Furthermore, qualitative and quantitative HPLC analysis identified ten phenolic compounds, with salicin being the most abundant (6949.30 μ g/g Ex), followed by caffeic acid (431.74 μ g/g Ex), ascorbic acid (126.29 μ g/g Ex), catechin (155.06 μ g/g Ex), ascolin (207.34 μ g/g Ex), and pyrocatechol (206.56 μ g/g Ex).

After the biosynthesis of the nanoparticles under study, UV-visible spectral analysis revealed an absorption peak at a wavelength of 373.2 nm for ZnO nanoparticles and 395.6 nm for ZnO doped Mg-Ag nanoparticles. Infrared (FTIR) spectral analysis indicated the presence of several functional bonds, including Zn-O, Mg-O, and Ag-O. X-ray diffraction (XRD) confirmed the crystalline structural nature of ZnO nanoparticles, with an average size of 12.8 ± 0.1 nm for ZnO and 22.0 ± 0.1 nm for ZnO doped Mg-Ag nanoparticles. The analysis of SEM images revealed that most of the nanoparticles exhibited a sub-spherical morphology. Furthermore, EDX analysis detected oxygen and zinc atoms in ZnO nanoparticles, while oxygen, zinc, magnesium, and silver atoms were identified in ZnO doped Mg-Ag nanoparticles.

The *in vitro* biological activity tests applied to these nanoparticles revealed the following antioxidant activities for zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) and zinc oxide doped magnesium and silver nanoparticles (ZnO doped Mg-Ag NPs), respectively: for DPPH, IC_{50} : 4.93 ± 0.016 mg.mL⁻¹, 3.84 ± 0.033 mg.mL⁻¹; for FRAP, EC_{50} : 0.84 ± 0.114 mg.mL⁻¹, 0.79 ± 0.026 mg.mL⁻¹ compared to the ascorbic acid; and for β -carotene inhibition after 48 hours, $31.25 \pm 0.01\%$ and $60.93 \pm 0.01\%$, compared to the BHT. These nanoparticles also provided notable protection against red blood cell hemolysis, with IC_{50} values of 1.05 ± 0.03 mg.mL⁻¹ for ZnO NPs and 0.74 ± 0.01 mg.mL⁻¹ for ZnO doped Mg-Ag NPs, compared to quercetin. Regarding pollutant removal efficiency, the degradation rate of methylene blue at a concentration of 20 mg.mL⁻¹ after 120 minutes was $93.33 \pm 0.005\%$ for ZnO NPs and $53.33 \pm 0.71\%$ for ZnO doped Mg-Ag NPs.

Additionally, the nanoparticles demonstrated high anti-hyperglycemic efficacy through their inhibitory effects on α -glucosidase and α -amylase enzymes. The enzymatic inhibition rates at a concentration of 1 mg.mL^{-1} were $47.20 \pm 1\%$, $59.14 \pm 0.03\%$ for ZnO NPs and ZnO doped Mg-Ag NPs, respectively. For α -amylase, the inhibition rates were $62.56 \pm 1.01\%$ for ZnO NPs and $75.33 \pm 0.01\%$ for ZnO doped Mg-Ag NPs at a concentration of 5 mg.mL^{-1} . The glucose absorption assay in a yeast cell proliferation medium (*Saccharomyces cerevisiae*) showed significantly high glucose uptake in the presence of both types of nanoparticles at 5 mg.mL^{-1} , compared to the standard (Acarbose). However, the studied nanoparticles exhibited no efficacy in blood anticoagulation. Both types of nanoparticles, however, displayed good antibacterial activity against 6 selected bacterial strains.

According to the *in vivo* results, the subacute toxicity study of the two types of nanoparticles revealed no cases of mortality, even at a dose of 20 mg/kg body weight administered over five consecutive days, followed by a 14-day monitoring period. Body weight monitoring indicated significant recovery in the body weight of rats treated with the nanoparticles, along with notable regulation of blood glucose levels throughout the monitoring period. Analyses of biochemical (blood glucose), hematological (HbA1c, red blood cells, white blood cells, platelets, hemoglobin), lipid (cholesterol, triglycerides, HDL, LDL), hormonal (insulin), pancreatic enzyme (α -amylase), hepatic enzyme (AST, ALT, ALP, GGT), and renal function (urea, creatinine, uric acid) parameters showed significant improvements compared to the control group and untreated diabetic group. These observations were further supported by histological analyses of liver and pancreatic tissue sections, which confirmed the high efficacy of nanoparticles in repairing damaged tissues and restoring their functionality.

In conclusion, this work aimed to explore the possibility of synthesizing nanoparticles via a green method using date seeds extract aqueous (*Phoenix dactylifera* L.). ZnO doped Mg-Ag nanoparticles demonstrated superior biological efficacy by enhancing biological activities, functional markers, and mitigating histological alterations in the pancreas and liver compared to ZnO nanoparticles. These findings highlight the effective and safe therapeutic potential of these nanoparticles against diabetes, opening new perspectives for their use in nanomedicine and innovative medical.

Keywords: *Phoenix dactylifera* L., date seeds, green synthesis, zinc oxide nanoparticles, zinc oxide doped magnesium and silver nanoparticles, diabetes type 2.

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Quantités de production de dattes par pays, montrant la production relative annuelle totale en 2014-2015	10
Figure 02: Production / Rendement de datte en monde + (total) 1963-2023	12
Figure 03: Production / Rendement de datte en algérie 1963-2023.....	14
Figure 04: Représentation de la structure de datte du palmier dattier.	16
Figure 05: Datte et noyau du palmier dattier.....	16
Figure 06: Datte entière (à gauche) et coupe longitudinale (à droite)	17
Figure 07: Variétés des dates	20
Figure 08: Noyaux des dattes de différents cultivars de palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera</i> L.). (a) Arechti, (b) Degla-Baida, (c) Deglet-Nour, (d) <i>Ghars</i> , (e) Haloua, (f) Itima, (g) Mech-Degla, (h) Tentbouchet.	22
Figure 09: Quelques différences entre la synthèse chimique traditionnelle et la synthèse verte des nanoparticules.....	28
Figure 10: Processus de synthèse verte de ZnO NPs à partir d'extraits de plantes.	41
Figure 11: Méthode de préparation du ZnO synthétisé vert et du ZnO dopé au Mg	43
Figure 12: Carte, Nombre total estimé d'adultes (20-79 ans) atteints de diabète en 2021	46
Figure 13: Modèle interactif des mécanismes de régulation du glucose	55
Figure 14: Représentation schématique de l'évolution du diabète de type 2	56
Figure 15: Adaptations de la régulation du métabolisme énergétique au cours de la période post-prandiale	57
Figure 16: Adaptations de la régulation du métabolisme énergétique au cours de la période post-absorptive	58
Figure 17: Physiopathologie du diabète de type 1	59
Figure 18: Physiopathologie du diabète de type 2	61
Figure 19: Symptômes du diabète type 2.	62

Figure 20: <i>Phoenix dactylifera</i> L. variété Ghars (Photo originale)	74
Figure 21: Préparation de la poudre des noyaux des dattes du palmier dattier <i>Phoenix dactylifera</i> L.	77
Figure 22: Préparation de l'extrait aqueux des noyaux des dattes	82
Figure 23: La biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs)	83
Figure 24: La biosynthèse des nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag NPs.	85
Figure 25: La biosynthèse et caractérisation et les activités biologiques des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag NPs.	90
Figure 26: Schéma du protocole expérimental de l'étude <i>in vivo</i>	107
Figure 27: Chromatogrammes HPLC de l'extrait aqueux des noyaux des dattes (<i>Phoenix dactylifera</i> L.).	112
Figure 28: La solution aqueuse d'oxyde de zinc et l'oxyde de zinc dopé Mg-Ag à partir de l'extrait des noyaux des dattes (<i>Phoenix dactylifera</i> L.).	113
Figure 29: Les spectres d'absorption UV-Vis des ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs.	114
Figure 30: Le spectre FTIR des ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs.	115
Figure 31: Les diagrammes de DRX des ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs.	117
Figure 32: Le modèle de DRX comparatif ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs.	117
Figure 33: Les images SEM (a:500nm) et (b: 1µm), (c:2µm) et les histogramme (1 et 2,3), des taille de ZnO NPs	118
Figure 34: Les images SEM (d :500 nm) et (e: 1 µm), (f: 2µm) et les histogramme (4 et 5, 6), des taille de ZnO dopé Mg-Ag NPs.	119
Figure 35: La spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie des ZnO NPs.	120
Figure 36: La spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie des ZnO dopé Mg-Ag NPs	120
Figure 37: L'activité antioxydante des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs par la méthode β-carotène/ Acide linoléique.	123
Figure 38: L'activité anti-hémolytique des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs.	124

Figure 39: L'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO à concentration 20 mg.mL ⁻¹ en fonction du temps.....	125
Figure 40: L'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO à concentration 10 mg.mL ⁻¹ en fonction du temps.	125
Figure 41: L'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO dopéesMg-Ag à concentration 10 mg.mL ⁻¹ en fonction du temps.	126
Figure 42: L'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO dopéesMg-Ag à concentration 20 mg.mL ⁻¹ en fonction du temps.....	126
Figure 43: L'activité inhibitrice sur l'enzyme α -glucosidase par l'acarbose et des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag.....	127
Figure 44: L'activité inhibitrice sur l'enzyme α -amylase par l'acarbose et des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag.	128
Figure 45: L'activité antidiabétique <i>in vitro</i> de ZnO NPs par les cellules de levure.	129
Figure 46: L'activité antidiabétique <i>in vitro</i> de ZnO dopé Mg-Ag NPs par les cellules de levure.	130
Figure 47: L'activité antimicrobienne des nanoparticules ZnO NPs pour des différentes bactéries.	134
Figure 48: L'activité antimicrobienne des nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag NPs pour des différentes bactéries.	134
Figure 49: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur de poids corporelles des rats pendant chaque semaine (1 ^{er} , 7 ^{ème} , 14 ^{ème} , et 21 ^{ème} jours).....	137
Figure 50: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le taux glucose sanguin des rats pendant chaque semaine (1 ^{er} , 7 ^{ème} , 14 ^{ème} , et 21 ^{ème} jours).....	138
Figure 51: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur les paramètres lipidiques sériques; cholestérol (CH), triglycérides (TG), Lipoprotéine de haute densité (HDL), Lipoprotéine de basse densité (LDL), chez les rats de wistar diabétique.	140
Figure 52: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur les paramètres hépatiques sanguines (AST, ALT, PAL, GGT) chez les rats de wistar diabétique.	142

Figure 53: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le pancréas chez les rats de wistar diabétique. Gr x40. 145

Figure 54: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le foie chez les rats de wistar diabétique. Gr x40..... 147

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Classification de <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	9
Tableau 02: Situation de la culture du palmier dattier en Algérie.	11
Tableau 03: Classification de dattes selon la consistance.	17
Tableau 04: Comparaison de la composition minérale entre le noyau de datte et la pulpe selon les études scientifiques.....	23
Tableau 05: Quelques différences entre la synthèse chimique traditionnelle et la synthèse verte des nanoparticules.	28
Tableau 06: Classification du diabète et les causes	53
Tableau 07: Les souches bactériennes utilisées pour la détermination de l'activité antibactérienne.	75
Tableau 08: Criblage phytochimiques de l'extrait aqueux des noyaux des dattes (<i>Phoenix dactylifera</i> L.).	110
Tableau 09: Quantification des composés phytochimiques de l'extrait aqueux des noyaux des dattes (<i>Phoenix dactylifera</i> L.)	111
Tableau 10: Temps de rétention et concentration des composés phénoliques identifiés dans l'extrait aqueux des noyaux des dattes (<i>Phoenix dactylifera</i> L.)	112
Tableau 11: L'activité antioxydante des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs par les méthodes: DPPH, FRAP.	122
Tableau 12: Les pourcentage d'inhibition β -carotène par des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs.	123
Tableau 13: L'activité anticoagulante des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs pour Temps de Thromboplastine Partielle Activée (APTT).	131
Tableau 14: L'activité anticoagulante des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs pour Temps de Prothrombine (PT).	132
Tableau 15: L'activité antimicrobienne des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs aux différentes bactéries.	133
Tableau 16: Test de toxicité subaiguë des nanoparticules ZnO NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes chez les rats de wistar.	135

Tableau 17: Test de toxicité subaiguë des nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes chez les rats de wister	136
Tableau 18: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le taux de la glycémie et l'Hémoglobine-glyqué (HbA1c) sanguin chez les rats de wistar diabétique	139
Tableau 19: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur les paramètres rénaux sériques (Urée, Créatinine, Acide urique) chez les rats de wistar diabétique.	141
Tableau 20: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le taux de alfa amylase et de l'insuline sanguin chez les rats de wistar diabétique	143
Tableau 21: L'effet des nanoparticules ZnO NPset ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur les paramètres hématologiques (Hémoglobine, Plaquettes, Globules blancs, et Globules rouges) chez les rats de wistar diabétique.	144

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AND	Acide désoxyribonucléique
Ag	Argent
Ag ⁺	Ion argent
AgNO ₃	Nitrate d'argent
Al ₃	Ion aluminium
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
ALT	Alanine aminotransférase
ANOVA	Une analyse de variance à un facteur
APTT	Activated Partial Thromboplastin Time
ARNm	Acideribonucléiquemessenger
ASAT	Aspartateaminotransférase
AST	Aspartateaminotransférase
ATCC	American Type Culture Collection
BaCl ₂	Chlorure de barium
BHT	ButylatedHydroxyToluene
BM	Bleu de méthylène
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DRX	Diffraction des rayons X
DID	Diabète insulino-dépendant
DLS	Diffusion de Lumière Dynamique
DT1	Diabète de type 1
DT2	Diabète de type 2
EDAX	Dispersive en énergie des rayons X
FeCl ₃	Chlorure de fer (III)
GGT	Gamma-glutamyl transférase
GTT	Glycémie après charge orale de glucose
HbA1c	Hémoglobine glyquée
HDL	Lipoprotéines de haute densité

EC ₅₀	Concentration médiane efficace 50%
FRAP	FerricReducingAntioxidant Power
FTIR	Infrarouge à transformée de Fourier
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
IC ₅₀	Concentration médiane inhibitrice 50%
IL	îlot de Langerhans
Mg ⁺	Ion magnesium
Mg ²⁺	Cation magnesium
NPs	Nanoparticules
PAL	Phosphatase Alcaline
PLT	Plaquettes
PT	Prothrombin Time
RBC	Les globules rouges
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
SEM	Microscopie électronique à balayage
TEM	Microscopie Électronique en Transmission
TP	Triade portale
TR	Triglycérides
UV	Ultra-violet
UV-Vis	Spectroscopie ultraviolette-visible
Vit C	Acide ascorbique
WBC	concerne les globules blancs
Zn	Zinc
Zn ²⁺	ion-zinc
ZnO	Oxyde de zinc
ZnO NPs	Nanoparticules d'oxyde de zinc
ZnO dopées	Nanoparticules Oxyde de Zinc dopée par magnésium et l'argent
Mg-Ag NPs	

SOMMAIRE

RÉSUMÉ (français)	
RÉSUMÉ (arabe)	
RÉSUMÉ (anglais)	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES ABRÉVIATIONS	
INTRODUCTION	

CHAPITRE I : Palmier dattier et dattes

1. Généralités sur les palmiers dattiers	8
2. Taxonomie et Phylogénie <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	9
3. Répartition géographique	9
3.1. Répartition mondiale du Palmier dattier	9
3.2. Répartition du Palmier dattier en Algérie	11
4. Production de dattes	12
4.1. Production mondiale de dattes	12
4.2. Production de dattes en Algérie (1963-2023).....	14
5. Description de la datte	16
6. Classification des dates	17
7. Stades de maturation de dattes.....	18
8. Variétés de dattes	19
9.Compositions biochimiques de dattes.....	20
9.1. Partie comestible "Pulpe"	20
9.2. Composition du noyau de datte	21
10. Utilisation de dattes.....	23
10.1. Usage médicinal des dates	23
10.2. Valeur nutritionnelle de datte.....	24

CHAPITRE II : Nanoparticules

1. Généralité sur les nanoparticules	26
2. Fondements théoriques	27
2.1.Nanoparticules: définition et propriétés.....	27
2.2.Synthèse chimique traditionnelle vs synthèse verte	27

2.3. Avantages de la synthèse verte des nanoparticules à partir d'extraits de plantes	29
2.4. Inconvénients de la synthèse verte des nanoparticules à partir d'extraits de plantes	29
2.5. Principe de biosynthèse des nanoparticules par les extraits de plantes	30
2.5.1. Méthode de réduction.....	30
2.5.2. Méthode de complexation	30
2.5.3. Synthèse de nanoparticules inspirée	30
2.5.4. Synthèse médiée par un solvant vert	31
2.6. Facteurs influençant la biosynthèse des nanoparticules	31
3. Mécanismes de biosynthèse des nanoparticules par les extraits de plantes	31
3.1. Rôle des composés phytochimiques dans la réduction et la stabilisation des nanoparticules	32
3.2. Étapes clés du mécanisme de synthèse verte des nanoparticules.....	32
3.2.1. Sélection du Milieu Solvant.....	32
3.2.2. Choix des Agents Réducteurs Écologiques	32
3.2.3. Sélection d'Agents de Stabilisation Non Toxiques	33
3.2.4. Méthodologie de Synthèse.....	33
3.2.5. Chemin Mécanistique.....	33
3.2.6. Purification	33
3.2.7. Caractérisation	33
3.2.8. Évaluation de l'impact environnemental.....	34
3.2.9. Développement d'Applications	34
4. Propriétés et applications des nanoparticules stabilisées par phytochimiques.....	34
5. Techniques de caractérisation des nanoparticules synthétisées	34
5.1. Spectrophotomètre UV-visible.....	35
5.2. Microscopie électronique à balayage (SEM - Scanning Electron Microscopy)	36
5.3. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR-Fourier Transform Infrared Spectroscopy)	37
5.4. Diffraction des rayons X (XRD - X-Ray Diffraction)	38
5.5. Spectroscopie de dispersion d'énergie (EDS - Energy Dispersive Spectroscopy)	38
6. Études de cas: Synthèse verte des nanoparticules	40
6.1. Synthèse verte des nanoparticules de ZnO, Mg et Ag par les extraits de plantes.....	40
6.1.1. Propriétés des nanoparticules de ZnO	40
6.1.2. Propriétés des nanoparticules de Mg	41

6.1.3. Propriétés des nanoparticules de Ag.....	41
6.2.Les nanoparticules ZnOdopées Mg et Ag	42
6.2.1.Propriétés du ZnO dopé Mg et Ag et de ses nanoparticules	42
6.2.2.Mécanisme de biosynthèse spécifique au ZnO dopé Mg et Ag	42
6.2.3.Caractérisation des nanoparticules de ZnO dopées Mg et Ag synthétisées	43
6.2.4.Applications potentielles des nanoparticules de ZnO dopées par le magnésium et l'argent	44

CHAPITRE III : Diabète

1. Histoire du diabète	46
2. Généralité du diabète	46
3. Définition et pathogenèse du diabète	47
4. Le prédiabète.....	47
5. Types de diabète	48
5.1. Le diabète de type 1	48
5.1.1. Le diabète de type 1 (DT1)	48
5.1.2. DT1 idiopathique	49
5.1.3. DT1 fulminant	49
5.2. Le diabète de type 2	49
5.3. Le diabète gestationnel.....	50
5.4. Autres formes spécifiques du diabète	51
5.5. Les formes hybrides de diabète.....	52
5.6. Le diabète à médiation immunitaire à évolution lente (ancien diabète auto-immun latent de l'adulte)	52
6. Classification et causes du diabète.....	52
7. Physiopathologie du diabète	54
7.1. Régulation hormonale de la glycémie	54
7.2. Physiopathologie moléculaire du diabète de type 2	55
7.2.1. Insulinorésistance	55
7.2.2. Dysfonctionnement des cellules β	56
8.Digestion et absorption du glucose	57
8.1. Période prandiale	57
8.1.1. Absorption du glucose	57

8.1.2. Devenir du glucose	57
8.2. Période post-absorptive	58
8.2.1. Adaptations métaboliques	58
8.2.2. Dysfonctionnements dans le diabète	58
8.2.3. Le diabète de type 1 (DT1)	59
8.2.4. Le diabète de type 2 (DT2)	59
9.Symptômes et diagnostic du diabète	61
9.1. Symptômes cliniques	61
9.2. Diagnostique.....	62
10.Complications du diabète	63
10.1. Les microangiopathies.....	63
10.1.1. La rétinopathie diabétique (RD)	63
10.1.2. La neuropathie diabétique	64
10.1.3. La néphropathie diabétique	64
10.2. Les macro angiopathies	65
11.Approches Thérapeutiques.....	65
11.1. Traitement pharmacologique	65
11.2. Traitement non pharmacologique	68
11.3. Innovations thérapeutiques: Nanotechnologies et extraits naturels.....	69

DEUXIEME PARTIE: Etude Expérimentale

CHAPITRE I: Matériels & Méthodes

1.Matériels.....	74
1.1.Matériel végétal	74
1.2.Animale.....	74
1.3.Souches bactériennes.....	75
1.4.Produits chimiques.....	75
1.5.Instruments	76
1.6.Les antibiotiques	76
2.Méthodes	76
2.1.Préparation de la poudre des noyaux des dattes du palmier dattier <i>Phoenix dactylifera</i> L.	76
2.1.1.Extraction de l'extrait aqueux des noyaux des dattes	77

2.1.2.Rendement de l'extrait des noyaux des dattes.....	77
2.1.3.Analyse de extrait aqueux des noyaux des dattes des palmier <i>Phoenix dactylifera</i> L. .	78
2.1.3.1.Criblage phytochimique.	78
2.1.3.1.1.Polyphénols	78
2.1.3.1.2.Flavonoïdes	78
2.1.3.1.3.Tanins.....	78
2.1.3.1.4.Alcaloïdes	78
2.1.3.1.5.Saponosides.....	79
2.1.3.1.6.Stéroïdes.....	79
2.1.3.1.7.Anthocyanins	79
2.1.3.1.8.Terpénoïdes.....	79
2.1.3.1.9.Glycosides cardiotoniques	79
2.1.4.Quantification des composés phytochimiques	79
2.1.4.1.Dosage des composés phénoliques totaux	79
2.1.4.2.Dosage des flavonoïdes totaux.....	80
2.1.4.3.Dosage des tanins condensés	80
2.1.5.Analyse qualitatif et quantitatif par HPLC	81
2.2. Biosynthèse des nanoparticules.....	82
2.2.1. Biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs).....	82
2.2.2.Biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par le magnésium et l'argent 0.5% (ZnO dopé Mg-Ag NPs).	84
2.2.3.Caractérisations des nanoparticules	85
2.2.3.1.Spectrophotométrie UV-visible (UV-Vis)	85
2.2.3.2.Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	86
2.2.3.3.Diffraction des rayons X (XRD).....	87
2.2.3.4.Microscope électronique à balayage (SEM)	88
2.2.3.5.Spectroscopie dispersion d'énergie des rayons X (EDAX).....	88
2.2.4.Activité <i>in vitro</i> des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnONPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)	91
2.2.4.1. Activité antioxydant	91
2.2.4.1.1.Activité antioxydant par DPPH	91
2.2.4.1.2.Activité antioxydant par FRAP.....	92
2.2.4.1.3.Activité β -carotène / acide linoléique	92

2.2.4.1.4. Activité anti-hémolyse	93
2.2.4.1.5. Activité photo catalytique par bleu de méthylène (BM)	95
2.2.4.1.6. Anti-diabétique	96
2.2.4.1.6.1. Activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase	96
2.2.4.1.6.2. Activité inhibitrice de l' α -amylase.....	98
2.2.4.1.6.3. Activité d'absorption du glucose par les cellules de levure	99
2.2.4.1.7. Activité anticoagulante	101
2.2.4.1.8. Activité antimicrobienne	102
2.2.5. Activité <i>in vivo</i> des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnONPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)	104
2.2.5.1. Étude de toxicité subaiguë.....	104
2.2.5.2. Provocation du diabète.....	104
2.2.5.3. Plan expérimental.....	104
2.2.5.4. Sacrifice et collecte de sang	105
2.2.5.5. Préparation des échantillons de tissus	105
2.2.5.6. Analyse des paramètres hématologiques	106
2.2.5.7. Analyse des paramètres biochimiques, enzymatiques, hormonal.....	106
2.2.5.8. Analyses histologiques des tissus (foie, pancréas).....	106
2.3. Analyse statistique.....	108

Chapitre II: Résultats

1. Rendement de l'extrait des noyaux des dattes	110
2. Analyse de extrait aqueux des noyaux des dattes des palmier <i>Phoenix dactylifera</i> L. ..	110
2.1. Criblage phytochimique.....	110
2.2. Quantification des composés phytochimiques.....	111
2.3. Analyse qualitative et quantitatif de l'extrait aqueux des noyaux des dattes par HPLC	111
3. Biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)	113
3.1. Caractérisations des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)	113
3.1.1. L'analyse de spectrophotométrie UV-visible (UV-Vis)	113

3.1.2. L'analyse de spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	114
3.1.3. L'analyse de diffraction des rayons X (XRD).....	115
3.1.4. L'analyse de microscope électronique à balayage (SEM)	118
3.1.5. L'analyse spectroscopie de dispersion d'énergie des rayons X (EDAX).....	119
4. Activité <i>in vitro</i> des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)	121
4.1. Activité antioxydant	121
4.1.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH (DPPH) et pouvoir réducteur du fer (FRAP)	121
4.1.1.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH	121
4.1.1.2. L'activité de pouvoir réducteur du fer.....	121
4.1.2. L'activité de bêta-carotène/Acide linoléique	122
4.1.3. L'activité anti-hémolytique par peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	124
4.1.4. L'activité photocatalytique par bleu de méthylène (BM)	125
4.2. Activité antidiabétique	126
4.2.1. L'activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase	126
4.2.2. L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase	127
4.2.3. L'activité d'absorption du glucose par les cellules de levure	128
4.3. Activité anticoagulante.....	131
4.3.1. Le test de temps de thromboplastine partielle activée (APTT) et le test de Temps de prothrombine (PT).....	131
4.4. Activité antimicrobienne	132
4.4.1. L'activité de microdilution en bouillon.....	132
5. Activité <i>in vivo</i> des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)	135
5.1. Étude de toxicité subaiguë.....	135
5.2. Suivi du poids corporelle des rats	136
5.3. Suivi de taux de glucose sanguin des rats	137
5.4. Les effets thérapeutiques des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs....	138
5.4.1. L'analyse des paramètres biochimiques	138
5.4.1.1. Les taux de glycémie et l'hémoglobine-glyquée.....	138
5.4.2. L'analyse des paramètres lipidiques.....	139
5.4.3. L'analyse des paramètres rénaux	141

5.4.4. L'analyse des paramètres hépatiques	141
5.4.5. L'analyse de alfa amylase et de l'insuline	143
5.4.6. L'analyse des paramètres hématologiques	143
5.4.7. Les coupes histologiques.....	144
5.4.7.1. Pancréas	144
5.4.7.2. Foie.....	146

Chapitre III : Discussion

Discussion	149
Conclusion	176
Les References Bibliographiques	180
Les Annexes.....	228

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le diabète est un trouble métabolique chronique caractérisé par une hyperglycémie, une résistance à l'insuline et un stress oxydatif, représente un défi mondial majeur pour la santé. Selon la Fédération Internationale du Diabète, environ 537 millions d'adultes vivaient avec le diabète en 2021, et ce nombre devrait augmenter pour atteindre 783 millions d'ici 2045 (Fédération Internationale du Diabète, 2021). Les stratégies de traitement actuelles, y compris l'insulinothérapie et les agents hypoglycémisants oraux, sont souvent associées à des limitations telles qu'une faible biodisponibilité, des effets secondaires et la nécessité d'une administration fréquente (Kammari et *al.*, 2017). Ces défis soulignent la nécessité de nouvelles approches thérapeutiques capables de gérer efficacement les niveaux de glucose sanguin tout en minimisant les effets indésirables.

La nanotechnologie offre une solution prometteuse en permettant le développement de systèmes d'administration ciblée des médicaments et d'agents thérapeutiques multifonctionnels (Jain et *al.*, 2008). La nanotechnologie est une discipline transformante située à l'intersection de la physique, de la chimie et de la biologie, offrant des solutions innovantes à certains des défis les plus pressants de la science et de la technologie. En manipulant la matière à l'échelle nanométrique, des matériaux avec des propriétés physico-chimiques uniques telles qu'une surface accrue, une activité catalytique et des effets quantiques peuvent être conçus, permettant ainsi des avancées dans divers domaines, y compris l'électronique, l'énergie, la dépollution environnementale et la biomédecine (Elahi et *al.*, 2018).

En biomédecine, la nanotechnologie offre un immense potentiel, en particulier dans les domaines de l'administration de médicaments, des diagnostics et des traitements, où sa capacité à améliorer l'efficacité thérapeutique et à minimiser les effets secondaires a été largement reconnue (Kammari et *al.*, 2017). Parmi les nombreuses approches de synthèse des nanoparticules (NP), la synthèse verte a suscité une attention particulière en raison de sa durabilité et de sa biocompatibilité (Iravani et *al.*, 2017). Cette méthode utilise des ressources naturelles telles que des extraits de plantes, des micro-organismes et d'autres systèmes biologiques comme agents réducteurs et stabilisants, offrant une alternative respectueuse de l'environnement aux méthodes chimiques et physiques conventionnelles (Agarwal et *al.*, 2017). L'incorporation de composés bioactifs issus de précurseurs naturels dans les nanoparticules peut en outre améliorer leurs propriétés thérapeutiques, faisant de la synthèse verte une approche très attrayante en nanomédecine (Al-Radadi, 2019).

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) ont été largement étudiées pour leurs propriétés optiques, électriques et biochimiques uniques, ce qui les rend particulièrement adaptées pour diverses applications biomédicales (Wahab *al.*, 2009). Dans le cadre de la gestion du diabète, les ZnO NPs ont démontré de multiples bienfaits thérapeutiques, notamment l'amélioration de la sécrétion d'insuline, l'augmentation de l'absorption du glucose et la protection des cellules β pancréatiques contre les dommages oxydatifs (Elahi et *al.*, 2018). De plus, leur activité antimicrobienne est particulièrement bénéfique pour traiter les complications du diabète telles que les infections des plaies. Le dopage des ZnO NPs avec des éléments tels que le magnésium (Mg) et l'argent (Ag) peut améliorer davantage leurs propriétés fonctionnelles (Mishra et *al.*, 2015). Le magnésium, un cofacteur essentiel dans le métabolisme du glucose et la sensibilité à l'insuline, et l'argent, connu pour son activité antimicrobienne à large spectre, contribuent à améliorer l'efficacité thérapeutique et la stabilité des nanoparticules (Salavati et *al.*, 2014).

Cette thèse se concentre sur la biosynthèse, la caractérisation et l'évaluation des activités biologiques des nanoparticules dérivées des noyaux des dattes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) de la variété *Ghars*.

Le palmier dattier, une plante cultivée principalement dans les régions arides et semi-arides, est reconnu pour ses propriétés nutritionnelles et médicinales (Al-Radadi, 2019). Bien que les noyaux de dattes soient souvent considérés comme un sous-produit agricole, ils regorgent de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins, qui possèdent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Hameed et *al.*, 2018). Ces caractéristiques en font un matériau idéal pour la synthèse verte de nanoparticules à potentiel thérapeutique.

L'utilisation des noyaux des dattes en nanomédecine est particulièrement prometteuse, en raison de leur abondance, de leur faible coût et de leur durabilité environnementale (Makarov et *al.*, 2014). Les composés bioactifs présents dans les noyaux de dattes peuvent agir comme agents réducteurs et stabilisants naturels pendant la synthèse des nanoparticules, éliminant ainsi le recours à des produits chimiques toxiques (Al-Radadi, 2019). Cette méthode permet non seulement de fabriquer des nanoparticules plus biocompatibles, mais aussi de tirer parti des propriétés thérapeutiques intrinsèques des nanoparticules.

De plus, les noyaux de palmier dattier constituent une ressource de biomasse sous-exploitée, présentant un grand potentiel pour la synthèse verte de nanoparticules. Enrichies en

phytochemicals, ces noyaux possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et régulatrices du glucose, ce qui en fait un ingrédient précieux pour le développement de nanomatériaux aux applications thérapeutiques diversifiées. Ce processus de synthèse verte s'aligne avec les principes de la chimie durable, offrant une solution éco-responsable et économiquement viable pour la production de nanoparticules.

Les objectifs principaux de cette thèse sont les suivants: Premièrement, développer des nanoparticules en utilisant les noyaux de dattes du palmier dattier comme agent de synthèse verte et caractériser leurs propriétés physiques, chimiques et structurales à l'aide de techniques avancées telles que la spectroscopie UV-Vis, la FTIR, la DRX, la MEB et l'EDAX. Deuxièmement, évaluer les activités antioxydantes, antimicrobiennes et antidiabétique et anticoagulante des nanoparticules synthétisées *in vitro*, fournissant ainsi des perspectives sur leurs applications thérapeutiques potentielles. Troisièmement, évaluer les effets antidiabétique des nanoparticules dans des modèles *in vitro* et *in vivo*, en mettant l'accent sur leur capacité à réguler les niveaux de glucose sanguin et à protéger les tissus pancréatiques et hépatiques des dommages induits par le diabète. Quatrièmement, étudier les mécanismes sous-jacents par lesquels les nanoparticules exercent leurs effets antidiabétique, y compris leur impact sur le métabolisme du glucose, la sécrétion d'insuline et le stress oxydatif.

Cette recherche contribue à l'ensemble croissant de connaissances sur l'utilisation de nanoparticules d'origine végétale à des fins thérapeutiques. En exploitant les composés bioactifs des noyaux des dattes du palmier dattier, cette étude propose une approche novatrice et durable pour la synthèse de nanoparticules. Les résultats ont le potentiel de faire progresser les domaines de la nanotechnologie, de traitement du diabète en fournissant de nouvelles perspectives sur le développement d'agents hypoglycémiants biocompatibles et efficaces. Les implications pratiques de cette recherche sont significatives. Si elles sont couronnées de succès, les nanoparticules synthétisées pourraient être développées en une nouvelle classe de médicaments antidiabétiques offrant une efficacité améliorée, des effets secondaires réduits et une meilleure observance par les patients. De plus, l'utilisation des noyaux des dattes comme matière première s'aligne sur les principes de la chimie verte et du développement durable, rendant cette recherche bénéfique sur le plan environnemental et économique.

Cette thèse est structurée en deux parties principales: une partie théorique et une partie pratique. Chaque partie est composée de chapitres distincts, chacun abordant un aspect spécifique de la recherche.

- **Partie Théorique**

- Le chapitre 1 fournit un aperçu du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et de ses dérivés, en se concentrant sur la composition biochimique et les propriétés médicinales des noyaux des dattes.
- Le chapitre 2 traite des fondamentaux de la nanotechnologie, y compris les principes de synthèse des nanoparticules, les techniques de caractérisation et leurs applications en médecine.
- Le chapitre 3 explore la physiopathologie du diabète, les options de traitement actuelles et le potentiel de la nanotechnologie pour surmonter les limites des thérapies existantes.

- **Partie Pratique**

- Le chapitre 1: détaille les matériels et méthodes utilisés pour la biosynthèse, la caractérisation et l'évaluation des activités biologiques des nanoparticules.
- Le chapitre 2: présente les résultats de l'étude, y compris les propriétés physiques et chimiques des nanoparticules, leurs activités biologiques et leurs effets antidiabétiques *in vitro* et *in vivo*. Ce chapitre discute également des résultats dans le contexte de la littérature existante, en mettant en lumière les implications pour la recherche future et les applications cliniques. Enfin, la conclusion résume les principales découvertes de l'étude, leur signification et les orientations potentielles pour les recherches futures.

PREMIÈRE PARTIE

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

Palmier dattier & dattes

Phoenix dactylifera L.

1. Généralités sur les palmiers dattiers

Le palmier dattier, désigné sous le nom scientifique *Phoenix dactylifera* L. par linné en 1734, tire son appellation de plusieurs origines. Le terme *Phoenix* provient de *Phoinix*, qui était le nom donné au dattier par les Grecs de l'Antiquité, lesquels le considéraient comme l'arbre des Phéniciens. Quant à *dactylifera*, il découle du latin *dactylus*, lui-même emprunté au grec *daktulos*, signifiant « doigt », en référence à la forme caractéristique de son fruit (Munier, 1973).

Ils sont des arbres majestueux appartenant à la famille des palmiers (Arecaceae). Ils sont largement cultivés pour leurs fruits délicieux et sucrés appelés dattes. Les dattiers sont originaires des régions désertiques et subtropicales d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient, mais ils sont maintenant cultivés dans le monde entier dans les zones chaudes et arides (Agnoletti et al., 2023; I. Ahmad et al., 2020; Gray, 2018).

Les palmiers dattiers peuvent atteindre une hauteur de 20 à 25 mètres, avec des feuilles pennées atteignant jusqu'à 5 mètres de long. Les feuilles sont vert foncé et forment une couronne en forme de parasol au sommet de l'arbre (Braun et al., 2020; Gray, 2018).

Les fleurs du palmier dattier sont petites et jaunâtres, et elles se regroupent en grappes denses appelées inflorescences. Ces inflorescences se développent à l'aisselle des feuilles et sont soit mâles, soit femelles. Les palmiers dattiers sont des plantes dioïques, ce qui signifie qu'il existe des arbres mâles et des arbres femelles. La pollinisation des fleurs est généralement assurée par le vent ou par des insectes tels que les abeilles (Zaid, 2019).

Une fois pollinisées, les fleurs femelles se transforment en fruits charnus appelés dattes. Les dattes sont de forme ovale à oblongue, et leur couleur varie du jaune pâle au brun foncé, en fonction de la variété. Elles sont riches en sucre, en fibres et en divers nutriments essentiels. Les dattes sont consommées fraîches, séchées ou transformées en divers produits tels que des pâtes de fruits, des confitures et des sirops (Al-Agha, 2019; Gray, 2018; Warner, 2023).

Les palmiers dattiers sont des cultures importantes dans de nombreuses régions du monde, en particulier dans les pays du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord, où ils jouent un rôle économique et culturel significatif. La culture de dattes nécessite des conditions climatiques spécifiques, avec des températures élevées, une faible pluviométrie et une disponibilité d'eau pour l'irrigation. Les dattes sont récoltées à maturité, généralement à la fin de l'été ou à l'automne, en fonction de la variété et de la région de culture (Alotaibi et al., 2023; Krueger, 2021; I. Ahmad et al., 2020).

En conclusion, les palmiers dattiers sont des arbres emblématiques des régions chaudes et arides, cultivés principalement pour leurs fruits succulents, les dattes. Leur culture remonte à des milliers d'années et joue un rôle important sur le plan économique et culturel dans de nombreuses parties du monde.

2. Taxonomie et Phylogénie *Phoenix dactylifera* L.

Le palmier dattier, également connu sous le nom scientifique *Phoenix dactylifera* L. (YAHAYA, 2021), est une espèce de plante monocotylédone appartenant à la famille des Arecaceae (Palmiers) et à la sous-famille des Coryphoideae (Tableau 01). Il est largement cultivé, principalement pour ses fruits comestibles: les dattes.

Tableau 01: Classification de *Phoenix dactylifera* L.

Classification phylogénétique (Khouane et al., 2020; Chen et al., 2022)	
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Arecales
Famille	Arecaceae
Genre	Phoenix
Espèce	<i>Phoenix dactylifera</i> L.

3. Répartition géographique

3.1. Répartition mondiale du Palmier dattier

Phoenix dactylifera L., le palmier dattier, est originaire des régions désertiques et subtropicales d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient. Cependant, en raison de sa culture et de sa propagation par l'homme, il est maintenant largement répandu dans de nombreuses parties du monde où les conditions climatiques sont favorables à sa croissance (Gros-Balthazard et al., 2021).

Les principales régions de culture du palmier dattier sont les pays du Moyen-Orient tels que l'Arabie saoudite, l'Iran, l'Irak, les Émirats arabes unis et l'Égypte. Ces pays ont une longue tradition de culture de dattes et sont réputés pour leurs variétés de dattes de haute qualité (Krueger, 2021; Mohamoud et al., 2019).

En Afrique du Nord, le palmier dattier est cultivé en Algérie, au Maroc, en Tunisie et en Libye (Figure 01). Ces pays ont également une longue histoire de culture de dattes et sont connus pour leurs variétés spécifiques.

Outre ces régions d'origine, le palmier dattier a été introduit et cultivé avec succès dans de nombreux autres pays du monde. On le trouve dans les régions du pourtour méditerranéen, y compris en Espagne, en Italie, en Grèce et en Turquie (Bedjaoui et Benbouza, 2020; Rivera et *al.*, 2019). Il est également cultivé dans certains pays d'Amérique du Nord et d'Amérique du Sud, tels que les États-Unis, le Mexique, le Brésil et l'Argentine (Haq et Khan, 2020; Zaid, 2019).

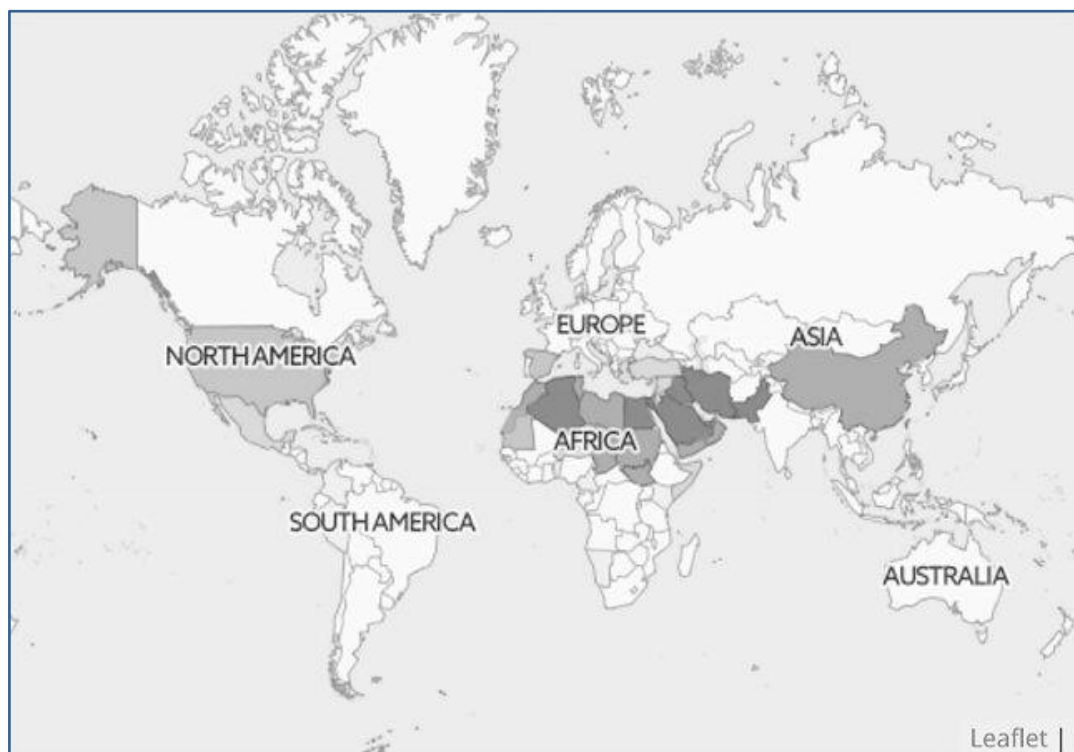


Figure 01:Quantités de production de dattes par pays, montrant la production relative annuelle totale en 2014-2015 (Zaid, 2019).

Dans les régions tropicales et subtropicales d'Asie, comme l'Inde, le Pakistan, la Thaïlande et l'Indonésie, le palmier dattier est également cultivé pour ses dattes (Haq et Khan, 2020).

Il convient de noter que la culture du palmier dattier est étroitement liée aux conditions climatiques particulières, notamment des températures élevées, une faible pluviométrie et une disponibilité d'eau pour l'irrigation. Par conséquent, sa répartition géographique est principalement limitée aux régions chaudes et arides du monde (Alotaibi et *al.*, 2023).

3.2. Répartition du Palmier dattier en Algérie

L'Algérie est l'un des principaux pays producteurs de dattes, avec de vastes étendues de culture couvrant environ 160 000 hectares. Il se classe au sixième rang mondial et au premier rang dans la région du Maghreb. Les oasis réparties dans le sud du pays, caractérisées par un climat chaud et sec de la zone saharienne, abritent la culture du palmier dattier en Algérie.

La culture du palmier dattier s'étend de la frontière marocaine à l'ouest jusqu'à la frontière tuniso-libyenne à l'est. Elle s'étend également du nord de l'Atlas Saharien jusqu'aux régions de Reggane (sud-ouest), Tamanrasset (centre) et Djanet (sud-est) (Tableau 02). On estime qu'il existe près d'un millier de cultivars de palmiers dattiers en Algérie. Les trois principales régions de culture se distinguent par leur diversité génétique (Aberlenc-Bertossi, 2010).

En plus de ces cultivars, il existe également de nombreux pieds francs, appelés localement "Khalts", qui poussent de manière spontanée dans les oasis. Ces pieds francs représentent une source précieuse pour de nouvelles sélections de cultivars, à la fois pour la qualité de leurs dattes et pour leur résistance à la maladie du bayoud (Aberlenc-Bertossi, 2010; Faiza et *al.*, 2022).

Tableau 02: Situation de la culture du palmier dattier en Algérie (Aberlenc-Bertossi, 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	Tgazza, 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 Beida
Oued Righ	130	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida
Souf	70	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida, Mich Degla
Zibans	140	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida, Mich Degla
Aures	220	Buzrur, 'Alig, Buhles, Mich Degla
Tassili	180	Tanghimen, Tabanist, Khadaji

L'Algérie est un important producteur de dattes, avec une culture étendue du palmier dattier dans les oasis du sud du pays. La diversité génétique est observée parmi les près d'un millier de cultivars répertoriés, et les pieds francs constituent une source prometteuse pour de nouvelles sélections.

4. Production de dattes

4.1. Production mondiale de dattes

Pour analyser le graphique de la production mondiale de dattes de manière scientifique et basée sur des références réelles, voici (Figure 02) une approche détaillée :

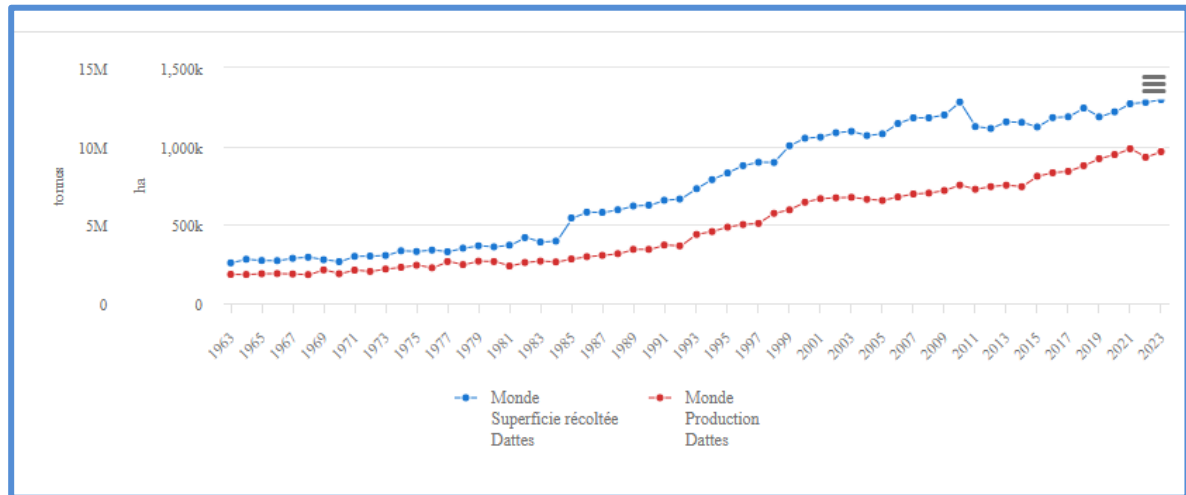


Figure 02: Production / Rendement de datte en monde + (total) 1963-2023

- **Tendances générales observées**

Le graphique montre Une augmentation continue de la superficie récoltée (courbe bleue) entre 1963 et 2023, atteignant environ 1.4 million d'hectares. Une croissance parallèle de la production (courbe rouge), qui passe de quelques millions de tonnes en 1963 à plus de 10 millions de tonnes en 2023. Ces tendances reflètent des efforts globaux pour répondre à une demande croissante.

- **Facteurs expliquant la croissance**

- Expansions des cultures: La hausse de la superficie récoltée résulte d'investissements dans les cultures de palmiers-dattiers dans des pays producteurs comme l'Égypte, l'Arabie saoudite et l'Algérie. Par exemple: L'Égypte, est aujourd'hui le plus grand producteur mondial avec plus de 1.7 million de tonnes par an. (FAO, 2023). L'Arabie Saoudite, investit massivement dans des projets agricoles pour exporter des variétés comme Ajwa et Khalas.
- Amélioration des rendements: La croissance plus rapide de la production par rapport à la superficie suggère une amélioration des rendements agricoles (tonnes/hectare). Les facteurs incluent :

Irrigation efficace: Adoption de l'irrigation goutte-à-goutte pour maximiser l'utilisation de l'eau dans les régions arides.

Nouvelles variétés: Sélection de palmiers plus résistants et plus productifs, comme Medjool et Deglet Nour.

Technologies agricoles modernes: Utilisation de fertilisants et contrôle des ravageurs.

- Climat et conditions locales: Les dattes sont cultivées dans des climats désertiques. Des pays comme les Émirats arabes unis utilisent des technologies pour rendre ces environnements plus propices à la culture.

- **Analyse des rendements**

La différence entre les courbes de production et de superficie suggère une augmentation des rendements globaux (production / hectare): En 1963, le rendement moyen était d'environ 3-4 tonnes/ha, En 2023, il atteint environ 7-8 tonnes/ha.

- **Défis rencontrés**

Malgré les progrès, la production de dattes rencontre des défis :

- Stress hydrique: Les palmiers-dattiers nécessitent de grandes quantités d'eau, ce qui représente un défi majeur dans des zones sujettes à la sécheresse. Exemple: Les stratégies d'irrigation dans des pays comme le Maroc visent à minimiser l'impact sur les ressources en eau. (ONAGRI, 2023)
- Changements climatiques: Les températures extrêmes et les précipitations irrégulières menacent certaines zones de production.
- Ravageurs: Des maladies comme le charançon rouge des palmiers et le fusarium affectent la productivité, surtout en Asie et en Afrique du Nord.

- **Projections futures**

- Demande en hausse: La consommation mondiale de dattes continue d'augmenter, portée par: Une population mondiale croissante, Une reconnaissance de dattes comme superaliment.
- Investissements dans les exportations: Des pays comme la Tunisie et l'Algérie se concentrent sur les exportations, la Tunisie étant un leader mondial pour les dattes Deglet Nour.
- Durabilité: Les initiatives futures incluront des méthodes agricoles durables pour gérer les ressources limitées, comme l'eau et les terres (CBI, 2023).

4.2. Production de dattes en Algérie (1963-2023)

Analyse scientifique de la production de dattes en Algérie (Figure 03) (1963-2023)

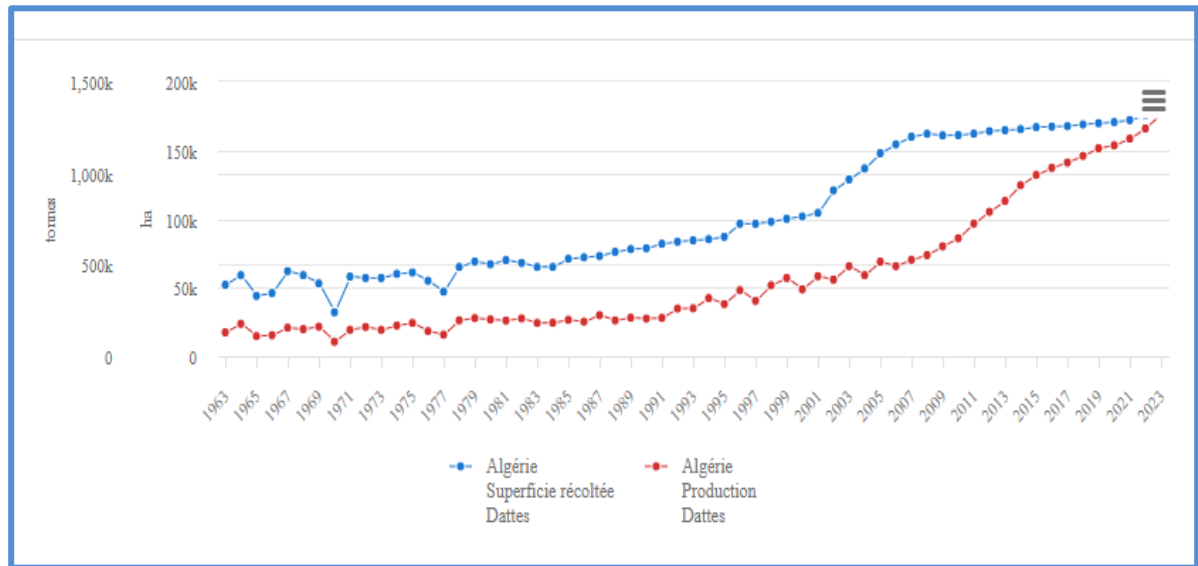


Figure 03: Production / Rendement de datte en algérie 1963-2023

• Tendances générales

Le graphique montre deux courbes :

- Superficie récoltée (en bleu): Une augmentation continue depuis les années 1990, atteignant environ 150 000 hectares en 2023.
- Production (en rouge): Une croissance accélérée après 2000, passant de moins de 200 000 tonnes en 2000 à près de 1 500 000 tonnes en 2023.

Ces tendances mettent en évidence les efforts de l'Algérie pour développer sa production de dattes, à travers une augmentation des surfaces cultivées et une amélioration des rendements (Ministère de l'Agriculture Algérien 2023).

• Facteurs contribuant à l'évolution

- Augmentation de la superficie récoltée, depuis les années 1990, l'Algérie a intensifié la culture de palmiers-dattiers, particulièrement dans les régions sahariennes telles que Biskra, Ouargla, et El Oued, qui sont les principaux pôles de production. Les projets de plantation massive ont permis d'étendre les zones cultivées, avec un accent particulier sur les variétés commerciales comme " Deglet Nour", prisée pour l'exportation (FAO, 2023).
- Amélioration des rendements: Les rendements (tonnes/ha) ont augmenté de manière significative depuis 2000, grâce à :

Modernisation agricole: Utilisation de systèmes d'irrigation goutte-à-goutte.

Lutte contre les ravageurs: Contrôle du charançon rouge et des maladies fongiques.

Sélection génétique: Introduction de variétés résistantes et plus productives.

- **Politiques publiques**

Le gouvernement algérien a investi dans des programmes agricoles pour soutenir les producteurs: Subventions pour les systèmes d'irrigation, Aides pour le développement des palmeraies dans les zones sahariennes.

- **Analyse des rendements**

En comparant les deux courbes, on observe que la croissance de la production est plus rapide que celle de la superficie récoltée: 1960-1990: Les rendements restent relativement stables, autour de 1 à 2 tonnes/ha. Après 2000: Les rendements atteignent près de 10 tonnes/ha en moyenne en 2023. Cela reflète une amélioration des pratiques agricoles et une meilleure gestion des ressources.

- **Défis rencontrés**

- Stress hydrique: La culture de dattes en Algérie repose sur des ressources en eau souterraines (nappe albienne), qui sont limitées. L'utilisation intensive de ces nappes pose un défi pour la durabilité à long terme (ONAGRI, 2023).

- Impact du climat: Les changements climatiques affectent la production, avec des vagues de chaleur et des précipitations réduites qui augmentent le risque de stress pour les palmiers.

- Problèmes phytosanitaires: Les ravageurs comme le charançon rouge et les maladies fongiques menacent les palmeraies, nécessitant des investissements constants en protection des cultures.

- **Projections futures***

- Exportation: L'Algérie vise à augmenter ses exportations, principalement pour la variété "Deglet Nour", vers les marchés européens et asiatiques. Actuellement, l'Algérie se classe parmi les 10 principaux exportateurs mondiaux de dattes, mais elle reste derrière la Tunisie en termes de volume exporté.

- Systèmes durables: L'accent est mis sur l'adoption de pratiques agricoles durables, notamment l'efficacité hydrique et la diversification des variétés pour faire face aux défis climatiques (CBI, 2023).

5. Description de la datte

La datte est un fruit oblong, mesurant généralement de 2 à 7 centimètres de long. Sa peau, est mince et lisse, et sa couleur varie en fonction de la variété et du stade de maturité, allant du jaune pâle au brun foncé (Figure 04) (Zaid, 2018).

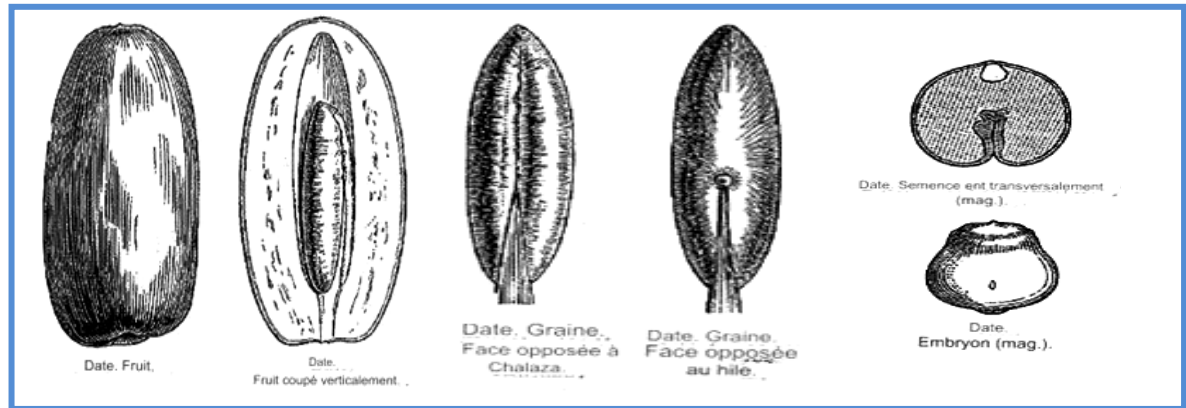


Figure 04 : Représentation de la structure de datte du palmier dattier.

La chair de la datte, appelée mésocarpe, est douce, juteuse et de couleur claire à foncée en fonction de la variété. Elle entoure une graine dure, appelée endocarpe (Figure 05), qui est généralement ovale et mesure environ 2 centimètres de long (Figure 06).

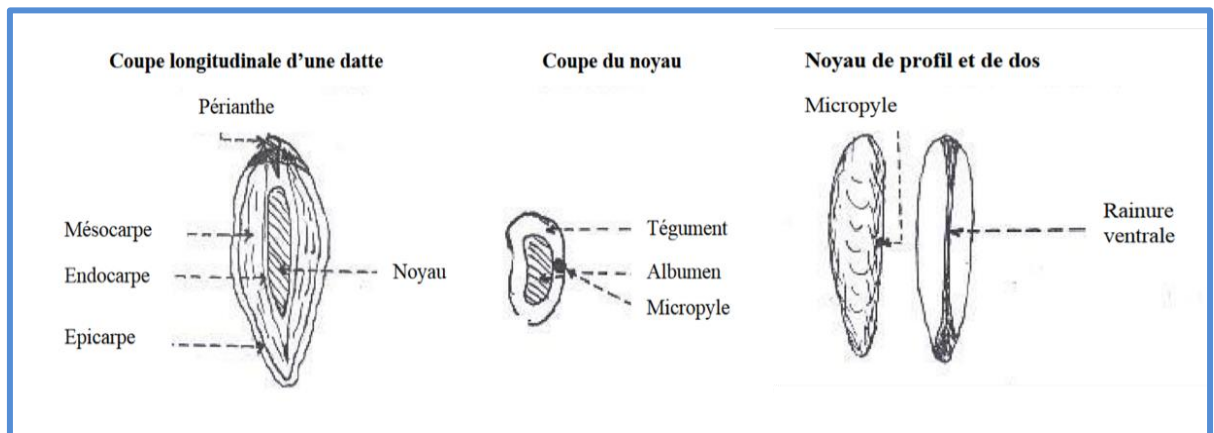


Figure 05 : Datte et noyau du palmier dattier (Belguedj, 2002).

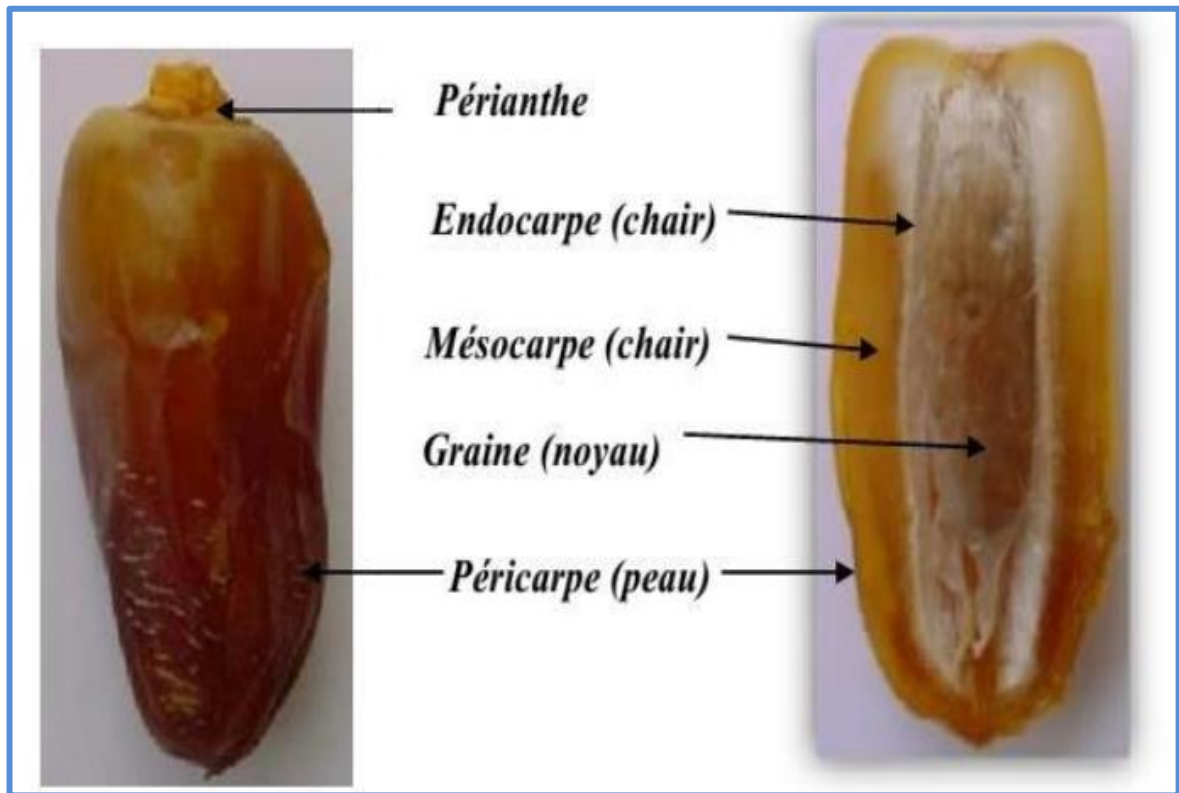


Figure 06: Datte entière (à gauche) et coupe longitudinale (à droite) (Bahi et *al.*, 2022).

6. Classification des dates

La consistance de la datte est variable. Selon cette caractéristique, les dattes sont réparties en trois catégories (Tableau 03) (Aribi et *al.*, 2021; Bahi et *al.*, 2022):

Tableau 03: Classification de dattes selon la consistance.

Catégorie	Dattes molles	Dattes demi-molles	Dattes sèches
	<i>Ghars</i> (Algérie)	Deglet-Nour (Algérie, Tunisie)	Degla-Beïda et Mech-Degla (Algérie, Tunisie)
Exemples	Ahmar (Mauritanie)	Mehjoul (Mauritanie)	
	Kashram et Miskani (Egypte, Arabie Saoudite)	Sifri et Zahidi (Arabie-Saoudite)	Amersi (Mauritanie)

7. Stades de maturation de dattes

Les dattes passent par plusieurs stades de maturation au cours de leur développement une description des principaux stades de maturation de dattes :

✓ **Stade Khalal**

C'est le stade initial de la maturation de dattes. Les dattes à ce stade sont vertes, croquantes et très fermes. Elles contiennent une grande quantité d'humidité et leur teneur en sucre est relativement faible. Les dattes Khalal sont principalement utilisées pour la production de dattes fraîches ou pour certains types de conserves.

✓ **Stade Rutab**

À ce stade, les dattes commencent à mûrir davantage. Elles prennent une couleur jaune à orange et leur texture devient plus molle et juteuse. Les dattes Rutab ont une teneur en sucre plus élevée et offrent une saveur douce et sucrée. Elles sont souvent consommées fraîches et sont très appréciées pour leur goût délicieux.

✓ **Stade Tamar**

C'est le stade final de maturation de dattes. À ce stade, les dattes ont atteint leur maturité complète. Leur couleur varie en fonction de la variété, allant du jaune doré à une teinte plus foncée, voire brun foncé. Leur texture devient plus ferme et elles développent une saveur plus concentrée et sucrée. Les dattes Tamar sont généralement consommées séchées et sont utilisées dans de nombreuses préparations culinaires, desserts et confiseries (Meenakshi et Misra, 2023; Mohammed et *al.*, 2023).

Les dattes subissent trois étapes de maturation, Khalal, Rutab et Tamar - chacune ayant des caractéristiques distinctes. La composition chimique de dattes change considérablement au cours de la maturation, les niveaux de glucose et de fructose augmentant rapidement. Le processus de séchage est crucial pour maintenir la qualité de dattes, diverses méthodes telles que le séchage au soleil, le séchage au four et la déshydratation solaire étant explorées. Ces études soulignent l'importance de comprendre le processus de maturation et l'impact des différentes méthodes de séchage sur la qualité de dattes (Elwakeel et *al.*, 2022; Shamim et *al.*, 2013).

8. Variétés de dattes

Les dattes sont disponibles dans une grande variété de variétés, chacune ayant ses propres caractéristiques distinctes en termes de goût, de texture, de couleur et de profil nutritionnel (Figure 07). Une description scientifique de certaines variétés de dattes:

Mech Degla

La variété Mech Degla est originaire d'Algérie et de Tunisie. Les dattes Mech Degla ont une peau brun foncé et une chair tendre et juteuse. Elles sont appréciées pour leur goût sucré et leur texture moelleuse.

Degla Beidha

Originaire d'Algérie et de Tunisie, les dattes Degla Beidha se distinguent par leur peau claire à brun clair et leur chair ferme et sucrée. Elles sont souvent consommées à la fois fraîches et séchées.

Deglet Nour

La variété Deglet Nour, également connue sous le nom de "doigt de lumière", est originaire d'Algérie. Ces dattes ont une peau translucide dorée et une chair tendre et sucrée. Elles sont largement cultivées et exportées dans le monde entier en raison de leur goût délicieux.

Tafezouine

Les dattes Tafezouine sont cultivées principalement au Maroc. Elles se caractérisent par leur peau brun foncé et leur chair moelleuse et sucrée. Ces dattes sont souvent consommées fraîches et sont également utilisées dans la préparation de divers produits alimentaires.

Ghars

Originaire d'Algérie, les dattes *Ghars* sont de petite taille et ont une peau brun foncé. Elles ont une chair douce et sucrée, et sont souvent consommées fraîches ou utilisées dans la fabrication de produits à base de dattes.

Tantbouche

Les dattes Tantbouche sont cultivées principalement en Égypte. Elles ont une peau brun clair à brun foncé et une chair sucrée et juteuse. Elles sont populaires pour leur goût délicat et sont souvent consommées fraîches (Ismail et Hassine, 2021).



Figure 07 : Variétés des dattes (Benahmed et *al.*, 2016).

Ces variétés de dattes offrent une diversité de saveurs et de textures, ce qui permet aux consommateurs de choisir en fonction de leurs préférences personnelles (Bahi et *al.*, 2022; Benahmed et *al.*, 2016).

9. Compositions biochimiques de dattes

9.1. Partie comestible "Pulpe"

Les dattes sont naturellement riches en nutriments et contiennent une variété de composés biochimiques bénéfiques pour la santé. Voici un aperçu des principales composantes biochimiques des pulpes des dattes sont :

Glucides: Les dattes sont une excellente source de glucides, principalement sous forme de glucose et de fructose. Ces sucres naturels fournissent de l'énergie rapidement disponible.

Fibres: Les dattes sont également riches en fibres alimentaires, notamment des fibres solubles telles que la cellulose, l'hémicellulose et la pectine. Les fibres alimentaires favorisent la santé digestive, régulent la glycémie et contribuent à la satiété.

Vitamines: Les dattes contiennent plusieurs vitamines essentielles, notamment la vitamine A, la vitamine B6, la vitamine K et la vitamine E. Ces vitamines jouent un rôle important dans le maintien de la santé globale, y compris la vision, la fonction immunitaire et la santé des os

Minéraux: Les dattes sont une bonne source de minéraux tels que le potassium, le magnésium, le cuivre et le manganèse. Ces minéraux sont impliqués dans de nombreuses fonctions corporelles, y compris la régulation de la pression artérielle, la fonction musculaire et la formation des tissus conjonctifs.

Polyphénols: Les dattes contiennent une variété de polyphénols, y compris des flavonoïdes et des composés phénoliques. Ces antioxydants naturels aident à protéger les cellules contre les dommages des radicaux libres et ont des effets anti-inflammatoires et cardio-protecteurs.

Composés bioactifs: Les dattes renferment également des composés bioactifs tels que les caroténoïdes, les stérols végétaux et les triterpènes. Ces composés ont des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses potentielles (Bentrad et Hamida-Ferhat, 2020; El-Sohaimy et Hafez, 2010; Hussain et *al.*, 2020).

9.2. Composition du noyau de datte

Le noyau de datte, est la partie dure située à l'intérieur du fruit. Bien qu'il soit généralement considéré comme non comestible en raison de sa texture dure et de sa composition, le noyau de datte renferme néanmoins une variété de composants biochimiques bénéfiques. Il est riche en fibres, antioxydants, acides gras, et minéraux tels que le calcium, le fer, et le magnésium, ce qui en fait un matériau d'intérêt pour diverses applications, notamment dans le domaine de la nutrition et de la médecine. Il convient de noter que la forme et la taille du noyau de datte peuvent varier considérablement en fonction de la variété de datte, ce qui influence aussi sa composition chimique. Par exemple, les noyaux de dattes provenant de différentes régions ou types de dattes, comme les variétés Medjool, Deglet Noor, ou Sukkari, présentent des caractéristiques distinctes (Figure 08). Ces variations sont essentielles à considérer lors de l'exploitation de ces noyaux pour des applications industrielles ou pharmaceutiques (Ibrahim et *al.*, 2024; Mubaiwa et *al.*, 2024; Sassi et *al.*, 2020).



Figure 08: Noyaux des dattes de différents cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). (a) Arechti, (b) Degla-Baida, (c) Deglet-Nour, (d) *Ghars*, (e) Haloua, (f) Itima, (g) Mech-Degla, (h) Tentbouchet (Harkat et *al.*, 2022).

Le noyau de datte contient également certains composants biochimiques. Un aperçu de la composition du noyau de datte :

Fibres: Le noyau de datte est riche en fibres alimentaires, principalement sous forme de cellulose et d'hémicellulose. Les fibres contribuent à la santé digestive en favorisant le transit intestinal et en prévenant la constipation (Hussain et *al.*, 2020; Mahomoodally et *al.*, 2024).

Lipides: Le noyau de datte contient une petite quantité de matières grasses, principalement des acides gras insaturés tels que l'acide oléique. Les acides gras insaturés sont bénéfiques pour la santé cardiovasculaire (Hussain et *al.*, 2020).

Protéines: Le noyau de datte contient également des protéines, bien que leur teneur soit relativement faible. Les protéines sont essentielles pour la croissance et la réparation des tissus (Hussain et *al.*, 2020; Mahomoodally et *al.*, 2024).

Minéraux: Le noyau de datte renferme une variété de minéraux essentiels tels que le calcium, le magnésium, le potassium et le phosphore, bien que leurs concentrations soient généralement inférieures à celles observées dans la pulpe du fruit. Ces minéraux jouent un rôle crucial dans plusieurs fonctions biologiques et peuvent avoir des applications potentielles dans la formulation de compléments alimentaires ou d'autres produits pharmaceutiques. Par exemple, le calcium est essentiel pour la santé osseuse, le magnésium participe à des centaines de processus enzymatiques, et le potassium est crucial pour la régulation de l'équilibre hydrique et la fonction cardiaque.

En raison de la variation des conditions de culture et des méthodes de traitement, les concentrations de ces minéraux peuvent varier d'une variété de dattes à l'autre, ainsi que selon le processus d'extraction utilisé pour obtenir le noyau. Voici le tableau 04 illustrant les concentrations moyennes de certains minéraux dans le noyau de dattes, comparées à celles de la pulpe, selon diverses études scientifiques :

Tableau 04: Comparaison de la composition minérale entre le noyau de dattes et la pulpe (mg/100g) selon les études scientifiques (Al-Farsi et Lee, 2008; Tafti et *al.*, 2017).

Minéral	Concentration dans le noyau de dattes (mg/100g)	Concentration dans la pulpe de dattes (mg/100g)
Calcium (Ca)	66. 00	64. 00
Magnésium (Mg)	55. 00	54. 00
Potassium (K)	474. 00	696. 00
Phosphore (P)	120. 00	82. 00

Ces valeurs varient selon les variétés et les méthodes d'analyse. Bien que les minéraux présents dans le noyau de dattes soient moins abondants que dans la pulpe, leur profil nutritionnel reste intéressant et justifie des recherches supplémentaires pour évaluer leur potentiel dans la nutrition et la médecine.

Composés phénoliques: Le noyau de dattes contient des composés phénoliques, tels que les tanins et les flavonoïdes. Ces composés ont des propriétés antioxydantes et peuvent contribuer à la protection contre les dommages causés par les radicaux libres (ATTALLAH et *al.*, 2022; Attia et *al.*, 2021; Benakli, 2021; Benmohamed et *al.*, 2020).

10. Utilisation de dattes

10.1. Usage médicinal des dattes

Les dattes ont été utilisées à des fins médicales depuis des siècles dans de nombreuses cultures (Akbar, 2020). Quelques utilisations médicales potentielles de dattes :

Source d'énergie: Les dattes sont riches en glucides naturels, tels que le glucose et le fructose, ce qui en fait une excellente source d'énergie rapide. Elles peuvent être consommées pour augmenter les niveaux d'énergie et l'endurance.

Constipation: Les dattes sont riches en fibres alimentaires, ce qui peut aider à prévenir et à traiter la constipation en favorisant le transit intestinal et en améliorant la régularité des selles.

Santé cardiaque: Les dattes contiennent des antioxydants, notamment des flavonoïdes et des composés phénoliques, qui peuvent aider à réduire l'inflammation et à protéger le système cardiovasculaire contre les dommages oxydatifs.

Contrôle de la glycémie: Malgré leur teneur en sucre, les dattes ont un indice glycémique relativement faible, ce qui signifie qu'elles ne provoquent pas de pic rapide de la glycémie. Cependant, les personnes atteintes de diabète devraient les consommer avec modération et surveiller leur glycémie.

Anémie: Les dattes sont une bonne source de fer, un minéral essentiel dans la production de globules rouges. Elles peuvent être bénéfiques pour les personnes souffrant d'anémie ferriprive.

Santé digestive: Les fibres présentes dans les dattes peuvent favoriser la santé digestive en améliorant la régularité intestinale et en soutenant la croissance de bactéries bénéfiques dans le côlon.

Santé osseuse: Les dattes contiennent des minéraux tels que le calcium, le magnésium et le potassium, qui sont importants pour la santé osseuse. Ils peuvent contribuer à renforcer les os et à prévenir les maladies osseuses telles que l'ostéoporose (Siddiqi et *al.*, 2020; D'ORLÉANS-TOURS, 2021; Sedighi-Khavidak et *al.*, 2022).

10.2. Valeur nutritionnelle de datte

Les dattes sont un fruit très nutritif, riche en glucides, en fibres alimentaires, en protéines ainsi qu'en diverses vitamines et minéraux. Elles sont particulièrement riches en fructose et en glucose, ce qui en fait une bonne source d'énergie. Les dattes contiennent également une gamme de composés bioactifs aux propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-inflammatoires et protectrices du foie. Ces propriétés font de dattes un ajout précieux à l'alimentation, avec des applications potentielles dans les barres énergétiques pour les athlètes (Aljaloud et *al.*, 2020; Ayad et *al.*, 2020).

CHAPITRE II

Nanoparticules

1. Généralité sur les nanoparticules

Les nanoparticules sont définies comme des particules colloïdales solides dont la taille est comprise entre 10 et 1000 nm (McNamara et Tofail, 2017; Nagal et Singlab, 2013; Suganeswari et *al.*, 2011). Elles sont utilisées dans une multitude d'applications biomédicales, notamment la délivrance ciblée de médicaments, l'hyperthermie, la thérapie par photoablation, l'imagerie biologique et les biocapteurs (McNamara et Tofail, 2017). Les propriétés uniques des nanoparticules, telles que leur rapport surface / volume élevé et leurs propriétés magnétiques, les rendent particulièrement utiles dans ces applications.

Les nanoparticules possèdent un large éventail d'applications, notamment dans les dispositifs électroniques (Matsui, 2005), les systèmes de délivrance de médicaments (Kammari et *al.*, 2017) et les matériaux industriels (Anselmann, 2001). Ces applications sont rendues possibles par les propriétés uniques des nanoparticules, comme leur petite taille et leur grande surface spécifique, qui peuvent être ajustées pour des usages spécifiques. Le potentiel des nanomatériaux dans divers domaines, y compris la défense nationale, l'électronique et la médecine, est également souligné (Sui, 2023).

La synthèse de nanoparticules, notamment par des méthodes chimiques, pose des risques environnementaux importants en raison de l'utilisation de produits chimiques dangereux comme les métaux lourds et les solvants organiques, et de leurs impacts secondaires potentiels sur la santé humaine et l'environnement (Vishwakarma et *al.*, 2010). Cependant, des approches durables et respectueuses de l'environnement, telles que la synthèse microbienne utilisant des bactéries ou des champignons et la synthèse verte utilisant des extraits de plantes, ont été développées pour répondre à ces préoccupations (Saravanan et *al.*, 2021; Wang et *al.*, 2019). Ces méthodes utilisent des matériaux verts renouvelables et consomment moins d'énergie, réduisant ainsi l'empreinte environnementale de la synthèse de nanoparticules. Malgré les implications écologiques potentielles de la nanotechnologie environnementale, (Patil et *al.*, 2016) l'utilisation de nanomatériaux pour la dépollution de l'eau et des sols a été efficace, et le développement de voies innovantes et plus vertes pour la synthèse de nanoparticules est recommandé pour minimiser les risques potentiels (Patil et *al.*, 2016).

Les extraits de plantes ont été utilisés avec succès pour synthétiser des nanoparticules métalliques, notamment l'argent et l'or, en raison de la présence de divers métabolites végétaux solubles dans l'eau (Mittal et *al.*, 2013). Ces nanoparticules se sont révélées avoir des propriétés supérieures pour diverses applications, et leur synthèse à l'aide d'extraits de plantes est considérée

comme une alternative plus respectueuse de l'environnement aux méthodes conventionnelles (Ikram, 2015). L'utilisation d'extraits de feuilles de thé de *Camellia sinensis* a spécifiquement été rapportée dans la synthèse de nanoparticules d'argent (Loo et *al.*, 2012). Les applications potentielles de ces nanoparticules dans différents domaines ont été mises en évidence, soulignant davantage l'importance de leur synthèse à l'aide d'extraits de plantes (Haleemkhan et *al.*, 2015).

2. Fondements théoriques

2.1. Nanoparticules: définition et propriétés

Les nanoparticules, avec leurs propriétés physiques et chimiques uniques, ont une vaste gamme d'applications dans divers domaines. Leur taille, leur forme et leur structure jouent un rôle important dans la détermination de leurs propriétés et de leurs utilisations potentielles (Afolalu et *al.*, 2021; Khan et *al.*, 2019; V. Singh et *al.*, 2021).

Par exemple, les nanoparticules inorganiques allongées présentent des propriétés physiques différentes de celles des particules sphériques (Krahne et *al.*, 2011). Ces propriétés, notamment une grande surface spécifique, une réactivité élevée et des propriétés optiques, rendent les nanoparticules adaptées à des applications en catalyse, imagerie, médecine et recherche environnementale (Khan et *al.*, 2019; V. Singh et *al.*, 2021). Cependant, la stabilité de certaines nanoparticules de métaux lourds peut entraîner des toxicités environnementales (Khan et *al.*, 2019). Malgré ces défis, le potentiel des nanoparticules dans divers domaines est immense, et la recherche continue d'explorer leurs applications (V. Singh et *al.*, 2021).

2.2. Synthèse chimique traditionnelle vs synthèse verte

la synthèse verte des nanoparticules utilise des matériaux naturels et non toxiques, réduit la consommation d'énergie, minimise les déchets et favorise des pratiques respectueuses de l'environnement (Singh et *al.*, 2018). Elle est également plus rentable et peut être facilement adaptée à une production de masse. Par contraste, la synthèse chimique traditionnelle implique l'utilisation de produits chimiques dangereux, une consommation élevée d'énergie (Figure 09) (Tableau 05), la génération de déchets toxiques et peut présenter des risques pour la santé et la sécurité (Huston et *al.*, 2021).

Tableau 05: Quelques différences entre la synthèse chimique traditionnelle et la synthèse verte des nanoparticules.

Aspect	Synthèse chimique traditionnelle	Synthèse verte
Produits chimiques	Produits chimiques dangereux	Matériaux naturels, non toxiques (Huston et al., 2021)
Consommation d'énergie	Élevée	Réduite (Huston et al., 2021)
Impact environnemental	Pollution, déchets toxiques	Minimisation des déchets, pratiques respectueuses de l'environnement (Singh et al., 2018)
Rentabilité Scalabilité	Coûteuse Défis à grande échelle	Abordable (Huston et al., 2021) Adaptée à la production de masse (Paliwal et al., 2014; Wegner et al., 2011)
Santé et sécurité	Risques potentiels pour la santé et la sécurité	Utilisation de matériaux non toxiques, processus respectueux de l'environnement (Anastas et al., 2000; Singh et al., 2018)

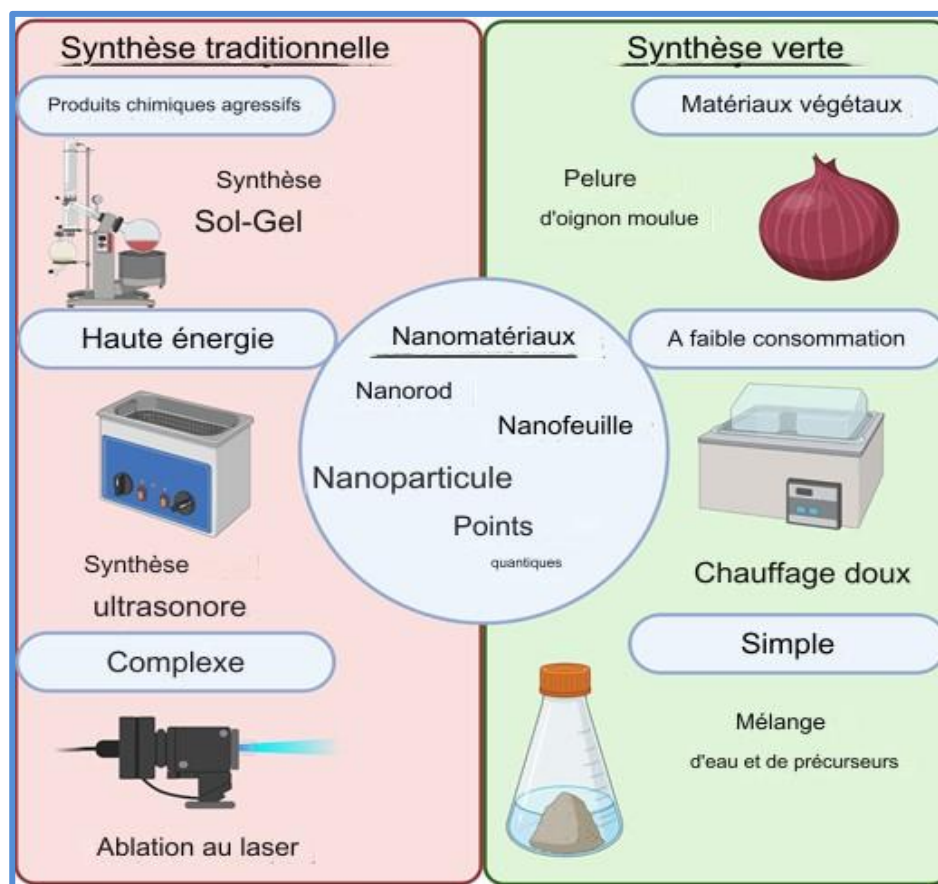


Figure 09: Quelques différences entre la synthèse chimique traditionnelle et la synthèse verte des nanoparticules (Huston et al., 2021).

2.3. Avantages de la synthèse verte des nanoparticules à partir d'extraits de plantes

- **Une toxicité réduite:** Les produits chimiques utilisés dans les méthodes de synthèse traditionnelles peuvent être toxiques pour l'environnement et les humains. Les extraits de plantes, en revanche, sont généralement considérés comme sûrs et non toxiques.
- **Des coûts de production plus faibles:** Les extraits de plantes sont généralement moins coûteux que les produits chimiques synthétiques. Cela rend la synthèse verte des nanoparticules plus rentable.
- **Des propriétés améliorées:** Les nanoparticules synthétisées à partir d'extraits de plantes peuvent avoir des propriétés améliorées, telles que des propriétés antimicrobiennes et antivirales plus élevées (Dehghani et *al.*, 2023; Sanjivkumar et Silambarasan, 2023).

Les nanoparticules synthétisées à partir d'extraits de plantes ont un potentiel d'applications en agriculture. Elles peuvent être utilisées comme :

- **Agents antimicrobiens:** Les nanoparticules peuvent être utilisées pour tuer les bactéries, les champignons et les virus qui infectent les plantes. Cela peut contribuer à améliorer la santé des plantes et à réduire les pertes de rendement.
- **Engrais nano-environnementaux:** Les nanoparticules peuvent être utilisées pour libérer lentement les nutriments dans le sol, ce qui peut améliorer l'efficacité des engrais et réduire les risques de pollution (Babatunde et *al.*, 2019; Malukani et *al.*, 2021).

2.4. Inconvénients de la synthèse verte des nanoparticules à partir d'extraits de plantes

- **Potential pour des effets néfastes sur les plantes et les sols**

Cependant, il est important de noter que la synthèse de nanoparticules à partir d'extraits de plantes peut également présenter des inconvénients. Par exemple, une revue de Parveen et *al.*, en 2016 a souligné que l'utilisation de nanoparticules dans l'agriculture pourrait entraîner des effets néfastes sur les plantes et les sols. Des études supplémentaires (Parveen et *al.*, 2016) sont nécessaires pour évaluer les effets à long terme de l'utilisation de nanoparticules vertes sur l'environnement et la santé des plantes (Parveen et *al.*, 2016).

En conclusion, la synthèse verte de nanoparticules à partir d'extraits de plantes présente de nombreux avantages, tels que la réduction de la toxicité et des coûts de production, ainsi que des propriétés antimicrobiennes et antivirales améliorées. Cependant, il est essentiel de continuer à mener des recherches pour évaluer les effets potentiels sur l'environnement et la santé des plantes afin de garantir une utilisation sûre et durable de ces nanoparticules en agriculture.

2.5. Principe de biosynthèse des nanoparticules par les extraits de plantes

La biosynthèse de nanoparticules à partir d'extraits de plantes est une méthode respectueuse de l'environnement pour produire des nanoparticules. Les composés bioactifs présents dans les plantes agissent comme agents réducteurs et stabilisants. Cette méthode fournit une variété de sources végétales et permet de contrôler la taille et les propriétés des nanoparticules. Les applications potentielles incluent la médecine, la catalyse et l'électronique.

Les recherches en cours visent à explorer davantage les mécanismes de biosynthèse et les applications de ces nanoparticules d'origine végétale (Adeyemi et *al.*, 2022). Parmi eux:

2.5.1. Méthode de réduction

- Les extraits de plantes contiennent des phytochimiques tels que des alcaloïdes, des terpénoïdes et des composés phénoliques agissant en tant qu'agents réducteurs.
- Des ions métalliques (par exemple, argent, or, cuivre) sont ajoutés à la solution d'extrait et les phytochimiques les réduisent en nanoparticules.
- Cette méthode est simple, économique et offre un contrôle précis de la taille et de la forme des particules (Ishak et *al.*, 2019; Koduru et *al.*, 2018).

2.5.2. Méthode de complexation

- Certains phytochimiques des extraits de plantes peuvent se lier aux ions métalliques, formant des nanoparticules par complexation.
- Cette méthode donne souvent des nanoparticules stables avec des propriétés souhaitables telles que l'activité catalytique ou les effets antimicrobiens. Cependant, contrôler la taille et la morphologie des particules peut être difficile (Nasrollahzadeh et *al.*, 2020; Nguyen et *al.*, 2023).

2.5.3. Synthèse de nanoparticules inspirée

- Les scientifiques étudient les biomolécules de l'extrait de plante impliquées dans la formation naturelle de nanoparticules.
- Ces connaissances inspirent la conception de mimétiques synthétiques de ces biomolécules pour une synthèse contrôlée des nanoparticules. Cela offre un meilleur contrôle des propriétés des particules mais peut être plus complexe et moins durable (Ahmad et *al.*, 2020; Ahmed et *al.*, 2016; Johnson et *al.*, 2022).

2.5.4. Synthèse médiée par un solvant vert

- Les méthodes traditionnelles utilisent souvent des solvants dangereux.
- De nouvelles approches utilisent des solvants écologiques tels que l'eau, l'éthanol ou les liquides ioniques.
- Cela améliore la durabilité et l'écologie du processus.

Exemples spécifiques de synthèse de nanoparticules médiées par des extraits de plantes :

- Nanoparticules d'argent: Synthétisées à l'aide d'extraits de neem, basilic, aloevera, etc., avec une forte activité antimicrobienne (Murugan et *al.*, 2014).
- Nanoparticules d'or: Produites à partir d'extraits de luzerne, de feuilles de thé, etc., avec des applications en biomédecine et en catalyse (Rónavári et *al.*, 2021).
- Nanoparticules d'oxyde de fer: Générées à l'aide d'extraits d'épinards, de raisins, etc., pour une utilisation dans le traitement des eaux usées et la délivrance de médicaments (Naikoo et *al.*, 2021; Vanlalveni et *al.*, 2021).

2.6. Facteurs influençant la biosynthèse des nanoparticules

The biosynthesis of nanoparticles is influenced by various factors, including the plant species utilized, the method of extract preparation, temperature, pH, metal ion concentration, and stabilizing agents (Lade et Shanware, 2020; Tripathy et *al.*, 2010; Vanaja et *al.*, 2013). Elle peut être résumée en plusieurs points dont les plus importants sont :

- Espèce végétale et partie utilisée (feuilles, racines, écorces).
- Méthode de préparation de l'extrait (macération, extraction Soxhlet, etc.).
- Température et pH de la réaction.
- Concentration des ions métalliques et de l'extrait de plante.
- Agents stabilisants supplémentaires, le cas échéant.

3. Mécanismes de biosynthèse des nanoparticules par les extraits de plantes

La synthèse verte de nanoparticules utilisant des extraits de plantes a connu un engouement important ces dernières années (Anetalakshmi, 2021; Md Ishak et *al.*, 2019; Nete et *al.*, 2020; Sohal et *al.*, 2017). Cette approche est considérée comme respectueuse de l'environnement, rentable et exempte de produits chimiques dangereux, ce qui en fait une alternative prometteuse aux méthodes de synthèse traditionnelles.

3.1. Rôle des composés phytochimiques dans la réduction et la stabilisation des nanoparticules

Les phytochimiques, des composés bioactifs trouvés dans diverses plantes, sont de plus en plus reconnus pour leur rôle essentiel dans la synthèse des nanoparticules. Ces composés naturels peuvent remplir deux fonctions pendant le processus de synthèse des nanoparticules: ils agissent comme des agents réducteurs qui donnent des électrons aux ions métalliques, conduisant à la formation de nanoparticules métalliques; et comme des agents d'enrobage qui se lient à la surface des nanoparticules, les stabilisant et empêchant leur agglomération (Ovais *et al.*, 2018).

Cette double fonctionnalité est cruciale car elle simplifie le processus de synthèse en combinant les étapes de réduction et de stabilisation, qui sont généralement séparées.

3.2. Étapes clés du mécanisme de synthèse verte des nanoparticules

La synthèse de nanoparticules vertes implique généralement l'utilisation de matériaux et de procédés respectueux de l'environnement qui réduisent l'utilisation de produits chimiques toxiques et d'énergie (Rana A *et al.*, 2020). Les étapes clés du mécanisme de synthèse verte des nanoparticules peuvent être décomposées de manière systématique.

3.2.1. Sélection du Milieu Solvant

- Solvants Respectueux: de l'Environnement: L'eau est souvent choisie comme solvant pour la synthèse verte en raison de sa nature non toxique et respectueuse de l'environnement.
- Milieux Biologiques: Les extraits de plantes ou de micro-organismes peuvent également servir de solvants et d'agents réducteurs (Rana *et al.*, 2020).

3.2.2. Choix des Agents Réducteurs Écologiques

- Extraits de Plantes: Des composés tels que les flavonoïdes, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les acides phénoliques présents dans les extraits de plantes peuvent agir comme agents réducteurs.
- Sources Microbiennes: Les bactéries, les champignons et les algues produisent des biomolécules qui peuvent réduire les ions métalliques en nanoparticules (El-Seedi *et al.*, 2019).

3.2.3. Sélection d'Agents de Stabilisation Non Toxiques

- Polysaccharides: Les polymères naturels tels que l'amidon ou la cellulose peuvent stabiliser les nanoparticules.
- Protéines et Peptides: Ces molécules biologiques peuvent se lier aux nanoparticules, assurant leur stabilité (Kuçük et *al.*, 2023).

3.2.4. Méthodologie de Synthèse

- Incubation: Combinaison des sels métalliques avec les extraits biologiques et permettre à la réaction de se dérouler, souvent à température ambiante.

Optimisation des Conditions: Ajustement du pH, de la température et du temps de réaction pour contrôler la taille et la forme des nanoparticules (BOULKOU MANE et MOUISSI; López-Mireta et *al.*, 2019).

3.2.5. Chemin Mécanistique

- Réactions de Réduction/Oxydation Les ions métalliques sont réduits par les molécules biologiques pour former des nanoparticules métalliques.
- Nucléation Formation initiale de petits amas d'atomes de métal réduits.
- Croissance Ces amas croissent par réduction supplémentaire des ions métalliques et attachement aux amas existants (Liu et Corma, 2020; Otto et *al.*, 2017).

3.2.6. Purification

- Lavage: Élimination des matériaux non réagis et des sous-produits pour purifier les nanoparticules. Centrifugation: Méthode courante pour séparer les nanoparticules du mélange réactionnel (Kowalczyk et *al.*, 2011; Tehrani et *al.*, 2023).

3.2.7. Caractérisation

- Spectroscopie UV-Visible: Pour déterminer les propriétés optiques.
- Diffusion de Lumière Dynamique (DLS): Pour mesurer la distribution des tailles.
- Microscopie Électronique en Transmission (TEM): Pour observer la morphologie.
- Diffraction des Rayons X (XRD): Pour déterminer la structure cristalline (Titus et *al.*, 2019; Wani et *al.*, 2010).

3.2.8.Évaluation de l'impact environnemental

- Études de Toxicité Évaluer le profil éco-toxicologique des nanoparticules synthétisées.
- Analyse du Cycle de Vie Évaluer l'impact environnemental tout au long du cycle de vie des nanoparticules (Miseljic et Olsen, 2014; Schulz, 2020).

3.2.9.Développement d'Applications

Selon le type de nanoparticule et l'application prévue, une fonctionnalisation ou un revêtement supplémentaire peut être nécessaire pour améliorer la compatibilité avec des applications spécifiques.

Chaque étape de ce mécanisme de synthèse est cruciale pour garantir que les nanoparticules produites sont non seulement fonctionnelles, mais aussi respectueuses de l'environnement. L'objectif global est de minimiser les risques potentiels pour l'environnement et la santé associés à la production et à l'utilisation des nanoparticules, en accord avec les principes de la chimie verte et de la durabilité (Claudel, 2018; Lahitte, 2017).

4. Propriétés et applications des nanoparticules stabilisées par phytochimiques

Les nanoparticules stabilisées par des phytochimiques se caractérisent par leur homogénéité exceptionnelle, ce qui se réfère à la taille et à la forme uniforme des particules, et leur stabilité à long terme, ce qui est crucial pour le stockage et les applications pratiques. Elles présentent également une haute dispersité, leur permettant de rester uniformément distribuées dans une solution, ce qui améliore leur réactivité et leur efficacité dans diverses applications. De plus, ces nanoparticules démontrent une biocompatibilité, ce qui signifie qu'elles conviennent à l'utilisation dans des systèmes biologiques sans provoquer de réponse immunitaire défavorable. En outre, elles possèdent une activité antioxydant, qui peut être exploitée dans des applications médicales pour des effets protecteurs contre le stress oxydatif (Lee et *al.*, 2011).

5. Techniques de caractérisation des nanoparticules synthétisées

Une gamme de techniques est disponible pour la caractérisation des nanoparticules, en mettant l'accent sur la taille, la charge de surface, la stabilité et la biocompatibilité. (Fornaguera et Solans, 2018)souligne l'importance de ces paramètres dans les études précliniques, et que (Anbu et *al.*, 2021)fournit un aperçu détaillé de la caractérisation des nanoparticules biogéniques, y compris l'analyse morphologique et structurale. (Domingos et *al.*, 2009)compare différentes techniques pour déterminer les tailles de particules, soulignant le manque d'une méthode idéale.

(Clogston et *al.*, 2016) aborde les défis et les limites de la caractérisation physico-chimique des nanoparticules polymères, notamment dans le contexte de l'évaluation de la biocompatibilité. Ces études soulignent collectivement la nécessité d'une approche globale pour la caractérisation des nanoparticules, en tenant compte à la fois des avantages et des limitations des techniques disponibles.

5.1. Spectrophotomètre UV-visible

Un spectrophotomètre UV-visible est un instrument analytique qui mesure l'absorbance et la transmission de la lumière ultraviolette (UV) et visible par un échantillon. Pour la caractérisation des nanoparticules, la spectroscopie UV-Vis fournit des informations précieuses sur leurs propriétés optiques, qui sont influencées par la taille, la forme, la concentration et la composition des nanoparticules (Martínez et *al.*, 2012).

Lorsque les nanoparticules sont soumises à la spectroscopie UV-Vis, elles présentent des spectres d'absorption uniques en raison de la résonance plasmonique de surface localisée (LSPR), un phénomène où les électrons de conduction à la surface des nanoparticules métalliques résonnent avec l'onde lumineuse. La longueur d'onde spécifique à laquelle cette résonance se produit, appelée pic plasmonique, est très sensible aux caractéristiques physiques des nanoparticules, telles que :

- **Taille:** Les nanoparticules plus petites montrent généralement une absorption à des longueurs d'onde plus courtes, tandis que les particules plus grosses absorbent à des longueurs d'onde plus longues. Le pic d'absorbance se déplace en conséquence, fournissant une méthode indirecte pour estimer la distribution des tailles de particules (Sherry et *al.*, 2006).
- **Forme:** La forme des nanoparticules affecte la distribution des électrons de surface et influence ainsi le pic de résonance plasmonique. Différentes formes, telles que des bâtonnets, des sphères ou des cubes, présenteront des caractéristiques d'absorption distinctives.
- **Concentration:** L'intensité du pic d'absorbance est proportionnelle à la concentration de nanoparticules dans la solution. En utilisant une courbe d'étalonnage avec des concentrations connues, on peut déterminer la concentration inconnue de nanoparticules dans un échantillon.
- **Composition:** Le matériau des nanoparticules affecte également la LSPR. Différents matériaux ont des propriétés diélectriques différentes, ce qui déplace la position du pic d'absorbance.

- **État d'agrégation:** Si les nanoparticules commencent à s'agréger, la position du pic se décale en raison des changements d'indice de réfraction local et des interactions électromagnétiques entre les particules.

En analysant le spectre d'absorption des nanoparticules, les chercheurs peuvent obtenir des informations critiques sur l'échantillon, ce qui est essentiel pour les applications de délivrance de médicaments, de thérapie photothermique et de développement de capteurs optiques. Il est également important de noter que bien que la spectroscopie UV-Vis fournisse des informations précieuses, elle est souvent utilisée en combinaison avec d'autres techniques de caractérisation (comme la diffusion dynamique de la lumière, la microscopie électronique et les mesures de potentiel zêta) pour obtenir une compréhension globale des propriétés des nanoparticules (Sherry *et al.*, 2006).

5.2. Microscopie électronique à balayage (SEM - Scanning Electron Microscopy)

La microscopie électronique à balayage (MEB), ou SEM (Scanning Electron Microscopy), est une technique puissante pour caractériser les nanoparticules. Elle permet d'obtenir des images à haute résolution de la surface des échantillons grâce à un faisceau d'électrons très fin qui balaye la surface et interagit avec les atomes de l'échantillon. Les interactions entre les électrons et les atomes génèrent divers signaux, y compris des électrons secondaires, des électrons rétrodiffusés et des rayons X caractéristiques, qui peuvent être détectés pour produire des images et des informations élémentaires (Kulkarni et Muddapur, 2014; Vijayaram *et al.*, 2023; Goldstein *et al.*, 2018).

En caractérisation de nanoparticules, la MEB peut révéler la morphologie, la taille, la distribution des tailles, la texture de surface, la composition chimique et la structure cristalline. Les images MEB permettent d'observer directement la forme des nanoparticules, ce qui est essentiel pour comprendre leurs propriétés physico-chimiques et biologiques. De plus, en utilisant l'analyse dispersive en énergie des rayons X (EDX) couplée à la MEB, on peut obtenir des informations sur la composition élémentaire des nanoparticules.

Il est important de noter que la préparation de l'échantillon pour la MEB est cruciale, car les nanoparticules doivent être fixées sur un support conducteur et être rendues conductrices si nécessaire (par exemple, par revêtement avec de l'or ou du carbone) pour éviter la charge des échantillons sous le faisceau d'électrons (Goldstein *et al.*, 2018; Kulkarni et Muddapur, 2014; Vijayaram *et al.*, 2023).

5.3. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR - Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique analytique couramment utilisée pour la caractérisation des nanoparticules. Elle permet d'obtenir des informations détaillées sur la composition chimique, la structure moléculaire et les liaisons fonctionnelles des nanoparticules.

La FTIR fonctionne en mesurant l'absorption de l'infrarouge par les nanoparticules. Lorsque des ondes infrarouges sont dirigées vers les échantillons, les molécules qui composent les nanoparticules absorbent spécifiquement certaines fréquences d'ondes infrarouges en raison de leurs vibrations moléculaires. Les spectres d'absorption obtenus révèlent des bandes caractéristiques qui sont associées à différents groupes fonctionnels présents dans les nanoparticules.

Grâce à la FTIR, il est possible de déterminer la présence de groupes fonctionnels tels que les groupes hydroxyle (-OH), les groupes amine (-NH₂), les groupes carbonyle (C=O), etc. Cela permet d'identifier les composants chimiques des nanoparticules, y compris les revêtements de surface, les ligands et les additifs (Suzuki et Buzzing, 2018; Chalmers et *al.*, 2012).

De plus, la FTIR peut être utilisée pour étudier les interactions entre les nanoparticules et d'autres molécules ou matériaux. Par exemple, elle peut être utilisée pour étudier les interactions nanoparticules-protéines, nanoparticules-polymères ou nanoparticules-matrices de médicaments. Ces études fournissent des informations essentielles sur la stabilité, la fonctionnalisation et les propriétés d'interaction des nanoparticules (Suzuki et Buzzing, 2018; Chalmers et *al.*, 2012).

Exemples d'applications de la FTIR pour la caractérisation des nanoparticules :

- **Identification des groupes fonctionnels à la surface des nanoparticules:** Les groupes fonctionnels jouent un rôle crucial dans la biocompatibilité, la stabilité et la réactivité des nanoparticules. La FTIR permet d'identifier ces groupes fonctionnels et de comprendre leur influence sur les propriétés des nanoparticules (Chalmers et *al.*, 2012).
- **Étude de l'interaction nanoparticule-biomolécule:** La FTIR peut être utilisée pour étudier l'interaction des nanoparticules avec des biomolécules telles que les protéines et l'ADN. Ces informations sont essentielles pour la conception de nanoparticules pour des applications biomédicales (Kumar et *al.*, 2023).

- **Suivi de la modification de surface des nanoparticules:** La FTIR peut être utilisée pour suivre les modifications chimiques apportées à la surface des nanoparticules. Ces modifications peuvent être utilisées pour améliorer la biocompatibilité, la stabilité ou la ciblage des nanoparticules (Alex et Mathew, 2023).

5.4. Diffraction des rayons X (XRD - X-Ray Diffraction)

La diffraction des rayons X (XRD) est une technique puissante et largement utilisée pour caractériser les matériaux à l'échelle nanométrique. Elle repose sur l'interférence constructive des ondes de rayonnement électromagnétique (les rayons X) avec les structures périodiques, comme les réseaux cristallins des matériaux. Lorsque les rayons X frappent un cristal, ils sont diffractés dans de nombreuses directions spécifiques. La mesure des angles et des intensités de ces rayons diffractés permet de déduire la structure cristalline du matériau (Jagodzinski, 1965; Pecharsky et Zavalij, 2003).

Pour les nanoparticules, la XRD est particulièrement utile car elle permet de déterminer non seulement la phase cristalline et la structure, mais aussi d'autres propriétés importantes telles que la taille des cristallites, la microdéformation et la présence de défauts ou de phases multiples. La taille des particules peut être estimée à partir de l'élargissement des pics de diffraction en utilisant la formule de Scherrer, et la déformation et les contraintes internes peuvent être évaluées à l'aide de diverses méthodes de raffinement des pics.

L'application de la XRD aux nanoparticules exige une interprétation minutieuse des données, car la réduction de la taille des particules et les effets de surface peuvent modifier les profils de diffraction. Les données de XRD pour les nanoparticules sont souvent analysées en conjonction avec d'autres techniques complémentaires, telles que la microscopie électronique à transmission (MET) ou la spectroscopie de dispersion d'énergie des rayons X (EDX), pour une caractérisation plus complète (Jagodzinski, 1965; Pecharsky et Zavalij, 2003).

5.5. Spectroscopie de dispersion d'énergie (EDS - Energy Dispersive Spectroscopy)

L'analyse par spectroscopie dispersive en énergie (EDS ou EDX) est une technique analytique couramment utilisée pour la caractérisation élémentaire des nanoparticules. EDS est une technique d'analyse élémentaire essentielle pour la caractérisation des nanoparticules. Elle permet de déterminer la composition élémentaire d'un échantillon en analysant les rayons X émis par les atomes lorsqu'ils sont bombardés par un faisceau d'électrons. En fournissant des informations précises sur les éléments présents et leur répartition spatiale, l'EDS joue un rôle clé

dans la compréhension des propriétés et du comportement des nanoparticules (Arshad et *al.*, 2023; Kolan et *al.*, 2024).

Cette méthode est souvent couplée à la microscopie électronique à balayage (MEB) ou à la microscopie électronique en transmission (MET) et permet d'obtenir la composition élémentaire de la surface ou de sections transversales de nanoparticules. Le principe de l'EDS repose sur la détection des rayons X émis par les atomes excités par un faisceau d'électrons, chaque élément ayant une signature énergétique unique qui permet son identification et sa quantification (Arshad et *al.*, 2023).

L'EDS est particulièrement utile pour l'étude des nanoparticules car elle permet une analyse localisée à l'échelle nanométrique (Loy et *al.*, 2023).

Essentielle pour comprendre les propriétés et les performances des matériaux à cette échelle. Les progrès récents dans la technologie des détecteurs et le traitement des données ont considérablement amélioré la résolution spatiale et la sensibilité de l'EDS, permettant des analyses plus précises et fiables des nanoparticules (Loy et *al.*, 2023).

- **Avantages de l'EDS pour la caractérisation des nanoparticules**

- **Localisation spatiale:** L'EDS peut analyser spécifiquement des zones très petites de l'échantillon grâce à la focalisation du faisceau d'électrons, permettant d'étudier l'hétérogénéité de la composition élémentaire des nanoparticules (Arshad et *al.*, 2023; Irshad et *al.*, 2023).

- **Détection d'éléments légers:** L'EDS est capable de détecter des éléments légers tels que le bore, le carbone et l'azote, ce qui est crucial pour la caractérisation de nombreux types de nanoparticules.

- **Rapidité et simplicité:** L'analyse EDS est rapide et ne nécessite pas de préparation complexe des échantillons.

- **Informations quantitatives:** L'EDS peut fournir des informations quantitatives sur la concentration des éléments présents dans l'échantillon.

- **Exemples d'applications de l'EDS pour la caractérisation des nanoparticules**

- **Identification de la composition élémentaire des nanoparticules:** L'EDS permet de déterminer les éléments constitutifs des nanoparticules et de vérifier la correspondance avec la composition prévue (Rajkumar et *al.*, 2024).

- **Étude de la structure hétérogène des nanoparticules:** L'EDS peut être utilisée pour identifier des variations de composition à l'intérieur d'une nanoparticule ou entre différentes nanoparticules dans un échantillon (Şengönül et Demircan, 2023).
- **Suivi de la modification de surface des nanoparticules:** L'EDS peut être utilisée pour suivre les modifications chimiques apportées à la surface des nanoparticules, telles que la greffage de molécules (Şengönül et Demircan, 2023).
- **Contrôle de la pureté des nanoparticules:** L'EDS permet de détecter la présence d'impuretés métalliques indésirables dans les nanoparticules (Meftah et *al.*, 2023).

6. Études de cas: Synthèse verte des nanoparticules

6.1. Synthèse verte des nanoparticules de ZnO, Mg et Ag par les extraits de plantes

La biosynthèse verte via des extraits de plantes est une méthode émergente et écologique pour la fabrication de nanoparticules métalliques et d'oxydes. Cette approche offre des avantages tels qu'une faible toxicité, une production durable et le contrôle de la taille et de la morphologie des particules. Les nanoparticules biosynthétisées de ZnO, Mg et Ag présentent des propriétés uniques et synergiques, ouvrant la voie à de nombreuses applications innovantes, de nombreuses études ont réussi à synthétiser des nanoparticules de ZnO, Mg et Ag à partir d'extraits de plantes, démontrant ainsi leur potentiel pour diverses applications.

6.1.1. Propriétés des nanoparticules de ZnO

- **Photocatalyse:** Les nanoparticules de ZnO biosynthétisées présentent une activité photocatalytique améliorée pour la décomposition des polluants organiques et la production d'hydrogène. Les extraits de plantes peuvent modifier la morphologie et la structure électronique du ZnO (Figure 10), optimisant son absorption de la lumière et son efficacité catalytique (Stan et *al.*, 2015).

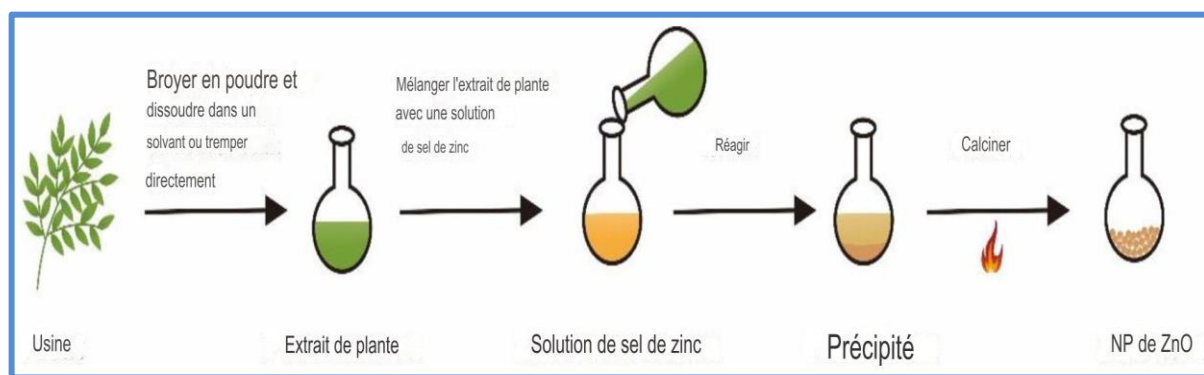


Figure 10: Processus de synthèse verte de ZnO NPs à partir d'extraits de plantes (Xu et *al.*, 2021).

- **Antibactérien:** Les nanoparticules de ZnO possèdent des propriétés antibactériennes intrinsèques, efficaces contre un large spectre (Kavitha et *al.*, 2023; Rocha et *al.*, 2023) de bactéries. La biosynthèse peut renforcer ces propriétés en modifiant la charge de surface et la libération d'ions Zn^{2+} . (Kavitha et *al.*, 2023; Rocha et *al.*, 2023).

6.1.2. Propriétés des nanoparticules de Mg

- **Biocompatibilité:** Le Mg est un métal biocompatible largement utilisé dans les implants médicaux et les dispositifs pharmaceutiques. Les nanoparticules de Mg biosynthétisées conservent cette propriété, tout en offrant une surface accrue pour l'interaction avec les biomolécules (Mohanasundaram et *al.*, 2023).

- **Hydrogénation:** Les nanoparticules de Mg catalysent efficacement la production d'hydrogène à partir de sources d'énergie renouvelables, telles que l'eau. La biosynthèse peut ajuster la taille et la distribution de défauts, améliorant leur activité catalytique (Lomonosov et *al.*, 2023).

6.1.3. Propriétés des nanoparticules de Ag

- **Antibactérien:** L'Ag est un métal connu pour ses propriétés antibactériennes puissantes. Les nanoparticules d'Ag biosynthétisées présentent une activité accrue due à leur surface élevée et à la libération contrôlée d'ions Ag^+ (Sorbiun et *al.*, 2018; Stan et *al.*, 2015).

- **Conductivité électrique:** Les nanoparticules d'Ag ont une conductivité électrique élevée, les rendant intéressantes pour des applications électroniques et optoélectroniques. La biosynthèse peut contrôler la forme et la taille des particules, influençant leur conductivité (Sorbiun et *al.*, 2018).

6.2. Les nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag

6.2.1. Propriétés du ZnO dopé Mg et Ag et de ses nanoparticules

Les nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag sont une nouvelle génération de nanomatériaux qui combinent les propriétés bénéfiques de trois matériaux couramment utilisés: le ZnO, le Mg et l'Ag. Le ZnO est un semi-conducteur avec des propriétés photocatalytiques, (Nabhan, 2021). Le Mg est un métal biocompatible et résistant à la corrosion. L'Ag est un métal avec des propriétés antibactériennes et conductrices élevées (Nabhan, 2021).

6.2.2. Mécanisme de biosynthèse spécifique au ZnO dopé Mg et Ag

Dans le cas des nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag, la biosynthèse peut être réalisée à l'aide d'extraits de plantes, de bactéries ou de champignons. Par exemple, une étude récente a utilisé un extrait de feuilles de basilic pour synthétiser des nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag de taille nanométrique et de forme sphérique. Les nanoparticules ont montré une activité antibactérienne élevée contre une variété de bactéries, y compris les bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

La synthèse de nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag peut être réalisée par diverses méthodes (Figure 11), telles que la co-précipitation, la synthèse sol-gel ou la réduction chimique. La composition, la taille, la morphologie et la surface des nanoparticules peuvent être contrôlées pour obtenir des propriétés spécifiques (Khanizadeh et *al.*, 2020; Adam et *al.*, 2020).

- **ZnO et Mg:** Le Mg dope le ZnO, modifiant sa structure électronique et améliorant ses propriétés photocatalytiques. Cela permet une meilleure absorption de la lumière et une efficacité accrue dans la dégradation des polluants organiques (Li et *al.*, 2021).

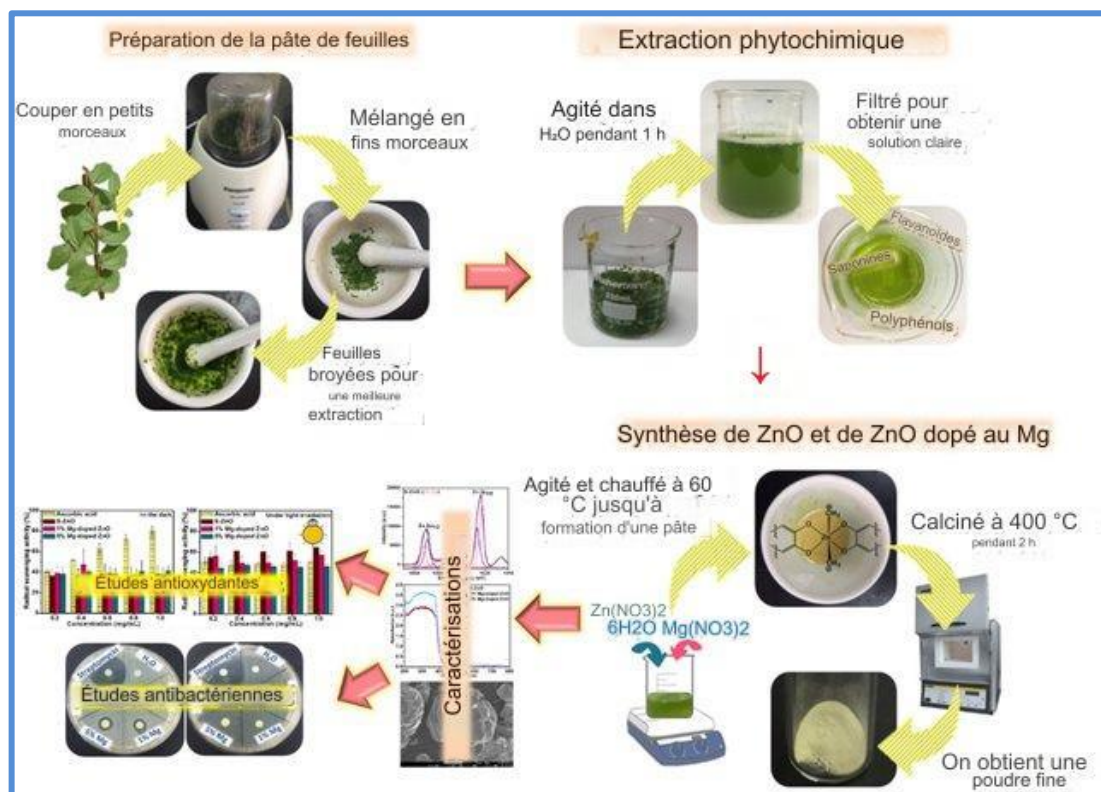


Figure 11: Méthode de préparation du ZnO synthétisé vert et du ZnO dopé au Mg (Rahman et *al.*, 2021).

- **ZnO et Ag:** L'Ag augmente la conductivité électrique du ZnO et optimise ses propriétés antibactériennes. La libération contrôlée d'ions Ag des nanoparticules permet un effet antimicrobien durable.

- **Mg et Ag:** Le Mg favorise la dispersion et la stabilité des nanoparticules d'Ag, empêchant leur agrégation et améliorant leur efficacité bactéricide (Li et *al.*, 2021; Gilday et *al.*, 2015; Zeinali Heris et *al.*, 2023; Matai et *al.*, 2014; Danial et *al.*, 2020).

6.2.3. Caractérisation des nanoparticules de ZnO dopées Mg et Ag synthétisées

Les nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag synthétisées par biosynthèse peuvent être caractérisées par divers techniques, telles que la microscopie électronique à balayage (MEB), (Senol et *al.*, 2020; Hui et *al.*, 2017).

la spectroscopie Raman et la spectroscopie photoélectronique à émission de champ (PES). Ces techniques permettent de déterminer la taille, la forme, la composition et la structure électronique des nanoparticules (Senol et *al.*, 2020; Hui et *al.*, 2017).

6.2.4. Applications potentielles des nanoparticules de ZnO dopées par le magnésium et l'argent

Les nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag ont un potentiel d'applications dans de nombreux domaines, notamment (Anguraj et *al.*, 2023; Rouabah et Boudine, 2020):

- **Catalyse:** Les nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag peuvent être utilisées pour la photocatalyse de la lumière visible, ce qui permet de décomposer les polluants organiques dans l'eau et l'air.
- **Antibactérien:** Les nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag ont une activité antibactérienne élevée, ce qui les rend prometteuses pour des applications telles que les revêtements antibactériens, les agents de désinfection et les médicaments.
- **Optique:** Les nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag présentent des propriétés optiques intéressantes, telles que la luminescence et la non-linéarité. Elles peuvent être utilisées pour fabriquer des matériaux photoniques, des capteurs et des dispositifs d'imagerie.

Les recherches sur les nanoparticules ZnO dopées Mg et Ag sont en cours pour développer de nouvelles applications de ces nanomatériaux prometteurs.

CHAPITRE III

Diabète

La première référence au diabète apparaît dans un papyrus égyptien datant d'environ 1500 av. J. -C. Le nom de diabète sucré – d'après le mot latin *mel*, signifiant « miel » – fut donné, à cause de la douceur de l'urine diabétique, par Thomas Willis, médecin britannique du XVIIe siècle. Il remarqua également que, bien que la maladie soit rare dans les temps anciens, sa fréquence augmentait. La cause du diabète resta inconnue jusqu'à la fin du XIXe siècle, lorsque Joseph vonMering et Édouard Hedon trouvèrent l'association entre diabète et pancréas (Wass J A. H et Stewart Paul M, 2016).

Le diabète sucré est un trouble métabolique chronique qui résulte d'une régulation défaillante de la glycémie. Cette pathologie constitue l'un des principaux défis de santé publique mondiale, affectant environ 537 millions d'adultes en 2021 (Figure 12), un chiffre qui devrait augmenter significativement d'ici 2045 (Magliano et Boyko, 2022)

Parmi les formes les plus répandues, le diabète de type 2 (DT2) est caractérisé par une résistance à l'insuline, un dysfonctionnement progressif des cellules bêta pancréatiques, et des altérations des voies métaboliques responsables de la régulation du glucose (Eizirik et *al.*, 2020).

La gestion thérapeutique du diabète a longtemps reposé sur des stratégies combinant des modifications du mode de vie, des antidiabétiques oraux, et des injections d'insuline. Cependant, les limites des traitements actuels, notamment leurs effets secondaires et leur efficacité variable, ont conduit à un intérêt croissant pour les alternatives naturelles et les approches innovantes telles que la nanotechnologie appliquée au domaine biomédical (Annicchiarico et *al.*, 2024; Khursheed et *al.*, 2019).

3. Définition et pathogenèse du diabète

En 1999, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a défini le terme diabète sucré comme « un trouble métabolique d'étiologie multiple caractérisé par une hyperglycémie chronique avec des perturbations du métabolisme des glucides, des graisses et des protéines résultant de défauts dans la sécrétion d'insuline, l'action de l'insuline, ou les deux » (WHO, 1999). L'insuline est une hormone produite dans les cellules des îlots de Langerhans du pancréas qui est responsable – avec une autre hormone produite par les cellules α du pancréas, le glucagon – de la régulation de la glycémie (WassJohn A. H et Paul M, 2016). Des taux élevés de glucose dans le sang induisent la libération d'insuline qui active, via des récepteurs spécifiques dans les muscles, le tissu adipeux et le foie, l'absorption des glucides, en particulier du glucose (Dured D, 2021)

Deux principales voies pathogènes du diabète conduisent à l'hyperglycémie chronique:

- La destruction des cellules β et l'absence de production d'insuline;
- Une action insuffisante de l'insuline due à une altération de la sécrétion d'insuline et/ou à des défauts d'action de l'insuline.

Les niveaux élevés continus de glucose dans le sang endommagent différents organes, tels que les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (Dured D, 2021).

4. Le prédiabète

Le prédiabète ou intolérance au glucose, correspond à une hyperglycémie modérée, c'est-à-dire n'atteignant pas le seuil diagnostique de diabète, mais associée à une augmentation du risque d'évolution vers le diabète de type 2. (Arra, 2023; Eizirik et *al.*, 2020). Il est défini, selon les critères proposés en 2006 par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) par:

- ✓ Une hyperglycémie modérée à jeun: glycémie entre 1,10 g/l (6,1 mmol/l) et 1,25 g/l (6,9 mmol/l) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises.
- ✓ Et/ou une intolérance au glucose: glycémie (sur plasma veineux) comprise entre 1,4 g/l (7,8 mmol/l) et 1,99 g/l (11,0 mmol/l) 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose.
- ✓ Une hémoglobine glycosylée (HbA1c) comprise entre 6.0 % et 6.4 % (WHO, 2016).

5. Types de diabète

L'OMS a classé le diabète en cinq catégories cliniques

5.1. Le diabète de type 1

l'organisme ne produit plus assez d'insuline c'est le diabète insulino-dépendant (DID) (Punthakee Z *et al.*, 2018).

5.1.1. Le diabète de type 1 (DT1)

peut être détecté bien avant que la sécrétion anormale d'insuline ne commence, avec un déclin constant commençant au moins deux ans avant le diagnostic (El Sayed N. A *et al.*, 2023). Autour du même moment, il y a un déclin de la sensibilité des cellules β au glucose. À mesure que la première réponse à l'insuline diminue, la dernière réponse à l'insuline augmente, indiquant potentiellement un mécanisme de compensation.

Au début de la phase post-diagnostic, le déclin de la réactivité à l'insuline s'accélère. Dans les premières années après le diagnostic, un déclin biphasique de la sécrétion d'insuline a été observé, la première année étant plus marquée que la deuxième. Une fois le diagnostic posé, la diminution de la sécrétion d'insuline peut se poursuivre pendant des années, laissant éventuellement peu ou pas de production d'insuline. Des niveaux de glucose plus élevés sont un signe de DT1 même lorsqu'ils sont dans la plage normale. Lorsque le DT1 se développe, il existe des variations significatives de glucose (Kahanovitz L *et al.*, 2017).

Est dû à la destruction des cellules β , conduisant généralement à une carence absolue en insuline. Habituellement, la destruction des cellules β est un processus à médiation immunitaire (identifié comme type 1A), mais un petit groupe de cas présente une forme idiopathique de la maladie (identifiée comme type 1B) (Raverot G, 2005).

Il peut être possible d'anticiper plus précisément le développement du diabète chez les personnes à risque en utilisant des marqueurs métaboliques, tels que la dysglycémie. L'altération des niveaux de glucose et de C-peptide peut être utilisée dans les évaluations de risque pour améliorer encore les prédictions (Kahanovitz L *et al.*, 2017).

Les caractéristiques cliniques classiques des cas de type 1 sont: début brutal à un jeune âge – avant 35 ans –, indice de masse corporelle (IMC) normal, utilisation d'insuline dans les 12 mois suivant le diagnostic et risque élevé d'acidocétose diabétique. Cette forme de diabète représente 5 à 10 % des cas de diabète (Raverot G, 2005).

5.1.2. DT1 idiopathique

Une variante rare du DT1 a été signalée et est connue sous le nom de "diabète idiopathique", qui n'est pas causée par l'auto-immunité et qui est moins grave que le DT1 auto-immun. Les personnes atteintes de diabète idiopathique peuvent connaître une cétose épisodique ainsi qu'une insuffisance en insuline. Cette variante est plus courante chez les individus d'origine asiatique ou africaine (Merger S *et al.*, 2013).

5.1.3. DT1 fulminant

Il s'agit d'un type unique de DT1 identifié pour la première fois en 2000. Il partage certaines caractéristiques avec le DT1 idiopathique, notamment le fait de ne pas être immuno-médiatisé (Imagawa A *et* Hanafusa T. J, 2006) La céto-acidose survient peu de temps après le début de l'hyperglycémie, et les niveaux de C-peptide sérique, qui sont un marqueur de la libération endogène d'insuline, sont indétectables tandis que les niveaux de glucose dans le sang sont élevés (288 mg/dL).

Environ 20 % des Japonais atteints de DT1 à début aigu (5000 à 7000 cas) ont cette condition, qui a été principalement caractérisée dans les nations d'Asie de l'Est. Cela provoque une mort très rapide et pratiquement complète des cellules β , laissant presque aucune production d'insuline résiduelle. Cette condition est principalement attribuée à des causes environnementales et héréditaires.

À travers une réponse immunitaire accrue sans formation discernable d'autoanticorps attaquant les cellules β du pancréas, une réponse immunitaire antivirale peut provoquer la perte des cellules β du pancréas. Il y a également eu des rapports sur ce type de diabète et la grossesse (Imagawa A *et* Hanafusa T. J; 2011).

5.2. Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 diffère beaucoup du type 1 en termes de caractéristiques cliniques, car l'apparition de la maladie est lente et généralement à un âge plus avancé (Bait S, 2023).

l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline produite; c'est le diabète non insulino-dépendant (DNID) (Punthakee Z *et al.*, 2018).

Un élément clé de la pathogenèse du diabète de type 2 (DT2) Est dû à un dysfonctionnement des cellules entraînant une perte progressive de la sécrétion d'insuline sur fond de résistance à l'insuline. (Galicia-Garcia U *et al.*, 2020). La sécrétion d'insuline varie considérablement en réponse à la sensibilité à l'insuline pour maintenir des niveaux de glucose adéquats.

L'indice de disposition est une mesure de la relation curviligne entre la sensibilité à l'insuline et la sécrétion d'insuline. De plus, les patients diabétiques de type 2 ont un faible indice de disposition; par conséquent, ils ne peuvent pas augmenter de manière appropriée leur production d'insuline pour lutter contre la résistance à l'insuline. Même lorsque les niveaux absolus d'insuline chez les patients atteints de DT2 obèses résistants à l'insuline sont plus élevés que chez les sujets témoins maigres sensibles à l'insuline, les niveaux sont toujours trop bas compte tenu de la gravité de leur résistance à l'insuline. (Dufurrena Q *et al.*, 2017)

La production d'insuline (première phase) est significativement réduite ou éliminée en raison de la stimulation par le glucose. Les patients atteints de DT2 ont un rapport élevé de proinsuline à insuline (C-peptide). La production maximale d'insuline et la potentialisation de l'hyperglycémie des réponses à l'insuline aux stimuli non glucosiques sont considérablement diminuées (Dufurrena Q *et al.*, 2017). L'hyperglycémie tend à s'aggraver et à devenir plus difficile à guérir au fil du temps. Le déclin continu de la fonction des cellules β est une autre caractéristique de la progression du DT2 (Wysham C *et Shubrook J. J. P. M*, 2020).

La plupart des cas sont en surpoids ou obèses. Ils sont moins susceptibles de nécessiter un traitement à l'insuline dans les 12 mois suivant le diagnostic, et ne présentent généralement pas d'acidocétose. Il représente entre 90 et 95 % des cas de diabète 3 (Bait S, 2023).

5.3. Le diabète gestationnel

Est un type de diabète diagnostiqué pendant la grossesse, généralement au cours du deuxième ou du troisième trimestre, chez les femmes qui n'avaient pas déjà reçu de diagnostic de diabète (Bait S, 2023).

L'hyperglycémie liée à la grossesse augmente le risque de mauvais résultats pour la mère, le fœtus et le nouveau-né (Geurtsen M. *Let al.*, 2019). Ce risque est présent que l'hyperglycémie adopte la forme du DT2 diagnostiquée avant ou pendant la grossesse. Les nouveau-nés nés de mères atteintes de diabète gestationnel présentent un risque accru de développer un diabète à l'âge adulte (Hollander M. *Het al.*, 2007).

L'incidence accrue de complications liées à la grossesse, telles que la naissance prématurée, les naissances de gros bébés pour l'âge gestationnel, la macrosomie (poids de naissance > 4.5 kg), l'accouchement par césarienne et la prééclampsie, est principalement due à l'hyperglycémie pendant la grossesse, qui conduit à des nouveau-nés de plus grande taille. Le diabète gestationnel peut être influencé par plusieurs facteurs de risque, tels que les antécédents familiaux de la maladie, l'obésité, l'âge maternel avancé, le syndrome des ovaires polykystiques, le mode de vie sédentaire et l'exposition aux polluants environnementaux (Plows J. F et *al.*, 2018).

L'identification du diabète gestationnel repose sur des critères spécifiques, qui impliquent l'évaluation des taux de glycémie à jeun, des taux de glycémie après une charge de glucose oral de 75 g et d'autres paramètres pertinents, comme mentionné précédemment (Chukwunyere C. Fet *al.*, 2020.).

5.4. Autres formes spécifiques du diabète

Dus à d'autres maladies non incluses dans les trois catégories précédentes sont regroupés dans cette catégorie

- Les MODY :

Le diabète de la maturité chez les jeunes (MODY) survient de façon précoce, avant l'âge de 40ans. Il est caractérisé par une altération de la sécrétion insulinaire et par une absence de trouble de la sensibilité à l'insuline. il est d'origine génétique, transmis de manière autosomique dominante (Timsit J et *al.*, 2016).

- Diabète des pancréatopathies :

Toutes les pathologies qui atteignent le pancréas de manière diffuse peuvent conduire à un diabète. Ce sont: pancréatite chronique, cancer du pancréas, pancréatectomie et traumatismes du pancréas, mucoviscidose, hémochromatose, diabète fibrocalculeux (Elsevier M, 2019). Mariko retrouvait une prévalence de 6.52 % de diabète secondaire à une pancréatopathie (Mariko S, 2012).

- Diabète des endocrinopathies:

Ce type de diabète peut être secondaire à: une acromégalie, un syndrome de Cushing, un phéochromocytome, un hyperaldostérionisme primaire, une hyperthyroïdie, une hyperparathyroïdie primaire (Timsit J et *al.*, 2016)

- Diabète secondaire aux médicaments :

Parmi les médicaments responsables de diabète, on peut citer: Les glucocorticoïdes, Les hormones thyroïdiennes, Les thiazidiques, etc (Timsit J et *al.*, 2016).

- Les anomalies monogéniques de la fonction des cellules β : diabète de la maturité du jeune ou diabète néonatal transitoire (Bait S, 2023).
- Les défauts monogéniques de l'action de l'insuline (leprechaunisme ou syndrome de Rabson-Mendenhall). et d'autres syndromes génétiques associés au diabète (syndrome de Down ou syndrome de Klinefelter) (Bait S, 2023).

5.5. Les formes hybrides de diabète

Sont une nouvelle catégorie récemment ajoutée par l'OMS, comprenant les formes cliniques de diabète qui combinent les caractéristiques de type 1 et de type 2 (Bait S, 2023).

5.6. Le diabète à médiation immunitaire à évolution lente (ancien diabète auto-immun latent de l'adulte)

Est inclus, car ses caractéristiques cliniques sont similaires au diabète de type 2, mais les individus présentent des auto-anticorps pancréatiques. Un autre exemple est le diabète de type 2 à tendance cétose (Bait S, 2023).

6. Classification et causes du diabète

Le diabète est une maladie métabolique complexe qui se présente sous différentes formes, chacune étant associée à des causes spécifiques. Le tableau 06 présente une classification détaillée du diabète ainsi que ses principales causes. Cette classification permet de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à chaque type de diabète, qu'ils soient liés à des facteurs auto-immuns, génétiques, hormonaux, ou environnementaux tels que les médicaments ou les traumatismes.

Tableau 06: Classification du diabète et les causes ("2. Diagnosis and classification of diabetes: standards of care in diabetes—2024," 2024; R. Kumar et *al.*, 2020)

Formes associées /défauts	Causes
Diabète de Type 1	Destruction des cellules β , conduisant généralement à une carence absolue en insuline, Auto-immun et idiopathique.
Diabète de Type 2	Peut aller d'une insulino-résistance prédominante, avec carence insulinaire relative à un défaut de sécrétion prédominant, avec ou sans insulino-résistance.
Défauts génétiques altérant la fonction des cellules β	Chromosome (20, 7, 12, 13) / Mutation 3243 de l'ADN mitochondrial
Défauts génétiques altérant l'action de l'insuline	Insulino-résistance de type A / Lepréchaunisme (Syndrome de Donohue) Syndrome de Rabson-Mendenhall / Diabète lipo-atrophique
Maladies du pancréas	Maladies du pancréas exocrine / Pancréato-pathie fibro-calculuseuse / Pancréatite / Traumatisme / Pancréatectomie
Diabète gestationnel	Découvert pendant la grossesse
Endocrinopathies	Syndrome de Cushing / Acromégalie / Phéochromocytome / Glucagonome / Hyperthyroïdie / Somatostatine
Pharmaco- ou chimio-induit	Acide nicotinique / Glucocorticoïdes / Hormones thyroïdiennes α , β -stimulants
Formes rares de diabète auto-immun	Syndrome de l'homme raide / Anticorps anti-récepteurs de l'insuline
Autres formes	Cancer / Mucoviscidose / Hémochromatose
Autres syndromes génétiques parfois associés au diabète	Trisomie 21/ Maladie de Friedreich / Syndrome de Klinefelter / Syndrome de Laurence – Moon – Bardet – Biedl Myotonie dystrophique (Maladie de Steinert) Syndrome de Prader-Labhart-Willi.

7. Physiopathologie du diabète

7.1. Régulation hormonale de la glycémie

La régulation hormonale de la glycémie est un processus crucial pour maintenir un niveau stable de glucose dans le sang. Cette régulation est assurée par des hormones pancréatiques, notamment l'insuline et le glucagon, sécrétées par les îlots de Langerhans dans le pancréas. L'insuline est libérée en réponse à une hyperglycémie pour favoriser l'absorption du glucose par les cellules et réduire la glycémie (Hamsi W et MallemS, 2024).

En revanche, le glucagon est sécrété en cas d'hypoglycémie pour stimuler la libération de glucose stocké dans le foie, augmentant ainsi la glycémie. Ce système de régulation permet de maintenir la glycémie autour d'une valeur de consigne essentielle au bon fonctionnement de l'organisme, assurant ainsi un équilibre métabolique optimal. Pendant la période post-absorptive, lorsque l'insuline diminue et que les niveaux de glucagon augmentent, les principales adaptations métaboliques se produisent, surtout dans le foie.

Le glucagon favorise la libération de glucose à partir du glycogène (glycogénolyse) et la production de glucose à partir de sources non-glucidiques (néoglucogenèse) (Hamsi W et MallemS, 2024).

Le pancréas est le chef d'orchestre de la glycémie, agissant comme une usine de production d'hormones. Il fabrique deux (02) hormones principales qui fonctionnent de manière opposée, tel un balancier :

- **Insuline:** Lorsque le taux de glucose sanguin augmente, l'insuline est libérée. Elle agit comme une clé, déverrouillant les cellules du corps (en particulier les muscles, le tissu adipeux et le foie) pour qu'elles absorbent le glucose du sang.
- **Glucagon:** En cas de baisse de la glycémie, le glucagon est libéré. Il ordonne au foie de libérer le glucose stocké et même d'en produire, ce qui fait augmenter le taux de glucose sanguin. Ce système de balancier permet de maintenir une glycémie stable et équilibrée (Figure 13) (Hamsi W et MallemS, 2024).

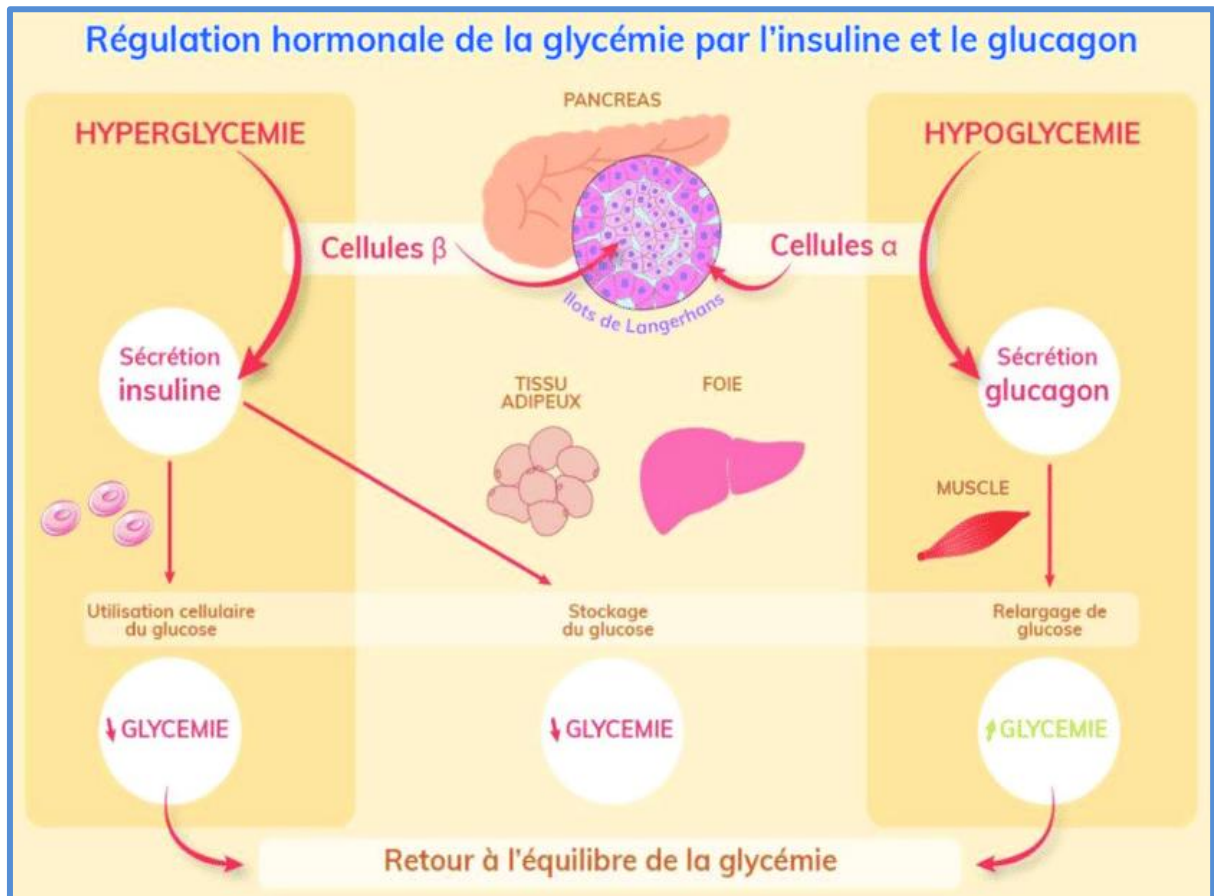


Figure 13:Modèle interactif des mécanismes de régulation du glucose

7.2. Physiopathologie moléculaire du diabète de type 2

7.2.1. Insulinorésistance

L'IR (résistance à l'insuline) fait référence à une réduction de la réponse métabolique des cellules insulino-dépendantes face à l'insuline, ou au niveau systémique, à une altération/diminution de la réponse à l'insuline circulante en fonction du taux de sucre dans le sang (Czech, 2017).

Trois principales catégories de conditions d'IR ou d'insulino-déficience existent: (1) Réduction de la production d'insuline par les cellules β; (2) présence d'antagonistes de l'insuline dans le plasma, causés soit par des hormones anti-régulatrices, soit par des substances non hormonales qui perturbent les récepteurs ou leur signalisation à l'insuline; et (3) dégradation de la réaction à l'insuline dans les tissus cibles (Pearson et *al.*, 2016). L'interaction d'autres molécules, y compris l'hormone de croissance et l'IGF-1 en postprandial, influence l'action de l'insuline (Galicia-Garcia et *al.*, 2020).

7.2.2. Dysfonctionnement des cellules β

Le dysfonctionnement des cellules β dans le diabète de type 2 (DT2) peut résulter d'un réseau complexe d'interactions entre l'environnement et les voies moléculaires impliquées dans la biologie cellulaire.

Des états nutritionnels excessifs, tels que ceux observés dans l'obésité, entraînent souvent une hyperglycémie et une hyperlipidémie, favorisant l'inflammation chronique. Les cellules β , en raison de différences génétiques, sont soumises à des pressions toxiques telles que l'inflammation, le stress inflammatoire, le stress du réticulum endoplasmique (RE), le stress métabolique/oxydatif et le stress amyloïde, pouvant finalement conduire à une perte d'intégrité insulaire (Figure 14). Des niveaux élevés d'acides gras saturés et l'hyperglycémie induisent un stress du RE en activant les voies de réponse aux protéines mal repliées (UPR) apoptotiques. Une glycémie élevée soutenue augmente la biosynthèse de la pro-insuline et des polypeptides amyloïdes des îlots (IAAP) dans les cellules β , conduisant à l'accumulation d'insuline mal repliée et d'IAAP et à une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) médiée par le repliement oxydatif des protéines. Ces effets altèrent la mobilisation du calcium intracellulaire du RE, favorisent les signaux pro-apoptotiques, la dégradation de l'ARNm de la pro-insuline et induisent la libération d'interleukine (IL)-1 β , qui recrute les macrophages et amplifie l'inflammation locale des îlots (Christensen et Gannon, 2019; Galicia-Garcia et *al.*, 2020).

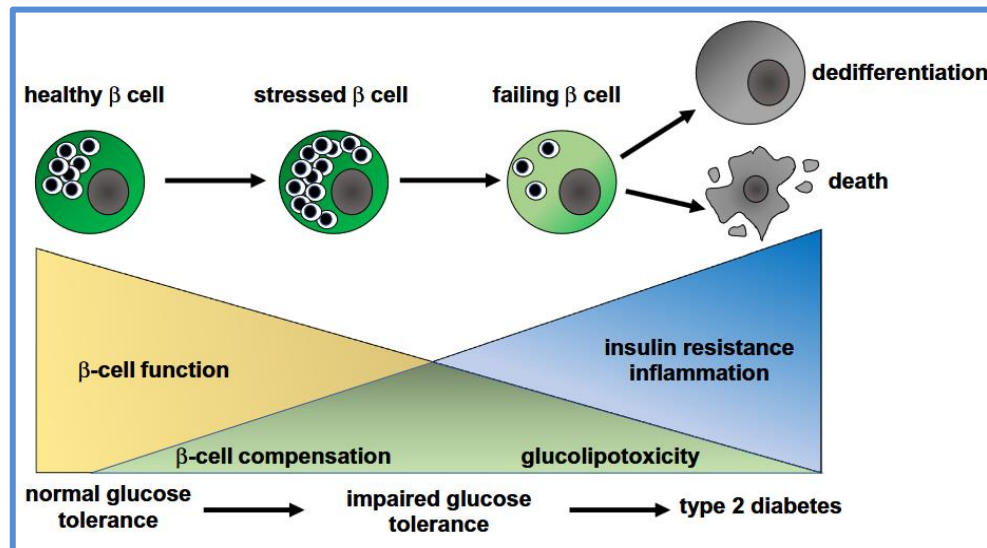


Figure 14: Représentation schématique de l'évolution du diabète de type 2 (Christensen et Gannon, 2019).

8. Digestion et absorption du glucose

8.1. Période prandiale

8.1.1. Absorption du glucose

Les glucides comme l'amidon sont digérés dans le tractus digestif et transportés vers le foie par la veine porte sous forme de glucose. (Hamsi W et MallemS, 2024).

8.1.2. Devenir du glucose

Le glucose est utilisé comme carburant et stocké sous forme de glycogène dans le foie et les muscles. L'excès de glucose peut être transformé en lipides, stockés dans les tissus adipeux ou provoquer une accumulation de lipides dans le foie, appelée stéatose hépatique (Hamsi W et MallemS, 2024). (Figure 15)

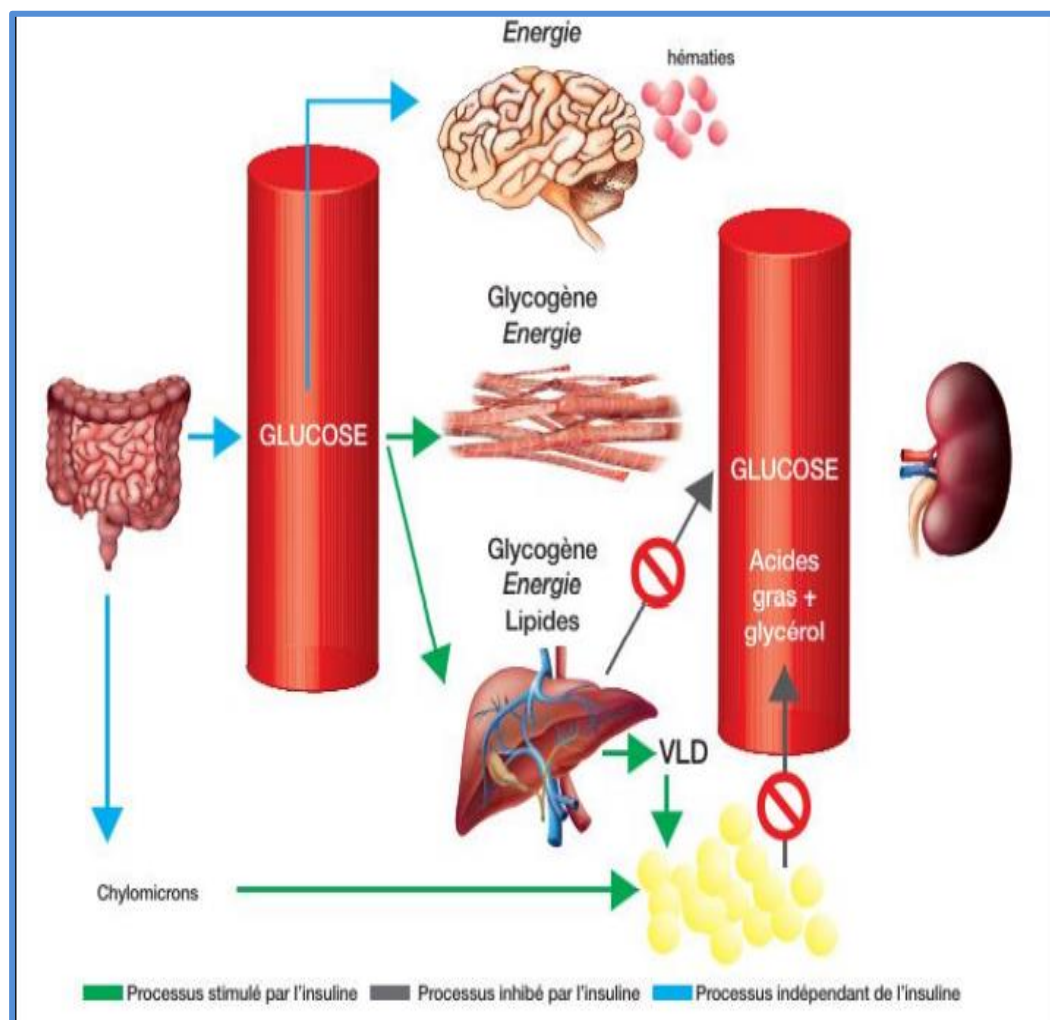


Figure 15: Adaptations de la régulation du métabolisme énergétique au cours de la période post-prandiale (Hamsi W et Mallem S, 2024).

8.2. Période post-absorptive

8.2.1. Adaptations métaboliques

Lorsque la digestion et l'absorption des glucides du repas sont achevées (après environ 2 à 6 heures en fonction du contenu du repas), la glycémie devient légèrement inférieure à 1 g/L et il est nécessaire de commencer à produire du glucose de façon endogène en particulier pour les besoins énergétiques du cerveau. Le foie est, dans ces conditions, le principal organe pouvant produire du glucose dans la circulation. (Figure 16) (Hamsi W etMallem S, 2024).

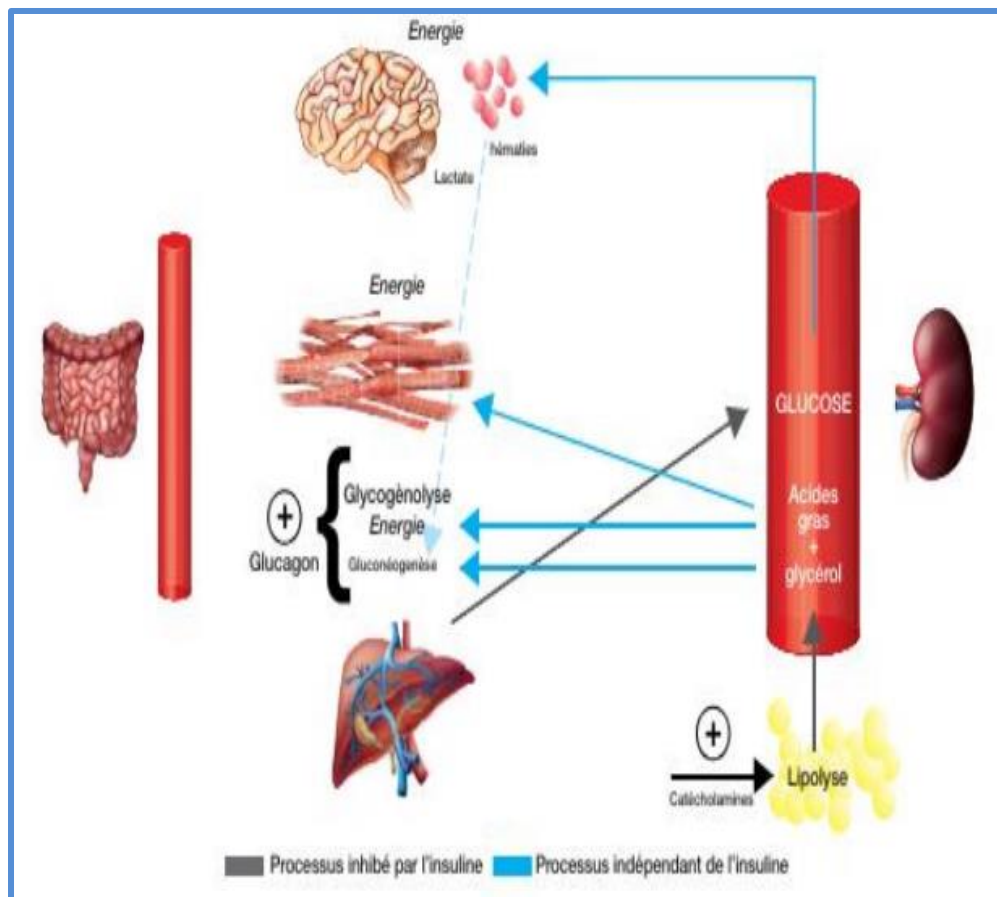


Figure 16: Adaptations de la régulation du métabolisme énergétique au cours de la période post-absorptive (Hamsi W etMallem S, 2024).

8.2.2. Dysfonctionnements dans le diabète

Le diabète se caractérise par un excès de glucose dans le sang, résultant d'un déficit en insuline, l'hormone chargée de réguler la glycémie. Ce déséquilibre peut survenir soit parce que l'organisme produit insuffisamment d'insuline, soit parce que cette hormone n'est pas suffisamment efficace. La physiopathologie sous-jacente à cette déficience est complexe et

diversifiée, engendrant plusieurs types de diabète: le type 1, le type 2 et le gestationnel (Hamsi W et Mallem S, 2024).

Cette hyperglycémie prolongée est liée, à terme, à des complications spécifiques qui affectent principalement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (Hamsi W et Mallem S, 2024).

8.2.3. Le diabète de type 1 (DT1)

Il se caractérise par une atteinte auto-immune dirigée contre les cellules bêta des îlots de Langerhans pancréatiques responsable à terme d'une insulinopénie (Figure 17) (Imagawa A et *al.*, 2000). Les patients porteurs de ce type de diabète sont généralement d'âge jeune et présentent de symptômes tels que la polydipsie, polyurie et une perte de poids (Greenbaum CJ et *al.*, 2001). Il est moins fréquent et représente environ 5 % à 10 % de tous les diabètes (Gregory GA et *al.*, 2001; Banfantini P. L, 2024).

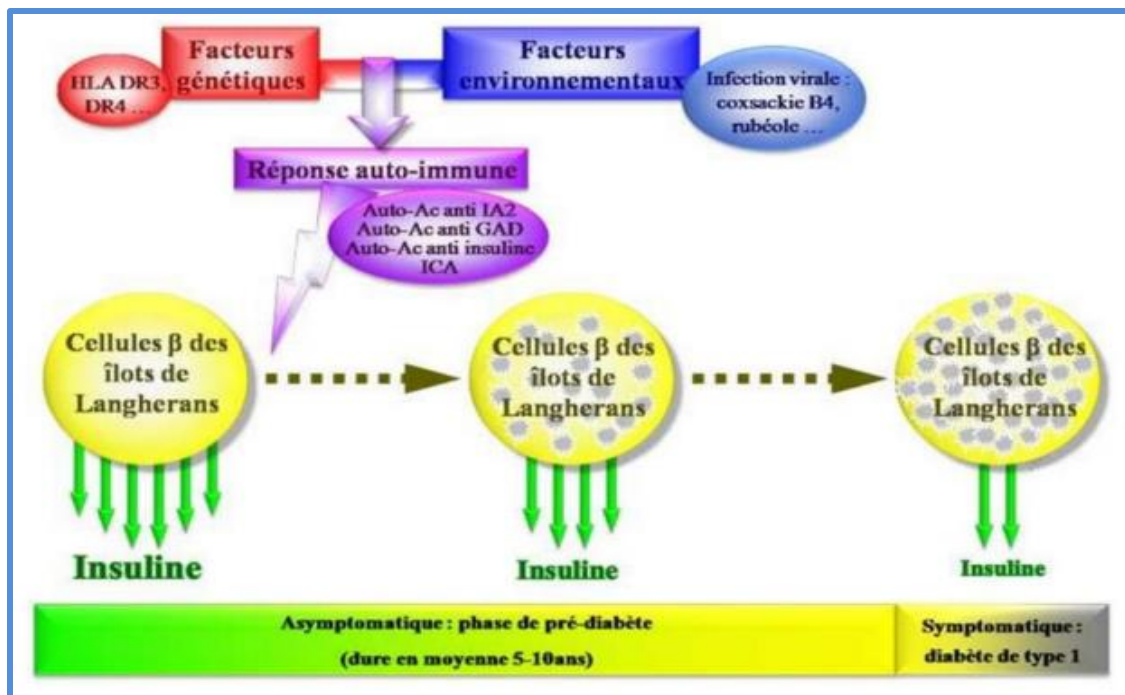


Figure 17: Physiopathologie du diabète de type 1 (Hartemann A et Grimaldi A, 2013).

8.2.4. Le diabète de type 2 (DT2)

Il représente la principale cause des diabètes (Saeedietal., 2019). Selon Bartolomé et *al.*, le DT2 de façon générale résulte d'une perte de la fonction des cellules β pancréatiques occasionnant une mauvaise régulation de la glycémie (Banfantini P. L, 2024). Les cellules β pancréatiques, sont des cellules productrices d'insuline, une hormone anabolique qui assure la

régulation des fonctions métaboliques importantes notamment le contrôle des concentrations de glucose dans le sang. Le DT2 se caractérise également par une résistance périphérique progressive des cellules à l'insuline, diminuant ainsi le captage du glucose par ces cellules (musculaires et adipeuses principalement), et amène à une augmentation de la glycémie (Bartolomé A, 2022). Plusieurs organes sont impliqués dans le mécanisme de ce type de diabète notamment le pancréas, le foie, le muscle, le tissu adipeux, le tractus gastro-intestinal, les reins et le cerveau (Figure 18) (De Fronzo RA, 2009).

Le pancréas: L'altération de la fonction des cellules β et de l'action de l'insuline apparaissent très précocement dans l'évolution du DT2 mais la manifestation clinique est beaucoup plus tardive (Fonseca VA, 2009). Chez les personnes ayant une tolérance correcte au glucose avec un risque de développer un DT2, la résistance de l'insuline pourrait être observée (Warram JH et *al.*, 1990; Banfantini P. L, 2024). Les mécanismes supposés jouer un rôle dans le déclin de la fonction des cellules β comprennent les suivants:

Le polymorphisme génétique: il a été montré que le polymorphisme génétique chez les sujets prédisposés au DT2 serait responsable de l'incapacité des cellules β à répondre au besoin de l'organisme en insuline (Mills GW et *al.*, 2004).

L'âge: des études ont démontré que l'âge serait un facteur favorisant la défaillance de la fonction des cellules β et de sécrétion de l'insuline (Chang AM et Halter JB, 2003).

Le régime alimentaire et l'exercice: la résistance à l'insuline serait aussi liée à l'obésité et à l'inactivité physique. En effet, les régimes riches en glucides sont responsables des niveaux élevés d'insuline et surtout de glucose sanguin. Ces comportements pourraient élever la libération d'insuline et conduire à la destruction des cellules β (Hu FB, 2011).

La glucotoxicité: l'exposition à long terme des concentrations hautes de glucose serait un facteur délétère de la fonction des cellules β (Poitout V et Robertson RP, 2002).

La lipotoxicité: des proportions plasmatiques élevées d'acides gras affectent la libération d'insuline chez les sujets prédisposés au DT2 (Kashyap S et *al.*, 2003).

- **Le foie:** le mécanisme de la néoglucogenèse libère en quantité importante du glucose dans le sang; c'est le principal organe qui libère le glucose. En cas de DT2, le foie libère de façon excessive de grandes concentrations de glucose dans le sang (Heit JA et *al.*, 2009).
- **Le tissu adipeux:** des recherches ont démontré que l'effet anti-lypolitique de l'insuline diminuée dans le DT2 est responsable d'élévation en grande quantité d'acides gras libres.

Ces derniers stimulent la néoglucogenèse accentuée par la résistance hépatique de l'insuline, et perturbe la sécrétion et la libération d'insuline (Bays H et *al.*, 2004).

- **Le muscle:** le muscle squelettique exposé de façon régulière et chronique à des concentrations sanguines de sucre trop importantes développe une résistance à l'insuline. Ce phénomène participe à l'accumulation abondante du glucose dans le sang et contribue au développement de l'hyperglycémie.
- **Le cerveau :** en passant la barrière hémato-encéphalique, l'insuline sous l'action de neuropeptides module la prise alimentaire et l'appétit. Chez le sujet DT2, ce mécanisme est perturbé et modifie la sensation de satiété des patients entraînant des prises alimentaires excessives (Banfantini P. L, 2024).

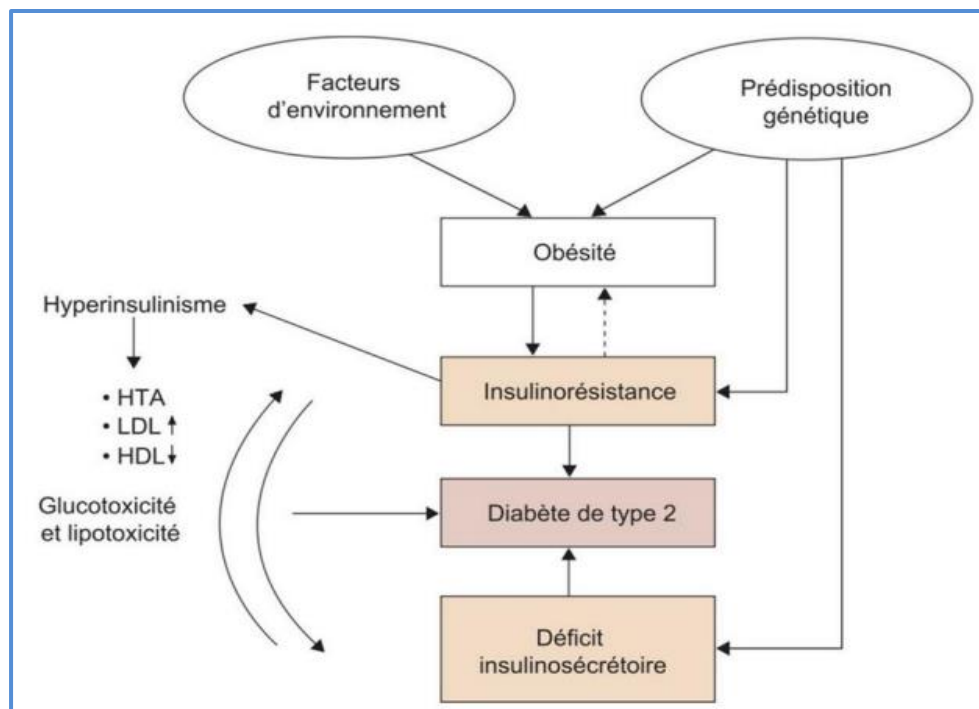


Figure 18: Physiopathologie du diabète de type 2 (CEEDMM, 2022)

9. Symptômes et diagnostic du diabète

9.1. Symptômes cliniques

Les symptômes classiques du diabète sont la polyurie, la polydipsie, la fatigue et la faiblesse. Les patients diabétiques de type 1 présentent également une perte de poids malgré une augmentation de l'appétit et une vision parfois floue. Dans le diabète de type 1, les symptômes apparaissent généralement en quelques jours ou semaines; il est donc peu probable que les cas de type 1 soient diagnostiqués en raison d'un dépistage médical de routine (Raverot G, 2005).

Au contraire, l'apparition du diabète de type 2 n'est souvent pas associée à des signes cliniques, de sorte que les patients sont généralement diagnostiqués lors d'un examen de routine. En plus des symptômes classiques du diabète, les cas de type 2 peuvent également présenter d'autres affections, telles que des infections cutanées ou des problèmes de guérison. On considère qu'environ un tiers des patients atteints de diabète de type 2 présentent des complications chroniques lors de la découverte de la maladie de diabète (Figure 19) (Dured D, 2021).

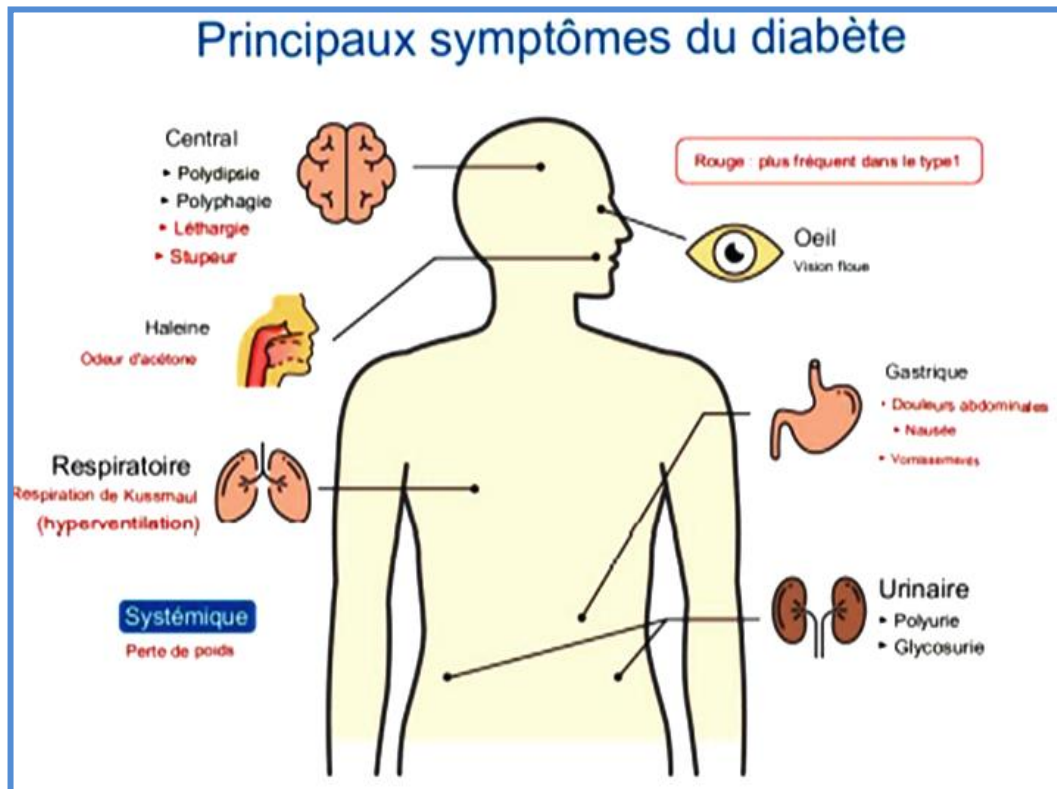


Figure 19 : Symptômes du diabète type 2.

9.2. Diagnostique

Le diagnostic du diabète repose généralement sur la mesure de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), de la glycémie à jeun (FPG) ou de la glycémie après charge orale de glucose (GTT). Ces valeurs sont utilisées pour estimer la corrélation entre l'HbA1c ou la FPG et la rétinopathie, ce qui aide à définir les valeurs seuils de glucose et d'HbA1c pour diagnostiquer le diabète (Nakagami et *al.*, 2007). Le diabète est diagnostiqué lorsque la glycémie à jeun est supérieure à 126 mg/dL (7.0 mmol/L), la glycémie plasmatique à 2 heures après une charge orale de glucose est supérieure à 200 mg/dL (11.1 mmol/L), ou le taux d'HbA1c est supérieur à 6.5 % (48 mmol/mol), ou lorsque la glycémie plasmatique aléatoire est supérieure à 200 mg/dL (11.1

mmol/L) (Genuth et *al.*, 2003). En 2009, le Comité international d'experts a proposé l'adoption de l'HbA1c comme outil de diagnostic et de suivi thérapeutique du diabète, une recommandation largement soutenue par de nombreuses organisations et experts mondiaux (Antar et *al.*, 2023).

L'HbA1c présente des avantages par rapport à la FPG pour le diagnostic du diabète, notamment une meilleure corrélation avec les complications microvasculaires, une meilleure stabilité pré-analytique et un coefficient de variation plus faible (3.6 %) par rapport à la FPG (5.7%) et à la glycémie après 2 heures de GTT (16.6 %). L'HbA1c s'est avérée être plus fortement associée aux complications microvasculaires, en particulier à la rétinopathie, et sert de marqueur de la glycation protéique et du contrôle glycémique, qui sont directement liés au diagnostic et au développement des complications diabétiques. Si l'HbA1c est utilisée comme seul test diagnostique, le test doit être répété dans les deux semaines chez les patients asymptomatiques (American Diabetes Association, 2021).

Cependant, l'appartenance ethnique peut influencer les valeurs seuils de diagnostic du diabète, avec des valeurs seuils différentes adoptées par diverses nations et groupes ethniques (Xu, et *al.*, 2014). Par exemple, une étude japonaise a mesuré les valeurs seuils à 5.5 % (37 mmol/mol) et 6.5 % (48 mmol/mol), tandis qu'une étude égyptienne a rapporté une valeur seuil de 6.3 % (45 mmol/mol). Des chercheurs australiens ont suggéré d'utiliser deux valeurs seuils, 5.5 % pour "exclure" le diabète et 7.0 % pour le "confirmer" (Antar et *al.*, 2023).

L'appartenance ethnique peut également affecter la prévalence du diabète et du prédiabète (Sivaprasad et *al.*, 2012). Dans la plupart des essais, l'HbA1c a permis d'identifier moins de patients diabétiques que la FPG ou la GTT. Cependant, d'autres recherches ont montré qu'en utilisant l'HbA1c, davantage de personnes étaient diagnostiquées diabétiques (Grant et *al.*, 2004).

10. Complications du diabète

10.1. Les microangiopathies

10.1.1. La rétinopathie diabétique (RD)

C'est la complication la plus redoutée du diabète; est l'une des principales causes de ce cite parmi la population active avec des conséquences personnelles et socioéconomique terribles alors qu'elle est potentiellement évitable et traitable. (D'après l'analyse de 35 études réalisées à travers le monde entre 1980 et 2008, la prévalence globale de la RD chez les personnes vivant avec le diabète basé sur une imagerie rétinienne a été estimée à 35%, avec une RD menaçant la vision dans 12 % des cas (Bunce C et Wormald R, 2006; WHO, 2013). Selon l'OMS, il a été estimé

qu'un tiers de la population des diabétiques de type 2 sera atteint de rétinopathie diabétique au bout de 20 ans d'évolution du diabète, que parmi celle-ci, un tiers aura une rétinopathie potentiellement cécitante et un tiers des diabétiques ayant des complications cécitantes deviendra définitivement aveugle (WHO, 2015).

Selon les données 2007-2010 de la cohorte ENTRED, La fréquence de la rétinopathie diabétique estimée à partir des données des médecins était de 7.9 % en métropole; 3.9 % des sujets diabétiques déclaraient avoir perdu la vue d'un œil et 16.6 % avaient reçu un traitement ophtalmologique par laser. Les sujets diabétiques peuvent être atteints d'autres pathologies oculaires: cataracte, glaucome, paralysies oculomotrices, neuropathies optiques, atteintes cornéennes (Druet C et *al.*, 2013).

10.1.2. La neuropathie diabétique

La neuropathie périphérique avec prédominance aux membres inférieurs. Les paresthésies sont à type de fourmillements. Les douleurs peuvent être diffuses: sensation de brûlure, d'élancements, de picotements. Les troubles de la sensibilité sont souvent au second plan: troubles de la sensibilité profonde, troubles de la sensibilité superficielle thermo-algésique et tactile (Bril V et *al.*, 2013; Nejmeddine K et *al.*, 2020; Said G, 1998; Gin H. et Rigalleau V, 2010; Hubeaux K et *al.*, 2008).

La prévalence rapportée de la neuropathie périphérique diabétique va de 16 % à près de 87 % (Sobhani S et *al.*, 2014), avec une neuropathie diabétique douloureuse signalée chez environ 26 % des adultes vivant avec le diabète (Davies M et *al.*, 2006).

10.1.3. La néphropathie diabétique

Est la complication dégénérative la plus grave des microangiopathies car elle engage le pronostic vital du patient. Le diabète est la première cause d'insuffisance rénale dans les pays industrialisés. Son diagnostic confère d'emblée un risque cardiovasculaire élevé: la présence d'une néphropathie multiplie par 3 à 4 le risque cardiovasculaire chez les diabétiques de type 2 et elle est souvent associée à une augmentation de la pression artérielle (Roussel R, 2011; Rigalleau V et *al.*, 2011; Binaut R et *al.*, 2004; Gueutin V et *al.*, 2014).

À l'échelle mondiale, plus de 80 % des insuffisances rénales terminales sont dues au diabète, à l'hypertension ou à une combinaison des deux. Le pourcentage d'insuffisances rénales terminales attribuées au diabète varie entre 10 % et 67% (Rajiv Set *al.*, 2018).

10.2. Les macro angiopathies

Le risque cardiovasculaire global des sujets diabétiques est élevé. Il est multiplié par 2 à 3 par rapport à la population générale (Cosson E et Valensi P, 2019; Penfornis A et *al.*, 2012). Les infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux sont responsables de plus de 50 % des décès des personnes diabétiques. Dans l'étude CODIAB, une artériopathie oblitérante des membres inférieurs était observée chez 19 % des personnes diabétiques (Delcourt C et *al.*, 1998).

Selon les données 2007-2010 de la cohorte ENTRED, 17 % des sujets diabétiques déclaraient un angor ou un antécédent d'infarctus du myocarde; 14 % un antécédent chirurgical de revascularisation coronarienne (Druet C et *al.*, 2013).

Les médecins traitants rapportaient que 6 % de leurs patients diabétiques avaient une insuffisance cardiaque et 5 % avaient eu un accident vasculaire cérébral

Le risque de décès par maladie cardiovasculaire est 2 à 3 fois plus élevé chez les sujets non diabétiques. Le risque croît progressivement avec la sévérité du diabète.

11. Approches Thérapeutiques

Il existe plusieurs approches modernes dans la gestion du diabète. Cependant, un diagnostic précoce est essentiel pour atteindre les objectifs fixés dans le traitement du diabète (Herman et *al.*, 2015). Chaque patient est pris en charge dans le but d'obtenir un résultat particulier. Ces résultats sont définis dès le premier jour de la consultation afin de garantir une approche individualisée dans la gestion du diabète (Aloke et *al.*, 2022).

11.1. Traitement pharmacologique

Le traitement pharmacologique du diabète sucré est indiqué lorsque la glycémie à jeun dépasse 1600 mg/L. Les antidiabétiques oraux sont utilisés dans la prise en charge du diabète de type 2. Traditionnellement, le traitement oral est indiqué chez tout patient diabétique de type 2 chez lequel le régime alimentaire et l'exercice physique n'ont pas permis d'obtenir un contrôle glycémique acceptable. Cependant, bien que les réponses initiales puissent être bonnes, les antidiabétiques oraux perdent leur efficacité chez un nombre important de diabétiques (DeFronzo, 1999).

– Insulinothérapie

Les patients atteints de diabète de type 1 dépendent de l'insuline externe (le plus souvent administrée par voie sous-cutanée) pour leur survie car l'hormone n'est plus produite de manière

endogène. Les patients atteints de diabète de type 2 présentent une résistance à l'insuline, une production d'insuline relativement faible, ou les deux; certains patients atteints de diabète de type 2 peuvent finalement nécessiter de l'insuline si d'autres médicaments ne parviennent pas à contrôler adéquatement la glycémie.

Il existe de nombreux types d'insuline utilisés pour traiter le diabète. Ils sont classés en fonction de leur vitesse d'action, du moment où ils atteignent leur pic d'action (c'est-à-dire lorsque la concentration d'insuline dans le sang est maximale) et de la durée de leur effet (Tuomilehto et *al.*, 2001).

– **Médicaments oraux**

▪ **Les sulfonylurées**

Ces agents stimulent la sécrétion d'insuline des cellules β pancréatiques chez les patients ayant une fonction résiduelle des cellules β . Leur absorption est bonne, et leur demi-vie et durée d'action varient. Ils comprennent les sulfonylurées de première génération (chlorpropamide, tolbutamide, tolazamide, acétohexamide), de deuxième génération (glyburide, glipizide) et de troisième génération (glimepiride). Ces médicaments entraînent une hypoglycémie légère, tandis que l'hypoglycémie sévère reste rare (Scott, 2004). Ils augmentent la production d'insuline, la sensibilité des cellules β , l'absorption du glucose et réduisent la néoglucogenèse de façon chronique (Karam et *al.*, 1975). Le traitement est le plus efficace chez les patients de moins de 40 ans, diagnostiqués avec un diabète de type 2 depuis moins de cinq ans, et ayant une glycémie à jeun inférieure à 3000 mg/L (Mooradian, 1996).

Environ deux tiers des patients traités par sulfonylurée répondent favorablement, mais jusqu'à 20 % nécessitent un traitement supplémentaire. Le passage d'une sulfonylurée à une autre apporte peu de bénéfices chez les patients diabétiques non contrôlés (Mooradian, 1996).

L'utilisation de médicaments à demi-vie longue, comme la chlorpropamide, est déconseillée chez les personnes âgées ou les patients insuffisants rénaux en raison du risque accru d'hypoglycémie (Florence et Bryan, 1999). Les effets secondaires incluent l'hypothyroïdie, la thyromégalie, des troubles cardiovasculaires, des infections cutanées, des troubles hématologiques, la jaunisse cholestatique, l'hyponatrémie, la rétention d'eau et la prise de poids due à l'hyperinsulinémie, facteur contribuant à l'échec secondaire du traitement (DeFronzo, 1999; Mooradian, 1996; Kelly, 1995).

- **Biguanides**

Ces agents augmentent la sensibilité à l'insuline en diminuant la néoglucogenèse hépatique (effet principal), en augmentant la captation du glucose par le muscle squelettique, en réduisant les taux de triglycérides plasmatiques et de LDL-cholestérol et en augmentant la sensibilité périphérique à l'insuline (effet secondaire). Ils n'augmentent pas les taux d'insuline et ne provoquent pas de prise de poids. Pris seuls, ils ne provoquent pas d'hypoglycémie (Scott, 2004; United Kingdom Prospective Diabetes Study Group, 1998).

La Metformine, dérivée à l'origine de la plante médicinale *Galega officinalis*, est un exemple de biguanide. Elle est utilisée en monothérapie ou en association avec les sulfonylurées pour le traitement du diabète de type 2. Utilisée en monothérapie, la Metformine ne provoque pas d'hypoglycémie et est donc qualifiée d'antihyperglycémiant. L'utilisation de la Metformine est contre-indiquée chez les patients présentant une insuffisance rénale (c'est-à-dire un taux de créatinine sérique de 15 mg/L chez l'homme et de 14 mg/L chez la femme) ou une acidose métabolique aiguë ou chronique (Scheen, 1997).

La cimétidine diminue la clairance rénale de la Metformine et potentialise ses effets. Les patients recevant un traitement anticoagulant oral et de la Metformine nécessitent une dose plus élevée de warfarine pour obtenir un effet antithrombotique thérapeutique (Melchior et Jaber, 1996). Cependant, les effets secondaires de la Metformine comprennent la faiblesse, la fatigue, l'essoufflement, les nausées, les vertiges, l'acidose lactique et la néphrotoxicité (United Kingdom Prospective Diabetes Study Group, 1998).

- **Inhibiteurs des alpha-glucosidases**

Les inhibiteurs des alpha-glucosidases (acarbose - Glucobay®, Glumida® - et miglitol - Diastabol®, Plumarol®) inhibent de manière compétitive et réversible les alpha-glucosidases intestinales, retardant ainsi partiellement l'absorption des glucides. Par conséquent, leur principal effet est de réduire l'hyperglycémie postprandiale. Leur efficacité pour réduire l'HbA1c est inférieure à celle obtenue avec les médicaments mentionnés précédemment, et ils seraient particulièrement indiqués chez les patients présentant une glycémie basale acceptable et une hyperglycémie postprandiale (DeFronzo, 1999).

Afin de minimiser les effets secondaires, il est recommandé de commencer le traitement par 25-50 mg (un demi-comprimé ou un comprimé), à avaler sans mâcher avant les repas. La dose peut être augmentée chaque semaine jusqu'à atteindre 300 mg/jour, qui est la dose habituelle, et

son effet maximal est observé au bout de 3 mois (Scheen, 1998). Les effets secondaires les plus importants, responsables du plus grand nombre d'arrêts de traitement, sont les flatulences (30 %) et la diarrhée. Ils sont contre-indiqués chez les patients atteints de maladie intestinale chronique, de grossesse, d'allaitement maternel, de cirrhose du foie et d'insuffisance rénale (Simó et Hernández, 2025).

- **Inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)**

Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) notamment la sitagliptine, la vildagliptine, la saxagliptine, la linagliptine et l'alogliptine, sont des traitements efficaces pour la gestion du diabète de type 2 (DT2). La sitagliptine réduit les niveaux de glucose à jeun et postprandial, améliore la fonction des cellules β et est bénéfique dans le diabète de type 1 (DT1) lorsqu'elle est combinée à l'insuline, agissant via la suppression du glucagon (Charbonnel et *al.*, 2006; Aschner et *al.*, 2006). La vildagliptine améliore la sécrétion et la sensibilité à l'insuline, réduit les niveaux de glucagon et contrôle efficacement la glycémie lorsqu'elle est associée à la Metformine, bien qu'elle nécessite souvent des thérapies complémentaires (Ahren et *al.*, 2004; Jeon et Oh, 2011). La saxagliptine soutient les effets des hormones incrétines, diminue les niveaux d'HbA1c et régule l'homéostasie du glucose, bien que des effets secondaires mineurs tels que des maux de tête et des infections respiratoires soient rapportés (Neumiller et Campbell, 2010; Peters, 2007). La linagliptine, adaptée aux patients insuffisants rénaux et âgés sans ajustement de dose, offre un profil de sécurité favorable, réduit la graisse hépatique dans la stéatose hépatique et évite la prise de poids (Deacon et Holst, 2010; Kern et *al.*, 2012).

L'alogliptine fournit un contrôle de l'hyperglycémie comparable à celui des autres inhibiteurs de la DPP-4, prévient la progression de la stéatose hépatique non alcoolique et améliore la fonction des cellules β dans les thérapies combinées (Baetta et Corsini, 2011; Ndefo, et *al.*, 2014). Collectivement, ces inhibiteurs sont bien tolérés et adaptables, offrant des avantages ciblés pour répondre aux divers besoins des patients (Jamwal, 2020).

11.2. Traitement non pharmacologique

La modification du mode de vie est essentielle dans la gestion du diabète, tant pour les patients prédiabétiques que diabétiques. Elle inclut la réduction de la sédentarité, l'augmentation de l'activité physique et une alimentation équilibrée, favorisant les légumes, fruits, céréales complètes, produits laitiers écrémés et viandes maigres, tout en limitant les sucres et les graisses. L'arrêt du tabagisme et la réduction de la consommation d'alcool sont également conseillés

(Franz, 1997; Chong et *al.*, 2017). Cependant, l'adhésion à ces recommandations peut être un défi pour de nombreux patients. Pour pallier cette difficulté, des programmes en ligne ont été mis en place, offrant une aide précieuse pour l'autogestion et le suivi des modifications du mode de vie (Cotter et *al.*, 2014; Wang et *al.*, 2020).

11.3. Innovations thérapeutiques: Nanotechnologies et extraits naturels

Les nanoparticules à base de composés naturels, comme celles dérivées des noyaux des dattes (*Phoenix dactylifera* L.), représentent une avancée prometteuse dans le traitement du diabète de type 2 (Farag et *al.*, 2023). Ces nanoparticules permettent une délivrance ciblée, augmentent la biodisponibilité des composés actifs, et réduisent les effets secondaires associés aux traitements classiques.

Les recherches récentes ont démontré les propriétés antidiabétiques de nombreux extraits de plantes, riches en composés bioactifs tels que les polyphénols, les alcaloïdes, et les flavonoïdes. Ces composés agissent en améliorant la sensibilité à l'insuline, en réduisant le stress oxydatif, et en protégeant les cellules bêta pancréatiques. Les premiers résultats expérimentaux sur les noyaux de dattes, utilisés traditionnellement en médecine populaire, indiquent leur capacité à moduler les enzymes digestives du glucose, réduire l'inflammation, et améliorer la régulation hormonale.

Sous forme de nanoparticules, ils pourraient réguler efficacement la glycémie et limiter les complications associées au diabète, tout en offrant une alternative naturelle et innovante aux thérapies actuelles (El-Far et *al.*, 2021; He et *al.*, 2020).

- **Nanoparticules d'oxyde de zinc**

Al-Murshidi et *al.*, (2023) ont évalué l'activité antidiabétique des nanoparticules d'oxyde de zinc et d'oxyde de chrome, seules ou en combinaison, et ont constaté qu'elles entraînent une diminution des niveaux de glucose et d'HbA1c ainsi qu'une augmentation de l'hormone insuline, suggérant leur potentiel antidiabétique. Selon Alkazazz et Taher (2021), les nanoparticules constituent une approche prometteuse pour améliorer le diabète sucré. Le zinc joue un rôle essentiel dans le métabolisme du glucose en favorisant la glycogénèse dans le foie via les voies de signalisation de l'insuline (Ashrafizadeh et *al.*, 2020). De plus, les nanoparticules d'oxyde de chrome peuvent améliorer la capacité antioxydante des cellules affectées par le diabète en réduisant le stress oxydatif (Siddiqui et *al.*, 2020).

De plus, la capacité antidiabétique des nanoparticules d'oxyde de zinc pourrait résulter de leur effet régénérateur sur les cellules sécrétrices d'insuline du pancréas, entraînant une augmentation des niveaux d'insuline et une diminution des niveaux de C-peptide, indiquant une restauration des cellules B pancréatiques (AL-Shemmari et *al.*, 2018). Les nanoparticules d'oxyde de zinc favorisent ainsi la régénération des îlots de Langerhans et la fonction des cellules B (Ebelt et *al.*, 2000). De manière similaire, les nanoparticules d'oxyde de chrome pourraient se conjuguer avec les récepteurs de l'insuline et augmenter les niveaux d'insuline via l'induction de la phosphorylation des récepteurs substrats, jouant un rôle essentiel dans la transmission du signal, notamment PI3K, un élément clé de la fonction de l'insuline (Akhtar et *al.*, 2012).

- **Nanoparticules de sélénium et oxyde de sélénium.**

Il existe de plus en plus de preuves du rôle thérapeutique du SeO₂ et des nanoparticules de sélénium (SeNPs) contre le diabète. Les études actuelles démontrent l'action antidiabétique du sélénium et de ses nanoparticules, avec une amélioration des facteurs de risque métaboliques, du stress oxydatif et des cytokines inflammatoires. La structure des nanoparticules de SeO₂ soutient un rôle en tant qu'antioxydant ou capteur biologique de radicaux libres.

Le stress oxydatif se produit en raison d'une élévation de la production de ROS, suivie d'une dépression des systèmes antioxydants. La production de ROS provient de diverses voies d'oxydation, entraînant une dérégulation cellulaire. (Jozanov-Stankov et *al.*, 1998; Kajbaf et *al.*, 2007; Kar et Misra, 1999; Klein, 2007). Les études ont montré que l'hyperglycémie augmente la production de radicaux hydroxyles dans le foie des rats diabétiques (Köhrle et Gärtner, 2009). De plus, le stress oxydatif induit par l'hyperglycémie et l'inflammation contribue au développement de la néphropathie diabétique (Korsvik et *al.*, 2007). Le sélénium présente des avantages dans le diabète, car les nanoparticules de SeO₂ sont caractérisées par des particules monodisperses constituées de cristaux uniques avec peu de joints de macles, ce qui explique leur capacité à capter les radicaux libres (Laakso, 2010). En outre, les nanoparticules de sélénium stimulent l'activité de la superoxydedismutase (SOD) (Lenzen, 2008; Lodovici et *al.*, 2008).

- **Nanoparticules d'or (AuNPs)**

Les nanoparticules d'or (AuNPs) ont démontré un rôle d'agent antioxydant en empêchant la libération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), en éliminant les radicaux libres et en augmentant le niveau des enzymes antioxydantes (Khan et *al.*, 2012; Bednarski et *al.*, 2015). Différentes études *in vivo* révèlent que les AuNPs possèdent des activités antioxydantes et

antihyperglycémiques. Selon Opris et *al.*, les nanogold de 21 nm augmentent la capacité antioxydante dans le sang, ainsi que dans le foie et les muscles, tout en diminuant le niveau de glucose sanguin et en réduisant l'inflammation et le stress oxydatif induits par l'hyperglycémie (Opris et *al.*, 2017).

Barath Mani Kanth et *al.*, ont étudié des Au NPs biologiquement synthétisées sur des souris diabétiques induites par la streptozotocine et ont prouvé que les Au NPs de 50 nm, formées par la réduction des ions Au Cl^{4-} par *Bacillus licheniformis*, possèdent des effets antioxydants qui inhibent la formation de ROS et éliminent les radicaux libres. Ils ont constaté que les Au NPs amélioraient les enzymes de défense antioxydante et présentaient également des activités antihyperglycémiques, favorisant la régénération des cellules β pancréatiques et réduisant le niveau de glucose sanguin (Barathmanikanth et *al.*, 2010). Ces résultats corroborent ceux de Karthick et *al.*, ainsi que de Daisy et Saipriya, qui ont montré que les Au NPs sont prometteuses dans le traitement de l'hyperglycémie (Daisy et Saipriya, 2012; Karthick et *al.*, 2014).

DEUXIEME PARTIE

Etude Expérimentale

CHAPITRE I

Matériels & Méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel végétal

Les noyaux de dattes du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. ont été collectés en Octobre 2022 dans la région d'El-Magrane (33°48'39"N, 6°55'19. 5"E), située dans la wilaya d'El-Oued, au sud-est de l'Algérie (Figure 20). L'identification de la variété a été réalisée avec le soutien technique de l'Institut Technique de Développement de l'Agriculture Saharienne (ITDAS) à Aïn Ben Naoui, dans la wilaya de Biskra. La variété a été déterminée comme étant *Ghars* Baali, cultivée dans des conditions non irriguées.



Figure 20 : *Phoenix dactylifera* L. variété *Ghars* (Photo originale, 2025).

1.2. Animale

Notre étude a été réalisée sur vingt-cinq (25) rats albinos de la souche Wistar mâles adultes, pesant entre 156 et 213 grammes au début de l'expérience, et toutes du même âge avec des bonnes santé et dans des conditions physiologiques similaires. Ces animaux ont été obtenus de l'Institut Pasteur à Alger, hébergés et maintenus dans l'animalerie du Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université EL-Chahid Hamma Lakhdar à El Oued Algérie, pendant 2 semaines dans les mêmes conditions de laboratoire, avec un photopériode (12 h lumière/12 h obscurité) (Khan et *al.*, 2023). une humidité relative de 64 ± 2 % et une température ambiante de 25 ± 1 C°. Une alimentation standard pour

rats (Southon et *al.*, 1984) et de l'eau du robinet étaient disponibles pendant toute la durée des expériences.

Toutes les manipulations et procédures expérimentales ont été effectuées en conformité avec les recommandations du comité d'éthique local.

1.3. Souches bactériennes

Les échantillons ont été testés pour leur l'activité antimicrobienne contre 6 souches bactériennes (Tableau 07) obtenues auprès du laboratoire de l'Institut Pasteur en Alger, incluant 2 bactéries Gram-positives (BS: *Bacillus subtilis* ATCC 21332; SA: *Staphylococcus aureus* ATCC 25932) et 4 bactéries Gram-négatives (EC: *Escherichia coli* ATCC 25922; PA: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; ST: *Salmonella spp.* ATCC 14028; KP: *Klebsiellapneumoniae* ATCC 13883).

Tableau 07: Les souches bactériennes utilisées pour la détermination de l'activité antibactérienne.

Souche	Code	Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25932	Positive
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 21332	Positive
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Négative
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négative
<i>Salmonella spp</i>	ATCC 14028	Négative
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	ATCC 13883	Négative

*ATCC: American Type Culture Collection.

1.4. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans cette étude incluent: nitrate de zinc dihydraté Zn (NO₃)₂•6H₂O, nitrate d'argent AgNO₃ (≥ 99 %), nitrate de magnésim Mg (NO₃)₂•6H₂O (99 %), NaOH (≥ 97 %), le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH, 95 %), l'acide ascorbique (C₆H₈O₆, ≥ 99 %), le chlorure d'aluminium (AlCl₃), le ferricyanure de potassium (K₃[Fe (CN)₆], ≥ 99 %), l'acide trichloroacétique (CCl₃COOH, ≥99 %), le chlorure ferrique (FeCl₃, 97 %), le β-carotène (C₄₀H₅₆, ≥93 %), l'acide linoléique (C₁₈H₃₂O₂, ≥ 99 %), le Tween 80 (polysorbate 80, liquide visqueux), l'hydroxytoluènebutylé (BHT, ≥ 99 %), le bleu de méthylène (MB, C₁₆H₁₈ClN₃S, ≥ 82%), l'α-amylase, l'amidon. l'acarbose, le réactif de temps de thromboplastine partielle activée (APTT, STA PTT Automate 5), le réactif de temps de prothrombine (PT, STA Neoplastine CI Plus 10), le réactif de temps de thrombine (TT, STA Thrombin 2), le Metformine, l'agar Mueller-

Hinton (MHA, milieu de culture microbiologique), le bouillon Mueller-Hinton (MHB, milieu de culture microbiologique), le sel de sodium de résazurine ($C_{12}H_6NNaO_4$, 80%), le diméthylsulfoxyde (DMSO, $\geq 99.9\%$), le méthanol ($CH_3OH \geq 99.8\%$) et l'éthanol ($C_2H_5OH \geq 99.8\%$), Folin-Ciocalteu, peroxyde d'hydrogène Quercétine, Iodure de potassium (KI), Chloroforme ($CHCl_3$), *saccharomyces cerevisiae*, Solution de glucose 30%, l'alloxane.

Tous les réactifs utilisés dans les analyses biochimiques étaient de qualité analytique et provenaient de Sigma Chemicals Co. (USA).

1.5. Instruments

Les instruments analytiques ont été utilisés pour la synthèse, la purification et la caractérisation des nanoparticules de ZnO et ZnO dopées Mg-Ag.

- Synthèse et purification: Un incubateur pour les réactions, un bain-marie pour le contrôle de la température, un étuve pour déshydratation et une centrifugeuse pour isoler les nanoparticules. La calcination des nanoparticules a été réalisée à $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans un four à moufle.
- Caractérisation optique et structurale: Les propriétés optiques ont été étudiées par spectroscopie UV-Vis et infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Les caractéristiques structurales ont été analysées par diffraction des rayons X (XRD) et microscopie électronique à balayage (SEM), couplée à la spectroscopie dispersive en énergie des rayons X (EDAX).

1.6. Les antibiotiques

- Les antibiotiques utilisés sont l'Amoxicilline et le Gentamicine.
- L'Amoxicilline a été utilisée contre les bactéries gram-positives.
- Le Gentamicine a été utilisée contre les bactéries gram- négatifs.

2. Méthodes

2.1. Préparation de la poudre des noyaux des dattes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*)

Selon la méthode décrite par Harkat et *al.*, (2022), les noyaux de dattes de la variété *Ghars* ont d'abord été soigneusement retenus. Ils ont ensuite été lavés minutieusement à l'eau distillée pour éliminer tous les résidus adhérents à leur surface. Après le lavage, les noyaux ont été laissés à sécher à l'air libre, à température ambiante et à l'abri. de la lumière pendant une période de 3 jours. Une fois séchés, ils ont été finement broyés à l'aide d'une machine de broyage spécialisée,

produisant une poudre fine similaire à de la farine, appelée « poudre des noyaux des dattes » (Figure 21). La poudre obtenue a été conservée dans un récipient hermétique et à l'abri de la lumière pour une utilisation ultérieure (Harkat et *al.*, 2022).

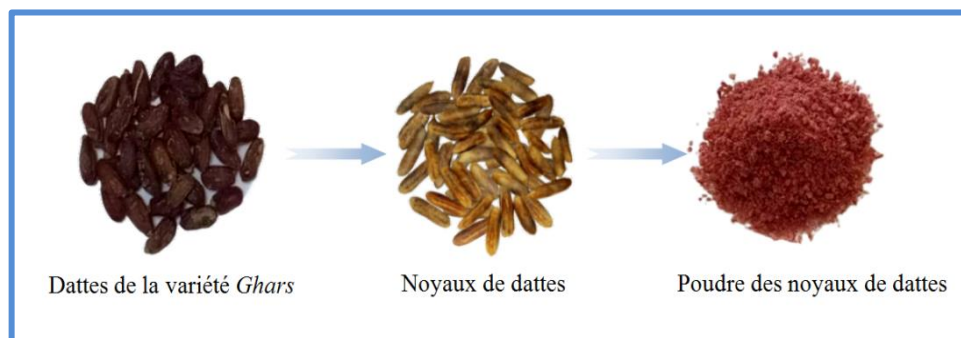


Figure 21: Préparation de la poudre des noyaux des dattes du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L.

2.1.1. Extraction de l'extrait aqueux des noyaux des dattes

L'extrait aqueux des noyaux des dattes du palmier dattier a été préparé selon une méthode de décoction, inspirée de Ghania A et Djahra A (2023). En bref, 10 g de poudre des noyaux des dattes ont été mélangés à 200 mL d'eau distillée, puis chauffés à 80 C° sous agitation continue pendant 15 minutes. Au cours du chauffage, la solution a développé une couleur brun-rouge, indiquant l'extraction efficace de certains composés dans la phase aqueuse. La solution brute obtenue a ensuite été refroidie à température ambiante, filtrée à l'aide de papier Whatman n°3 pour éliminer les débris, puis sécher par le rotavapeur. L'extrait final a été pesé et conservé à 4 C° dans un réfrigérateur en vue d'analyses ultérieures (Figure 22) (Ghania A et Djahra A, 2023).

2.1.2. Rendement de l'extrait des noyaux des dattes

Le rendement des extraits obtenus à partir des noyaux des dattes a été calculé selon la méthode décrite par Chianiti (2015). La formule utilisée est la suivante :

$$(R \%) = (PEB / PMV) \times 100$$

Où :

- **R**: rendement de l'extrait (exprimé en pourcentage).
- **PEB**: poids de l'extrait brut (en grammes).
- **PMV**: poids de la matière végétale initiale (en grammes).

Cette méthode permet d'évaluer l'efficacité du processus d'extraction en comparant la quantité d'extrait obtenu à la quantité de matière végétale utilisée (Chniti et *al.*, 2017).

2.1.3. Analyse de extrait aqueux des noyaux des dattes des palmier *Phoenix dactylifera* L.

2.1.3.1. Criblage phytochimique

Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques des métabolites secondaires dans l'extrait de plante des noyaux des dattes, nous avons réalisé des testes phyto-chimiques spécifiques fondés sur des réactions de coloration, de turbidité ou de précipitations, en utilisant les méthodes décrites dans la littérature.

2.1.3.1.1. Polyphénols

2 mL de l'extrait ont reçu quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 2% (p/v). Le FeCl_3 prend une coloration vert bleuté ou bleu-noirâtre en présence de dérivés des polyphénols (Sankhalkar et Vernekar, 2016).

2.1.3.1.2. Flavonoïdes

Dix gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes de copeaux de magnésium sont ajoutés à 0.5 mL de chaque extrait. La coloration rose-rouge ou jaune, après trois minutes d'incubation à température ambiante, indique la présence des flavonoïdes (Chaouche et *al.*, 2021).

2.1.3.1.3. Tanins

Huit gouttes d'une solution diluée de chlorure ferrique à 1 % sont ajoutées à 1 mL de l'extrait. Après quelques minutes d'incubation à température ambiante, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleus noirâtres qui révèle l'existence des tanins galliques (Trease et Evans, 1989).

2.1.3.1.4. Alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 1 mL d'extrait à analyser. Acidifier le milieu avec quelques gouttes d'HCl et ajouter des gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le deuxième tube. L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre par le réactif de Mayer ou rouge orangé à brun pour le réactif Wagner. révèle respectivement la présence d'alcaloïdes (Yang et *al.*, 2021).

2.1.3.1.5. Saponosides

Introduire un volume de 2 mL de l' extrait dans un tube à essai et l'ajuster à 5 mL avec de l'eau distillée. Agiter les tubes pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laisser reposer pendant 20 minutes. La présence de saponines, si la hauteur de la mousse est supérieure à 1 cm (Edeoga et *al.*, 2005).

2.1.3.1.6. Stéroïdes

1 mL de l'extrait a reçu 5 gouttes de H_2SO_4 concentré. La présence de stéroïdes est indiquée par une coloration rouge (Edeoga et *al.*, 2005).

2.1.3.1.7. Anthocyanins

L'extrait aqueux est traité en ajoutant une petite quantité d'acide chlorhydrique, suivie d'une petite quantité d'ammoniac (NH_4OH). En présence d'anthocyanines, la couleur changera et une teinte rouge apparaîtra (Wadood et *al.*, 2013).

2.1.3.1.8. Terpénoïdes

Dans un tube à essai, nous avons mis 5 mL d'extrait de plante avec 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique concentré. Une couleur brun rougeâtre résulte de la présence de terpénoïdes (Harborne, 1998).

2.1.3.1.9. Glycosides cardiotoniques

2 mL de chloroforme ont été mélangés à 1 mL de l'extrait. Ensuite, l'intérieur du tube à essai a été soigneusement additionné de H_2SO_4 . La présence de la partie glycone d'un hétéroside cardiotonique est indiquée par une coloration brun-rougeâtre (Yam et *al.*, 2009).

2.1.4. Quantification des composés phytochimiques

2.1.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Principe

La méthode couramment utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux est celle du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif contient des ions phosphomolybdates et phosphotungstates qui réagissent avec les composés phénoliques. Lorsque ces composés réduisent les ions du réactif en milieu alcalin, une couleur bleue intense est développée. L'intensité de cette couleur, mesurée par spectrophotométrie est proportionnelle à la concentration des composés phénoliques totaux présents dans l'échantillon (Wong et *al.*, 2006).

Mode opératoire

La quantité totale de composés phénoliques a été déterminée à l'aide de la méthode Folin-Ciocalteu. À 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu à 10%, a été ajouté 0.2 mL d'extrait aqueux des noyaux des dattes. L'ajout de 800 µL de carbonate de sodium saturé (Na_2CO_3) (75g/L) a été effectué après 4 minutes. Après 2 heures d'incubation à température ambiante à 25C°, l'absorbance est lue à 725 nm contre un blanc qui contient le méthanol au lieu de l'extrait. Pour garantir que les résultats puissent être reproduits, les tests ont été effectués trois fois (Gil et Rebelo, 2009). À partir de l'équation d'étalonnage linéaire de l'acide gallique utilisé comme standard, la teneur phénolique totale a été calculée en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

2.1.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Principe

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode colorimétrique (Chang C-C et *al.*, 2002; Huang et *al.*, 2018) dont le principe étant la capacité du groupement hydroxyle (OH) libre en position 4 et 5 des flavonoïdes à se complexer au chlorure d'aluminium par chélation de l'ion Al^{3+} formant ainsi un complexe jaunâtre.

Mode opératoire

Nous avons utilisé la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl_3) pour déterminer la teneur totale en flavonoïdes de l'extrait comme suit :

Brièvement. 1 mL de solution d' AlCl_3 est mélangé avec 1 mL d'extrait aqueux des noyaux des dattes, et d'autre part, avec 1 mL de l'étalon. L'absorbance a été mesurée à 430 nm après 30 minutes, par rapport à un blanc de réactif préparé. Afin de déterminer les résultats, une équation de calibration linéaire utilisant la quercétine comme standard a été appliquée. Les résultats ont été exprimés en milligrammes de quercétine par gramme d'extrait (Essou et *al.*, 2017; Melakhessou et *al.*, 2018).

2.1.4.3. Dosage des tanins condensés

Principe

Le dosage des tanins condensés dans l'extrait aqueux des noyaux des dattes est effectué selon la méthode colorimétrique décrite par (Price et *al.*, 1978; Makkar et *al.*, 1993). Le principe est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la

catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm. Cette méthode est caractéristique des groupes phénoliques libres présents dans les tanins, ce qui permet de quantifier leur concentration de manière précise.

Mode opératoire

Dans cette méthode, les tanins condensés réagissent avec la vanilline en présence d'acide chlorhydrique (HCl).

Le niveau de tanins dans l'extrait a été déterminé par spectrophotométrie. La catéchine a été utilisée pour établir la courbe d'étalonnage, 400ul d'extrait aqueux des noyaux du palmier dattier ou stétard, on ajouté 3 mL de solution de vanilline (4 % vanilline dans du méthanol) et 1.5mL en acide chlorhydrique. Après incubation pendant 15 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent la catéchine d'acide gallique par milligramme d'extrait(Broadhurst et Jones, 1978).

2.1.5. Analyse qualitatif et quantitatif par HPLC

À l'aide d'équipements de balayage et de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), les composants actifs ont été découverts. Pour l'investigation des produits chimiques phénoliques dans l'extrait brut, nous avons utilisé un HPLC avec un détecteur UV-Vis de type Shimadzu LC20 AL équipé d'un injecteur universel (Hamilton 25µL), une colonne analytique Shim-pack VP-ODSC18 (4.6mm, 250mm, 5µm), et un détecteur UV-VIS SPD 20A (Shimadzu). Les études de chromatographie en phase inverse ont été réalisées en utilisant des résidus aliphatique non polaires, et la phase mobile était une élution en gradient composée d'une combinaison d'acétonitrile et d'acide acétique (0.1%). Le volume d'injection était de 0.45 µL et le débit était de 1mL/min. La longueur d'onde de surveillance était de 268 nm, et le volume d'injection de l'extrait aqueux des noyaux des dattes l'échantillon et du standard était de 20 µL.

La durée de rétention et l'absorbance UV des différents composés ont été comparées à celles des standards pour les identifier.

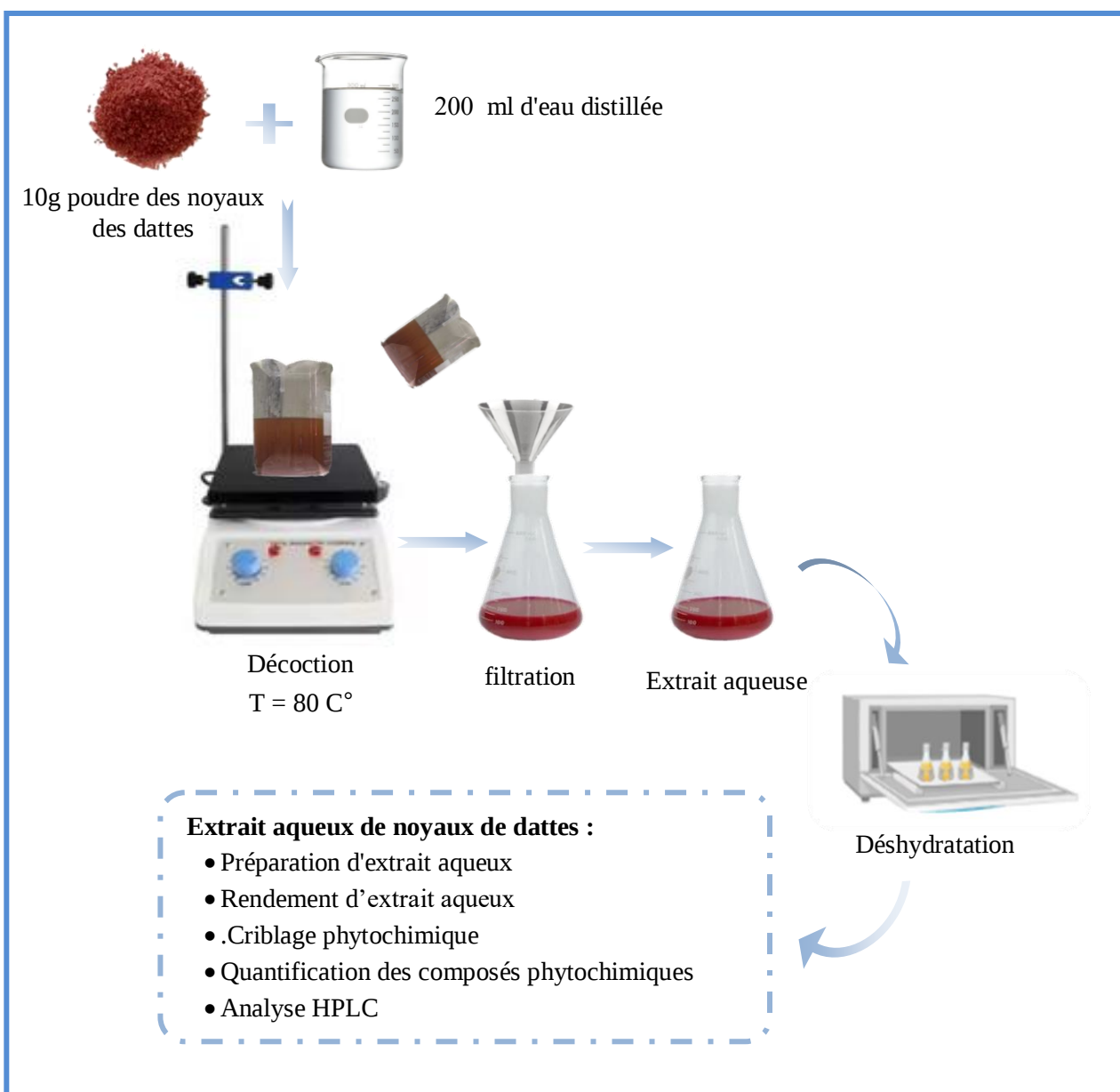


Figure 22: Préparation de l'extrait aqueux des noyaux des dattes

2.2 Biosynthèse des nanoparticules

2.2.1. Biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs)

La biosynthèse des nanoparticules de ZnO a été présentée (Figure 23), en utilisant l'extrait des noyaux des dattes selon le protocole décrit par Upadhyaya et *al.*, avec quelques modifications. Tout d'abord, 2.97 g (Annexe n°1) de nitrate de zinc ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée sous agitation pendant 5 minutes. La solution obtenue a ensuite été mélangée goutte à goutte avec 200 mL de l'extrait des noyaux des dattes sous agitation magnétique (400

rpm) à 60C° pendant 60 minutes et pH=9.87 suivi par un pH mètre. Au cours de cette étape, la couleur du mélange a changé progressivement passant d'un brun-rougeâtre à un Vert clair, indiquant la formation des nanoparticules d'oxyde de zinc.

Les nanoparticules formées ont été recupuré par la centrifugation à une vitesse de 1300 tr/min pendant 10 minutes. Le culot obtenu a été purifié à l'aide de lavages successifs avec de l'eau distillée, suivis de méthanol, puis avec de l'eau distillée pour éliminer toute impureté résiduelle (Barzinjy A A et Azeez H H, 2020). Les nanoparticules purifiées ont ensuite été séchées à 100 C° dans un étuve pendant une nuit. Enfin, une calcination a été réalisée à 550 C° pendant 5 heures, permettant d'obtenir une nanopoudre blanche et homogène d'oxyde de zinc (ZnO NPs) (Ansari M A et Alzohairy M A, 2018).

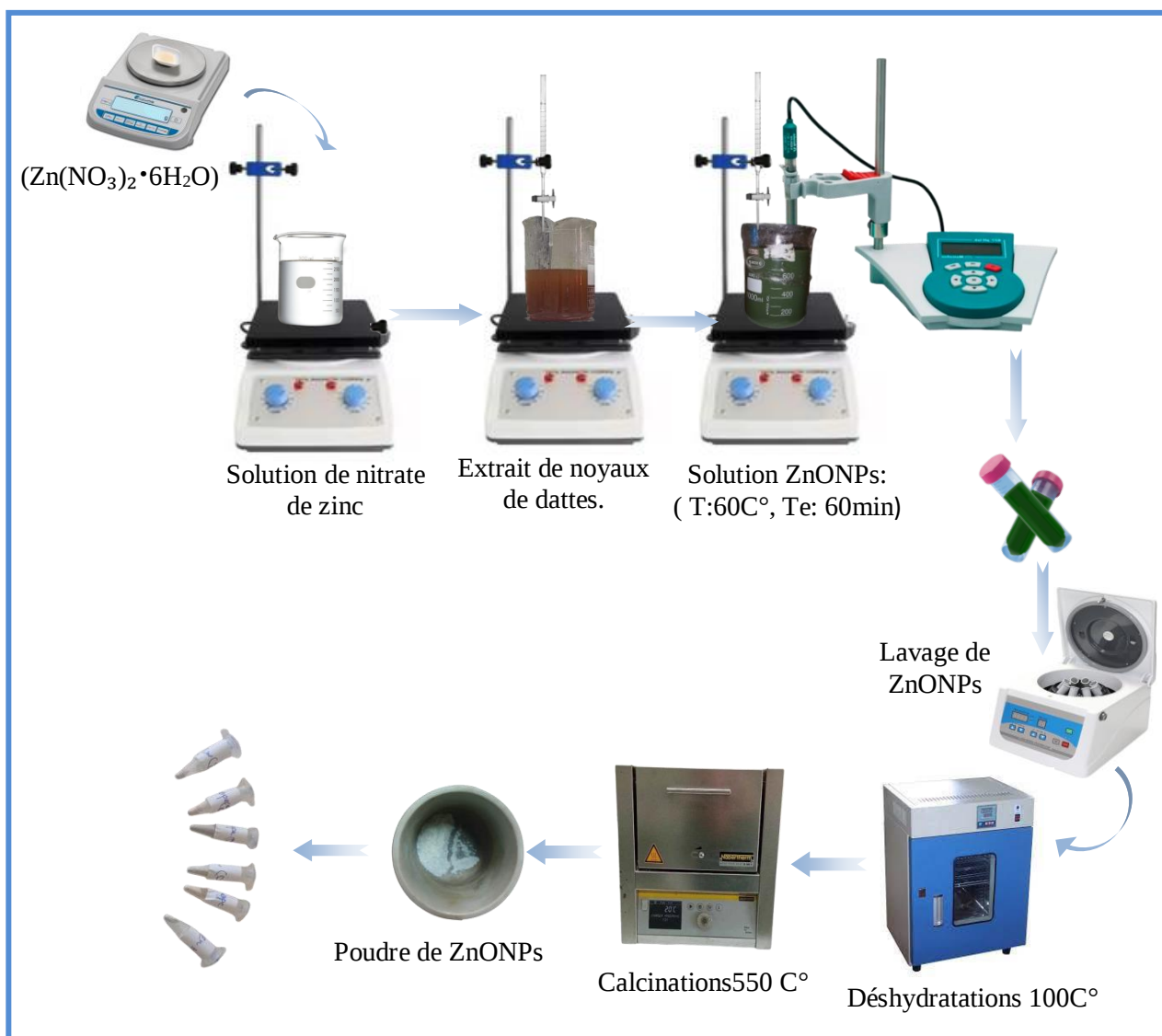


Figure 23 : La biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs)

2.2.2. Biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par le magnésium et l'argent 0.5% (ZnO dopé Mg-AgNPs)

La biosynthèse des nanoparticules de ZnO dopées par magnésium (Mg) et l'argent (Ag), a été réalisée selon le protocole décrit dans (Pradeev Raj K et *al.*, 2018; Naseer H et *al.*, 2023), avec quelques modifications. Tout d'abord, 2.97 g de nitrate de zinc ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée sous agitation pendant 5 minutes. La solution obtenue a ensuite été mélangée goutte à goutte avec 200 mL de l'extrait des noyaux des dattes sous agitation magnétique (400 rpm) à 60 C° pendant 60 minutes. Ce qui a provoqué un changement de couleur du mélange, passant du brun-rougeâtre à Vert clair.

On préparé 43.25 mg de nitrate de magnésium (Annexe 01) (0.5%) $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée sous agitation pendant 5 minutes. Cette solution a été ajoutée goutte à goutte avec la solution précédente (ZnO), sous agitation continue à 60 C° pendant 60 minutes et pH=9.87 suivi par un pH mètre, ce qui a provoqué un changement de couleur du mélange, passant du Vert clair à brun. En suite, une solution de 100 mL de nitrate d'argent (0.5%) AgNO_3 a été préparée en dissolvant 6.42 mg du réactif dans de l'eau distillée (Annexe 01), puis ajoutée au mélange réactionnel sous agitation à 60 C° pendant 60 minutes à l'abri de la lumière. Ce qui a provoqué un changement de couleur du mélange, passant du brun à brun-rougeâtre clair.

Le mélange final a été maintenu à 80 C° sous agitation magnétique (900 rpm) pendant 3 heures et suivi par un pH mètre. La couleur du mélange resté au brun-rougeâtre mais foncé, indiquant la formation des nanoparticules. Les NPs obtenues ont été récupérées par la centrifugation à 1300 rpm pendant 10 minutes. Le culot résultant a été purifié par des lavages successifs à l'eau distillée, au méthanol, puis à l'eau distillée. Les NPs ont été séchées à 100 C° pendant une nuit, puis broyées en poudre. Enfin, une calcination a été effectuée à 550 C° pendant 5 heures pour obtenir une nanopoudre blanche d'oxyde de zinc dopée avec Mg et Ag (Figure 24).

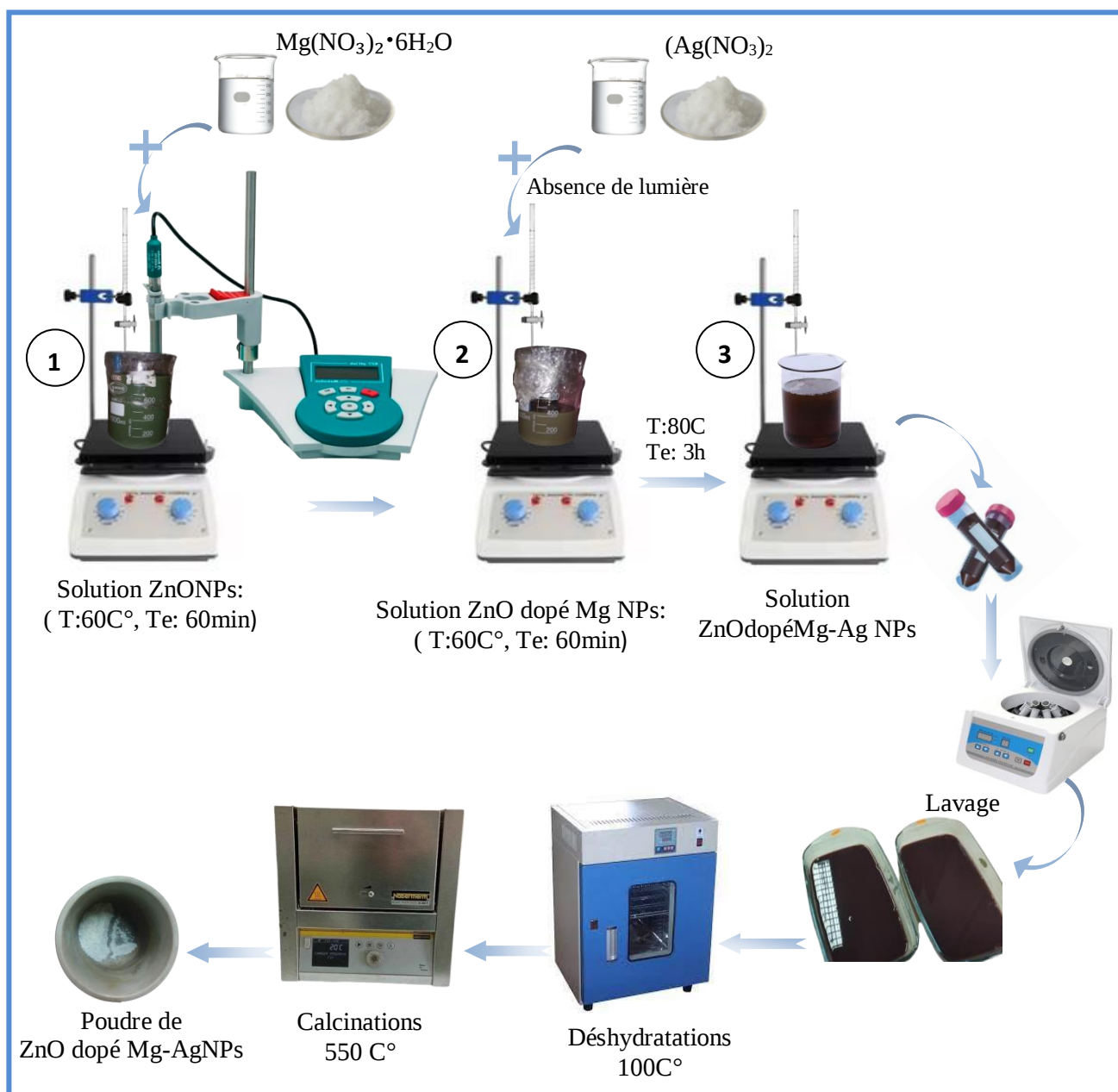


Figure 24: La biosynthèse des nanoparticules ZnO dopées Mg-AgNPs.

2.2.3. Caractérisations des nanoparticules

Les méthodes UV-Vis, FT-IR, XRD, SEM et EDX ont été utilisées pour caractériser les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag.

2.2.3.1. L'analyse de spectrophotométrie UV-visible (UV-Vis)

Principe

Le spectrophotomètre est un appareil qui utilise une source lumineuse pour émettre des radiations polychromatiques dans le domaine UV-Visible et proche de l'infrarouge (200-800 nm).

Ces radiations passent à travers un monochromateur (Nouairia et *al.*, 2013) pour devenir monochromatiques. Le faisceau est ensuite divisé en deux: l'un traverse l'échantillon à analyser, et l'autre traverse un échantillon de référence, les deux faisceaux atteignent ensuite un détecteur, qui convertit la lumière en signal électrique. Ce signal est envoyé à un enregistreur, permettant de tracer des courbes d'absorbance en fonction de la longueur d'onde (Passos et Saraiva, 2019).

Mode opératoire

Les spectres d'absorption UV-Vis des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag ont été enregistrés dans la plage de longueurs d'onde de 200 à 800 nm, avec une résolution spectrale de 1 nm. Les données obtenues ont permis de déterminer les longueurs d'onde correspondant aux pics d'absorption maximale, et les énergies des bandes interdites ont été calculées à l'aide de la équation.

$$E = \frac{hc}{\lambda}$$

Où le h est la constante de Planck, c la vitesse de la lumière, et λ la longueur d'onde au maximum du pic (Akash et *al.*, 2020; Passos et Saraiva, 2019).

2.2.3.2. L'analyse de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Principe

Le spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique analytique qui repose sur l'absorption de la lumière infrarouge par les molécules d'un échantillon. Lorsqu'un faisceau infrarouge traverse l'échantillon, certaines fréquences sont absorbées en fonction des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques présentes. Ces absorptions sont spécifiques à chaque groupe fonctionnel, permettant ainsi leur identification.

Le spectromètre FTIR utilise un interféromètre pour générer un signal modulé, qui est ensuite transformé en spectre d'absorption par un algorithme de transformée de Fourier. Le spectre obtenu montre l'intensité de l'absorption en fonction du nombre d'onde (cm^{-1}), fournissant des informations détaillées sur la composition chimique et la structure moléculaire de l'échantillon (Franca et Oliveira, 2022). Cette technique est largement utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative des matériaux organiques et inorganiques (Franca et Oliveira, 2022; Wenning et Scherer, 2013).

Mode opératoire

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en mode de réflexion diffuse, réalisée avec un appareil Thermo Scientific-Nicolet iS5 à réflexion totale atténuée (ATR), a été utilisée pour détecter les groupes fonctionnels présents dans les nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-AgNPs. Les spectres enregistrés couvraient une plage de 4000 à 400 cm^{-1} , en utilisant la méthode de pastille de KBr (Bromure de potassium).

2.2.3.3. L'analyse de diffraction des rayons X (XRD)

Principe

La diffraction des rayons X (XRD) est une technique analytique puissante utilisée pour étudier la structure cristalline des matériaux (Epp, 2016). Elle repose sur le principe de la loi de Bragg, qui décrit la condition nécessaire pour que les rayons X soient diffractés par les plans atomiques d'un cristal. Lorsqu'un faisceau de rayons X frappe un échantillon cristallin, il est diffracté par les plans atomiques selon des angles spécifiques. Ces angles de diffraction dépendent de la distance entre les plans atomiques et de la longueur d'onde des rayons X (Mobarak et *al.*, 2022).

Mode opératoire

Pour évaluer la cristallinité et les tailles des cristallites des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs synthétisées vertes, une analyse par diffraction des rayons X sur poudre (DRX) a été réalisée à l'aide d'un rayonnement K de cuivre avec un diffractomètre à rayons X (Mini Flex 600 Rigaku; $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$, couvrant la plage angulaire 2θ de $(25^\circ \text{ à } 90^\circ)$. En choisissant le pic principal avec l'intensité la plus élevée, les tailles des cristallites ont été calculées à l'aide de l'équation de Scherrer, et des déplacements des pics ont été observés, confirmant l'intégration des dopants Mg-Ag.

$$D = \frac{k \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta}$$

D: Taille des cristallites en nanomètres (nm).

K: Constante de Scherrer (généralement autour de 0.9).

λ : Longueur d'onde des rayons X utilisés (0.154281 nm, $\text{CuK}\alpha$).

β : Largeur totale à mi-hauteur (FWHM - Full Width at Half Maximum) du pic de diffraction.

θ : Angle de Bragg correspondant au pic de diffraction, en radians (Mobarak et *al.*, 2022).

2.2.3.4. L'analyse de microscope électronique à balayage (SEM)

Principe

Le microscope électronique à balayage (SEM) est un instrument puissant utilisé pour analyser la morphologie et la microstructure des matériaux à l'échelle nanométrique. Contrairement aux microscopes optiques, le SEM utilise un faisceau d'électrons de haute énergie (généralement entre 1 kV et 30 kV) pour balayer la surface de l'échantillon. Lorsque le faisceau d'électrons interagit avec l'échantillon, plusieurs signaux. Ces signaux sont détectés et convertis en images haute résolution, permettant une visualisation détaillée de la surface de l'échantillon. Le SEM offre une profondeur de champ élevée et une résolution spatiale pouvant atteindre 1 nm, ce qui en fait un outil essentiel en science des matériaux, en biologie et en nanotechnologie (Mohammed et Abdullah, 2018).

Mode opératoire

Les nanoparticules (ZnO NPs et ZnO dopées Mg-AgNPs) ont été examinées à l'aide d'un microscope électronique à balayage (SEM) démontrée avec un modèle TESCAN

VEGA3 (USA) à une tension d'accélération de 10 kV à température contrôlée (20 C° à 50 C°). Pour assurer une conductivité optimale et éviter les effets de charge. Des images à haute résolution ont été capturées en mode secondaire (SEI) et en mode rétrodiffusé (BSE) pour analyser la morphologie, la taille et la distribution des nanoparticules.

2.2.3.5. L'analyse spectroscopie de dispersion d'énergie des rayons X (EDAX)

Principe

Le spectroscopie dispersion d'énergie des rayons X (EDAX ou EDS) est une technique analytique utilisée pour déterminer la composition élémentaire d'un échantillon. Elle est souvent couplée à un microscope électronique à balayage (SEM) pour fournir des informations locales sur les éléments présents à la surface de l'échantillon (Hodoroaba, 2020; Schneider, 2011).

Lorsque l'échantillon est bombardé par un faisceau d'électrons de haute énergie, les atomes de l'échantillon sont excités. En retournant à leur état fondamental, ces atomes émettent des rayons X caractéristiques, dont l'énergie est spécifique à chaque élément chimique. Le détecteur EDAX capte ces rayons X et mesure leur énergie, permettant ainsi d'identifier les éléments présents et de quantifier leur concentration relative (Scimeca et *al.*, 2018).

Mode opératoire

La composition élémentaire des nanoparticules (ZnO NPs et ZnO dopées Mg-AgNPs) a été analysée par spectroscopie de dispersion d'énergie des rayons X (EDAX) couplée à un microscope électronique à balayage (SEM). Les échantillons ont été bombardés par un faisceau d'électrons de haute énergie (10 kV) à température contrôlée (20 C° à 50 C°), induisant l'émission de rayons X caractéristiques des éléments présents.

- **Remarque**

L'analyse des données des nanoparticules ont été analysées à l'aide d'Image J pour les calculs SEM et d'Origin Pro (version 2018) pour l'analyse statistique, complétées par l'EDX et le DRX pour une caractérisation détaillée des nanoparticules.

Note : Le Figure 25 recapétule la biosynthèse, caractérisation et les activités biologiques des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag NPs.

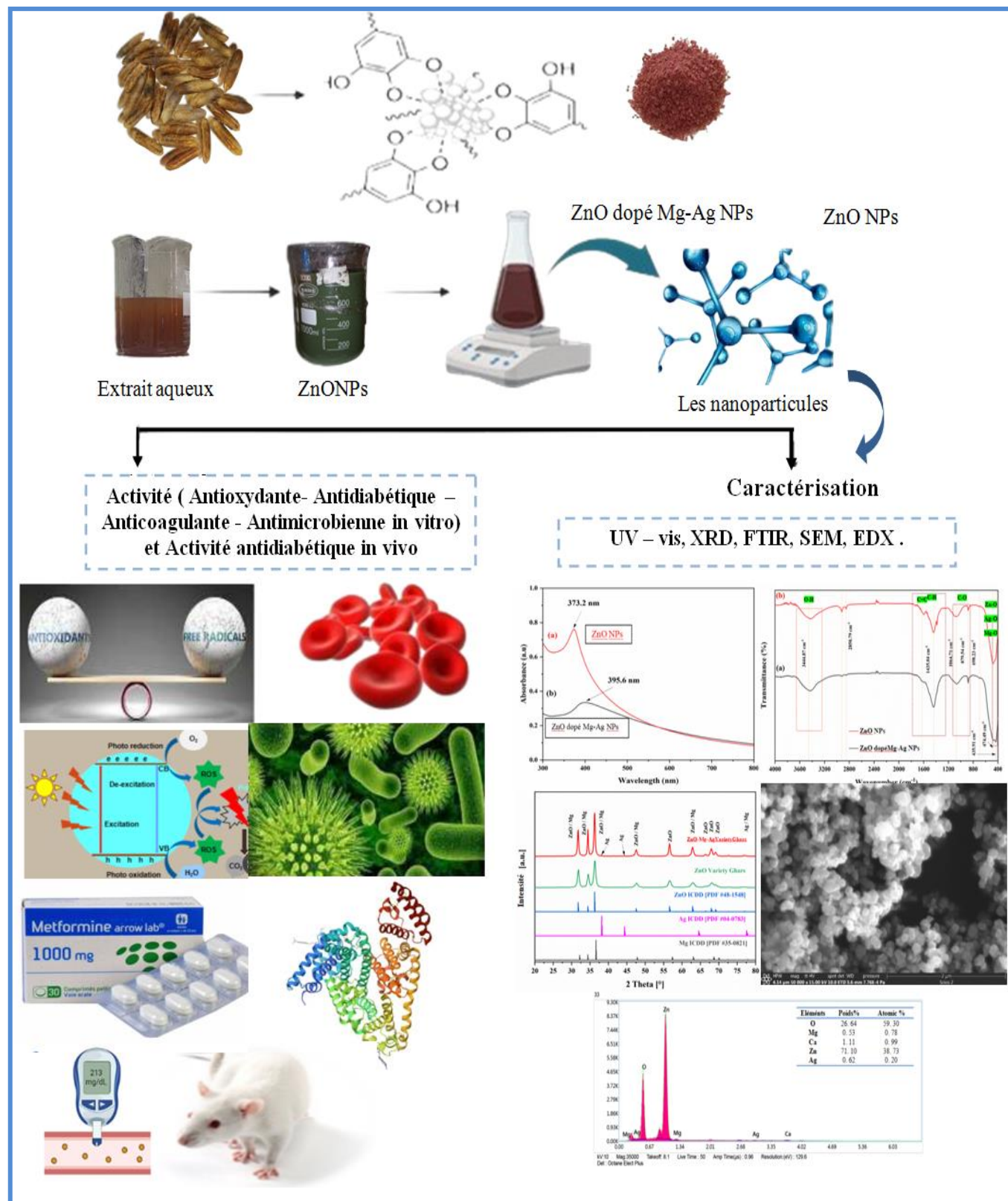


Figure 25: La biosynthèse et caractérisation et les activités biologiques des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag NPs.

2.2.4. Activité *in vitro* des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)

2.2.4.1 Activité antioxydant

2.2.4.1.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH (DPPH)

Principe

L'activité antioxydant du DPPH est basée sur la réduction d'un radical libre très stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH $\cdot$) de couleur violet foncé qui vire au jaunâtre en présence d'un antioxydant donneur (Romulo, 2020; Shahidi et Zhong, 2015). Cette réaction de réduction conduit à la formation de la forme hydrazine en acceptant un atome d'hydrogène correspondante du DPPH-H, qui est de couleur jaune pâle (Camel et *al.*, 2020; Xiao; 2020). La quantité de DPPH-H formée, c'est-à-dire la quantité d'antioxydant ayant réagi avec le radical (DPPH $\cdot$), peut être déterminée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotométrie à une longueur d'onde spécifique, généralement 515 nm (λ_{max} DPPH $\cdot$) (Munteanu et Apetrei, 2021).

Mode opératoire

Le test antioxydant a été réalisé selon la méthode au DPPH décrite par Abdelmadjide et *al.*, (2020). Pour cela, 50 μL de la solution des nanoparticules à différentes concentrations (de 0.0625 à 1 mg.mL^{-1}) sont dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et rester pendant une nuit au solvant, et pour une meilleure dispersion; il faut resté pendant une heure à l'ultrason, ont été mélangés avec 1.95 mL de la solution méthanolique de DPPH (0.025 g/l). En parallèle, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 50 μL de méthanol avec 1.95 mL de la solution méthanolique de DPPH. Un contrôle positif a été réalisé avec une solution d'acide ascorbique à différentes concentrations de (0.01875 à 0.3 mg.mL^{-1}), un antioxydant standard. L'absorbance a été mesurée à 515 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Chaque test a été répété trois fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) selon la formule:

$$I\% = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100.$$

Ac: absorbance du témoin négatif At: absorbance de l'échantillon.

Une courbe des concentrations de l'extrait en fonction du pourcentage d'inhibition (I %) a été tracée afin d'obtenir la valeur de l'IC₅₀, correspondant à la concentration du substrat qui assure la réduction de 50% de l'activité du DPPH.

2.2.4.1.2. L'activité de pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Principe

L'activité antioxydant par FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est une méthode utilisée pour mesurer la capacité antioxydant d'un échantillon. Cette méthode est basée sur le changement de couleur de l'échantillon du vert au bleu selon la puissance de réduction de chaque composé. La présence des réducteurs (antioxydants) provoque la réduction du complexe ferrique-tripyridyltriazine (forme ferrique) en forme ferreux (Sadeer *et al.*, 2020).

Mode opératoire

Le pouvoir réducteur du fer (Fe⁺³) dans les nanoparticules est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu., (1986). Un millilitre des nanoparticules à différentes concentrations (de 0.0625 à 1mg.mL⁻¹) sont dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et rester pendant une nuit au solvant, et pour une meilleure dispersion; il faut resté pendant une heure à l'ultrason, est mélangé avec 2.5 mL d'une solution tampon phosphate 0.2 M (pH 6.6) et 2.5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50 C° pendant 20 min ensuite, 2.5 mL d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2.5mL) de surnageant est combinée avec 2.5 mL d'eau distillée et 0.5mL d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant les nanoparticules par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des nanoparticules testés (Sugahara *et al.*, 2015).

2.2.4.1.3. L'activité de bêta-carotène/Acide linoléique

Principe

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β-carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur orange. Cependant la

présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène.

Dans ce test la capacité antioxydant est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Gul et *al.*, 2015). Ce test vise à mesurer la capacité des nanoparticules à prévenir l'oxydation en protégeant le β -carotène des dommages oxydatifs résultant de l'oxydation de l'acide linoléique. La méthode repose sur la mesure de la persistance de la couleur orange du β -carotène au cours du temps, l'oxydation faisant disparaître cette couleur.

Mode opératoire

Le test du β -carotène/acide linoléique a été réalisé selon la méthode décrite par Kelen et Bektas (Kelen et Tepe, 2008; Merghem et *al.*, 2022), avec quelques modifications telles que l'utilisation de Tween 80 au lieu de Tween 40. Pour ce faire, 2 mg de β -carotène ont été dissous dans 1 mL de chloroforme, puis la solution obtenue a été ajoutée à un ballon contenant 2 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 80. Après évaporation du chloroforme sous vide à 40 C°, 100 mL d'eau distillée saturée en oxygène (pendant 30 min) ont été ajoutés avec agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution, 2.5 mL ont été transférés dans un tube contenant 350 μ L des nanoparticules à une concentration de 1 mg.mL⁻¹. Ce système d'émulsion a été incubé pendant 48 heures à l'obscurité, en répétant le même processus pour l'antioxydant synthétique, l'hydroxytoluènebutylé (BHT), à une concentration de 1 mg.mL⁻¹. L'absorbance a été mesurée à 490 nm et (%) d'inhibition d'oxydation du β -carotène a été calculée selon la formule suivante :

$$(\%) \text{inhibition} = (A \text{ échantillon} / A \text{ BHT}) \times 100$$

Où:

A échantillon: représente l'absorbance en présence des nanoparticules après 48 heures.

A BHT: représente l'absorbance du BHT après 48 heures.

2.2.4.1.4. L'activité anti-hémolytique par peroxy de d'hydrogène (H₂O₂)

Principe

Le test d'anti-hémolyse *in vitro* est une méthode couramment utilisée pour évaluer la capacité d'un composé à protéger les érythrocytes (globules rouges) contre la destruction (hémolyse) induite par divers agents, telles que le milieu hypotonique, l'utilisation de

perturbateurs membranaires comme les espèces réactives oxygénées, les températures élevées. Tous ces facteurs, provoquent une rupture de la membrane cytoplasmique et par conséquent la libération de l'hémoglobine qui sera alors dosé par spectrophotométrie d'absorbance (Atolaiye et *al.*, 2019; Dima et *al.*, 2017; Goodhead et MacMillan, 2017; Vijayaraghavan et *al.*, 2020). L'évaluation de l'activité anti hémolytique a été réalisée par mesure du pourcentage d'hémolyse (Okoko et Ere, 2012).

L'activité anti-hémolytique des nanoparticules été évaluée par la capacité de ces nanoparticules à stabiliser la membrane des globules rouges vis-à-vis de l'attaque du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

- **Préparation de la suspension d'érythrocytes**

La suspension érythrocytaire a été préparée suivant les étapes décrites par Saradha et *al.*, (2013).

1. le sang fraîchement prélevé à l'aide d'une seringue graduée a été mis dans des tubes (EDTA) ensuite centrifugé à 3000 trs/min pendant 10 min pour séparer les globules rouges des autres éléments constitutifs du sang.
2. Après élimination du surnageant, le culot a été récupéré et lavé 3 fois avec une solution d'eau physiologique (NaCl) à 0.9% à température ambiante.
3. Chaque lavage consiste en une centrifugation à 3000 trs/min pendant 10 min et une suspension du culot dans l'eau physiologique à 0.9%.
4. Après la dernière centrifugation, le culot est resuspendu à nouveau dans une solution constituée de tampon phosphate salé (PBS) à 0.2M, PH=7.4 pour obtenir une suspension à 4%.

- **Préparation desolution de la quercitine**

Un contrôle positif (quercitine) a été réalisé avec une solution à différentes concentrations (0-0.5-0.25-1mg.mL⁻¹) desont dissous dans méthanol.

- **Préparation des échantillons**

Différentes concentrations des nanoparticules (0.0625-1mg.mL⁻¹)ont été solubilisées dans le DMSO et pour une meilleure dispersion,il faut resté pendant une heure à l'ultrason.

Mode opératoire

Le test permettant de rechercher un effet anti hémolytique des nanoparticules étudiés a été réalisé selon la méthode de Nabavi et *al.*, (2012). Pour obtenir une hémolyse à 100% on a ajouté 2 mL d'H₂O distillé à 2 mL de suspension de RBC.

1. Mettre dans des tubes 1mL des nanoparticules à différentes concentrations (0.0625 – 1mg.mL⁻¹) avec 2 mL de suspension érythrocytaire (4%) puis ajouter 2 mL de tampon phosphate.
2. Incuber les tubes pendant 5min à la température ambiante.
3. Ajouter 0.5 mL de H₂O₂ (3%).

Dans un autre ensemble, la quercétine a été prise comme composé de référence et traitée de la même manière.

4. Centrifuger les tubes à 3000 trs/min pendant 10 min.
5. Récupérer le surnageant.
6. Lire l'absorbance du surnageant de chaque tube à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Rajeshwari et *al.*, 2012).

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante:

$$(\%) \text{Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse} = \left(\frac{\text{Abscontrôle} - \text{Absl'échantillon}}{\text{Abscontrôle}} \right) \times 100$$

Ou: Abs contrôle: Absorbance du contrôle négatif. Abs échantillon: Absorbance l'échantillon.

2.2.4.1.5. L'activité photocatalytique par bleu de méthylène (BM)

Principe

L'activité photocatalytique fait référence à la capacité d'un matériau à activer des réactions chimiques sous l'effet de la lumière. Ce phénomène repose sur l'absorption d'énergie lumineuse, qui provoque l'excitation des électrons dans le matériau, générant des paires électron. Ces espèces réactives peuvent ensuite initier des réactions chimiques, telles que l'oxydation ou la réduction, à la surface du matériau (kazemi et *al.*, 2020). Ce processus est souvent utilisé pour décomposer les polluants (dégradation d'un polluant) ou pour effectuer des réactions chimiques spécifiques. Le bleu de méthylène (BM) est un composé chimique qui est fréquemment utilisé comme indicateur de l'efficacité photocatalytique, notamment parce qu'il est facile à suivre par sa couleur intense qui décolore lorsqu'il est dégradé (Din et *al.*, 2021; Khan et *al.*, 2016).

Mode opératoire

L'activité photocatalytique des nanoparticules a été étudiée dans l'évaluation de la photodégradation du bleu de méthylène (BM) comme composé modèle sous lumière (UVA-110W). Les expériences de photodégradation ont été réalisées à température ambiante, 20 mg des nanoparticules ont été ajoutés à un bécher de 100 mL contenant 50 mL d'une solution aqueuse de BM à Abs = 0.045. Le mélange a été agité pendant 30 minutes afin de bien disperser les nanoparticules dans la solution BM. Les nanoparticules contenant la solution BM ont été conservés à l'obscurité et agités magnétiquement pendant 30 minutes pour atteindre l'équilibre d'adsorption-désorption. Après agitation, 5 mL du mélange initial (temps d'exposition 0 min) ont été prélevés pour mesurer l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. Le mélange restant a ensuite été transféré dans le photoréacteur. Pour déterminer la concentration de BM en:

fonction du temps, l'échantillonnage de la solution irradiée a été effectué à 5, 15, 30, 60 et 120 min, et l'absorbance de ces échantillons a été mesurée à 663 nm.

Le pourcentage de dégradation du colorant BM a été calculé à l'aide de l'équation:

$$(\%) \text{ Dégradation} = (A_0 - A_t) / A_0 \times 100$$

Où A_0 représente l'absorbance de la solution BM avant l'exposition aux rayonnements UV, et A_t représente l'absorbance de la solution au temps t (Nasab et *al.*, 2020; Weldegebrieal et Sibhatu, 2021).

2.2.4.1.6. Anti-diabétique

2.2.4.1.6.1. L'activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase

Principe

L'étude de l'effet inhibiteur des nanoparticules porte sur la détermination de son pouvoir inhibiteur sur l'enzyme α -glucosidase. Le test de détermination du pouvoir inhibiteur sur l'enzyme α -glucosidase est basé sur la mesure de la libération de p-nitrophénol (p-NP) dont l'enzyme catalyse la dégradation du substrat p-nitrophenyl- α -Dglucopyranoside (p-NPG) en α -D-glucopyranoside et en p-nitrophenol (p-NP), un composé jaune absorbe à 405 nm, qui permet d'évaluer l'activité enzymatique de l' α -glucosidase (Doan et *al.*, 2019). En présence d'un inhibiteur, l'activité enzymatique est réduite, entraînant une diminution de la production de p-nitrophénol, ce qui reflète l'efficacité de l'inhibiteur (Chen et *al.*, 2018).

Cette méthode est utilisée pour déterminer la diminution de la capacité d' α -glucosidase à hydrolyser son substrat en présence des nanoparticules biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes (ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs).

Préparation des solutions et des réactifs

- Préparation de la solution d' α -glucosidase: La solution de l'enzyme α -glucosidase 2000 U/l est diluée au 1/1000 dans le tampon PBS.
- Préparation du substrat: Dissoudre 0.5 mg p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (pNPG) dans 1 mL d'eau distillée.
- Préparation de la solution de l'acarbose: Pour préparer une solution de l'acarbose de 100 mM, 50 mg de l'acarbose est dissout dans 774 μ l d'eau distillée. Une gamme de dilution allant de 0.0625 à 5 mg.mL⁻¹ est préparée pour le test d' α - glucosidase.

- Préparation des échantillons

Les nanoparticules (0.0625 - 1 mg.mL⁻¹) sont dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et rester pendant une nuit au solvant, et pour une meilleure dispersion, il faut resté pendant une heure à l'ultrason, il est préparé dans la même gamme de concentration que l'acarbose.

- Solution tampon phosphate: pH = 6.9 avec 6 mM de chlorure de sodium.

Mode opératoire

Pour évaluer l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase, dans un tube sec, ajouter un volume de 500 μ l de la solution de l' α -D glucosidase, et ajouter 100 μ l de l'acarbose pour le contrôle positif, des nanoparticules (0.0625 mg.mL⁻¹ à 1 mg.mL⁻¹) pour le test et de tampon PBS pour le contrôle négatif, puis incubé le mélange pendant 15 min à 37 C°. La réaction enzymatique a été initiée par l'ajout de 100 μ L de la solution du substrat p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (pNPG) à une concentration de 0.5 mg.mL⁻¹. Après une incubation supplémentaire de 20 minutes à 37C°. la réaction a été arrêtée par l'ajout de 1 mL d'une solution alcaline (Na₂CO₃ à 0.2 M), stabilisant ainsi le produit formé. L'intensité de la couleur jaune résultant de la libération de p-nitrophénol a été mesurée spectrophotomètre à 405 nm. (karami et *al.*, 2021; Shareghi et *al.*, 2021).

$$\% \text{Inhibition} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

L'acarbose est utilisé comme un contrôle positif, alors que le milieu réactionnel dépourvu d'inhibiteur (l'acarbose, les nanoparticules) représente le contrôle négatif.

2.2.4.1.6.2. L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase

Principe

L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase a été évaluée par la méthode de l'iode/iodure de potassium (IKI). Cette méthode est basée sur le principe de l'interaction chimique entre l'iode et l'amidon pour former un complexe bleu, permettant de quantifier la présence d'amidon non hydrolysé. Lorsque l'enzyme α -amylase est active, l'amidon (le substrat de l'enzyme) est hydrolysé en libérant des unités de maltose et de glucose. Cependant, en présence d'un inhibiteur, l'iode réagit avec les fragments d'amidon pour former un complexe bleu intense, l'activité de l'alpha-amylase est réduite. (Kazempour-Dizaji et *al.*, 2023; Zengin et *al.*, 2016).

Cette expérience est utilisée pour déterminer la diminution de la capacité de l'enzyme à hydrolyser son substrat en présence des nanoparticules biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes.

Préparation des solutions et des réactifs

- Préparation de la solution d' α -amylase de 5U/l à partir du plasma d'un groupe de patients atteints d'une maladie pancréatite et assurer que se groupe aucune infection virale de (HIV-HBV-HCV). ajouter 10 μ l d' α -amylase 1000U/l à 990 μ l d'eau distillée. Ajouter 500 μ l de cette solution préparée à 500 μ l d'eau distillée à fin d'obtenir une solution d' α -amylase à 5 U/l.
- Préparation du substrat: Dissoudre 1 g d'amidon dans 100 mL d'eau distillée (1%).
- Préparation de la solution de l'acarbose: Pour préparer une solution de l'acarbose de 100mM, 50 mg de l'acarbose est dissout dans 774 μ l d'eau distillée. Une gamme de dilution allant de 1 à 5mg.mL⁻¹ est préparée pour le test d' α -amylase.
- Préparation des échantillons: Les nanoparticules (0.15625 - 5 mg.mL⁻¹) sont dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et rester pendant une nuit au solvant, et pour une meilleure dispersion; il faut resté pendant une heure à l'ultrason, il est préparé dans la même gamme de concentration que l'acarbose.
- Solution tampon phosphate: (pH = 6.9 avec 6 mM de chlorure de sodium).

Mode opératoire :

Les tests d'activité inhibitrice de l' α -amylase a été réalisé selon la méthode à l'iode/iodure de potassium (IKI) Benchikha et *al.*, (2022) avec quelques modifications, comme suit :

25 μ L de solutions des nanoparticules à différentes concentrations ont été ajoutés à 50 μ L de solution d'enzyme α -amylase (5 U/l), et le mélange a été préincubé pendant 10 min à $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Ensuite, la réaction a été initiée par l'ajout de 50 μ L de solution d'amidon (1 %). Après 10 min d'incubation à $37 \pm 1^\circ\text{C}$, la réaction a été arrêtée par l'ajout de 25 μ L de HCl (1 M) et de 100 μ L d'iode-iodure de potassium (IKI), puis l'absorbance a été mesurée à 630 nm.

L'inhibition de l' α -amylase a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$(\%) \text{ Inhibition} = 1 - [(Ac - Ae) - (As - Ab) / (Ac - Ae)]$$

où:

Ac = Absorbance [25 μ L de solvant + 50 μ L de solution tampon + amidon + HCl + IKI].

Ae = Absorbance [25 μ L de solvant + enzyme + amidon + HCl + IKI].

As = Absorbance [extrait + enzyme + amidon + HCl + I KI].

Ab = Absorbance [extrait + 125 μ L de solution tampon + IKI].

L'acarbose est utilisé comme un contrôle positif, alors que le milieu réactionnel dépourvu d'enzyme α -amylase représente le contrôle négatif.

2.2.4.1.6.3. L'activité d'absorption du glucose par les cellules de levure**Principe**

La méthode de la capture du glucose par les cellules de levure *in vitro* est utilisée pour évaluer l'activité antidiabétique d'une substance en mesurant sa capacité à favoriser l'absorption du glucose par les cellules de levure. Ce test a été réalisé selon Cirillo, 1962.

Cette expérience est utilisée pour déterminer la capacité des nanoparticules biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes à favoriser l'absorption du glucose indique une activité antidiabétique.

- Préparation des solutions**

Préparation des cellules de levure

Suspension initiale (1%): La levure de boulangerie commerciale (*Saccharomyces cerevisiae*) a été dissoute dans de l'eau distillée pour préparer une suspension à 1%. La suspension a été conservée toute la nuit à température ambiante (25°C).

Lavage: La suspension (1%) de cellules de levure a été centrifugée à 4 200 tr/min pendant 5 minutes, le culot (cellules) est éliminé, et le surnageant est remis en suspension dans de l'eau distillée. Ce processus est répété jusqu'à obtenir un surnageant clair.

Suspension finale (10%): Exactement 10 parties du surnageant clair sont mélangées à 90 parties d'eau distillée pour obtenir une suspension à 10% (v/v).

Préparation des échantillons:

Les nanoparticules (0.15625 - 5 mg.mL⁻¹) sont dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et rester pendant une nuit au solvant, et pour une meilleure dispersion; il faut resté pendant une heure à l'ultrason. L'Acarbose (5 mg.mL⁻¹) sont dissous dans l'eau distillée, a été utilisé comme médicament standard positif.

Mode opératoire

Différents concentrations des nanoparticules (0.15625 - 5 mg.mL⁻¹) ont été ajoutées à 1mL de solution de glucose (25 Mm) (4g/L) et incubés ensemble pendant 10 min à 37 C°. La réaction a été initiée par addition de 100 µl de la suspension de levure. Chaque tube est mélangé avec le vortex et incubée à 37 C° pendant 30-120-180 min, pendant cette période, les cellules sont exposées à la solution de glucose, et si la substance à tester à une activité antidiabétique, elle peut favoriser l'absorption du glucose par les cellules. Les tubes ont été ensuite centrifugés à 3800tr/min et le glucose dans le surnageant a été dosé en mesurant l'absorbance à 540nm. Le pourcentage d'augmentation de l'absorption du glucose par les cellules de levure a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ d'absorption du glucose} = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillon}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100$$

Où

Abs contrôle correspond à l'absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs sans l'échantillon testé).

Abs échantillon correspond à l'absorbance de l'échantillon testé (Mélange contenant solution des nanoparticules, le glucose et la levure) (Odeyemi et Dewar, 2019; Pitchaipillai et Ponniah, 2016; Thete et Dilip, 2020).

2.2.4.1.7. Activité anticoagulante

2.2.4.1.7.1. Le test de temps de thromboplastine partielle activée (APTT) et le test de Temps de prothrombine (PT)

Principe

Le test de temps de thromboplastine partielle activée (APTT) mesure le temps nécessaire à la formation d'un caillot de fibrine après l'activation des voies intrinsèque et commune de la coagulation, il évalue principalement les facteurs de coagulation XII, XI, IX, VIII, X, V, II (prothrombine) et I (fibrinogène). Le test de Temps de prothrombine (PT) mesure le temps nécessaire à la formation d'un caillot de fibrine après l'activation de la voie extrinsèque de la coagulation, il évalue principalement les facteurs de coagulation VII, X, V, II (prothrombine) et I (fibrinogène) (Mohamed et *al.*, 2022).

Ces tests sont réalisés *in vitro* sur du plasma sanguin prélevé sur un tube citraté, qui empêche la coagulation en chélatant le calcium. L'ajout d'activateurs spécifiques et de réactifs permet de déclencher les cascades de coagulation et de mesurer le temps nécessaire à la formation du caillot (Ebar et *al.*, 2022, Hamza et Abdeen, 2015).

Mode opératoire

Le test de coagulation APTT a été réalisé par la méthode de (Gueboudji et *al.*, 2022). Des échantillons de plasma humain normal citraté (90 μ L) a été mélangé avec 10 μ L d'une solution des nanoparticules à différentes concentrations de (1 à 2.5 mg.mL⁻¹) sont dissous dans NaCl 0.9%, il faut resté pendant une heure à l'ultrason pour une meilleure dispersion, et incubé à 37°C pendant 60 seconde avant l'ajout de 100 μ L de réactif pour le test APTT pré-incubé à 37°C pendant 2 min. Du chlorure de calcium (CaCl₂) préchauffé 100 μ L (0.25mol/L) a ensuite été ajouté et le temps de thromboplastine partielle activée (APTT) a été enregistré comme le temps nécessaire à la formation d'un caillot dans un coagulomètre.

Le test de coagulation PT a été réalisé par la méthode de (Kenza et *al.*, 2020). Des échantillons de plasma humain normal citraté (90 μ L) ont été mélangés à 10 μ L des nanoparticules à différentes concentrations de (1 à 2.5 mg.mL⁻¹) sont dissous dans NaCl 0.9%, il faut resté pendant une heure à l'ultrason pour une meilleure dispersion, et incubé le mélangés à 37 C° pendant 60 seconde avant l'ajout de 200 μ L de réactif pour le test PT pré-incubé à 37 C° pendant 2 min, et le temps de prothrombine (PT) a été enregistré comme le temps nécessaire à la formation d'un caillot. Un contrôle positif a été réalisé avec une solution (Héparin,Aspirine) à

différentes concentrations de (1 à 2.5 mg.mL⁻¹) sont dissous dans NaCl 0.9 %, unanticoagulant standard. Le temps nécessaire à la formation d'un caillot a été mesurée par un coagulomètre. Chaque test a été répété trois fois (Bose et *al.*, 2005).

2.2.4.1.8. Activité antimicrobienne

2.2.4.1.8.1. L'activité de microdilution en bouillon

Protocole de microdilution en bouillon pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag contre diverses bactéries (Gram⁺ et Gram⁻).

Matériel

- Plaque de microtitration en plastique (96 puits).
- Milieu de culture: gélose Mueller-Hinton (MHA) et bouillon Mueller-Hinton (MHB) ajusté en cations.
- Spectrophotomètre pour mesurer la turbidité bactérienne.
- Solution de résazurine (indicateur colorimétrique).
- Nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag, dissoutes dans du DMSO.
- Amoxicilline (1 mg.mL⁻¹) (témoin positif pour Gram⁺).
- Gentamicine (1 mg.mL⁻¹) (témoin positif pour Gram⁻).

Préparation des suspensions bactériennes

- Les bactéries testées sont:
- Gram⁺: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*.
- Gram⁻: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.*, *Klebsiella pneumoniae*.
- Les souches sont cultivées sur MHA, puis inoculées dans MHB.
- La densité bactérienne est ajustée à 0.5 McFarland (1.5×10^8 UFC/mL) à 600 nm (DO₆₀₀) (Qaiyumi S., 2007.).

Préparation de la solution de résazurine

- Dissolution de 337.5 mg de résazurine dans 50 mL d'eau distillée stérile.
- Mélange avec un vortex stérile pendant 1 heure dans l'obscurité.
- Conservation dans un flacon marron pour éviter la dégradation par la lumière.

Préparation des nanoparticules (NPs)

- Dissolution des NPs dans DMSO (concentrations de 0.3125 à 40 mg.mL⁻¹).
- Agitation pendant une nuit dans le solvant.
- Dispersion optimale par ultrason pendant 1 heure.

Préparation et inoculation des plaques de microtitration

- Ajout de 100 µL de solution de nanoparticules dans chaque puits.
- Ajout de 50 µL de suspension bactérienne dans chaque puits.
- Inclusion de témoins :
 - Témoin négatif: sans antibiotique.
 - Témoin positif: amoxicilline pour Gram⁺ et gentamicine pour Gram⁻.

Incubation

- Incubation aérobie à 37 C° pendant 24 heures(Schwalbe, R., L. et *al.*, 2007).

Détermination de la CMI

- Après incubation, ajout de 5 µL de résazurine (6.75 mg.mL⁻¹) dans chaque puits.
- Incubation supplémentaire à 37 C° pendant 4 heures.
- Observation du changement de couleur :
Avant le changement de couleur→ CMI déterminée(Weinstein, M.P., 2018).

Détermination de la CMB

- La concentration la plus faible où aucune croissance bactérienne n'est observée après incubation est la CMB (Wayne, P.,2010).

Ce protocole permet une évaluation rapide et fiable de l'activité antibactérienne des nanoparticules.

2.2.5. Activité *in vivo* des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)

2.2.5.1. Étude de toxicité subaiguë

L'étude de la toxicité subaiguë des nanoparticules de ZnO NPs et de ZnO dopées Mg-Ag NPs a été réalisée selon le protocole décrit dans (Askri D, 2018).

L'expérimentation a été réalisée sur 45 rats albinos de la souche Wistar mâles adultes, pesant entre 156 et 213 g. A été répartis aléatoirement en neuf groupes de cinq rats (n=5) chacun ont été créés comme suit: le groupe 1 (groupe témoin) a reçu de l'eau normale; les groupes 2, 3, 4,5 ont reçu par voie orale à l'aide du gavage (sous forme de suspension aqueuse) des différentes doses (5, 10, 15 et 20 mg/kg/jour) de nanoparticules ZnO NPs pendant 5 jour successives; les groupes 6, 7, 8,9 ont reçu par voie orale de différentes doses (5, 10, 15 et 20 mg/kg/jour) de nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag NPs pendant 5 jour successives. Les signes de toxicité, ont été surveillés pendant 24 h, 72 h, et une période de suivi de 14 jours (Guo Y et *al.*, 2020, Siddiqui S A et *al.*, 2020).

2.2.5.2. Provocation du diabète

Après une nuit de jeûne, le diabète a été induit chez les rats par en une seule dose injection intrapéritonéale d'une solution fraîchement préparée d'alloxane monohydraté à une dose de 150 mg/kg de poids corporel (Usrey E Z. et *al.*, 2020). L'alloxane est dissous dans une solution physiologique (NaCl 0.9%) (Akter et Al-Faruk, 2017). Après l'injection, les bouteilles d'eau ont été remplacées par des bouteilles contenant une solution de glucose à 30% pendant 4 jours, afin de contrôler le niveau de glycémie après l'injection d'alloxane. Après 72 heures de l'injection, le diabète a été confirmé chez les rats en mesurant la glycémie à l'aide d'un glucomètre. Seuls les rats ayant un taux de glucose sanguin ≥ 280 mg/dL ont été considérés comme diabétiques et sélectionnés pour cette expérience (21 jours).

2.2.5.3. Plan expérimental

Après l'induction du diabète, les rats albinos de la souche Wistar mâles ont été répartis aléatoirement en 5 groupes, chaque groupe contenant cinq rats (n=5), comme suit :

- Groupe 01 (Témoins): 5 rats normale (Non diabétiques) nourris avec un régime alimentaire standard et recevait de l'eau pendant 21 jours.
- Groupe 02 (Rats diabétiques): 5 rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire standard et recevait de l'eau pendant 21 jours.

- Groupe 03 (Rats diabétiques + Metformine): 5 rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire standard et traités par voie orale (gavage) avec une dose de 5mg/kg de poids corporel de Metformine pendant 21 jours.
- Groupe 04 (Rats diabétiques + ZnO NPs): 5 rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire standard et traités par voie orale (gavage) avec une dose de 5mg/kg de poids corporel des nanoparticules d'oxyde de zinc pendant 21 jours.
- Groupe 05 (Rats diabétiques + ZnO dopé Mg-Ag NPs): 5 rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire standard et traités par voie orale (gavage) avec une dose de 5mg/kg de poids corporel des nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent pendant 21 jours (Figure 26).
- Nous avons mesuré leur taux de glucose sanguin l'aide d'un glucomètre de type (Vital-Check; TECO Diagnostics, Corée) périodiquement chaque semaine de l'expérience.
- Le poids corporel a été enregistré périodiquement chaque semaines de l'expérience.
- Les nanoparticules ont été administrées sous forme de suspension aqueuse.
- Les animaux diabétiques ont été traités après 72 heures de provocation du diabète (Yadav et *al.*, 2019).

2.2.5.4. Sacrifice et collecte de sang

À la fin de 21 jours de traitement et Après un jeûne de 16 heures, les rats ont été sacrifiés sous anesthésie légère à base de chloroforme de 94 %. Les échantillons de sang ont été recueillis et transférés dans des tubes marqués et numérotés pour chaque rat. Le sérum d'un tubes héparine, obtenu après centrifugation du sang à une vitesse de 2500 tours par minute pendant 10 minutes, pour des analyses biochimiques et enzymatiques, hormonal. Le sang a été transféré aussi dans un tube à essai EDTA pour les analyses hématologiques et analyses l'hémoglobine-glyqué.

2.2.5.5. Préparation des échantillons de tissus

Les animaux sacrifiés ont été disséqués pour le prélèvement de certains organes, puis le foie, le pancréas ont été lavés avec une solution saline normale (NaCl à 0.9%) et placée dans une solution formaldéhyde à 10 % pour un examen histopathologique.

2.2.5.6. Analyse des paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques (Numération Formule Sanguine NFS), ont été déterminés à l'aide de la méthode de Coulter et d'un analyseur hématologique automatique Medonic (Coulter Beckman -USA-).

Le paramètre de l'hémoglobine-glyquée (HbA1c), ont été déterminé à l'aide de la méthode de chromatographie d'échange d'ions haute pressions (HPLC) et d'un analyseur automatisé d'hémoglobine glyquée HLC-723 (l'annexe n°4).

2.2.5.7. Analyse des paramètres biochimiques, enzymatiques, hormonal

Les paramètres analysées sont: Glycémie, Urée, Créatinine, Acide urique et Cholestérol, Triglycéride, Lipoprotéine de haute densité (HDL), Lipoprotéine de basse densité (LDL), Glutamo pyruvate Transaminase (AST), GlutamooxaloacétateTransfèrase (ALT), Phosphatase Alcaline (PAL), Gamma–Glutamyl Transfèrase (GGT), α -amylase et Insuline. L'analyse sont effectuées dans l'automate Modèle (COBAS INTEGR® 400 plus Maurimedis) à des longueurs d'onde spécifiques pour chaque paramètre.

Les détails des méthodes analytiques utilisées pour les analyses biochimiques, enzymatiques, hormonaux sont présentés dans l'annexe n°4.

2.2.5.8. Analyses histologiques des tissus (foie, pancréas)

Une partie de foie et de pancréas ont été prélevés après le sacrifice des rats, puis placés dans un fixateur (formaldéhyde à 10%) jusqu'à la préparation des coupes pour l'analyse. Les échantillons ont été déshydratés dans une série graduée d'éthanol de concentration croissante (60%, 70 %, 80% et 100%), puis lavés au xylène et immergés dans de la paraffine.

À l'aide d'un microtome rotatif Thermo Scientific (Micron HM 325), les blocs de paraffine ont été découpés en couches de 3 à 5 μ m d'épaisseur. Les coupes ont été colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine, puis l'observation histopathologique a été réalisée à l'aide d'un microscope optique.

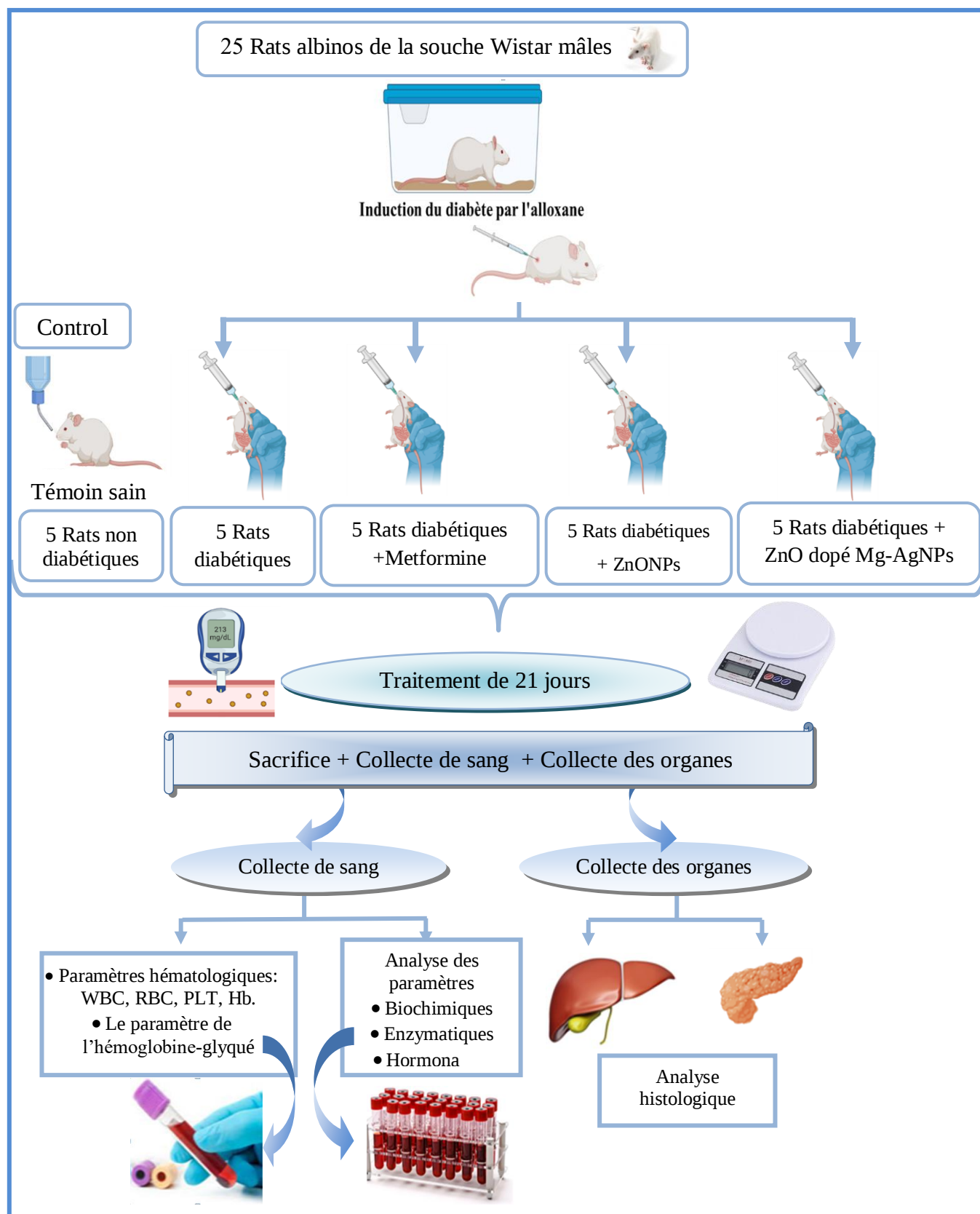


Figure 26: Schéma du protocole expérimental de l'étude *in vivo*.

2.3. Analyse statistique

Toutes les résultats obtenus sont présentés sous forme de Moyenne $\pm$ Écart-Type (Mean $\pm$ ET). Le logiciel statistique SPSS (version 22), a été utilisé pour comparer les moyennes des différents groupes. Une analyse ANOVA à un facteur et suivie du test post hoc HSD de Tukey, teste au seuil de $p = 0.05$ ont été utilisés pour calculer les différences significatives entre les moyennes. À $p \leq 0.05$, les différences étaient considérées comme significatives.

✓Significatif (* ou ^a $p \leq 0.05$).

✓Très significatif par rapport au contrôle (** ou ^b $p \leq 0.01$).

✓Très hautement significatif par rapport au contrôle (***) ou ^c $p \leq 0.001$).

Chapitre II

Résultats

1. Rendement de l'extrait des noyaux des dattes

Les analyses ont montré un rendement d'extraction: 10 ± 0.5 %, obtenu à partir des noyaux des dattes (*Phoenix dactylifera* L., variété *Ghars*). Ce résultat indique une efficacité modérée dans la récupération des composés bioactifs hydrosoluble présents dans cette variété. Les noyaux ont été soumis à une extraction aqueuse optimisée, mais la quantité récupérée suggère que certains composés bioactifs peuvent rester piégés dans la matrice solide. Ce rendement met en évidence le potentiel des noyaux des dattes comme source de biomolécules.

2. Analyse de extrait aqueux des noyaux des dattes des palmier (*Phoenix dactylifera* L.)

2.1. Criblage phytochimique

Les résultats des tests criblage phytochimique révèlent la richesse de l'extrait des noyaux des dattes de la variété *Ghars* en divers constituants actifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les stéroïdes, les glycosides cardiaques, les terpénoïdes confirment une complexité biochimique favorable à diverses interactions biologiques potentielles (Tableau 08).

Tableau 08: Criblage phytochimiques de l'extrait aqueux des noyaux des dattes (*Phoenix dactylifera* L.).

Criblage phytochimique		Présence/Absence
Polyphénols		+++
Flavonoïdes		+++
Tannins	Catéchine	+
	Gallique	+
Alcaloïdes	Mayer	++
	Wagner	++
Saponosides		-
Stérol		++
Glycosides cardiotoniques		++
Anthocyanins		-
Terpenoids		+

(-) Absence de compose, (+) Présence de compose.

2.2. Quantification des composés phytochimiques

Les teneurs totales en phénols, flavonoïdes ont été déterminées à l'aide des équations suivantes basées sur la courbe d'étalonnage (Annexe n°2): pour les phénols totaux: $y = 0.001x + 0.032$, $R^2=0.996$, les flavonoïdes totaux: $y = 0.001x + 0.021$, $R^2 = 0.998$. En ce qui concerne les tanins condensés ils ont été déterminés à l'aide des équations suivantes basées sur la courbe d'étalonnage: les tanins condensés: $y = 0.002x + 0.002$, $R^2 = 0.998$. Les résultats ont été présentés dans le Tableau (09).

Tableau 09: Quantification des composés phytochimiques de l'extrait aqueux des noyaux des dattes (*Phoenix dactylifera* L.).

Les paramètres	L'extrait des noyaux des dattes(<i>Ghars</i>)
phénols totaux	85.8 ± 0.03 (mg de EAG/1g d'extrait)
Flavonoïdes totaux	59.9 ± 0.04 (mg EQ/1g d'extrait)
Tanins condensés	22.95 ± 0.03 (mg E. Cat/1g d'extrait)

EAG: Equivalente de l'acide gallique.EQ :Equivalente de quercitine. E. Cat: Equivalente de catichine.

2.3. Analyse qualitative et quantitatif de l'extrait aqueux des noyaux des dattes par HPLC

L'analyse chromatographique des composés phénoliques de l'extrait aqueux des noyaux des dattes de *Phoenix dactylifera* L. réalisée par HPLC a permis d'identifier et de quantifier plusieurs composés bioactifs, comme le montre la (Figure 27) (Tableau10). Parmi les composés détectés, la salicine se distingue largement comme étant le composé le plus abondant avec une concentration de (6949.30 µg/g d'extrait). D'autres composés une teneur modérée, tels que le pyrocatechol (206.56µg/g Ex) et l'esculine (207.34µg/gEx), avec une concentration de (132.71µg/g Ex) Pyrogallol, et l'acide ascorbique (126.29 µg/g Ex). En outre, des concentrations notables d'acide caféique (431.74 µg/g Ex) et de catéchine (155.06 µg/g Ex) sont observées. Toute fois, certains composés phénoliques des quantités traces, tels que l'acide salicylique et la quercétine, Acide cinnamique, ont été détectées dans l'extrait aqueux des noyaux des dattes(*Phoenix dactylifera* L.).

Tableau 10: Temps de rétention et concentration des composés phénoliques identifiés dans l'extrait aqueux des noyaux des dattes (*Phoenix dactylifera* L.).

Composé phénolique	Temps de rétention (min)	Conc. (µg/g d'extrait)
Acide ascorbique	2.469	126.292238
Pyrocatechol	3.790	206.563057
Pyrogallol	5.406	132.713702
Salicine	6.764	6949.30106
Esculine	7.302	207.344264
Acide chlorogénique	8.810	58.8684831
Catéchine	9.134	155.059758
Caféine	9.679	70.3740935
Acide vanillique	11.239	9.69931396
Rutine	13.471	ND
Vanilline	14.592	ND
Acide caféique	17.314	431.744965
Acide salicylique	19.581	ND
Quercétine	21.425	ND
Acide cinnamique	23.545	ND

Conc: concentration, ND: non détecté

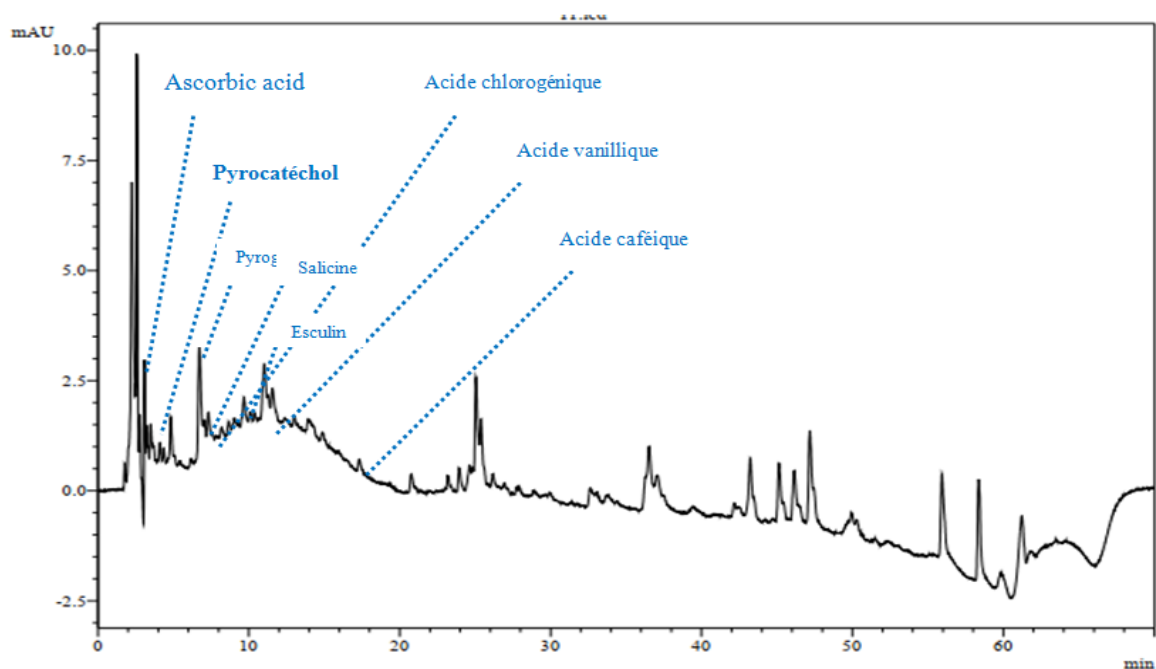


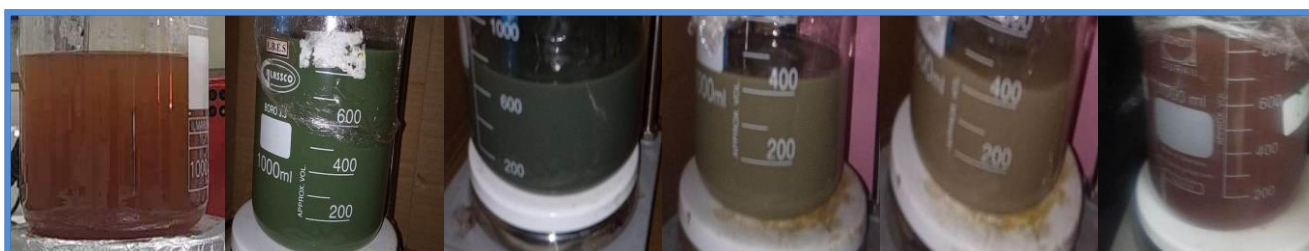
Figure 27: Chromatogrammes HPLC de l'extrait aqueux des noyaux des dattes (*Phoenix dactylifera* L.).

3. Biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)

Dans la présente étude, des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées Mg-Ag NPs, ont été synthétisées à base de l'extrait brute des noyaux des dattes de variété *Ghars* (*Phoenix dactylifera* L.), on ajoute une solution de nitrate de zinc, pour la synthèse d'oxyde de zinc (ZnO NPs), et le nitrate de magnésium et nitrate d'argent utilisée comme des précurseurs de sel métallique, ce qui donne une synthèse verte de ZnO dopé Mg-Ag NPs.

Il a été observé que la couleur de la solution devenait verte ce qui indiquait la formation de nanoparticules d'oxyde de zinc, et après l'ajout de Mg et Ag pour la synthèse d'oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO dopé Mg-Ag NPs).

L'extrait aqueuse des noyaux des dattes n'utilise pas seulement pour réduire les ions Mg^{+} , Ag^{+} , mais a également utilisé comme un agent de stabilisation et de couvrage, la couleur de solution devenait brun foncé après un temps approprié, ce qui indiquait la formation de nanoparticules d'oxyde de zinc dopées Mg-Ag (Figure 28).



Extrait aqueuse

ZnO NPs

ZnO dopé Mg-Ag NPs

Figure 28: La solution aqueuse d'oxyde de zinc et l'oxyde de zinc dopé Mg-Ag à partir de l'extrait des noyaux des dattes (*Phoenix dactylifera* L.).

3.1. Caractérisations des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)

3.1.1. L'analyse de spectrophotométrie UV-visible (UV-Vis)

Les spectres d'absorption UV-Vis des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et des nanoparticules de ZnO dopées par le magnésium (Mg) et l'argent (Ag) (ZnO dopé Mg-Ag NPs) (Figure 29) ont été enregistrés pour examiner leurs transitions électroniques et l'influence des dopants sur leurs propriétés optiques. Le spectre correspondant aux ZnO NPs (a) révèle un pic d'absorption distinct à une longueur d'onde de 373.2 nm. En revanche, le spectre des ZnO dopé Mg-Ag NPs (b) montre un décalage notable vers une longueur d'onde plus longue (395.6 nm).

Ce décalage spectral, associé à une modification de la structure électronique induite par le dopage, met en évidence une réduction de l'énergie de la bande interdite.

L'intensité du pic d'absorption est plus élevée pour les ZnO NPs que pour les ZnO dopées Mg-Ag NPs, ce qui reflète des différences potentielles dans la densité des états ou les propriétés de transition électronique.

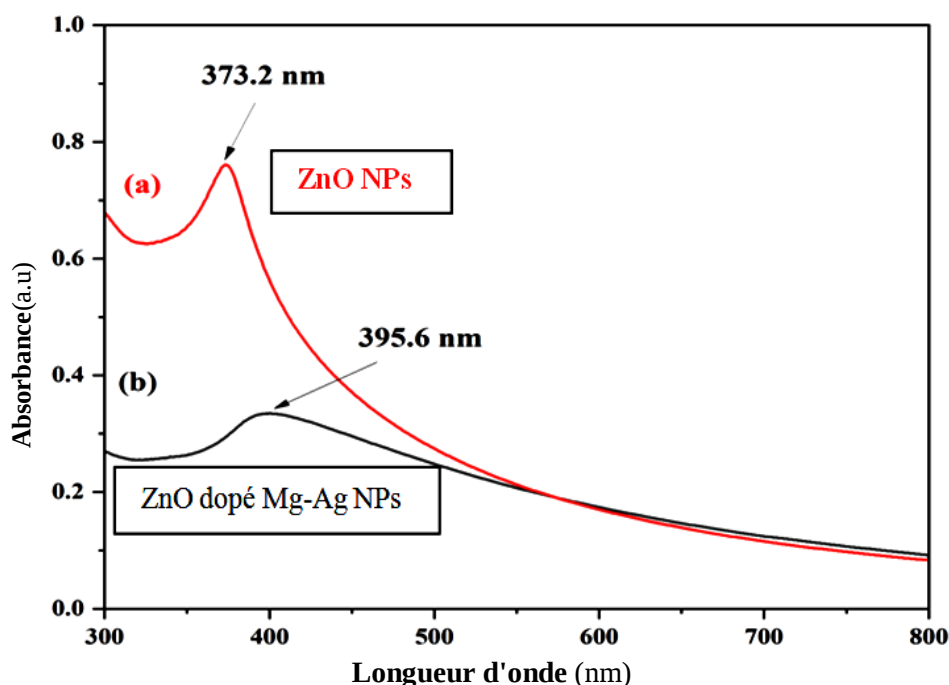


Figure 29: Les spectres d'absorption UV-Vis des ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs.

3.1.2. L'analyse de spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Le spectre FTIR présenté illustre les caractéristiques vibrationnelles des ZnO NPs (a) et des ZnO dopé Mg-Ag NPs (b), mettant en évidence des différences importantes dues au dopage avec Mg et Ag (Figure 30).

Dans le spectre des ZnO NPs (a), les bandes d'absorption principales incluent une large bande autour de 3444.87 cm^{-1} , correspondant aux vibrations de liaisons O-H, suggérant la présence des groupes hydroxyles. Une autre bande notable est située à 474.6 cm^{-1} et 482.2 cm^{-1} , attribuée aux vibrations de réseau ZnO, des pics d'absorption à 871.8 cm^{-1} et 1049.3 cm^{-1} ont été attribués respectivement aux vibrations de flexion C-C et aux vibrations d'étirement C-O. De plus, un pic à 1608.6 cm^{-1} correspond aux vibrations d'étirement C=C. Enfin le pic à 2850.79 cm^{-1} est associé aux vibrations de flexion C-H caractéristiques des nanoparticules de ZnO.

Dans le spectre des ZnO dopé Mg-Ag NPs (b), les modifications sont évidentes, la bande à $(3444.87, 2850.97 \text{ cm}^{-1})$ reste présente mais avec une intensité réduite, indiquant une diminution des groupes hydroxyles. Une nouvelle bande apparaît à 1342.5 cm^{-1} , associée aux vibrations des liaisons C-C, probablement dues à des interactions avec les dopants magnésium et argent ou à des résidus organiques, autre pic à 1435.04 cm^{-1} correspond aux vibrations d'étirement C-O, confirmant encore la présence de composants organiques. De plus, la bande autour de 435.91 cm^{-1} est légèrement modifiée, ce qui peut être lié à des changements dans la structure cristalline ou aux interactions entre Zn-O, Mg-O et Ag-O.

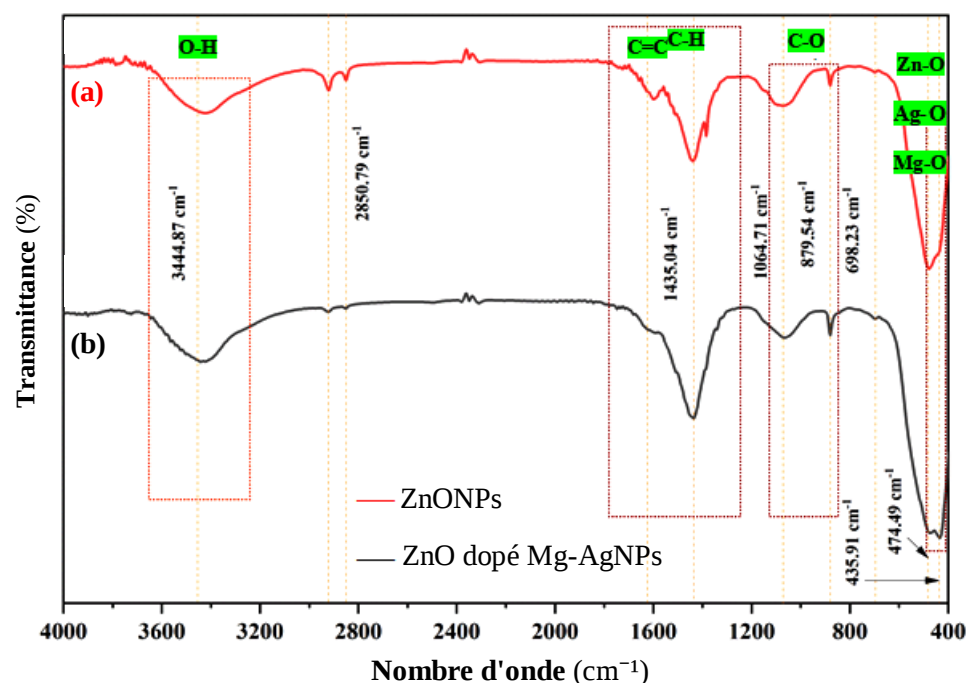


Figure 30: Le spectre FTIR des ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs.

3.1.3. L'analyse de diffraction des rayons X (XRD)

Le diagramme de diffraction des rayons X (DRX) montre les caractéristiques cristallines des ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs.

Le diagramme des ZnO NPs (en vert), les pics principaux correspondent à la phase hexagonale wurtzite du ZnO, conformément aux données de référence ICDD [PDF #48-1548]. Ces pics sont bien définis, ce qui reflète une bonne cristallinité des nanoparticules de ZnO. En revanche le diagramme des ZnO dopées Mg-Ag NPs (en rouge), les pics caractéristiques du ZnO (en vert) sont toujours présents, mais on observe de nouveaux pics correspondant au Mg et à l'Ag, comme indiqué par les données de référence ICDD pour le magnésium (Mg) [PDF #35-0821] et

l'argent (Ag) [PDF # 04-0783]. Ces nouveaux pics indiquent l'incorporation réussie de magnésium (Mg) et argent (Ag) dans la structure cristalline des nanoparticules. De plus, certains pics du ZnO subissent des décalages et des variations d'intensité, suggérant une perturbation de la structure cristalline due au dopage (Figure 31).

Le modèle de DRX comparatif des ZnO NPs (en rouge) et des ZnO dopées Mg-Ag NPs (en noir) met en évidence des changements subtils mais significatifs dans les caractéristiques cristallines après le dopage avec magnésium et argent (Figure 32). Les 2 nanoparticules montrent des pic le plus intense situé aux positions 2θ de 31.84° , 34.51° et 36.31° , caractéristiques de la phase wurtzite du ZnO. Cependant, dans le cas des ZnO dopées Mg-Ag NPs, on observe à $2\theta = 38.18^\circ$ et 44.38° , une légère augmentation de l'intensité des pics, suggérant une meilleure cristallinité ou un effet synergique dû à la présence des dopants. De plus, un décalage léger vers des angles 2θ plus faibles est visible d'environ 0.1001 dans certains pics des ZnO dopée avec 0.5% de Mg et 0.5 % d'Ag NPs, ce qui peut indiquer une modification de la maille cristalline causée par l'incorporation des ions Mg^{2+} et Ag^+ dans la structure du ZnO. Cela pourrait refléter une expansion du réseau cristallin en raison des différences de taille ionique entre les dopants ($Mg^{2+}Ag^+$) et le Zn^{2+} .

Les tailles moyennes des cristaux ont été déterminées par l'équation de Scherrer, ils étaient de 12.8 ± 0.1 nm pour les cristallines de ZnO et de 22.0 ± 0.1 nm pour les cristalline de ZnO dopées Mg-Ag.

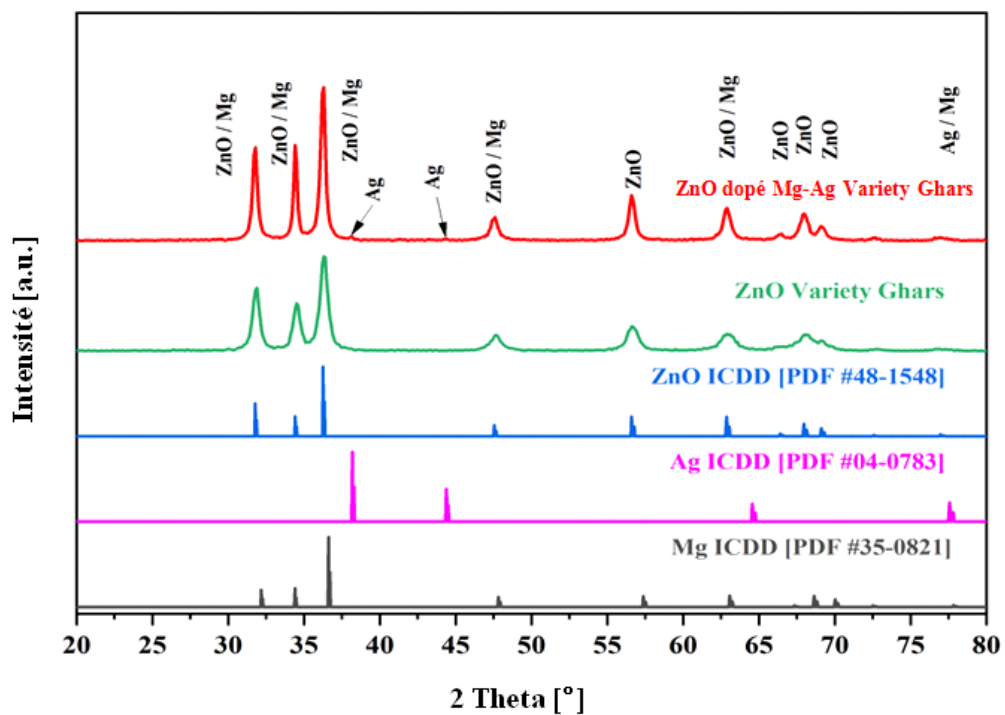


Figure 31: Les diagrammes de DRX des ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs.

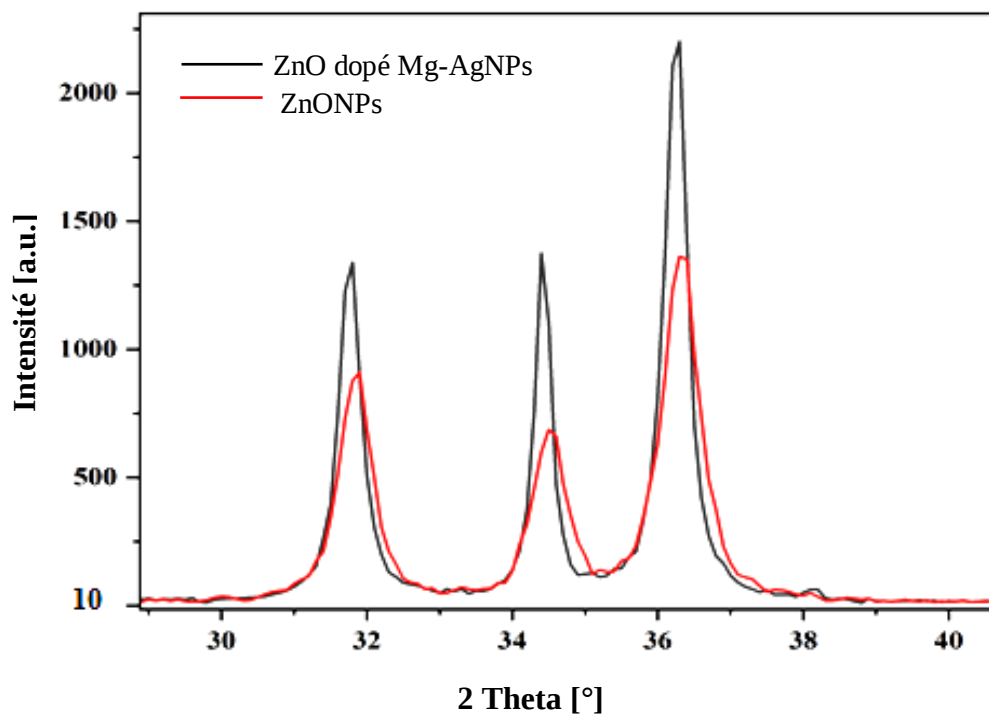


Figure 32: Le modèle de DRX comparatif ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs.

3.1.4. L'analyse de microscope électronique à balayage (SEM)

Les images SEM (a et b, C) et les histogramme associé (1 et 2, 3), illustrant les distributions de morphologie et de taille estimé des particules du ZnO NPs synthétisées (Figure 33).

ZnO NPs (a, b, c): L'image SEM montre des nanoparticules de morphologie Sub-sphérique avec une bonne dispersion. La distribution de taille indique une taille moyenne de 73nm, 64.17nm, 48.82 nm avec l'agrandissement suivante 500 nm, 1 μ m, 2 μ m respectivement. Ces résultats soulignent des taille relativement homogène pour les ZnO NPs, reflétant une cristallisation uniforme.

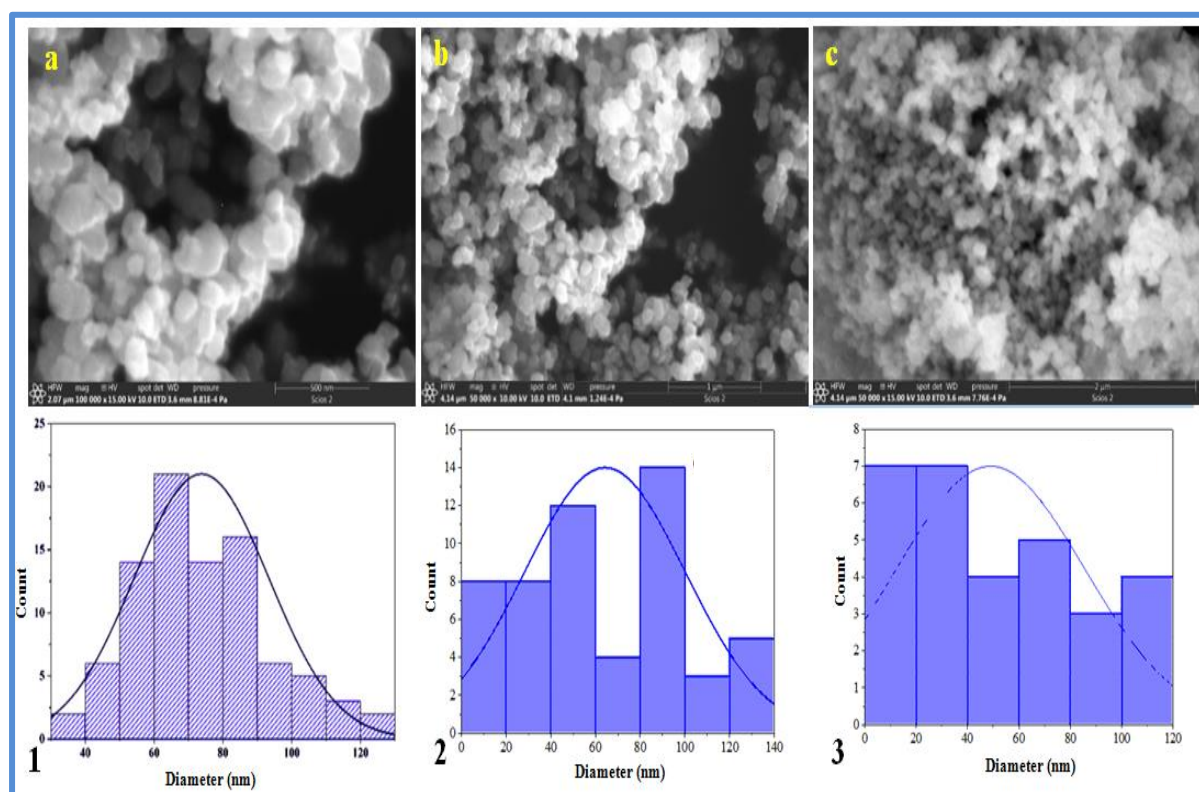


Figure 33: Les images SEM (a:500nm) et (b: 1 μ m), (c:2 μ m) et les histogramme (1 et 2, 3), des taille de ZnO NPs

Les images SEM (d, e, f) et l'histogramme associé (4, 5, 6), illustrant les distributions de morphologie et de taille estimé des particules des ZnO dopées Mg-Ag NPs synthétisées (Figure 34).

ZnO dopé Mg-Ag NPs (d, e, f): Les nanoparticules dopées par magnésium et l'argent présentent une augmentation significative de la taille moyenne, atteignant environ 58.50 nm, 77.11 nm, 107.40 nm avec l'agrandissement suivante 2 μm , 1 μm , 500 nm. L'image SEM montre des nanoparticules de morphologie Sub-sphérique.

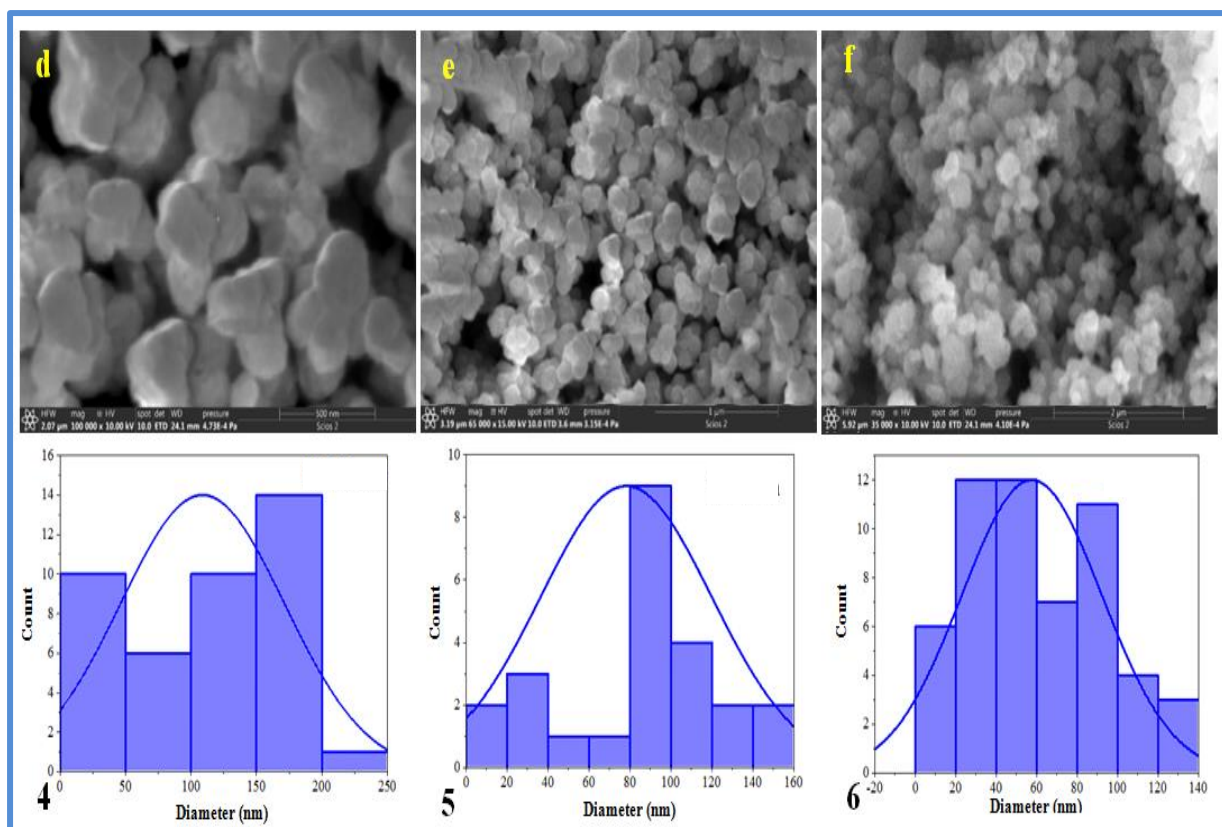


Figure 34: Les images SEM (d :500 nm) et (e: 1 μm), (f: 2 μm) et les histogramme (4 et 5, 6), des taille de ZnO dopé Mg-Ag NPs.

3.1.5. L'analyse spectroscopie de dispersion d'énergie des rayons X (EDAX)

Les résultats d'analyse EDAX présentés dans la Figure 35 a indiquent que les nanoparticules de ZnO sont composées majoritairement de zinc (Zn), représentant 71.07 % en poids et 38.28 % en pourcentage atomique, et d'oxygène (O) est également présent à hauteur de 27.46 % en poids et 60.43 % en pourcentage atomique, confirmant la structure basique d'oxyde de zinc. En outre, une faible quantités de calcium (Ca), correspondant à 1.47 % en poids et 1.29% en pourcentage atomique, ont été détectées. Cette composition élémentaire est en accord avec la composition attendue de ZnO, confirmant ainsi la pureté des nanoparticules synthétisées.

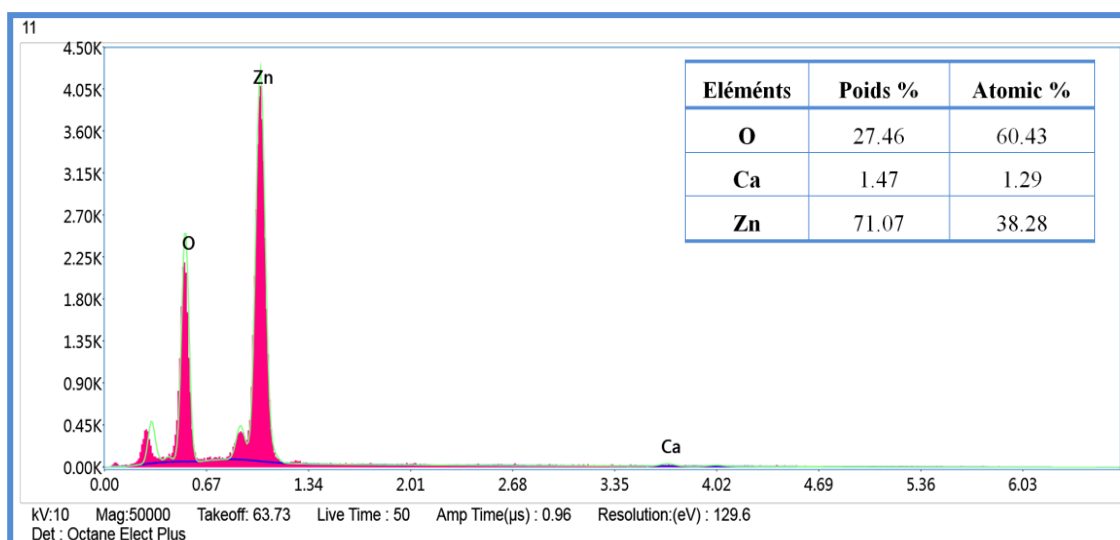


Figure 35: Le spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie des ZnO NPs.

Les résultats d'analyse EDAX présentés dans la Figure 36 a indiquent que des nanoparticules de ZnO dopées par Mg et Ag. Les données montrent que nanoparticules de ZnO dopées Mg -Ag est principalement constitué d'oxygène (O), représentant 26.64 % en poids, suivi de zinc (Zn) à pic de 70.10 %. Par ailleurs, la présence d'argent (Ag) est détectée à 0.62 %, tandis qu'une faible proportion de magnésium (Mg) est observée, correspondant à 1.63 %. De faibles quantités de calcium (Ca), correspondant à 1.11 % en poids. Ces résultats confirment l'intégration réussie des dopants Mg et Ag dans les nanoparticules de ZnO, comme en témoignent les variations significatives de la composition élémentaire par rapport au ZnO non dopé, apportant ainsi une meilleure compréhension de la structure chimique du matériau synthétisé.

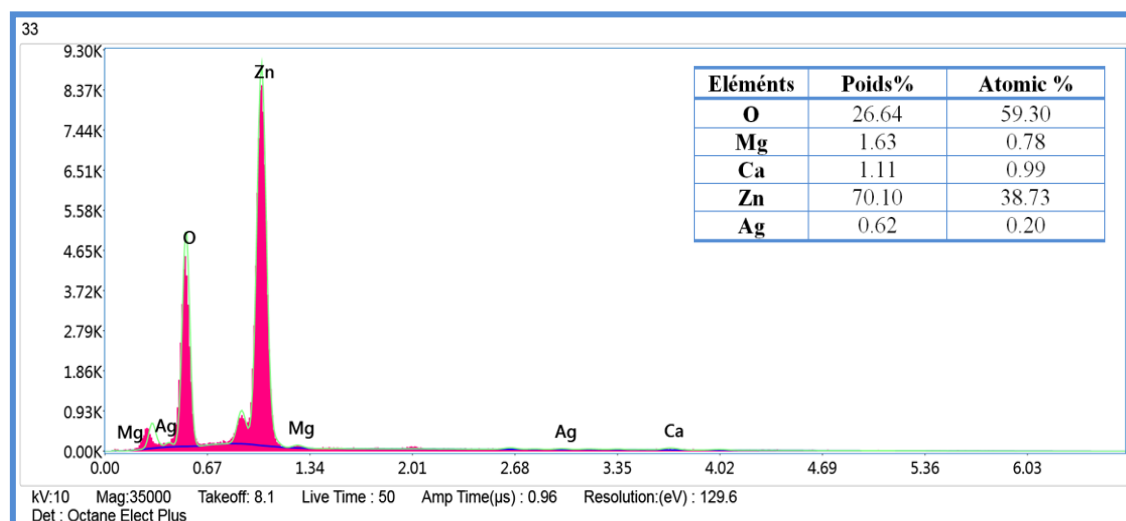


Figure 36: Le spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie des ZnO dopé Mg-Ag NPs

4. Activité *in vitro* des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)

4.1. Activité antioxydant

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des nanoparticules, la plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Dans cette étude, on a utilisé différents tests chimiques à savoir, le test de pouvoir réducteur/antioxydant ferrique (FRAP), qui mesure le pouvoir réducteur des ions ferreux, l'effet piègeur sur le radical 2, 2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Annexen°3) et test de blanchiment du β -carotène, antihymolyse (Annexe n°3), et test photocatalytique.

4.1.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH (DPPH) et pouvoir réducteur du fer (FRAP)

4.1.1.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH

Le test nécessaires pour réduire de 50 % le radical DPPH par des nanoparticules testés et de l'acide ascorbique sont présentés dans le (Tableau 11).

Les nanoparticules de ZnO présentent une valeur $IC_{50} = 4.93 \pm 0.016 \text{ mg.mL}^{-1}$, est élevée indiquant une activité antiradicalaire plus faible. En revanche, les nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag montrent une concentration médiane inhibitrice $IC_{50} = 3.84 \pm 0.033 \text{ mg.mL}^{-1}$. ce qui reflète une activité antioxydante faible. En comparaison, l'acide ascorbique, utilisé comme standard positif, affiche une IC_{50} de $0.144 \pm 0.002 \text{ mg.mL}^{-1}$, soulignant une activité antioxydante significativement supérieure à celle des nanoparticules étudiées. Ces différences remarquées illustrent la supériorité de l'acide ascorbique comme antioxydant de référence, tandis que les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag montrent une différence très hautement significative ($p < 0.001$).

4.1.1.2. L'activité de pouvoir réducteur du fer

Les résultats de l'activité antioxydante évaluée par la méthode FRAP (Pouvoir antioxydant réducteur de fer), le Tableau (11) montrent des différences entre les nanoparticules étudiées.

Les nanoparticules de ZnO affichent de valeur EC_{50} ($0.84 \pm 0.114 \text{ mg.mL}^{-1}$). En revanche, les nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag présentent de valeur approche EC_{50} ($0.79 \pm 0.026 \text{ mg.mL}^{-1}$). En comparaison, l'acide ascorbique, utilisé comme standard positif, présente de valeur beaucoup plus faibles EC_{50} ($0.18 \pm 0.051 \text{ mg.mL}^{-1}$), confirmant son activité antioxydante

significativement supérieure par rapport aux deux types des nanoparticules. Ces différences remarquées illustrent la supériorité de l'acide ascorbique comme antioxydant de référence, tandis que les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag et montrent une différence très significative ($p < 0.01$).

Tableau 11: L'activité antioxydante des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs par les méthodes DPPH, FRAP.

Nanoparticules/standard	Activité antioxydant	
	EC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)
	FRAP	DPPH
ZnO NPs	0.84 ± 0.114 ^b	4.93 ± 0.016 ^c
ZnO dopé Mg-Ag NPs	0.79 ± 0.026 ^b	3.84 ± 0.033 ^c
Acide ascorbique	0.184±0.051	0.144 ± 0.002

IC₅₀: Concentration médiane inhibitrice 50%, EC₅₀: Concentration médiane efficace 50%.

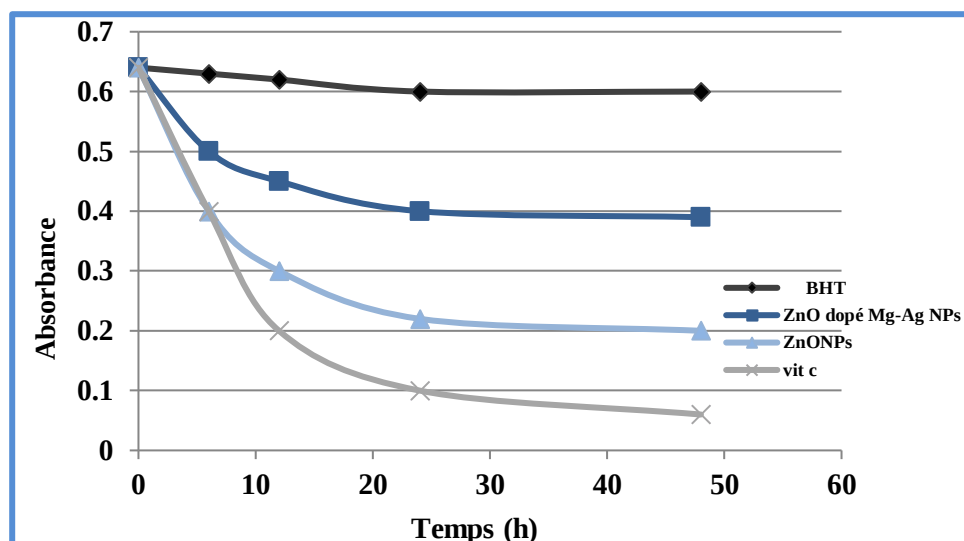
b-c: significiestest post hoc HSD de Tukey ($p < 0.05$).

4.1.2. L'activité de bêta-carotène/Acide linoléique

La méthode β -carotène/Acide linoléique a été utilisée pour évaluer la capacité des nanoparticules à protéger le bêta-carotène de l'oxydation par les radicaux libres générés lors de la peroxydation de l'acide linoléique.

L'activité antioxydante des différents échantillons, évaluée par la méthode β -carotène/Acide linoléique, montre une diminution de l'absorbance au fil du temps (Figure 37).

Initialement, (t = 0) heure, les valeurs d'absorbance sont identiques pour tous les échantillons (ZnO dopé Mg-Ag NPs, ZnO NPs, vit C) et BHT (standard positif) avec une valeur de DO = 0.64 indiquant densité optique de départ, cependant, après 48 heures, on remarque des différences apparaissent entre les échantillons; le BHT se distingue par sa stabilité remarquable avec une légère diminution de l'absorbance à DO = 0.60 confirmant ainsi son rôle maximale d'antioxydant de référence. En revanche, les ZnO dopé Mg-Ag NPs montrent une activité antioxydante, avec une diminution de l'absorbance à DO = 0.39 ce qui témoigne d'une certaine efficacité par rapport au BHT, les ZnO NPs, quant à eux, présentent une baisse absorbance atteignant DO = 0.20 à 48 heures, mais pour le Vit C possède la plus faible absorbance par rapport aux autres échantillons par une DO = 0.06.



BHT: Hydroxytoluène butylé; Vit C: Acide ascorbique.

Figure 37: L'activité antioxydante des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs par la méthode β -carotène/ Acide linoléique.

L'activité antioxydante des différents échantillons (deux types des nanoparticules, l'acide ascorbique et BHT), évaluée par la méthode β -carotène/ Acide linoléique, montre une le pourcentage d'inhibition d'oxydation après 48 heure (Tableau 12).

Les résultats mettent en évidence des différences significatives d'efficacité inhibitrice entre les échantillons; Hydroxytoluène butylé (BHT) utilisé comme référence, montre une activité inhibitrice maximale avec de pourcentage d'inhibition d'oxydation atteignant à 94.00 ± 1.00 %. En revanche, ZnO dopé Mg-Ag NPs présentaient une activité antioxydante plus élevée à 60.93 ± 0.01 % ($p < 0.05$), tandis que les nanoparticules de ZnO affichent une activité inhibitrice modérée à 31.25 ± 0.01 % ($p < 0.01$), acide ascorbique montre une activité inhibitrice très faible 9.37 ± 0.01 % ($p < 0.001$) et moindre par rapport les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag.

Tableau 12: Les pourcentage d'inhibition β -carotène par des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs.

Nanoparticles / Standard	% inhibition d'oxydation après 48 heure
BHT	94.00 ± 1.00
ZnO dopé Mg-Ag NPs	60.93 ± 0.01^a
ZnO NPs	31.25 ± 0.01^b
Vit C	9.37 ± 0.01^c

a-b-c: signifie test post hoc HSD de Tukey ($p < 0.05$).

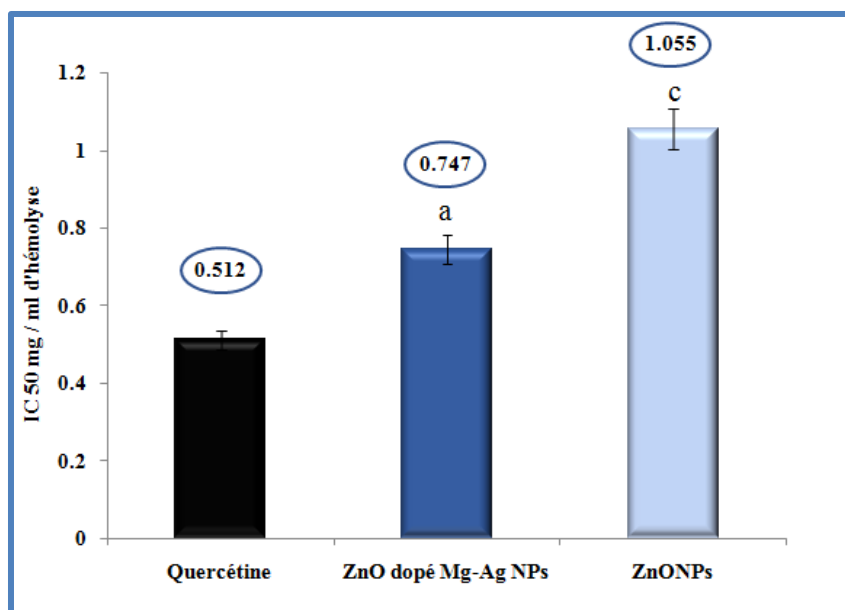
BHT: Hydroxytoluènebutylé; Vit C: Acide ascorbique.

4.1.3. L'activité anti-hémolytique par peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le test d'anti-hémolyse *in vitro* utilisée pour évaluer la capacité des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag à protéger les érythrocytes (globules rouges) contre la destruction.

L'évaluation de l'activité anti-hémolytique *in vitro* pour les nanoparticules ZnO, ZnO dopées Mg-Ag et la quercétine montrent des différences significatives entre les échantillons étudiés (Figure 38).

Les ZnO NPs montrent la valeur moyenne avec une concentration inhibitrice IC_{50} (1.055 ± 0.030 mg.mL⁻¹), ce qui indique une protection modérée mais constante contre l'hémolyse. En revanche, les nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag, quant à elles, affichent la valeur la plus faible avec une concentration inhibitrice IC_{50} (0.747 ± 0.017 mg.mL⁻¹), traduisant une efficacité anti-hémolytique pour protéger les érythrocytes contre l'hémolyse par rapport aux ZnO NPs. En comparaison, la quercétine utilisée comme standard positif, il présente la valeur la plus basse avec IC_{50} (0.512 ± 0.003 mg.mL⁻¹), démontrant une activité anti-hémolytique significativement supérieure à celle des deux types de nanoparticules testées. Ces différences remarquées illustrent la supériorité de la quercétine comme antioxydant de référence, tandis que les nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag montrent une différence significative ($p < 0.05$) et ZnO NPs montrent une différence très hautement significative ($p < 0.001$).



a-c: signifie test post hoc HSD de Tukey ($p < 0.05$)

IC_{50} : Concentration médiane inhibitrice 50%.

Figure 38: L'activité anti-hémolytique des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs.

4.1.4. L'activité photocatalytique par bleu de méthylène (BM)

L'activité photocatalytique utilisée pour l'évaluation la capacité des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag à dégrader les polluants environnementaux par la lumière, nous avons utilisé le bleu de méthylène comme indicateur de l'efficacité photocatalytique.

Les résultats présentés dans les (Figure 39, A1; Figure 40, A2) montrent que les nanoparticules ZnO à des concentrations 10 mg.mL^{-1} et 20 mg.mL^{-1} , une efficacité de photodégradation meilleure du colorant bleu de méthylène, atteint $86.66 \pm 1.22\%$ et $93.33 \pm 0.005\%$ respectivement à 120 minutes. En revanche (fig 41, B1; fig 42, B2) montrent que les nanoparticules de ZnO dopées Mg-Ag à des concentrations 10 mg.mL^{-1} et 20 mg.mL^{-1} , une activité photocatalytique relativement bonne, atteint $37.77 \pm 0.02\%$ et $53.33 \pm 0.71\%$ respectivement à 120 minutes.

Cette expérience photocatalytique a démontré que les nanoparticules de ZnO ont une grande efficacité à différentes concentrations par rapport au ZnO dopé Mg-Ag.

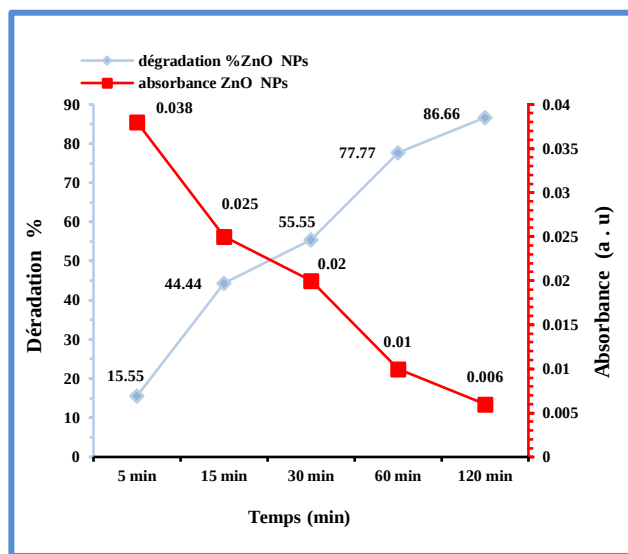


Figure 39: L'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO NPs à concentration 10 mg.mL^{-1} en fonction du temps.

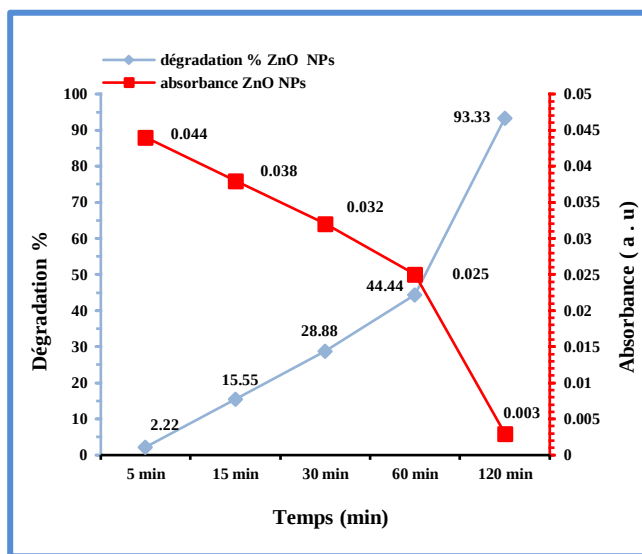


Figure 40: L'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO NPs à concentration 20 mg.mL^{-1} en fonction du temps.

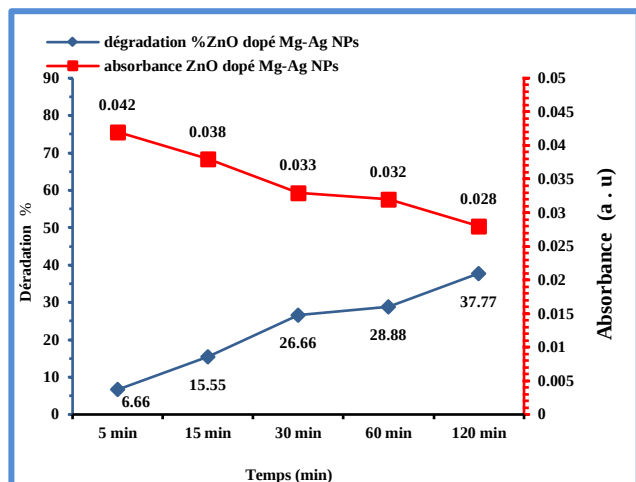


Figure 41: L'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO dopé Mg-Ag NPs à concentration 10 mg.mL^{-1} en fonction du temps.

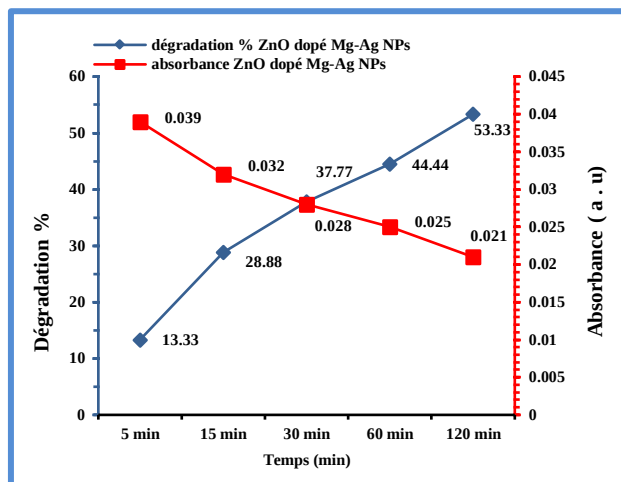


Figure 42: L'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO dopé Mg-Ag NPs à concentration 20 mg.mL^{-1} en fonction du temps.

4.2. Activité antidiabétique

Dans ce travail, nous avons étudié l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase et de l' α -amylase et dosage du glucose par les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag, afin d'évaluer l'activité antidiabétique *in vitro* des nanoparticules des types étudiées, en considérant l'acarbose comme contrôle positif.

4.2.1. L'activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase

La glucosidase présente dans la bordure des microvillosités de l'intestin grêle, elle est essentielle pour digérer les oligosaccharides en monosaccharides. par conséquent, l'inhibition des activités de l'enzyme α -glucosidase peut clairement retarder la conversion du glucose en glycémie, réduire l'augmentation postprandiale de la glycémie et donc être une approche efficace pour gérer le taux de glycémie dans le diabète sucré.

Les pourcentages d'inhibition de l'activité enzymatique de l' α -glucosidase en présence de l'acarbose et les nanoparticules étudiés sont présentés dans la Figure 43.

Au vu des résultats obtenus, le pourcentage d'inhibition des nanoparticules ZnO et les ZnO dopées Mg-Ag augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration de ceux-ci. A faible concentration de $0.0625 \text{ mg.mL}^{-1}$, ZnO NPs montre une inhibition plus faible que celle de ZnO dopé Mg-Ag NPs soit $9.29 \pm 0.49\%$ et $17.16 \pm 0.07\%$, respectivement. Une

amélioration progressive du pourcentage d'inhibition à une concentration de 0.125 mg.mL^{-1} des deux nanoparticules soit $33.43 \pm 0.20 \%$ et $36.43 \pm 0.02 \%$, respectivement puis une légère augmentation du pourcentage d'inhibition est remarquée à 0.25 mg.mL^{-1} , soit $38.46 \pm 0.11\%$ pour ZnO NPs et $43.75 \pm 0.01\%$ pour ZnO dopé Mg-Ag NPs. Au delà de 1 mg.mL^{-1} , on remarque une augmentation du pourcentage d'inhibition jusqu'à atteint le maximum soit $47.20 \pm 1\%$ et $59.14 \pm 0.03\%$, pour les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag respectivement. En revanche, l'amélioration est plus claire pour l'acarbose, à une faible concentration de 0.0625 on a trouvé un taux d'inhibition de $46.25 \pm 2 \%$. Une légère augmentation est remarquée $48.12 \pm 0.5 \%$ à 0.125 mg.mL^{-1} . A 1 mg.mL^{-1} une augmentation du pourcentage d'inhibition est montrée jusqu'à atteint le maximum soit $89.75 \pm 1\%$.

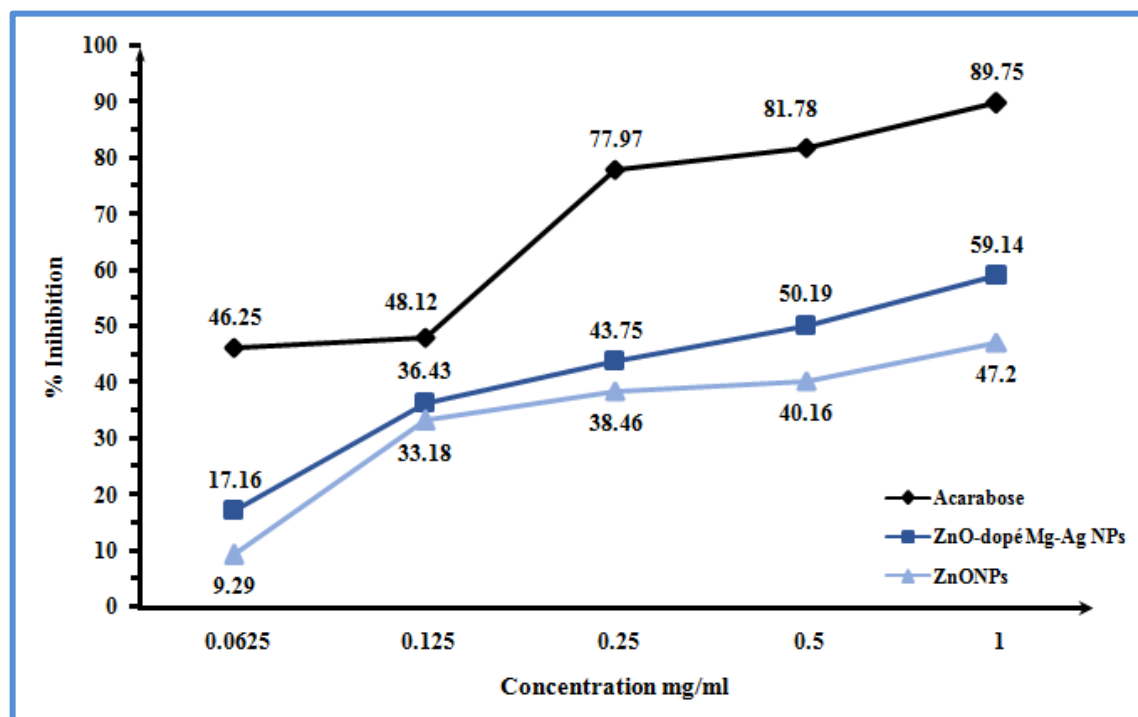


Figure 43: L'activité inhibitrice sur l'enzyme α -glucosidase par l'acarbose et des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag.

4.2.2. L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase

Les pourcentages d'inhibition de l'activité enzymatique de l' α -amylase en présence de l'acarbose et les nanoparticules présentés dans la Figure 44.

Il ressort des résultats présentés dans la Figure 44, que le pourcentage d'inhibition des nanoparticules étudiés et de l'acarbose augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration de ceux-ci. A faible concentration de ZnO NPs et de ZnO dopé Mg-Ag NPs

montrent des pourcentages d'inhibitions de 31.24 ± 1.04 % et 31.98 ± 2.01 %, respectivement. En effet, le ZnO NPs suit une faible inhibition jusqu'à 2 mg.mL^{-1} , puis on remarque une amélioration pourcentage d'inhibition et atteint son maximum de 62.56 ± 1.01 % à 5 mg.mL^{-1} . Alors que, le ZnO dopé Mg-Ag NPs montre une inhibition progressive avec l'augmentation de la concentration et atteint son maximum de 75.33 ± 0.01 % à 5 mg.mL^{-1} . Les deux nanoparticules présentent une similarité pour les valeurs minimales que maximales. Il est remarqué que pour l'acarbose, la concentration minimale soit 0.312 mg.mL^{-1} , montre un taux d'inhibition égale à $50.33 \pm 1.07\%$. Tandis que, la concentration maximale 5 mg.mL^{-1} présente un taux d'inhibition égale à $97.80 \pm 1.04\%$.

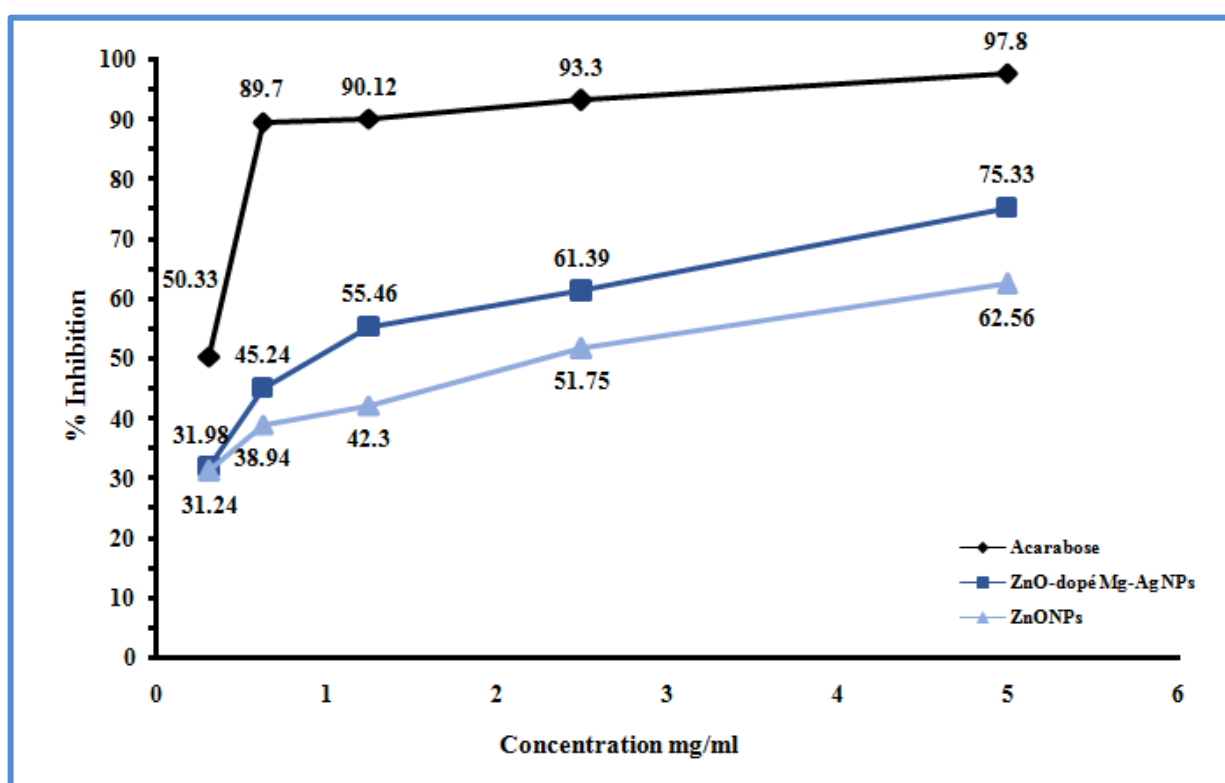


Figure 44: L'activité inhibitrice sur l'enzyme α -amylase par l'acarbose et des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag.

4.2.3. L'activité d'absorption du glucose par les cellules de levure

L'évaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique, les nanoparticules de ZnO et ZnO dopées Mg-Ag, synthétisées par l'extrait aqueux des noyaux des dattes de palmier dattier, ont montré des effets significatifs sur l'absorption du glucose par de cellules de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) à différentes concentrations et intervalles de temps.

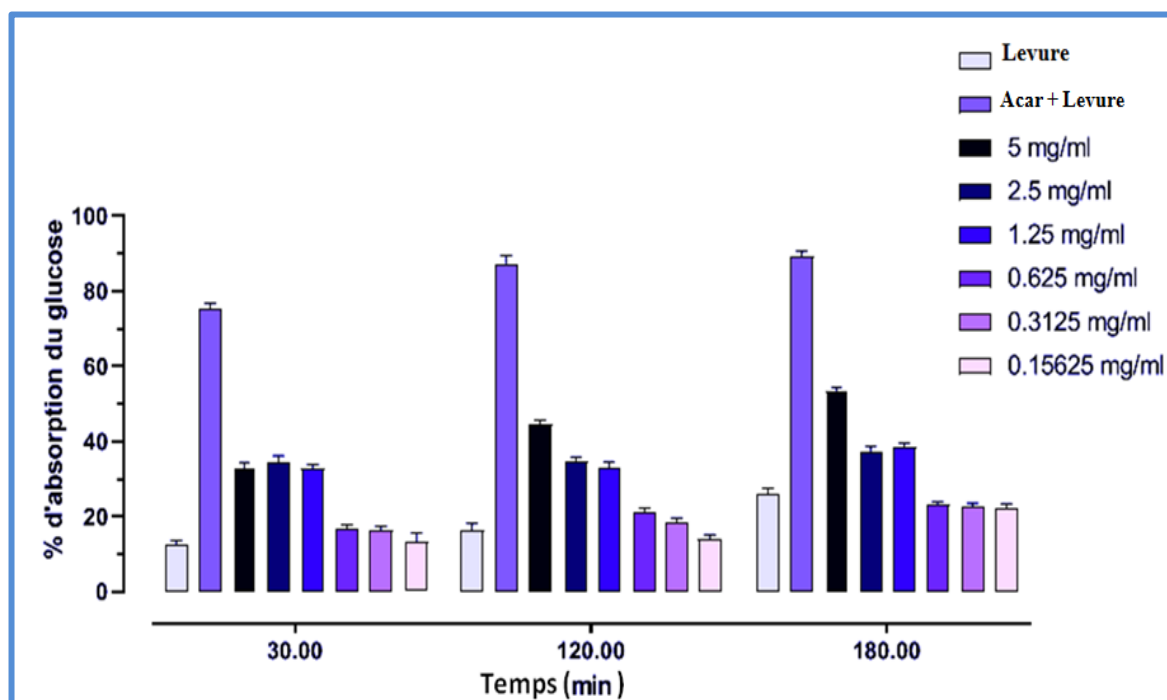
Pour les nanoparticules ZnO, le pourcentage d'absorption du glucose augmente avec le temps pour toutes les concentrations testées (Figure 45).

À 30 minutes, la concentration la plus élevée (5 mg.mL⁻¹) montre un pourcentage d'absorption de 33.5 ± 1 %, tandis que les plus faibles concentrations (0.15625 mg.mL⁻¹) enregistrent une absorption plus faible autour de 10-12 %.

À 120 minutes, le pourcentage d'absorption augmente de manière significative, atteignant environ 45 ± 2 % pour la concentration de (5 mg.mL⁻¹), alors que les concentrations plus faibles (0.15625 mg.mL⁻¹) enregistrent une absorption autour de 20 %.

À 180 minutes, le pourcentage d'absorption maximale est observée pour la concentration de (5 mg.mL⁻¹) $52.10 \pm 2\%$, avec une amélioration progressive pour les concentrations intermédiaires et faibles.

Une analyse comparative avec l'acarabose à (5 mg.mL⁻¹), qui a démontré un pourcentage d'absorption du glucose à 90 %, a mis en évidence l'efficacité compétitive des nanoparticules de ZnO, soutenant leur potentiel dans les applications antidiabétiques.



Acar; Acarabose

Figure 45: L'activité antidiabétique *in vitro* de ZnO NPs par les cellules de levure.

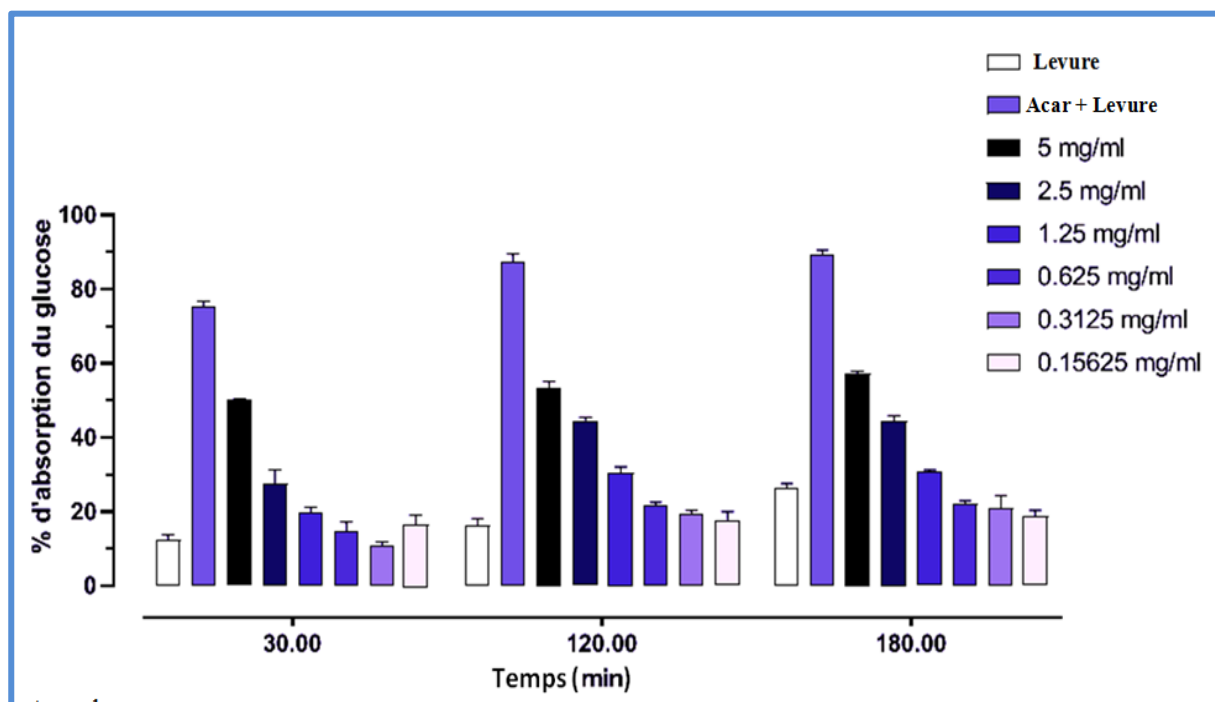
En considérant les nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag, une meilleure pourcentage d'absorption du glucose est notée par rapport aux ZnO NPs, en particulier pour les concentrations élevées (Figure 46).

À 30 minutes, la concentration la plus élevée (5 mg.mL⁻¹) montre une pourcentage d'absorption du glucose de $50 \pm 3\%$, tandis que les plus faibles concentrations (0.15625 mg.mL⁻¹) enregistrent des valeurs légèrement plus élevées autour de (13-15 %) que pour les ZnO NPs.

À 120 minutes, le pourcentage d'absorption augmente de manière significative, atteignant environ $54 \pm 1\%$ pour la concentration de (5 mg.mL⁻¹), alors que les concentrations plus faibles (0.15625 mg.mL⁻¹) enregistrent une absorption autour de 22 %.

À 180 minutes, le pourcentage d'absorption maximale est atteinte avec $60 \pm 4\%$ pour (5mg.mL⁻¹) avec une amélioration progressive pour les concentrations intermédiaires et faibles, suivant des tendances similaires à celles observées pour les nanoparticules de ZnO.

Une analyse comparative avec l'acarbose à (5 mg.mL⁻¹), qui de pourcentage d'absorption du glucose à 90 % à 180 min, a mis en évidence l'efficacité compétitive des nanoparticules de ZnO dopées Mg-Ag, confirmant leur potentiel dans des applications antidiabétiques.



Acar; Acarbose

Figure 46: L'activité antidiabétique *in vitro* de ZnO dopé Mg-Ag NPs par les cellules de levure.

4.3. Activité anticoagulante

4.3.1. Les tests de temps de thromboplastine partielle activée (APTT) et le tests de Temps de prothrombine (PT)

Le test de temps de thromboplastine partielle activée (APTT) mesure le temps nécessaire à la formation d'un caillot de fibrine après l'activation des voies intrinsèque et commune de la coagulation. Par contre le test de temps de prothrombine (PT) mesure le temps nécessaire à la formation d'un caillot de fibrine après l'activation de la voie extrinsèque de la coagulation.

Pour le temps de thromboplastine partielle activée (APTT), les résultats présentent dans le Tableau(13) montrent une augmentation significative et progressive du temps de thromboplastine partielle activée dépendante de la concentration pour les nanoparticules étudiés. Cette tendance met en évidence une influence des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag sur l'APTT, avec une efficacité anticoagulante pour les ZnO dopées Mg-Ag NPs et ZnO NPs par rapport l'aspirine et une absence d'activité par rapport l'héparine.

Pour les standards, l'aspirine et l'héparine les résultats présentent une augmentation progressive du temps de thromboplastine partielle activée dépendante de la concentration, confirmant leur efficacité anticoagulante supérieure.

Tableau 13: L'activité anticoagulante des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs pour temps de thromboplastine partielle activée (APTT).

Concentration (mg.mL ⁻¹)	Nanoparticles / Standard			
	Temps APTT (seconde)			
	ZnO NPs	ZnO dopé Mg-Ag NPs	Héparin	Aspirine
1.0	27.0 ± 0.01 ^{c ***}	78.5 ± 0.07 ^{b NS}	130 ± 1.00	80 ± 1.00
1.5	29.0 ± 0.04 ^{c ***}	110.6 ± 0.02 ^{c NS}	350 ± 1.00	120 ± 1.00
2.0	81.0 ± 0.03 ^{c **}	120.6 ± 0.05 ^{c **}	Incoagulables	220 ± 1.00
2.5	182.9 ± 0.02 ^{b *}	184.7 ± 0.10 ^{b *}	Incoagulables	Incoagulables

a; p<0.05 significative, b; p<0.01: très significative et c; p<0.001: très hautement significative par rapport l'héparine.
 *; p<0.05 significative, *; p<0.01: très significative et **; p<0.001: très hautement significative par rapport l'aspirine.
 NS; p>0.05 non significative.

Pour le temps de prothrombine (PT), les résultats présentent dans le Tableau (14) montrent que les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag affichent une augmentation très faible du temps de prothrombine (PT) aux différentes concentrations, cela indique une absence d'activité anticoagulante par rapport l'aspirine et l'héparine.

Pour les standards, l'aspirine et l'héparine les résultats présentent une prolongation remarquable du temps de prothrombin dépendante de la concentration, indiquant une activité anticoagulante.

Tableau 14: L'activité anticoagulante des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs pour temps de prothrombine (PT)

Concentration (mg.mL ⁻¹)	Nanoparticles /Standard			
	Temps PT (seconde)			
	ZnO NPs	ZnO dopé Mg-Ag NPs	Heparin	Aspirine
1.0	11.8 ± 0.30 ^{c *}	13.5 ± 3 ^{c*}	120.9 ± 0.01	20.7 ± 0.01
1.5	13.5 ± 0.20 ^{c***}	13.8 ± 2 ^{c***}	Incoagulables	50 ± 0.06
2.0	22.4 ± 0.70 ^{c ***}	14.5 ± 9 ^{c***}	Incoagulables	120 ± 0.05
2.5	30.4 ± 0.30 ^{c ***}	16.7 ± 0.70 ^{c***}	Incoagulables	Incoagulables

a;p<0.05 significative, b; p<0.01: très significative et c; p<0.001: très hautement significative par rapport l'héparine.
 *;p<0.05 significative, *; p<0.01: très significative et **; p<0.001: très hautement significative par rapport l'aspirine.
 NS;p>0.05 non significative.

4.4. Activité antimicrobienne

4.4.1. L'activité de microdilution en bouillon

Le Tableau(15) met en évidence l'activité antimicrobienne des nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag pour six souches bactériennes différentes, révélant leurs Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et leurs Concentration Minimale Bactéricide (CMB), et des rapports CMB/CMI.

Pour les différentes souches bactériennes, y compris *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*, et *S. spp*, les nanoparticules de ZnO dopées Mg-Ag ont systématiquement présenté des valeurs de CMI et de CMB plus faible et inférieures à celles observées pour de ZnONPs. Par exemple, pour *Escherichia coli*, la CMI et la CMB des ZnO dopé Mg-AgNPs sont de (0.625 mg.mL⁻¹), avec un rapport CMB/CMI égale 1, indiquant une activité bactéricide, mais pour le reste des souches bactériennes, le rapport CMB/CMI égale 2, indiquant aussi une activité bactéricide.

À l'inverse, les ZnO NPs nécessitent des concentrations plus élevées avec une CMI de (5.0 mg.mL^{-1}) et une CMB de (10 mg.mL^{-1}), avec un rapport CMB/CMI égale 2, indiquant une activité bactéricide. De manière similaire, pour *Staphylococcus aureus*, les ZnO dopé Mg-Ag NPs affichent une CMI plus faible ($0.3125 \text{ mg.mL}^{-1}$) et une CMB de (0.625 mg.mL^{-1}), avec un rapport CMB/CMI égale 2, contre des valeurs plus élevées pour les ZnO NPs (CMI: 5 mg.mL^{-1}), (CMB: 10 mg.mL^{-1}) mais aussi avec un rapport CMB/CMI égale 2, pour *Pseudomonas aeruginosa*, bien que les deux nanoparticules aient un rapport CMB/CMI similaire égale 2, les ZnO dopées Mg-Ag NPs montrent une meilleure efficacité avec une CMI de (1.25 mg.mL^{-1}) comparée aux 20 mg.mL^{-1} des ZnO NPs. Il est à noter que les rapport CMB/CMI ont davantage souligné l'efficacité des nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag dans leur action bactéricide, mettant en lumière leur potentiel en tant qu'agent antimicrobien avec une pertinence pharmaceutique significative.

Tableau 15: L'activité antimicrobienne des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs aux différentes bactéries.

Souches bactériennes	CMI (mg.mL^{-1})		CMB (mg.mL^{-1})		$\frac{\text{CMB}}{\text{CMI}}$ (rapport)	
	ZnO NPs	ZnO dopé Mg-Ag NPs	ZnO NPs	ZnO dopé Mg-Ag NPs	ZnO NPs	ZnO dopé Mg-Ag NPs
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (G-)	5.0	0.625	10	0.625	2*	1*
<i>Klebsiellapneumoniae</i> ATCC 13883 (G-)	5.0	0.625	10	1.25	2*	2*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 (G-)	20	1.25	40	2.5	2*	2*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25932 (G+)	5.0	0.3125	10	0.625	2*	2*
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 21332 (G+)	10	0.625	20	1.25	2*	2*
<i>Salmonella spp.</i> ATCC 14028 (G-)	5.0	1.25	10	2.5	2*	2*

CMI: Concentration minimale inhibitrice, CMB: Concentration minimale bactéricide

*Activité bactéricide, G+ :Gram positive, G-:Gram négatives

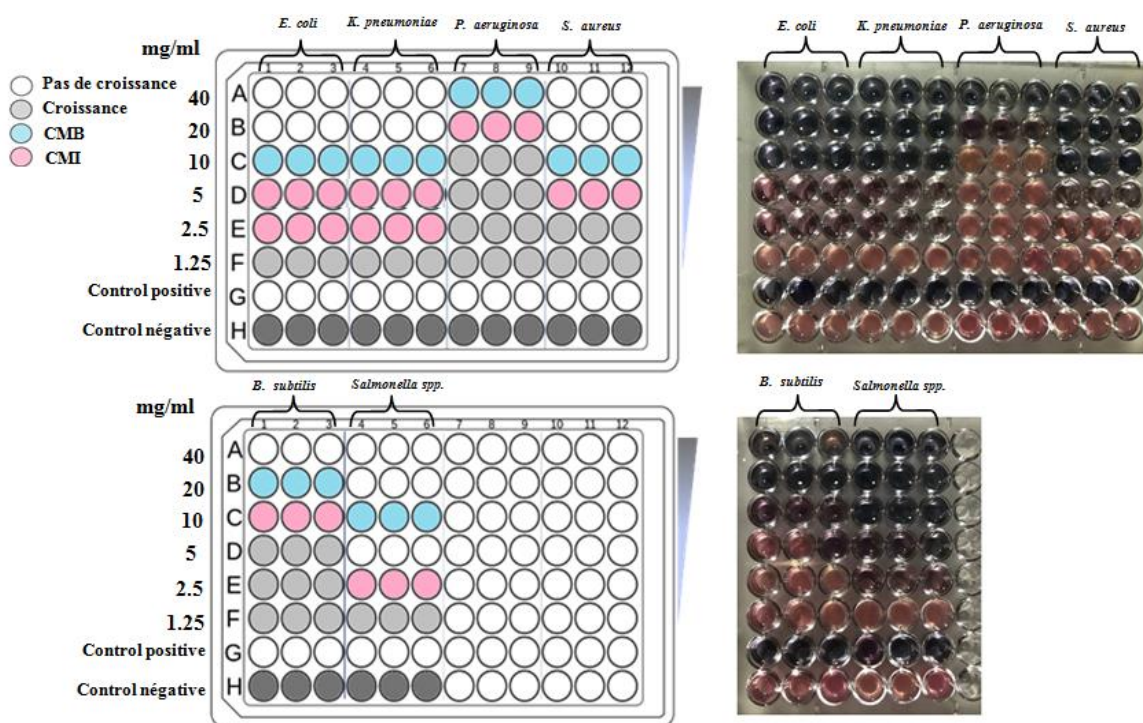


Figure 47: L'activité antimicrobienne des nanoparticules ZnO NPs pour des différentes bactéries.

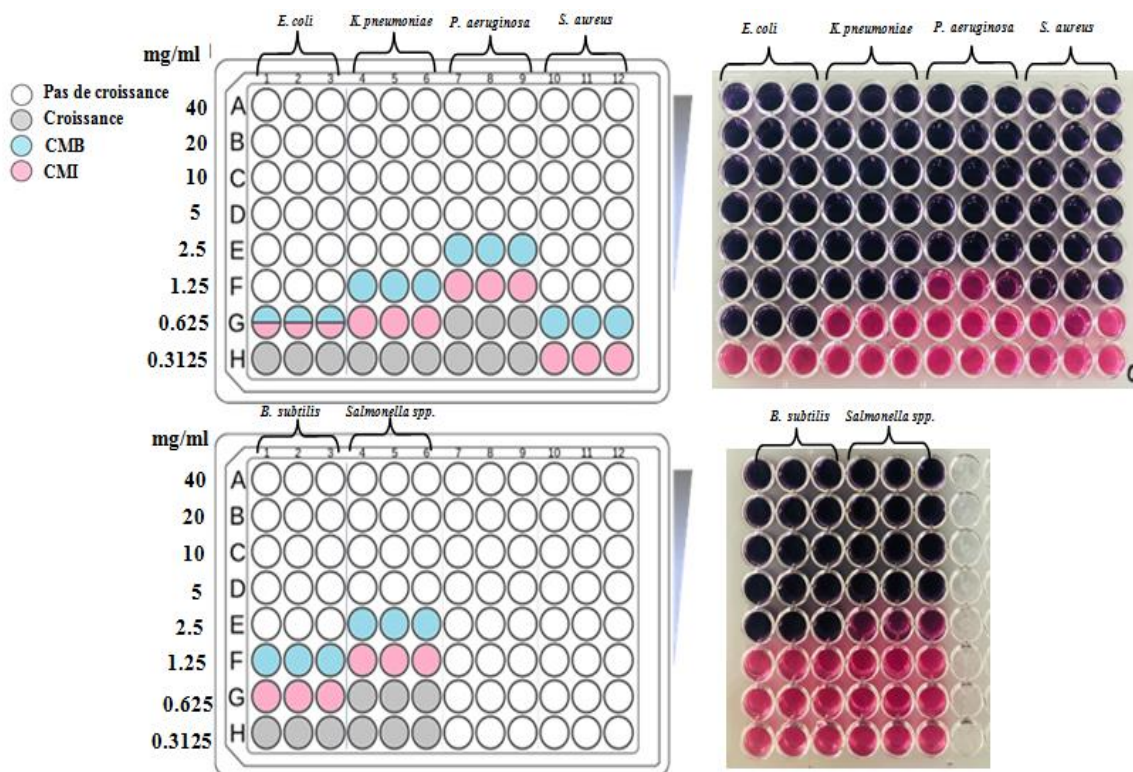


Figure 48: L'activité antimicrobienne des nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag NPs pour des différentes bactéries.

5. Activité *in vivo* des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-Ag NPs)

5.1. Étude de toxicité subaiguë

D'après les résultats de l'étude de toxicité subaiguë des nanoparticules ZnO (Tableau16), ZnO dopées Mg-Ag (Tableau17), les paramètres physiologiques suivi étaient normaux tout au long de la période expérimentale. Aucune changement significative de comportement ou d'activité physique n'a été observé, et aucun mortalité n'a été signalé dans les groupes testés pendant le période de suivi de 24 heures, 72 heures, et jusqu'à deux semaines.

Tableau 16: Test de toxicité subaiguë des nanoparticules ZnO NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes chez les rats de wistar.

Temps	Groupes	Les signes de toxicité						Mortalité
		Anomalie oculaires	Mouvement	Salivation	Diarrhée	Tremblements musculaires visibles	Lésions ou ulcères cutanés	
3 heure	G1	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	0
	G2							
	G3							
	G4							
	G5							
24 heure	G1	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	0
	G2							
	G3							
	G4							
	G5							
72 heure	G1	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	0
	G2							
	G3							
	G4							
	G5							
14 jour	G1	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	0
	G2							
	G3							
	G4							
	G5							

G1 :groupe 1 (groupe témoin): les rats traités avec une dose de 0mg/kg/jour ZnO NPs; G2: groupes 2: les rats traités avec une dose de 5mg/kg/jour ZnO NPs; G3:groupes 3: les rats traités avec une dose de 10mg/kg/jour ZnO NPs; G4: groupes 4: les rats traités avec une dose de 15mg/kg/jour ZnO NPs; G5:groupes: 5 les rats traités avec une dose de 20mg/kg/jour ZnO NPs;

Tableau 17: Test de toxicité subaiguë des nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes chez les rats de wister.

Temps	Groupes	Les signes de toxicité						
		Anomalie oculaires	Mouvement	Salivation	Diarrhée	Tremblements musculaires visibles	Lésions ou ulcères cutanés	Mortalité
3 heure	G1	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	0
	G6							
	G7							
	G8							
	G9							
24 heure	G1	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	0
	G6							
	G7							
	G8							
	G9							
72 heure	G1	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	0
	G6							
	G7							
	G8							
	G9							
14 jour	G1	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale	0
	G6							
	G7							
	G8							
	G9							

G1 :groupe 1 (groupe témoin): les rats traités avec une dose de 0mg/kg/jour ZnONPs; G6: groupes 6: les rats traités avec une dose de 5mg/kg/jour ZnOdopé Mg-AgNPs; G7:groupes 7: les rats traités avec une dose de 10mg/kg/jour ZnOdopé Mg-AgNPs; G8: groupes 8: les rats traités avec une dose de 15mg/kg/jour ZnOdopé Mg-AgNPs; G9:groupes 9: les rats traités avec une dose de 20mg/kg/jour ZnOdopé Mg-AgNPs.

5.2.Suivi du poids corporelle des rats

Les changements des poids des rats chaque semaine montrent des tendances distinctes (Figure 49). Le groupe sain présente une augmentation régulière, passant de 156 ± 1.83 g à 208 ± 2.81 g. En revanche, le groupe diabétique subit une diminution remarquable, de 195 ± 2.91 g à 129 ± 1.11 g. Les traitements semblent avoir des effets différents: le groupe traité à la Metformine (5mg/kg/jour) voit son poids augmenter de 170 ± 2.97 g à 200 ± 3.67 g, tandis que le groupe traité au ZnONPs avec une dose de 5mg/kg maintient un poids relativement stable, allant de 180 ± 3.71 g à 194.2 ± 2.00 g. Enfin, le groupe diabétique traité par ZnO dopé Mg-Ag NPs (5mg/kg/j) montre une reprise de poids après une chute initiale, passant de 140 ± 2.33 g à 160 ± 3.88 g. Ces résultats soulignent l'effet stabilisateur des traitements, en particulier au Metformine, ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs par rapport aux pertes observées dans le groupe non traité (diabétique).

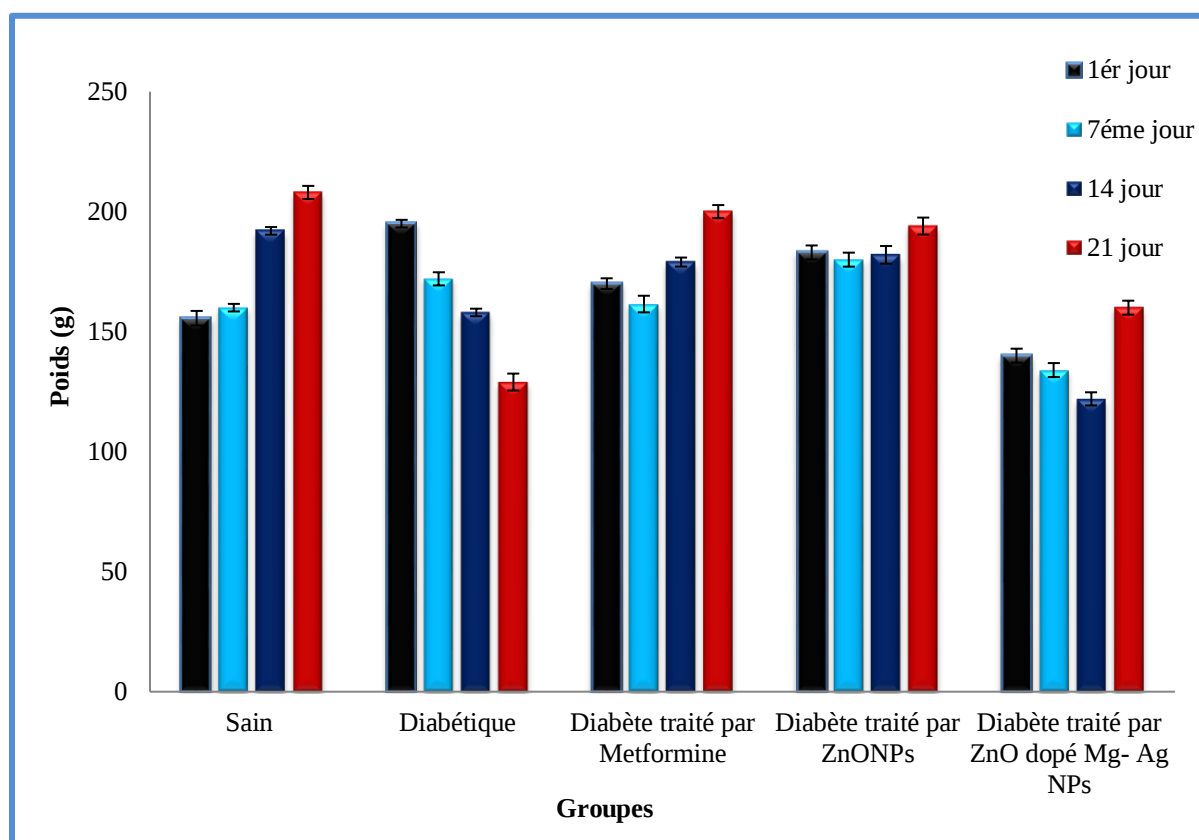


Figure 49: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur de poids corporelles des rats pendant chaque semaine (1^{er}, 7^{ème}, 14^{ème}, et 21^{ème} jours).

5.3. Suivi de taux de glucose sanguin des rats

En surveillant le niveau de glucose sanguin des rats chaque semaine; illustrés dans la Figure 50, il est clairement évident que le groupe sain a maintenu son niveau de glucose, car le niveau était relativement stable, et reste dans l'intervalle normale (99.28 ± 1.11 à 111.6 ± 2.05 mg/dL). En revanche, le groupe diabétique présente une augmentation significative, culminant à 375.32 ± 1.54 mg/dL au 14^{ème} jours, suivie d'une légère diminution à 350.28 ± 1.09 mg/dL au 21^{ème} jours. Le groupe traité à la Metformine (5mg/kg/j) affiche une réduction remarquée, passant de 300.76 ± 1.16 au 1^{er} jour à 100.8 ± 0.97 mg/dL au 21^{ème} jours. De manière similaire, le groupe traité au ZnO NPs avec une dose de 5mg/kg présente une diminution significative, de (300 ± 2.80 à 121 ± 2.78 mg/dL) sur la même période. Le groupe traité par ZnO dopé Mg-Ag NPs à 5mg/kg/j présente également une forte diminution, allant de 315 ± 1.72 au 1^{er} jour à 97.00 ± 1.30 mg/dL au 21^{ème} jours.

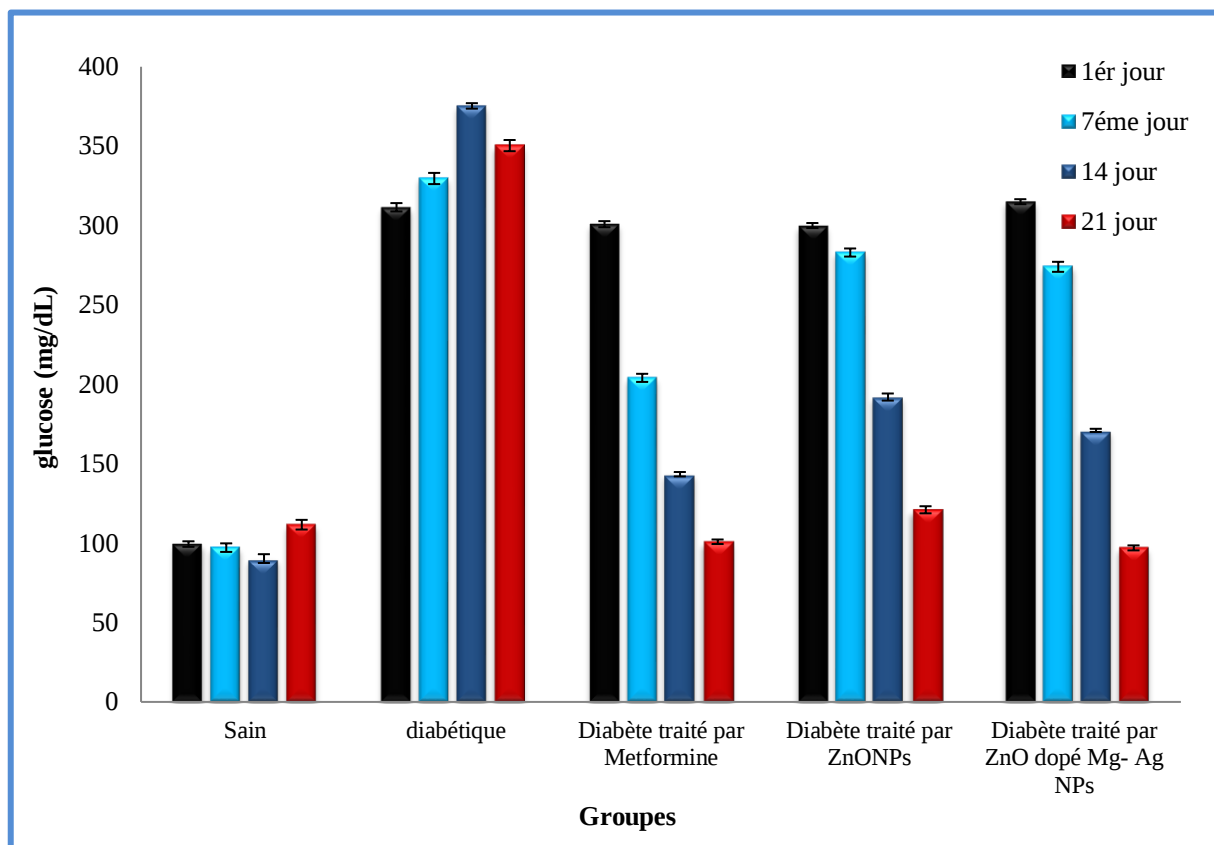


Figure 50: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le taux glucose sanguin des rats pendant chaque semaine (1^{er}, 7^{ème}, 14^{ème}, et 21^{ème} jours).

5.4. Les effets thérapeutiques des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs

5.4.1. L'analyse des paramètres biochimiques

5.4.1.1. Les taux de glycémie et l'hémoglobine-glyquée

Les taux de glycémie et d'HbA1c mesurés dans le 22^{ème} jour de l'expérience montrent des différences significatives entre les groupes expérimentaux; illustrés dans le Tableau (18). Le groupe sain maintient un niveau normale, avec une taux glycémie de 98.42 ± 0.31 mg/dL et un HbA1c de 4.31 ± 0.08 %. En revanche, le groupe diabétique (non traité) présente une taux très élevé, atteignant une glycémie de 262 ± 2.20 mg/dL et un HbA1c de 10.1 ± 0.65 %, reflétant une hyperglycémie. Les groupes traités montrent une amélioration significative par rapport le groupe diabétique, le groupe traité par Metformine avec une dose de 5mg/kg/j réduit sa glycémie à (136 ± 1.53 mg/dL) de manière très hautement significative ($P < 0.001$) et un HbA1c de 6.45 ± 0.31 % diminue de manière très fortement significative ($P < 0.001$), et le groupe traité par ZnO NPs

(5mg/kg/j) à baisse la glycémie (110 ± 1.58 mg/dL) avec une amélioration très hautement significative ($P < 0.001$) et l'HbA1c de $8.11 \pm 0.67\%$ diminue de manière très significative ($P < 0.01$), tandis que le groupe traité par ZnO dopé Mg-Ag NPs avec une dose de 5mg/kg/j donne un taux de glycémie la plus bas de 103 ± 1.50 mg/dL, se rapproche d'une valeur normales. De même effet pour l'HbA1c de $6 \pm 0.21\%$ sont significativement réduit ($P < 0.001$). Ces observations mettent en évidence l'impact positif des traitements sur ces paramètres dans le cadre du diabète.

Tableau 18: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le taux de la glycémie et l'Hémoglobine-glyquée (HbA1c) sanguin chez les rats de wistar diabétique.

Parameters	Le groupe normale (Sain)	Le groupe diabétiques (non traité)	Le groupe diabétiques traité par Metformine (5mg/kg)	Le groupe diabétiques traité par ZnO NPs (5mg/kg)	Le groupe diabétiques traité par ZnO dopé Mg-Ag (5mg/kg)
Glycémie (mg/dL)	$98.42 \pm 0.31^{***}$	262 ± 2.20^c	$136 \pm 1.53^{***a}$	$110 \pm 1.58^{***a}$	$103 \pm 1.50^{***NS}$
HbA1c (%)	$4.31 \pm 0.08^{***}$	10.1 ± 0.65^c	$6.45 \pm 0.31^{***NS}$	$8.11 \pm 0.67^{**b}$	$6 \pm 0.21^{***NS}$

^a; $p < 0.05$ significative, ^b; $p < 0.01$: très significative, et ^c; $p < 0.001$: très hautement significative par rapport groupe sain.

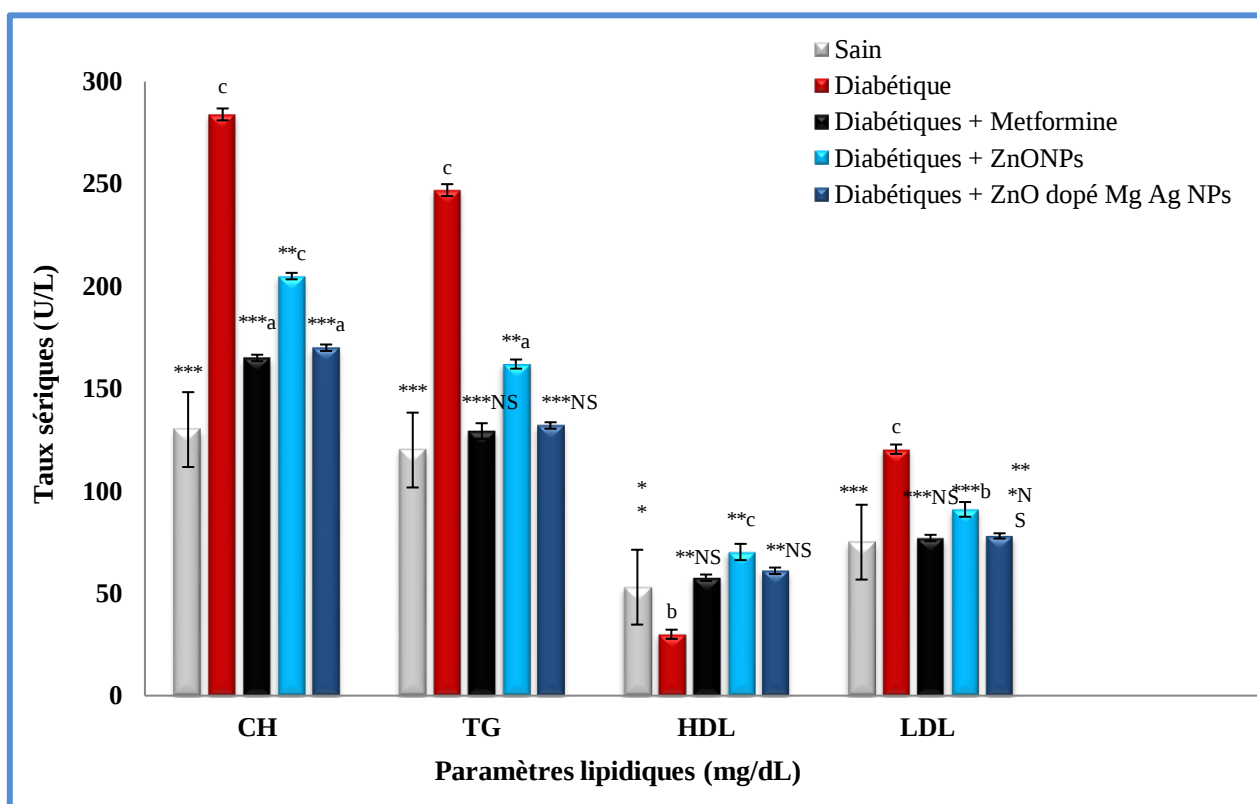
*; $p < 0.05$ significative **; $p < 0.01$: très significative, ***; $p < 0.001$: très hautement significative par rapport grp diabétique.

^{NS}; $p > 0.05$ non significative

5.4.2. L'analyse des paramètres lipidiques

Les résultats montrent des variations significatives dans les paramètres lipidiques sériques entre les groupes expérimentaux; illustrés dans la (Figure 51). Les rats sains présentent des valeurs normales pour le cholestérol 130 ± 1.58 mg/dL, les triglycérides 120 ± 3.81 mg/dL, le HDL 53 ± 2.50 mg/dL et le LDL 75 ± 0.58 mg/dL. En revanche, le groupe diabétique montre des augmentations très hautement significative du cholestérol (284 ± 1.01 mg/dL, $P < 0.001$), des triglycérides (247 ± 1.30 mg/dL, $P < 0.001$) et du LDL (120 ± 2.44 mg/dL, $P < 0.001$), ainsi qu'une réduction très significative du HDL (30 ± 2.03 mg/dL, $P < 0.01$), indiquant un déséquilibre lipidique chez ce groupe par rapport le groupe sains. Parmi les groupes traités, le groupe traités avec une dose de 5mg/kg/j de Metformine affiche des améliorations très hautement significatives par rapport le groupe diabétique, avec un cholestérol à (165 ± 1.58 mg/dL, $P < 0.001$), des triglycérides à (129.3 ± 1.49 mg/dL, $P < 0.001$), un LDL à (77 ± 2.80 mg/dL, $P < 0.001$), ainsi

qu'une augmentations très significative du HDL à (58 ± 3.84 mg/dL, $P < 0.01$). Le groupe ZnO NPs (5mg/kg/j) réduit également ces paramètres de manière très significative, notamment avec un cholestérol à (205 ± 1.58 mg/dL, $P < 0.01$), des triglycérides à (162 ± 2.02 mg/dL, $P < 0.01$), un LDL à (91 ± 1.6 mg/dL, $P < 0.001$), ainsi qu'une augmentations très hautement significative du HDL (70.2 ± 2.06 mg/dL, $P < 0.01$). Le groupe ZnO dopé Mg-Ag NPs (5mg/kg/j) se rapproche des valeurs normales, avec une diminution très hautement significative par rapport le diabétiques au niveau le cholestérol ($P < 0.001$), des triglycérides ($P < 0.001$), et LDL ($P < 0.001$), ainsi qu'une augmentations très significative du HDL ($P < 0.01$).



^a; $p < 0,05$ significative, ^b; $p < 0,01$: très significative, ^c; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport groupe sain.

*; $p < 0,05$ significative **; $p < 0,01$: très significative ***; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport grp diabétique.

^{NS}; $p > 0,05$ non significative.

Figure 51: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur les paramètres lipidiques sériques ; cholestérol (CH), triglycérides (TG), Lipoprotéine de haute densité (HDL), Lipoprotéine de basse densité (LDL), chez les rats de wistar diabétique.

5.4.3. L'analyse des paramètres rénaux

Les résultats dans le Tableau 19 montrent des variations significatives des paramètres rénaux entre les groupes. Chez les rats sains, les taux d'urée, de créatinine, et d'acide urique sont 23.36 ± 2.5 mg/dL, 0.65 ± 0.09 mg/dL, et 3.2 ± 0.92 mg/dL respectivement, tandis que le diabète entraîne une élévation très hautement significative ($P < 0.001$) au niveaux les taux d'urée, de créatinine, et d'acide urique 54 ± 3.64 mg/dL, 2.07 ± 0.84 mg/dL, et 7.95 ± 1.92 mg/dL respectivement. Les traitements réduisent ces niveaux, la Metformine et le ZnO NPs et le ZnO dopé Mg- Ag NPs à (5mg/kg/j) réduisent ses valeurs avec une amélioration très hautement significatives par rapport le groupe diabétique, à (30 ± 2.7 mg/dL, $P < 0.001$) et (30 ± 1.3 mg/dL, $P < 0.001$), de manière très significative (44.07 ± 1.22 mg/dL, $P < 0.01$) pour l'urée, montre aussi une diminution très hautement significative à (0.74 ± 0.01 mg/dL, $P < 0.001$), (0.94 ± 0.08 mg/dL, $P < 0.001$) et (0.70 ± 0.05 mg/dL, $P < 0.001$) pour la créatinine. L'acide urique est également réduit efficacement à ($P < 0.01$) pour Metformine et ZnO dopé Mg-Ag NPs, ($P < 0.05$) pour ZnO NPs.

Tableau 19: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur les paramètres rénaux sériques (Urée, Créatinine, Acide urique) chez les rats de wistar diabétique.

Paramètres rénaux (mg/dL)	Le groupe normale (Sain)	Le groupe diabétiques (non traité)	Le groupe diabétiques traité par Metformine (5mg/kg)	Le groupe diabétiques traité par ZnO NPs (5mg/kg)	Le groupe diabétiques traité par ZnO dopé MgAg (5mg/kg)
Urée	$23.36 \pm 2.5^{***}$	54 ± 3.64^c	$30 \pm 2.7^{***NS}$	$44.07 \pm 1.22^{**b}$	$30 \pm 1.3^{***NS}$
Créatinine	$0.65 \pm 0.09^{***}$	2.07 ± 0.84^c	$0.74 \pm 0.01^{***NS}$	$0.94 \pm 0.08^{***NS}$	$0.70 \pm 0.05^{***NS}$
Acide urique	$3.2 \pm 0.92^{**}$	7.95 ± 1.92^c	$3.82 \pm 2.03^{***NS}$	$5.22 \pm 1.31^{*a}$	$3.88 \pm 1.45^{***NS}$

^a; $p < 0,05$ significative, ^b; $p < 0,01$: très significative, ^c; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport groupe sain.

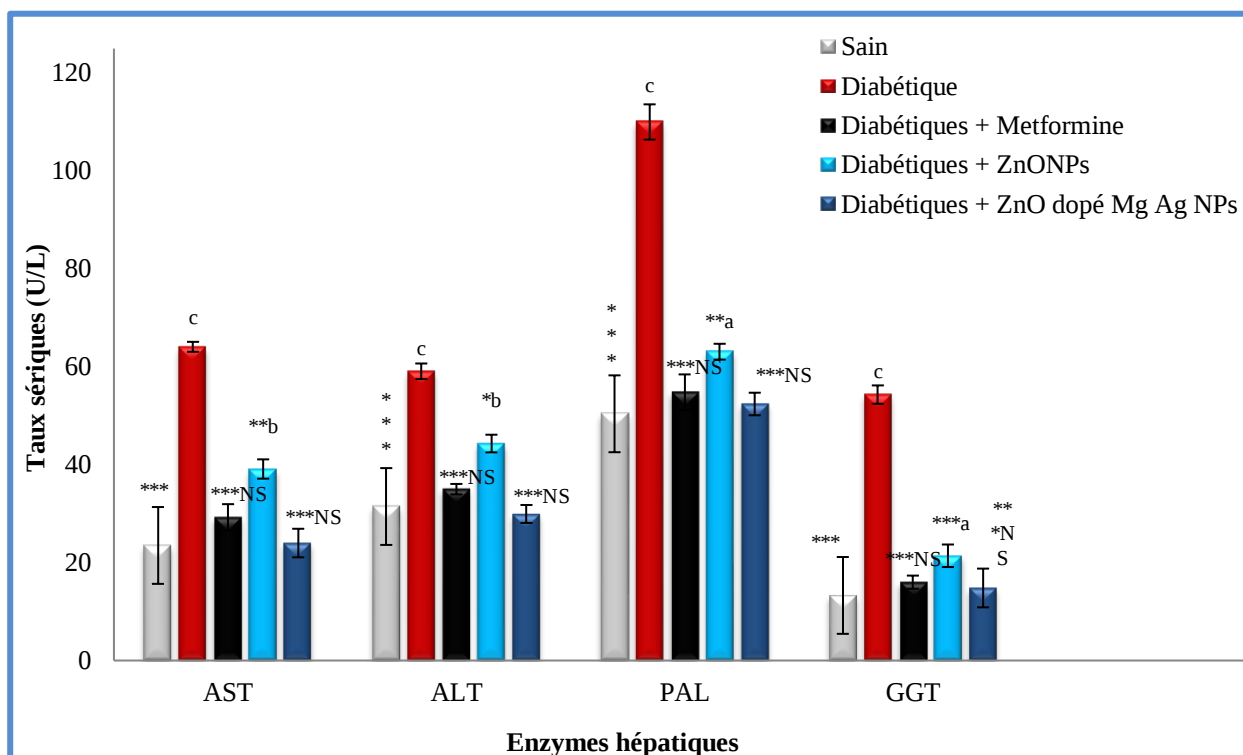
*; $p < 0,05$ significative **; $p < 0,01$: très significative ***; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport grp diabétique.

^{NS}; $p > 0,05$ non significative.

5.4.4. L'analyse des paramètres hépatiques

Les résultats montrent que le groupe diabétique présente des niveaux d'enzymes hépatiques (AST, ALT, PAL, GGT) plus élevés que le groupe sain (Figure 52). En effet, les valeurs pour AST, ALT et PAL, GGT sont respectivement de 64.13 ± 1.01 U/L, 59.13 ± 1.59 U/L et 110.09 ± 1.40 U/L, 54.2 ± 1.88 U/L chez les rats diabétique, par contre 2.451 ± 2.69 U/L, 31.35 ± 1.07 U/L

et 50.05 ± 2.05 U/L, 13.5 ± 1.35 U/L chez les rats sains. Les traitements par Metformine, ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs avec une dose de 5 mg/kg/j ont réduit de manière significative le niveaux des paramètres hépatiques comme le groupe à Metformine a montré une amélioration très hautement significative ($P < 0.001$) avec des valeurs de 29.14 ± 1.31 U/L pour AST, 35.00 ± 3.16 U/L pour ALT, 55.16 ± 2.65 U/L pour PAL, $15.60 \pm .280$ U/L pour GGT, et de même manière montré une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) pour le groupe traité par ZnO dopé Mg-Ag NPs avec des valeurs AST: 24 ± 2.91 U/L, ALT: 29.94 ± 1.83 U/L, PAL: 52.40 ± 2.30 U/L, GGT: 14.82 ± 3.95 U/L, alors que le traitement ZnO NPs a montré une amélioration avec des signification différentes AST: 39.2 ± 1.71 U/L ($P < 0.01$), ALT: 43.14 ± 1.33 U/L ($P < 0.05$), montre aussi une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) à PAL: 63.20 ± 2.31 U/L, GGT: 21.02 ± 2.44 U/L par rapport le groupe diabétique. (Figure 52).



^a; $p < 0,05$ significative, ^b; $p < 0,01$: très significative, ^c; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport groupe sain.
^{*}; $p < 0,05$ significative ^{**}; $p < 0,01$: très significative ^{***}; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport grp diabétique.
^{NS}; $p > 0,05$ non significative.

Figure 52: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur les paramètres hépatiques sanguines (AST, ALT, PAL, GGT) chez les rats de wistar diabétique.

5.4.5. L'analyse de alfa amylase et de l'insuline

Les résultats des enzymes liées au diabète présentées dans le Tableau (20) montrent que l' α -amylase est diminuée de manière très fortement notable ($P < 0.001$) chez les rats diabétiques (22 ± 1.06 UI/L) par rapport au groupe témoin, tandis que les traitements, notamment avec la Metformine et le ZnO dopé Mg-Ag NPs (5mg/kg/j) permettent une amélioration au niveau de l'alpha amylase très hautement significative ($P < 0.001$) (56 ± 1.33 UI/L, 54 ± 1.05 UI/L) respectivement, le ZnO NPs (35 ± 1.01 UI/L, $P < 0.01$). De même, l'effet pour le taux d'insuline chez les rats diabétiques est significativement réduit ($P < 0.001$) (25.60 ± 1.12 UI/L) par rapport au groupe témoin, alors qu'il y a une augmentation chez tous les groupes traités par rapport au groupe de diabète, de manière très hautement significative ($P < 0.001$) pour la Metformine et le ZnO dopé Mg Ag NPs, par contre, le groupe ZnO NPs diminue de façon hautement significative ($P < 0.05$). Ces observations mettent en évidence l'impact positif des traitements sur ces paramètres dans le cadre du diabète.

Tableau 20: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le taux de alfa amylase et de l'insuline sanguin chez les rats de wistar diabétique.

Paramètres	Le groupe normale (Sain)	Le groupe diabétiques (non traité)	Le groupe diabétiques traité par Metformine (5 mg/kg)	Le groupe diabétiques traité par ZnONPs (5 mg/kg)	Le groupe diabétiques traité par ZnO dopé MgAg (5 mg/kg)
α -amylase (UI/L)	$60 \pm 1.02^{***}$	22 ± 1.06^c	$56 \pm 1.33^{***NS}$	$35 \pm 1.01^{**a}$	$54 \pm 1.05^{***NS}$
Insuline (UI/mL)	$50.23 \pm 1.24^{***}$	25.60 ± 1.12^c	$45.98 \pm 1.20^{***NS}$	$30.07 \pm 1.64^{*c}$	$40.21 \pm 1.32^{***NS}$

^a; $p < 0,05$ significative, ^b; $p < 0,01$: très significative, ^c; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport au groupe sain.

*; $p < 0,05$ significative **; $p < 0,01$: très significative ***; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport au groupe diabétique.

^{NS}; $p > 0,05$ non significative.

5.4.6. L'analyse des paramètres hématologiques

Les résultats des paramètres hématologiques montrent une variation significative entre les groupes expérimentaux; illustrés dans le Tableau (21). Chez les rats sains, l'hémoglobine est 15.05 ± 2.84 g/dL, tandis que l'hémoglobine diminue de manière très significative ($P < 0.01$) dans le groupe diabétique à 12.43 ± 2.73 g/dL. Par contre, les traitements de Metformine avec une

dose de 5 mg/kg/j à 15.34 ± 3.42 g/dL et le ZnO dopé Mg-Ag NPs (5mg/kg/j) à 15.23 ± 2.76 g/dL, permettent une bonne augmentation de taux d'hémoglobine de manière très significative ($P < 0.01$), et pour le ZnO NPs, il y a une augmentation modérée de taux d'hémoglobine de manière significative ($P < 0.05$). Le effet pour les plaquettes, ses valeurs montrent une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) chez tous les groupes traités en comparaison au groupe diabétique. Alors que concernant les globules blancs (WBC), une augmentation est observée chez les rats diabétiques de $11.33 \pm 2.66 \times 10^3/\text{ul}$, tandis que les traitements diminuent de manière très hautement significative ($P < 0.001$) chez tous les groupes par rapport au groupe diabétique, et aucune variation significative n'est observée chez les groupes traités aux niveaux du taux de globules rouges (RBC).

Tableau 21: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur les paramètres hématologiques (Hémoglobine, Plaquettes, Globules blancs, et Globules rouges) chez les rats de wistar diabétique.

Paramètres hématologiques	Le groupe normale (Sain)	Le groupe diabétiques (non traité)	Le groupe diabétiques traité par Metformine (5mg/kg)	Le groupe diabétiques traité par ZnONPs (5 mg/kg)	Le groupe diabétiques traité par ZnO dopé Mg-Ag (5mg/kg)
Hémoglobine (g/dL)	$15.05 \pm 2.84^{**}$	12.43 ± 2.73^b	$15.34 \pm 3.42^{**NS}$	$13.4 \pm 3.41^{*b}$	$15.23 \pm 2.76^{**NS}$
Platelets (PLT) ($\times 10^3/\text{ul}$)	$250.23 \pm 3.08^{***}$	351.2 ± 2.73^c	$215.75 \pm 2.16^{***a}$	$213 \pm 2.96^{***a}$	$240 \pm 2.91^{***NS}$
globules blancs WBC ($\times 10^3/\text{ul}$)	$8.290 \pm 1.295^{***}$	11.33 ± 2.660^c	$7.11 \pm 1.541^{***NS}$	$7.80 \pm 2.113^{***NS}$	$7.58 \pm 1.182^{***NS}$
globules rouges RBC ($\times 10^3/\text{ul}$)	8.50 ± 1.72^{NS}	7.7 ± 2.21^{NS}	8.10 ± 1.42^{NSNS}	8.054 ± 1.56^{NSNS}	8.13 ± 2.35^{NSNS}

^a; $p < 0,05$ significative, ^b; $p < 0,01$: très significative, ^c; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport au groupe sain.
^{*}; $p < 0,05$ significative ^{**}; $p < 0,01$: très significative ^{***}; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport au groupe diabétique.
^{NS}; $p > 0,05$ non significative.

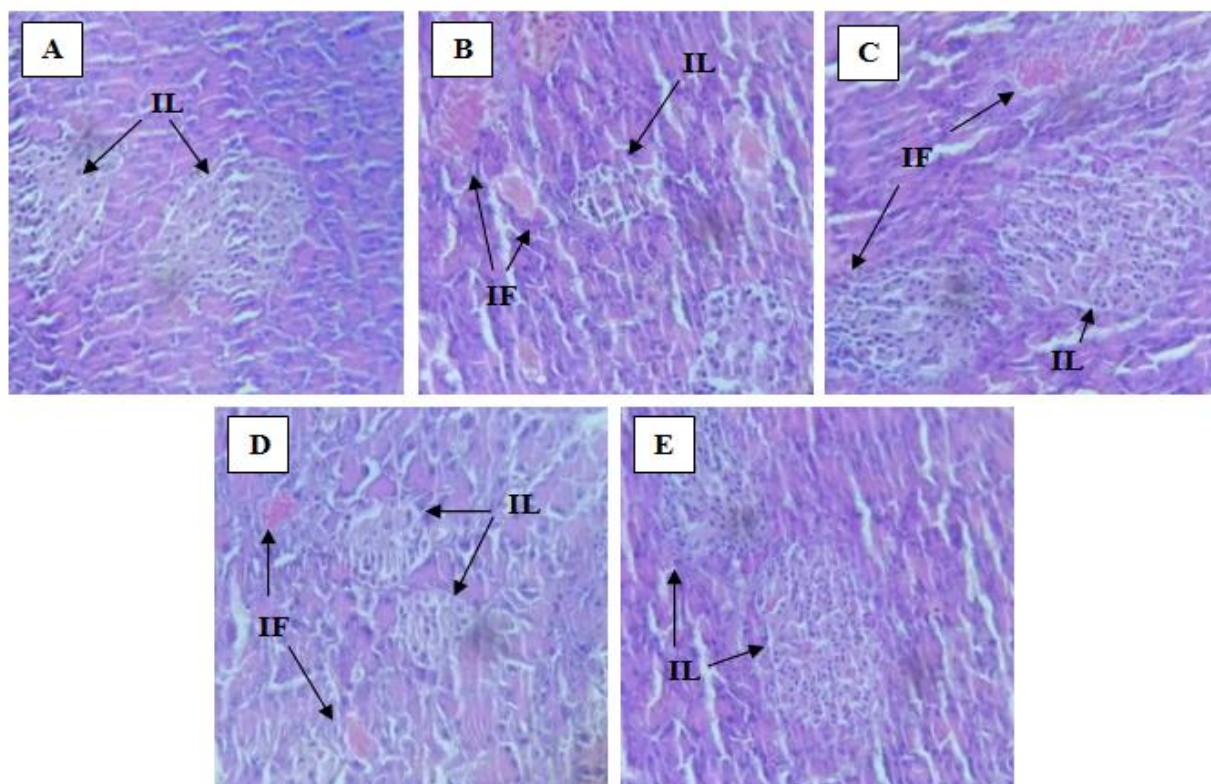
5.4.7. Les coupes histologiques

5.4.7.1. Pancréas

Les coupes histologiques du pancréas montrent des différences marquées entre les groupes étudiés. Dans le groupe témoin, les îlots de Langerhans apparaissent en nombre, taille et forme normaux, reflétant une structure fonctionnelle intacte. De plus, les acini pancréatiques exocrines présentent une structure normale.

Chez les rats diabétiques induits par l'alloxane, montrant les îlots de Langerhans apparaissent atrophiés et réduits de nombre et de taille, en raison de la destruction des quelques îlots par l'alloxane, et la vacuolisation indiquer la mort des cellules bêta. De plus, le tissu exocrine présentent des modifications de la forme cellulaire, ou des signes d'inflammation.

Par ailleurs le traitement des rats diabétiques avec de la Metformine (5 mg/kg) que les îlots de Langerhans montrent un nombre et une taille proches de ceux observés dans un pancréas de rat normal. De plus, le tissu exocrine présentent des modifications de la forme cellulaire, avec infiltrat inflammatoire leucocytaire. Le traitement avec des nanoparticules (ZnO NPs) (5 mg/kg) conduit à une restauration modérée des îlots de Langerhans avec infiltrat inflammatoire leucocytaire léger et récupération modérée du pancréas exocrine. Enfin, les rats traités avec des nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag (5 mg/kg) révélant une taille et une nombre agrandies des îlots de Langerhans (restauration presque complète) avec une prolifération des cellules des îlots. De plus, les acini pancréatiques exocrines présentent une structure normale (Figure 53).



A: groupe témoin, B: groupe diabétiques, C: groupe traité par Metformine, D: groupe traité par ZnO NP, E: groupe traité par ZnO dopé Mg-Ag NPs. IL: îlot de Langerhans, IF : Inflammation

Figure 53: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le pancréas chez les rats de wistar diabétique. Gr x40.

5.4.7.2.Foie

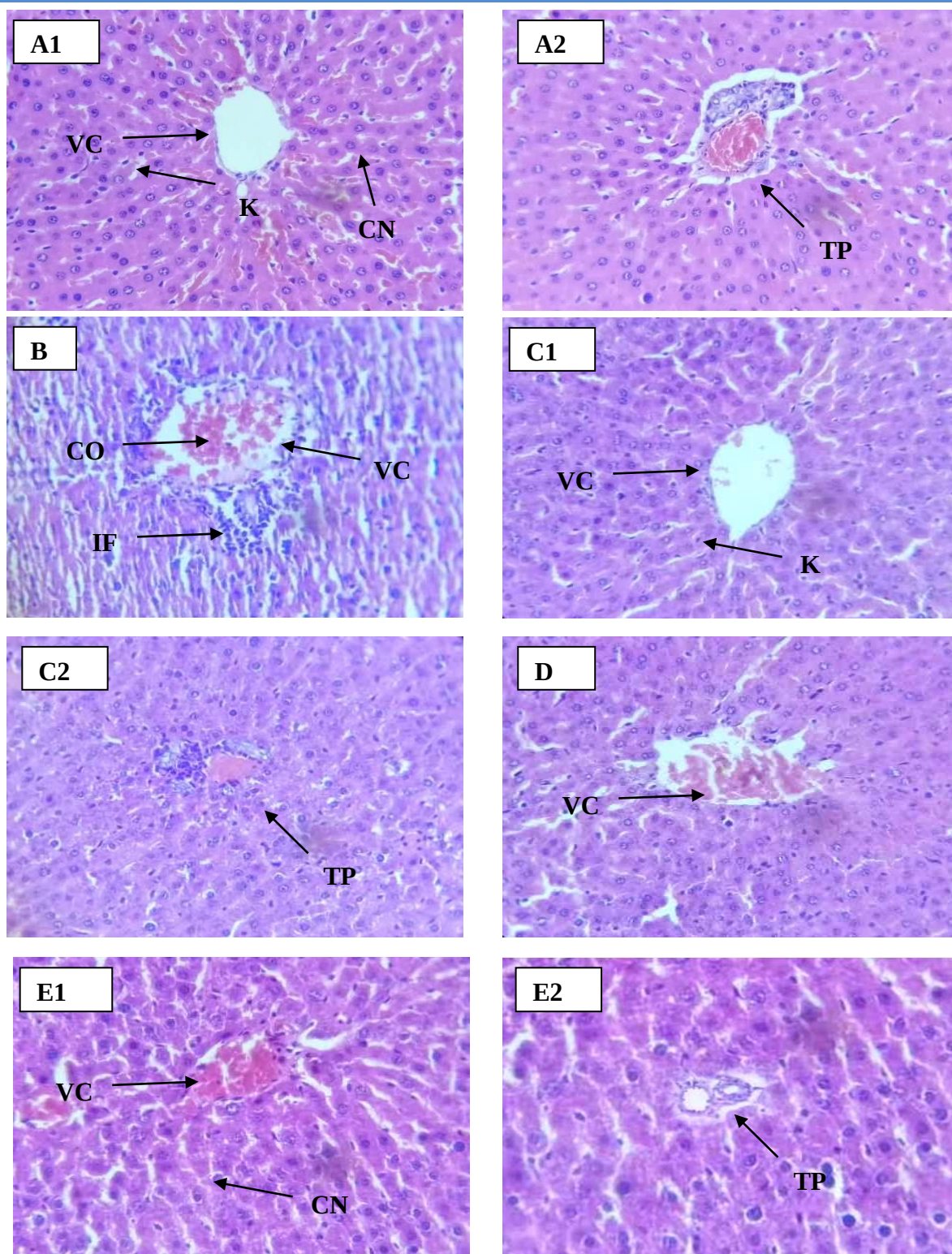
Les coupes histologiques du foie des rats témoin montre une architecture des hépatocytes normaux avec des noyaux ronds, un nucléole proéminent et un cytoplasme lisse (hépatocytes organisés en cordons hépatiques), avec la triade portale (TP) et la veine centrale (VC) taille et forme sont normales. De plus, quelques cellules de Kupffer (k).

Chez les rats diabétiques, les coupes montrent une distorsion complète de l'architecture hépatique présente une importante dilatation et une congestion de la veine centrale entourée d'hépatocytes avec des noyaux apoptotiques, une vacuolisation cytoplasmique, ainsi qu'une infiltration de cellules lymphocytaires (CL) dans la zone de la veine centrale.

Les rats diabétiques traités au Métformine (5 mg/kg), les coupes montrant une bonne restauration de l'architecture hépatocytaire comparable à celle du normal, la veine centrale normale (non dilatée) mais avec une discrète congestion, la triade portale montre une taille et une forme normale, quelques cellules de Kupffer (k).

Chez les rats diabétiques traités avec des nanoparticules ZnO (5 mg/kg), montrant une restauration partielle de l'architecture hépatique, la veine centrale est en une légère dilatation et une congestion modérée et la triade portale est normale.

En revanche, la meilleur effet thérapeutique a été observé dans le groupe (5), la Coupe histologiques de foie des rats traités avec des ZnO dopé Mg-Ag NPs (5mg/kg) montrant une meilleure restauration de l'architecture hépatique, la veine centrale est non dilatée et la triade portale est intacte et normale (Figure 54).



A1.A2: groupe témoin; **B:** groupe diabétiques, **C1.C2:** groupe traité par Metformine, **D:** groupe traité par ZnO, **E1.E2:** groupe traité par ZnO dopé Mg-Ag NPs,
VC: Veine centrale, **CN:** Cellules normale, **TP:** Triade portale, **K:** cellules de Kupffer, **CO:** Congestion, **IF:** Inflammation.

Figure 54: L'effet des nanoparticules ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes sur le foie chez les rats de wistar diabétique. Gr x40

Chapitre III

Discussion

DISCUSSION

La principale source des composés bioactives aux bienfaits thérapeutiques potentiels est constituée de plantes. De nombreuses recherches ont révélé la composition bioactives intrigante des plantes, qui comprend des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins, tous connus pour avoir des effets positifs sur la santé (Mogana et *al.*, 2019). Par ailleurs, la nature a fourni des informations et une étape importante dans les composés bioactives a été incorporée dans la synthèse de nanoparticules. Dernièrement, les nanoparticules biodégradables sont de plus en plus utilisées comme véhicules d'administration de traitement en raison de leur excellente biodisponibilité, et de leur efficacité ciblée des médicaments, au lieu de médicaments naturels qui donnent un espoir limité de rétablir la santé en raison de leur action non ciblée, de leur absorption lente et, dans certains cas, de leur faible efficacité et de leur temps de récupération prolongés (Singh et *al.*, 2018). Aujourd'hui, les chercheurs, par leurs travaux approfondis, s'efforcent de proposer une nouvelle approche respectueuse de l'environnement. Nos travaux apportent de nouvelles connaissances sur la plante *Phoenix dactylifera* L. en particulier les noyaux des dattes de la variété *Ghars* et sa contribution à la synthèse de nanoparticules et déterminent leurs activités biologiques dans des études *in vitro* et *in vivo*.

Le rendement d'extraction obtenu de $10 \pm 0.5\%$ à partir des noyaux des dattes de la variété *Ghars* reflète une efficacité modérée. Ce résultat est comparable à des études utilisant des méthodes similaires, telles que l'extraction avec des solvants comme le méthanol, qui rapportent des rendements entre 9 et 12% selon les cultivars (Ferdosh et *al.*, 2023). Cependant, des techniques modernes comme l'extraction assistée par ultrasons ou supercritique CO₂ atteignent des rendements supérieurs (jusqu'à 20%), augmentant également la teneur en composés bioactifs (Ghafoor et *al.*, 2022). Cela souligne la nécessité d'optimiser les paramètres d'extraction pour améliorer l'efficacité tout en maintenant une approche écologique.

Analyse des extraits aqueux des noyaux des dattes des palmiers dattier(Phoenix dactylifera L.)

Les résultats des tests phytochimiques des extraits aqueux des noyaux des dattes de la variété *Gharsa* révélé une richesse en métabolites secondaires, notamment en polyphénols et flavonoïdes, connus pour leurs propriétés antioxydantes et bioactives (Scalbert et *al.*, 2005). La présence de tanins, d'alcaloïdes et de stérols confirme le potentiel biologique des extraits, tandis que l'absence de saponosides et d'anthocyanines limite certaines activités spécifiques. Ces résultats sont en accord avec des études antérieures soulignant la richesse en polyphénols des

noyaux des dattes et leur potentiel thérapeutique (Habib & Ibrahim, 2011). Les propriétés bioactives de ces substances comprennent des effets hépatoprotecteurs (Ghania A, et Djahra, A B, 2023), antioxydants, anti-inflammatoires, antibactériens (Ali-Rachedi et *al.*, 2018). Par conséquent, ces métabolites secondaires soutiennent l'utilisation efficace des plantes dans l'industrie pharmaceutique (Negro et *al.*, 2019).

L'analyse quantitative a montré l'extraits aqueux des noyaux des dattes de la variété *Ghars* possède des teneur élevés de phénol total (85.8 ± 0.03 mg GAEq/g Ex) ainsi qu'une concentration modérée en flavonoïdes et tanins (59.9 ± 0.04 mg QEq/g Ex et 22.95 ± 0.03 mg E.Cat/g Ex, respectivement). Selon cette étude, la teneur élevée en phénols de cette plante contribue à sa capacité antioxydante accrue; ces métabolites secondaires sont généralement liés aux composants antioxydants et sont responsables d'une variété d'effets pharmacologiques (Saklani et *al.*, 2011). Ce résultat probablement s'expliquer a servi d'agent réducteur et stabilisant dans le processus de synthèse biogénique, jouant un rôle crucial dans la formation des nanoparticules (Zhao Y et *al.*, 2015). Ces valeurs sont cohérentes avec d'autres recherches démontrant le rôle majeur des polyphénols dans la lutte contre le stress oxydatif et l'inflammation (Al-Farsi et *al.*, 2005).

L'analyse quantitative et qualitative du composés phénolique de l'extraits aqueux des noyaux des dattes (variété *Ghars*), révèle une gamme diversifiée de composés bioactifs, avec 10 composés phénoliques, mettant en évidence son vaste potentiel thérapeutique. Dans cette étude, plusieurs de ces composés ont été quantifiés, parmi les quelles la salicine se distingue comme le composé phénolique le plus abondant, contribuant de manière significative aux propriétés thérapeutiques de l'extraits en raison de ses effets anti-inflammatoires et analgésiques, ainsi que de sa capacité à améliorer la sensibilité à l'insuline et à réduire les cytokines inflammatoires associées au diabète (Abu-Reidah et *al.*, 2017; Elsanhoty et *al.*, 2012). Le pyrocatéchol et l'esculine sont également présents à des concentrations notables, soulignant leurs rôles possibles dans l'amélioration des activités antioxydantes, hépatoprotectrices et régulatrices du métabolisme du glucose (Akella & Malla, 2020; Li et *al.*, 2022). Des niveaux modérés d'acide ascorbique et de pyrogallol soulignent le potentiel de l'extraits pour piéger les radicaux libres, ce qui est essentiel pour atténuer le stress oxydatif, un facteur clé dans la progression du diabète (Asdaq et *al.*, 2024; Yasin et *al.*, 2015). De plus, la présence d'acide chlorogénique et d'acide caféique met en évidence la capacité de l'extraits à inhiber la peroxydation lipidique, à réduire les niveaux de glucose à jeun et à retarder l'absorption intestinale du glucose, soutenant ainsi la santé cardiovasculaire et glycémique (El-Gendy et *al.*, 2024), l'acide caféique est l'acide phénolique prédominant et

largement disponible, et qu'il présente une capacité antioxydante et chélatrice du fer (Ghosh et *al.*, 2020) et aussi l'acide caféique réduit la réponse immunitaire et inflammatoire aiguë (Gao et *al.*, 2018). D'autres composés, tels que la catéchine et la caféine, contribuent aux propriétés antioxydantes, neuroprotectrices et sensibilisantes à l'insuline de l'extrait (Shikha et *al.*, 2024). Fait intéressant, plusieurs phénoliques, notamment la rutine, la vanilline, l'acide salicylique et la quercétine, n'ont pas été détectés, suggérant que les méthodes d'extraction ou les facteurs environnementaux pourraient influencer leur absence. La composition phénolique complète observée souligne la bioactivité multifacette de l'extrait de *Phoenix dactylifera* L., suggérant son utilité dans les aliments fonctionnels et les applications thérapeutiques ciblant les troubles métaboliques et liés au stress oxydatif, y compris le diabète.

Caractérisations des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-AgNPs)

La présente étude porte sur la synthèse verte de nanoparticules de ZnO et de ZnO dopées Mg-Ag par conversion de biomasse des noyaux des dattes (variété *Ghars*). Le processus de synthèse a été optimisé pour obtenir des nanoparticules de haute qualité avec les propriétés souhaitées. L'extrait aqueux des noyaux des dattes de palmier dattier a servi d'agent réducteur et stabilisant dans le processus de synthèse biogénique, jouant un rôle crucial dans la formation des nanoparticules. Cette approche s'inscrit dans la tendance croissante d'utilisation de ressources de biomasse renouvelables pour la production durable de nanomatériaux (Zhao Y et *al.*, 2015; Haruna A et Yahaya S M, 2021). L'optimisation des paramètres de synthèse, tels que la température, le temps et le pH de réaction, était essentielle pour obtenir des nanoparticules aux caractéristiques ciblées (Gherbi B et *al.*, 2022). La formation réussie de nanoparticules de ZnO pures et l'incorporation efficace de dopants Mg et Ag dans le réseau de ZnO ont été confirmées par des techniques de caractérisation complètes, notamment la DRX, la FTIR, la SEM-EDAX et la spectroscopie UV-Vis (MohdYusof H et *al.*, 2019).

Le spectres UV-Vis montrent un déplacement notable du pic d'absorption (373.2 nm) vers une longueur d'onde plus élevée (395.6 nm) après le dopage. Ce déplacement traduit une modification de la structure électronique et des transitions énergétiques au sein des nanoparticules de ZnO, induites par les dopants Mg et Ag. L'augmentation de l'énergie associée à ces dopants suggère des excitations électroniques accrues ou des altérations dans la structure de bande de ce nanomatériau (Ufitikirezi J D et *al.*, 2024). Cela peut être attribué à l'interaction entre

les dopants et le réseau hôte de ZnO, influençant les caractéristiques électroniques et optiques du matériau. Ces résultats corroborent les travaux antérieurs signalant des changements similaires après le dopage des ZnO NPs avec des éléments de transition, qui modifient la densité des états électroniques et augmentent la taille des particules (Althobaiti et *al.*, 2022).

Le spectre FTIR des nanoparticules de ZnO et ZnO dopées Mg-Ag présente des pics d'absorption caractéristiques à 474.6 cm^{-1} et 482.2 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'étirement ZnO. Ces observations concordent avec les études antérieures sur les nanoparticules de ZnO (Khan S A et *al.*, 2018) et la bande autour de 435.91 cm^{-1} est légèrement modifiée, ce qui peut être lié à des changements dans la structure cristalline ou aux interactions entre ZnO, Mg-O et Ag-O. Des pics d'absorption à 871.8 cm^{-1} et 1049.3 cm^{-1} ont été attribués respectivement aux vibrations de flexion C-C et aux vibrations d'étirement C-O, ce qui suggère la présence de composés organiques, probablement issus de l'extrait de plante utilisé lors de la biosynthèse (Alamdari S et *al.*, 2020; Albarakaty F Met *al.*, 2023). Le pic à 1411.9 cm^{-1} est associé aux vibrations de flexion C-H, également dues à des molécules organiques présentes dans l'extrait de plante, comme indiqué dans des travaux similaires (Balogun S W et *al.*, 2020). De plus, un pic à 1608.6 cm^{-1} correspond aux vibrations d'étirement C=C, caractéristiques des matériaux organiques (Abdelbaky A S et *al.*, 2023). Les pics à 2850.79 cm^{-1} sont attribués aux vibrations d'étirement C-H, typiques des hydrocarbures aliphatiques, souvent détectés dans les extraits de plantes (Abdelbaky A S et *al.*, 2023). Enfin, un large pic à 3444.87 cm^{-1} a été attribué aux vibrations d'étirement O-H, pouvant provenir de l'eau ou de groupes hydroxyles présents à la surface des ZnO NPs. Ce signal pourrait également inclure des contributions des groupes phénoliques contenus dans l'extrait de plante utilisé pour la synthèse (Amin Z S et *al.*, 2023).

L'analyse DRX des nanoparticules ZnO synthétisées correspondait parfaitement aux références de la carte ICCD #48-1548, montrant des pics caractéristiques du ZnO. Ces résultats confirment la structure hexagonale wurtzite du ZnO, en accord avec les données cristallographiques précédentes (Wijesinghe U et *al.*, 2021). Pour les ZnO NPs dopées par Mg et Ag, le spectre XRD a montré des changements notables. Des pics supplémentaires correspondant aux atomes de Mg ont été détectés, par ailleurs, de nouveaux pics ont été observés correspondant aux atomes de Ag. Ces observations confirment l'intégration réussie de Mg et Ag dans la structure des nanoparticules de ZnO (MohdYusof H et *al.*, 2019). L'augmentation significative de la taille des cristallites ($22.0 \pm 0.1\text{ nm}$) après dopage est attribuée à l'intégration des ions Mg et

Ag dans le réseau cristallin de ZnO. Ce phénomène peut être lié à une réduction des défauts cristallins ou à une meilleure organisation des grains cristallins, résultant en une amélioration des propriétés optiques et électroniques du matériau Mg et Ag (Awwad A M et *al.*, 2013). Ces observations sont cohérentes avec les travaux de Kumar et *al.*, qui ont montré que le dopage entraîne une expansion du réseau cristallin en raison des différences de taille ionique (Kumar et *al.*, 2018).

Les images de SEM montre des nanoparticules de ZnO et de ZnO dopées Mg-Ag de morphologie Sub-sphérique avec une augmentation de la taille moyenne, atteignant (48.82 nm, 58.50 nm respectivement) avec l'agrandissement 2µm. Ces observations mettent une augmentation de la taille des particules accompagnée d'une agglomérations accrue d'oxyde de zinc, ce qui s'expliquer par l'agrégation de particules liée à l'auto-assemblage des nanoparticules de ZnO, et aussi à cause des interactions chimiques et des changements dans la dynamique de la nucléation et de la croissance favorisée par les dopants Mg et Ag. Ces modifications peuvent également influencer les propriétés optiques et structurales des nanoparticules biosynthétisées (Saleem et *al.*, 2022; Singh et *al.*, 2022; Kazemi et *al.*, 2020).

Les résultats de l'analyse EDAX pour les ZnO NPs montrent que ces nanoparticules sont composées principalement de zinc et d'oxygène, avec une faible présence de calcium. Ces résultats confirment la pureté chimique des ZnO NPs, en accord avec les études antérieures rapportant que les nanoparticules de ZnO synthétisées par des méthodes classiques présentent une composition similaire, caractérisée par une structure cristalline homogène et une faible contamination (Singh et *al.*, 2021). La faible quantité de calcium détectée peut être attribuée à plusieurs facteurs. Tout d'abord, le processus de conversion de la biomasse utilisant les noyaux de dattes de *Phoenix dactylifera* L. pourrait introduire des traces de calcium. En effet, les noyaux de dattes sont connues pour contenir divers minéraux (saleh et *al.*, 2023), dont le calcium, qui peuvent ne pas être entièrement éliminés au cours du processus d'extraction, apparaissant ainsi dans le produit final des nanoparticules de ZnO. De plus, des traces de calcium pourraient également provenir des précurseurs chimiques, des réactifs ou même des équipements de laboratoire utilisés pendant la synthèse (Ghafoor et *al.*, 2024). Ce phénomène est fréquent dans la synthèse des nanoparticules, où même des produits chimiques de haute pureté et un matériel de laboratoire rigoureusement nettoyé peuvent contribuer à de faibles niveaux de contamination. En revanche, l'analyse EDAX des ZnO dopé Mg-AgNPs révèle une composition modifiée due au

dopage. L'oxygène représente 26.64% en poids, il est diminué légèrement, tandis que le zinc représente 70.10% en poids il est diminué. Parallèlement, les dopants, le magnésium et l'argent, sont détectés à des concentrations respectives de 1.63% et 0.62% en poids avec une faible présence de calcium (1.11% en poids). Ces résultats confirment l'incorporation réussie des dopants Mg et Ag dans la matrice ZnO (Weng et *al.*, 2023), comme en témoignent les variations significatives de la composition élémentaire par rapport au ZnO NPs, apportant ainsi une meilleure compréhension de la structure chimique du matériau synthétisé (Singh et *al.*, 2021), qui ont démontré que le dopage réduit légèrement la proportion de zinc tout en augmentant l'activité fonctionnelle des nanoparticules. Ces résultats mettent en évidence que le dopage optimise les propriétés des ZnO NPs, telles que leur réactivité chimique et leurs interactions biologiques, tout en maintenant une structure cristalline stable (Barani et *al.*, 2023).

Les résultats expérimentaux obtenus démontrent clairement l'impact du dopage avec Mg et Ag sur les propriétés optiques, et électroniques, structurales et morphologiques des nanoparticules synthétisée (Madi K et *al.*, 2024).

Activité in vitro des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-AgNPs)

Les résultats des tests DPPH et FRAP révèlent des activités antioxydantes faible. Le test DPPH montré une activité faible des ZnO NPs comparée aux ZnO dopé Mg-AgNPs. Par ailleurs, le test FRAP, les ZnO dopé Mg-AgNPs montrent une activité modérée, tandis que les ZnO NPs sont moins efficaces. L'acide ascorbique, utilisé comme référence, affiche une capacité antioxydante supérieure.

Les résultats de test DPPH, les ZnO NPs présentent une activité antioxydante plus faible que les ZnO dopés Mg-Ag NPs, tandis que l'acide ascorbique, utilisé comme référence, démontre une capacité antioxydante significativement supérieure. L'acide ascorbique, reconnu pour ses propriétés antioxydantes, sert de référence la plus élevée, présentant la plus forte activité de piégeage des radicaux (Chang et *al.*, 2002). Bien que les nanoparticules démontrent des propriétés antioxydantes moins efficaces à celle de l'acide ascorbique, les nanoparticules de ZnO dopée au Mg et Ag à une teneur en Mg et Ag peut être attribuée à leur efficacité à transférer la densité électronique à l'atome d'azote des radicaux DPPH (Weng et *al.*, 2023). Cependant, l'incorporation d'ions Mg dans les nanoparticules ZnO améliore leur capacité de piégeage des radicaux, une teneur en Mg élevée étant corrélée l'activité antioxydante (Sonkar et *al.*, 2024).

Cela suggère que l'incorporation d'ions Ag dans le réseau ZnO améliore ses capacités de transfert d'électrons et peut être attribuée à une augmentation du nombre de sites actifs, l'amélioration d'activité résultante des Ag est due aux agents de coiffage, qui sont trouvés (Alameen et *al.*, 2024). Ces résultats probablement s'expliquent par l'activité antioxydante limitée due à la faible pourcentage de dopage (0.5%) de l'argent et du magnésium. De plus, la faible activité antioxydante des nanoparticules ZnO est due au phénomène d'agglomération et de regroupement des particules d'oxyde de zinc, ce qui réduit la surface disponible pour l'interaction avec les radicaux libres (Latra et *al.*, 2024) et peut être le dopage Mg-Ag peut modifier la morphologie et la taille des grains, influençant ainsi l'activité antioxydante (Ng et *al.*, 2019). D'autre part, la faible activité des nanoparticules peut varier en fonction de la valeur du pH dans le milieu réactionnel (Primo et *al.*, 2020).

Par ailleurs, Le test FRAP montrent que les ZnO NPs ont une activité antioxydante légèrement inférieure à celle des ZnO dopés Mg-Ag NPs. En comparaison, l'acide ascorbique. L'acide ascorbique, reconnu pour ses propriétés antioxydantes, sert de référence la plus élevée, présentant la plus forte activité antioxydante (Chang et *al.*, 2002). Le pouvoir réducteur faible observé dans les formulations des nanoparticules, Cela pourrait être attribué à divers causes; la saturations des nanoparticules par l'extrait pourrait entraver la libération et l'interaction des antioxydants avec le fer ferrique (Sadeer et *al.*, 2020); les nanoparticules elles-mêmes pourraient interagir avec les composés antioxydants, modifiant leur structure et réduisant leur pouvoir réducteur (Sugahara et *al.*, 2015); la Stabilisation chimique des nanoparticules (Ghafoor et *al.*, 2024). Les nanoparticules de ZnO possèdent une activité réductrice faible, mais la présence de Mg et Ag dans la structure cristalline améliore cette capacité, cette amélioration suggère que le dopage modifie la structure électronique (Sonkar et *al.*, 2024), également la surface active des nanoparticules, augmentant leur interaction avec les ions ferriques (Alameen et *al.*, 2024). Le pouvoir réducteur faible des nanoparticules dopée probablement s'expliquer par l'activité antioxydante limitée due à la faible pourcentage de dopage (0.5%) de l'argent et du magnésium. De plus, la faible activité antioxydante des nanoparticules ZnO est due au phénomène d'agglomération et de regroupement des particules d'oxyde de zinc, ce qui réduit la surface disponible pour l'interaction avec les radicaux libres (Latra et *al.*, 2024). D'autre part le dopage modifier la morphologie et la taille des grains, influençant ainsi l'activité antioxydante (Ng et *al.*,

2019), peut être le dopage peut varier en fonction du pH, car leur réactivité chimique dépend de la charge de surface et de l'environnement ionique (Primo et *al.*, 2020).

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode β -carotène/acide linoléique révèle des différences significatives entre les échantillons. L'BHT est utilisé comme référence, montre une activité inhibitrice d'oxydation maximale. En revanche, ZnO dopée Mg-Ag NPs présentaient une activité antioxydante la plus élevée, les nanoparticules de ZnO affichent une activité inhibitrice modérée, mais la vitamine C indiquant une activité inhibitrice très faible et moindre par rapport les autres échantillons. Le BHT est un antioxydant synthétique lipophile largement utilisé comme référence dans le test β -carotène/acide linoléique, il affiche la plus forte inhibition de l'oxydation, car il agit efficacement contre les radicaux lipidiques en raison de sa solubilité élevée dans les phases lipidiques (Sharma P et *al.*, 2020) et confirme les études qui ont indiqué son efficacité dans l'inhibition de l'oxydation des lipides (Pokorný, 2007).

Les nanoparticules de ZnO dopées Mg-Ag présentent une inhibition élevée, nettement supérieure à celle des ZnO NPs, indiquant que l'ajout de magnésium (Mg) ou d'argent (Ag) améliore significativement leur efficacité antioxydante (Rudayni et *al.*, 2023). Ce effet est attribué à une meilleure dispersion et stabilité des nanoparticules dans le système β -carotène /acide linoléique, une libération accrue d'ions Zn, Ag et Mg, ainsi qu'à un effet synergique entre Ag et Mg qui favorise leur interaction avec les radicaux libres. Par ailleurs, la présence d'argent et de magnésium améliore la conductivité électronique et augmente l'activité de surface, renforçant ainsi leurs propriétés antioxydantes (Khyrun et *al.*, 2022). Ces nanoparticules sont également capables d'inactiver les radicaux libres grâce à leur capacité accrue à capturer des électrons libres (Mukhtar et *al.*, 2023). De plus, la diminution de leur taille et l'augmentation du taux de dopage optimisent leur interaction avec les radicaux libres, améliorant leur efficacité dans la prévention de l'oxydation du β -carotène (Ayaz et *al.*, 2022), il est évident que l'activité résultante des Ag est due aux agents de coiffage, qui sont trouvés, puis également à l'argent élémentaire. Bien que le mécanisme d'action à un niveau plus détaillé nécessite des preuves expérimentales plus sophistiquées, les nanoparticules semblent avoir un avenir prometteur. Ainsi, ces nanoparticules d'Ag pourraient être utilisées dans le traitement de nombreuses maladies causées par le stress oxydatif (Argun et Dao, 2018).

Les ZnO NPs montrent une activité modérée ($31.25 \pm 0.01\%$) par rapport au BHT, l'effet antioxydant est dû: les antioxydants non polaires tels que les nanoparticules ZnO interagissent

facilement avec les lipides, les rendant plus efficaces, la capacité du ZnO à générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui activent des mécanismes antioxydants et sa surface spécifique élevée, qui lui permet d'interagir avec les radicaux libres (Ali, S et *al.*, 2021). De plus, les nanoparticules sont facilement disponibles pour agir dans les systèmes apolaires, car elles peuvent facilement pénétrer en profondeur dans ce système (Tiwari et *al.*, 2024).

Dans cette étude, la vitamine C a enregistré le taux d'inhibition la plus faible (9.37 ± 0.01 %), par rapport au BHT, ZnO Mg-Ag NPs et ZnO NPs. Cela s'explique que la vitamine C, n'était pas efficace dans ce système par plusieurs facteurs; la vitamine C est un puissant antioxydant dans le milieu aqueuse, parce que c'est une molécule très polaire et soluble dans l'eau, mais elle ne se dissout pas facilement dans l'environnement gras représenté par l'expérience β -carotène/acide linoléique (Yusuf et *al.*, 2012), aussi dans ce système, le β -carotène est entouré de molécules grasses, ce qui rend difficile pour la vitamine C d'atteindre et de neutraliser efficacement les radicaux libres, de plus de l'incapacité d'interagir directement avec les radicaux libres gras, cela est dû au fait. La plupart des radicaux libres formés dans le système β -carotène/acide linoléique sont des radicaux peroxydes lipidiques ($\text{LOO}\cdot$), qui sont plus susceptibles de réagir avec les antioxydants non polaires tels que le BHT et les nanoparticules (Rocha et *al.*, 2018), de plus la vitamine C est instable dans des conditions aérobies ou lorsqu'elle est exposée à la lumière et à la chaleur, ce qui peut entraîner la perte d'une partie de son activité antioxydante pendant la période de réaction (48 heures), la vitamine C peut être facilement oxydée en acide déhydroascorbique (DHA), qui est moins actif en tant qu'antioxydant, en accord avec des études soulignant sa sensibilité à la dégradation oxydative (Shahidi & Zhong, 2015) à confirmé que la vitamine C est moins efficace dans les systèmes gras par rapport aux systèmes aqueux, en raison de son incapacité à se dissoudre et à interagir avec les radicaux gras, et la vitamine C peut renforcer l'effet antioxydant de la vitamine E, mais qu'elle est seule moins efficace dans les systèmes non polaires (Halliwell & Gutteridge, 2018).

Pour évaluer la capacité de ces nanoparticules à stabiliser la membrane des globules rouges humains, un test d'anti-hémolyse a été réalisé. Nos résultats ont montré que nanoparticules d'oxyde de zinc avaient un effet protecteur modéré, par rapport les nanoparticules d'oxyde de zinc dopée par le magnésium et l'argent a montré la meilleure protection contre la lyse des globules rouges (GR) à différentes concentrations. Les nanoparticules, présentent une capacité anti-hémolytique en stabilisant la membrane des globules rouges. Cette protection repose sur plusieurs

mécanismes: la réduction du stress oxydatif, empêchant la peroxydation des lipides membranaires (Afsar et *al.*, 2016), et la prévention de l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine grâce à l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Yesmin et *al.*, 2020). De plus, ces nanoparticules interagissent directement avec les lipides et protéines membranaires, renforçant ainsi la stabilité de la membrane et limitant la libération d'enzymes lytiques (Ahmad et *al.*, 1992). Les nanoparticules dopées par Mg et Ag affichent une efficacité supérieure probablement grâce à leur activité antioxydante renforcée et leur forte affinité avec la membrane cellulaire (Chen et *al.*, 2015). Toutefois, leur effet dépend de la concentration et des propriétés de surface des nanoparticules et de leur affinité dans les systèmes apolaires et leur affinité dans les systèmes polaires (Salem et *al.*, 2021). En raison de leur rôle protecteur, ces nanoparticules pourraient être exploitées en médecine pour prévenir les dommages oxydatifs des globules rouges, notamment dans des maladies comme l'anémie hémolytique. Cependant des recherches supplémentaires sont nécessaires pour optimiser leur utilisation et évaluer leur innocuité à long terme (Ahmeda et *al.*, 2020). De plus, Hussein et *al.*, (2017) ont expliqué que la petite taille des nanoparticules leur permet d'être transportées à travers la membrane cellulaire par un mécanisme de transport et peut être responsable des effets biologiques.

L'activité photocatalytique des nanoparticules pour évaluer la dégradation du colorant bleu de méthylène sous l'effet de la lumière. Les résultats du test photocatalytique par le bleu de méthylène ont démontré une efficacité notable de 2 types de nanoparticules étudiés.

Les nanoparticules d'oxyde de zinc ont atteint une dégradation maximale du bleu de méthylène, alors que les nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par le magnésium et l'argent ont atteint une efficacité moyenne dans la dégradation du bleu de méthylène. Ces résultats peuvent être attribués à plusieurs facteurs; tout d'abord, les ZnO NPs avec leur large bande spectrale, sont efficaces sous la lumière UV mais ont tendance à souffrir d'une recombinaison rapide des paires électrons, ce qui augmente leur efficacité (Alaizeri Z M et *al.*, 2021), selon leur taille de particule, et leur type de métal, leur morphologie de surface (Noohpisheh Z et *al.*, 2020), aussi la concentration des nanoparticules ZnO, pourrait augmenter la capacité à adsorber ou dégrader le bleu de méthylène (Ridha M et *al.*, 2024). L'incorporation d'ions Zn, Ag et Mg, Cu, Au dans les ZnO crée une barrière qui aide à séparer ces paires électrons, améliorant théoriquement les performances photocatalytiques (El-Beheri R R et *al.*, 2023; Raja S et *al.*, 2015). Cependant, cette barrière peut également introduire une résistance supplémentaire au transfert de charge, ce

qui entraîne une vitesse de réaction plus lente. De plus, le processus de dopage peut modifier la morphologie de surface et les sites actifs des ZnO dopé Mg-Ag NPs, ce qui peut avoir un impact sur la cinétique globale de la réaction. Le transfert d'électrons amélioré obtenu par le dopage de l'Ag, qui agit comme un puits d'électrons, peut contribuer à ce taux de dégradation plus lent que d'oxyde de zinc dopée malgré l'amélioration de l'efficacité globale (Panchal P et *al.*, 2023; Gangwar J et Joseph K S, 2024). En comparant ces résultats avec la littérature de Sudiarti et *al.*, (2024) ont synthétisé chimiquement des ZnO dopé par Ag à 1% d'Ag et ont obtenu une dégradation du bleu de méthylène de 91% en seulement 2 minutes, ce qui indique des performances plus rapides dans différentes conditions. Ce contraste souligne la nécessité d'optimiser les niveaux de dopage et les méthodes de synthèse (Talat-Mehrabad J et *al.*, 2016; Kim H K et *al.*, 2013). De plus, Panchal et *al.*, (Panchal P et *al.*, 2023) ont discuté de la variabilité des performances des photocatalyseurs ZnO dopés au métal, ce qui confirme notre observation de taux différents en fonction des méthodes de synthèse et des concentrations de dopage (Panchal P et *al.*, 2023). Les nanoparticules de ZnO de notre étude offrent une alternative prometteuse et écologique pour la photocatalyse, leurs performances justifiant une optimisation et une exploration supplémentaires pour améliorer à la fois l'efficacité et la cinétique de réaction.

Les propriétés antidiabétiques des nanoparticules ont été étudiées en évaluant leur capacité à inhiber les enzymes α -amylase et α -glucosidase. L'acarbose, utilisé comme un médicament de référence, il affiche la meilleure efficacité inhibitrice, confirmant son efficacité exceptionnelle comme inhibiteur de ces enzymes. Les nanoparticules ZnO, montrent une activité inhibitrice modérée mais les nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag présentent des résultats supérieurs à celles des ZnO, avec une inhibition croissante. Ces résultats soulignent l'importance du dopage dans l'amélioration des propriétés biologiques, aussi l'efficacité accrue observée résulte des effets synergiques induits par l'activation du Mg et de l'Ag, qui renforcent l'interaction des nanoparticules avec les enzymes, optimisant ainsi leur activité biologique (Khandel et *al.*, 2018; Prasad et *al.*, 2019), ces observations sont cohérentes avec des études similaires. Par exemple, Khandel et *al.*, (2018) ont rapporté que les nanoparticules ZnO dopées Mg améliore significativement leur activité antidiabétique, ont également démontré une meilleure capacité d'inhibition de l' α -amylase et α -glucosidase. Par ailleurs, l'acarbose est bien documenté pour son activité inhibitrice sur l'enzyme. Selon Bisht et *al.*, (2013), il affiche un potentiel d'inhibition de 81.9% à une concentration de 4 mg.mL⁻¹, tandis que Wang et *al.*, (2010) rapportent une inhibition

maximale de 100 % à une concentration de 5 mg.mL⁻¹, ces données confirment l'effet inhibiteur supérieur à celles des nanoparticules. Les nanoparticules de ZnO et ZnO dopées Mg-Ag ont démontré un effet inhibiteur significative sur les enzymes α -glucosidase et α -amylase. L'efficacité inhibitrice de ces nanoparticules semble être influencée par plusieurs propriétés, notamment leur taille, une réduction de la taille des nanoparticules augmente leur surface de contact avec les groupes fonctionnels des enzymes (Noohpishah Z et *al.*, 2020), leur concentration, leurs propriétés chimiques et le type de métal utilisé (Rudayni H. A et *al.*, 2023). L'effet inhibiteur est également dose-dépendant : une concentration plus élevée de nanoparticules renforce l'inhibition enzymatique, bien qu'à des doses très élevées, des effets indésirables puissent apparaître (Mukhtar A. et *al.*, 2022). Par ailleurs, les nanoparticules de ZnO et celles dopées à l'Ag se révèlent plus efficaces en raison de leur capacité à interagir avec les liaisons enzymatiques critiques (Khyrun S. F. et *al.*, 2022). Enfin, l'activité enzymatique est étroitement modulée par divers paramètres expérimentaux tels que le temps d'incubation, la température et le pH (Maheo A. et *al.*, 2023). En effet, les inhibiteurs enzymatiques peuvent agir selon divers mécanismes. Les nanoparticules telles que ZnO, ZnO-Mg-Ag, TiO₂, Au et Ag possèdent des surfaces chimiquement actives capables d'interagir avec le site actif de l' α -amylase ou de l' α -glucosidase, entraînant une inhibition compétitive puissante. En se liant aux enzymes, elles perturbent l'interaction avec le substrat, empêchant ainsi sa conversion en glucose (Sulistiyan et *al.*, 2016). Par ailleurs, ces nanoparticules peuvent interagir avec les groupes fonctionnels des enzymes, modifiant leur structure tridimensionnelle et altérant ainsi leur activité (Weinman et Mehul, 2004). Cette interaction induit un changement de conformation qui empêche la fixation du substrat sur le site actif (Aloulou et *al.*, 2012). De plus, les nanoparticules peuvent adsorber les substrats à leur surface, réduisant ainsi leur disponibilité pour l'action enzymatique et ralentissant la digestion des sucres (Jini et *al.*, 2020).

Pour évaluer la capacité des nanoparticules à la consommation du glucose par le levure, un test d'absorption du glucose par les cellules de levure a été réalisé. Nos résultats ont montré que les nanoparticules d'oxyde de zinc avaient une absorption modérée du glucose mais les nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par le magnésium et l'argent a montré une meilleure absorption du glucose à différentes concentrations. Les résultats indiquent que l'efficacité des nanoparticules est influencée par leurs propriétés, notamment leur taille, le type de métal, la surface, ainsi que leur concentration. De plus, la solubilité des nanoparticules, qu'elles soient

solubles ou insolubles, pourrait jouer un rôle clé en augmentant leur capacité à absorber le glucose (Gupta D et *al.*, 2013). En outre, ces résultats s'expliquent par l'incorporation des ions Zn, Ag et Cu, Fe, dans les nanoparticules d'oxyde de zinc améliore leur efficacité à stimuler l'absorption du glucose par les cellules de levure (Gallaher D et *al.*, 1986). L'effet synergique entre le magnésium et l'argent joue un rôle clé dans l'amélioration de l'absorption du glucose par les cellules. Leur présence combinée induit des effets biologiques supérieurs à ceux observés lorsque chaque élément est utilisé séparément (Relhan A, et *al.*, 2024). Cette synergie pourrait être liée à l'activation des mécanismes cellulaires impliqués dans l'absorption du glucose, notamment par l'intermédiaire des récepteurs membranaires et des voies de signalisation métaboliques (Yan F, et *al.*, 2014). En interagissant avec ces structures, les nanoparticules favorisent une meilleure absorption cellulaire du glucose par des transporteurs membranaires spécifiques fonctionnant par diffusion facilitée (Ahmed F, et *al.*, 2009). Ces hypothèses sont appuyées par plusieurs études antérieures (Edwin M H M, et *al.*, 2023), qui suggèrent que ces nanoparticules ont un potentiel prometteur dans l'amélioration de la régulation du métabolisme glucidique (Dharavath S B, et *al.*, 2023). Shanker et *al.*, (2017) ont soutenu nos conclusions en affirmant que les nanomatériaux sont utilisés comme agents antidiabétiques pour leurs propriétés exclusives telles qu'une plus grande surface, une solubilité améliorée et une biocompatibilité. De plus, Hussein et *al.*, (2017) ont expliqué que la petite taille des nanoparticules leur permet d'être transportées à travers la membrane cellulaire par un mécanisme de transport et peut être responsable des effets biologiques.

Concernant le temps de prothrombine (PT), les nanoparticules de ZnO et celles de ZnO dopées au Mg-Ag induisent une prolongation faible du temps de coagulation, indiquant un effet limité sur la cascade de coagulation. Cette action est confirmée par l'absence de formation d'un caillot de fibrine après l'activation de la voie extrinsèque de la coagulation. De plus, ces valeurs restent inférieures à celles observées avec l'aspirine et l'héparine, mettant en évidence une faible efficacité anticoagulante des nanoparticules dans les voies extrinsèque (Ebar et *al.*, 2022; Hamza et Abdeen, 2015; Mohamed et *al.*, 2022). Par contre, nous observons une prolongation pour le temps de thromboplastine partielle activée (APTT) par les nanoparticules de ZnO et celles dopées au Mg-Ag, comparées à celles de l'aspirine et de l'héparine. Ces résultats suggèrent un potentiel intéressant pour des applications biomédicales, notamment en raison de leur activité anticoagulante, qui semble capable d'inhiber ou de réduire la formation d'un caillot de fibrine

après l'activation des voies intrinsèque et commune de la coagulation. Cette propriété est particulièrement prometteuse pour la prévention des troubles liés à une coagulation anormale (Jobe M. C. et *al.*, 2022; Suresh D. et *al.*, 2015; Khan M. S. et *al.*, 2022). L'explication de ces résultats réside probablement dans la capacité des nanoparticules à interagir directement avec les enzymes et les cofacteurs impliqués dans la coagulation. Grâce à leur petite taille, elles peuvent facilement pénétrer en profondeur dans ce système et moduler son activité. Cependant, bien que ces observations soient encourageantes, le mécanisme précis d'action des nanoparticules à un niveau moléculaire nécessite encore des investigations plus poussées et des preuves expérimentales avancées (Tiwari et *al.*, 2024). Des études antérieures ont déjà démontré que les nanoparticules, en particulier les oxydes métalliques, interagissent avec le système de coagulation et influencent divers mécanismes physiologiques. Par exemple, les nanoparticules d'or inhibent la coagulation sanguine en se liant directement à la thrombine (Ilinskaya A. N. et Dobrovolskaia M. A., 2013; Kim H.-S. et *al.*, 2013). De même, les nanoparticules d'argent présentent des propriétés anticoagulantes en modulant l'activité de la thrombine et l'agrégation plaquettaire (Roy K. et *al.*, 2019). En outre, les nanoparticules d'oxyde de zinc ont démontré des effets sur la coagulation sanguine ainsi que sur la fonction plaquettaire (Korakaki E. et *al.*, 2023). Dans le cadre des applications biomédicales, les nanoparticules de ZnO ont été étudiées pour leur impact potentiel sur la coagulation (Raja S. et *al.*, 2015; Andleeb S. et *al.*, 2020). Toutefois, une analyse plus approfondie de leur pharmacocinétique et de leur profil de sécurité est essentielle afin d'optimiser leur efficacité thérapeutique et d'assurer une utilisation sécurisée (Wijesinghe U. et *al.*, 2021). À l'avenir, les recherches devraient se concentrer sur l'étude détaillée des interactions entre ces nanoparticules et le système de coagulation. Par ailleurs, le développement de nanoparticules de ZnO et de formulations dopées au Mg-Ag pour des essais cliniques reste une priorité. Il est crucial d'évaluer leur efficacité et leur innocuité dans des contextes médicaux réels. Bien que les données actuelles soutiennent leur utilisation potentielle comme agents anticoagulants et thrombolytiques, des études approfondies restent nécessaires afin d'assurer leur application efficace et sécurisée en milieu clinique (Islam M. B. et *al.*, 2023). Ces résultats confirment que les nanoparticules dopées peuvent influencer certaines étapes spécifiques de la cascade de coagulation. Toutefois, des optimisations restent indispensables pour qu'elles atteignent les standards cliniques. Elles représentent néanmoins une alternative thérapeutique prometteuse, en particulier dans les contextes médicaux nécessitant de nouvelles solutions anticoagulantes (Ghafoor et *al.*, 2022; Yasotha et *al.*, 2020).

Pour lutter contre le menace croissante de la résistance aux antimicrobiens posée par les bactéries pathogènes, les chercheurs se sont lancés dans une quête de nouveaux composés antimicrobiens (Jaafar N et *al.*, 2020). Cette quête a conduit à des avancées révolutionnaires dans la synthèse verte, où les processus inspirés de la nature produisent des nanostructures aux avantages chimiques inégalés (Lam S-M, et *al.*, 2018). Parmi ces innovations les nanoparticules de ZnO et les nanoparticules de ZnO dopées par Mg-Ag, qui se positionnent comme des prétendants prometteurs dans la lutte contre les infections bactériennes. Dans ce contexte, la présente étude se penche sur le potentiel antimicrobien de ces nanostructures contre un spectre de souches bactériennes, englobant *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* et *S. spp.* Grâce à un examen minutieux du CMI et du CMB, la supériorité remarquable des nanoparticules de ZnO dopées par Mg-Ag sur leurs homologues en ZnO a été constatée, avec des valeurs de CMI et de CMB plus faibles et des rapports CMB/CMI convaincants, les nanoparticules de ZnO dopée Mg-Ag apparaissent comme de redoutables agents antimicrobiens. Les résultats de cette étude concordent avec les recherches antérieures ayant mis en évidence l'efficacité des nanoparticules de ZnO NPssynthésé a partir extraits de *Punicagranatum* L., qui présentent de fortes activités antimicrobiennes (Saleh A K, et *al.*, 2024; Shaban A S, et *al.*, 2018). L'étude menée par Iqbal et *al.*, (2021) a également démontré que les nanoparticules de ZnO et de ZnO dopées à l'Ag ont une activité remarquable contre les cocci, en raison de la couche de peptidoglycane mince et imperméable qui est caractéristique des bactéries à gram négatif (Applerot et *al.*, 2009). L'activité antibactérienne élevée des nanoparticules de ZnO dopées par l'Ag est attribuée aux fortes interactions électrostatiques entre les ions Zn^{+2} et Ag^{+} et la surface externe chargée négativement des bactéries, et aussi l'effet synergique entre Zn^{+2} et Ag^{+} peut perturber la pompe d'efflux, inhibant la résistance naturelle des bactéries et facilitant l'accumulation des ROS cytotoxiques (Rai et *al.*, 2012), l'ajout d'ions Ag^{+} joue un rôle clé en augmentant la perméabilité des membranes bactériennes, notamment en interagissant avec les lipopolysaccharides, facilitant ainsi la pénétration des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et entraînant des dommages à l'ADN et aux protéines cellulaires (Feng et *al.*, 2000), et la perturbation des transporteurs membranaires inhibent la croissance de la bactérie et favorisent son élimination (Sirelkhatim et *al.*, 2015), d'autre part l'addition d' Ag^{+} et Mg^{2+} facilite la désorganisation de cette couche, permettant une meilleure pénétration du ZnO dopé et une destruction rapide des structures internes (Li et *al.*, 2010). De plus, les nanoparticules de ZnO de taille (12.8 ± 0.1 nm) et les nanoparticules de ZnO dopées par Mg-Ag de taille (22.0 ± 0.1 nm)

peuvent perturber les pompes d'efflux et d'autres mécanismes de résistance des bactéries, rendant ces dernières plus vulnérables. Selon Raghupathi et *al.*, (2011), l'effet antibactérien des nanoparticules de ZnO est taille-dépendant, et celles ayant une taille inférieure à 20 nm montrent une inhibition bactérienne plus efficace en raison de leur capacité accrue à interagir avec les cellules bactériennes. L'ensemble de ces résultats souligne le potentiel des nanoparticules de ZnO dopées Mg-Ag produites en utilisant la synthèse verte comme agents antibactériens puissants, capables de contourner certains mécanismes de résistance et d'améliorer l'efficacité des traitements antimicrobiens.

Activité in vivo des nanoparticules d'oxyde de zinc, oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent (ZnO NPs, ZnO dopé Mg-AgNPs)

Le diabète est un trouble métabolique caractérisé par un déséquilibre entre les antioxydants produits par le mécanisme naturel du corps et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) générées par les cellules, ce qui en fait une pathologie associée au stress oxydatif. Une production excessive de ROS entraîne une augmentation de l'apoptose et de la maturation des cellules β pancréatiques, réduisant ainsi la synthèse et la sécrétion d'insuline (Bai et *al.*, 2018).

Actuellement, les médicaments disponibles pour le traitement du diabète incluent diverses classes telles que les sulfonylurées, la thiazolidinedione, les inhibiteurs de l' α -glucosidase, la répaglinide et les thérapies à l'insuline. Cependant, le médicament le plus couramment utilisé reste la Metformine, malgré ses effets secondaires (Packson et *al.*, 1987). Notre choix de la Metformine comme témoin positif repose sur son statut d'antidiabétique oral largement prescrit (Eddouks et *al.*, 2012).

L'activité antidiabétique des traitements conventionnels repose sur plusieurs mécanismes, notamment le blocage du canal potassique des cellules β pancréatiques, la stimulation de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC), l'apport d'oligo-éléments essentiels (calcium, zinc, magnésium, manganèse, cuivre), l'inhibition des enzymes β -galactosidase et α -glucosidase, ainsi que la prévention du stress oxydatif qui contribue au dysfonctionnement des cellules β pancréatiques (Jarald et *al.*, 2008). D'autres mécanismes incluent la stimulation de la glycogénèse, de la glycolyse et du cycle de l'acide citrique, l'inhibition de la gluconéogenèse et de la glycogénolyse (Thomson et *al.*, 2012), ainsi que la régénération des cellules β et la réduction de la résistance à l'insuline (Narayan et *al.*, 2012).

Dans ce contexte, les nanoparticules suscitent un intérêt croissant en tant qu'alternative thérapeutique innovante. Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) représentent une source riche en antioxydants et démontrent une capacité à pénétrer profondément dans les tissus, leur conférant un potentiel prometteur dans le traitement du stress oxydatif et du diabète (Tiwari et *al.*, 2024). L'intérêt pour les antioxydants naturels, notamment ceux issus des nanoparticules, ne cesse de croître par rapport aux antioxydants synthétiques (Scalbert et *al.*, 2005).

Les nanoparticules métalliques dopées (DNPs) présentent des caractéristiques supérieures aux nanoparticules monométalliques en raison de l'effet synergique entre les métaux, améliorant leurs propriétés électroniques, plasmoniques, catalytiques, optiques, thermiques, magnétiques et biologiques (Anjum et *al.*, 2022; Sharma et *al.*, 2019). L'utilisation de micro-organismes et de plantes médicinales pour la synthèse écologique de nanoparticules a renforcé leur importance, évitant ainsi l'usage de produits chimiques toxiques impliqués dans les méthodes physiques et chimiques traditionnelles (Ovais et *al.*, 2019).

Les nanoparticules synthétiques d'oxyde de zinc et leurs composites ont été largement utilisés comme matériaux bioactifs prometteurs qui présentent une biocompatibilité significative, une non-toxicité et des propriétés antioxydantes et antidiabétiques (Hamidian et *al.*, 2022; Madan et *al.*, 2016; Ansari et *al.*, 2022).

Le zinc est un élément bioactif vital dans le corps humain, en particulier lors de la production d'acides nucléiques et de protéines (Singh et *al.*, 2021; Ansari et *al.*, 2022). De plus, les oxydes de zinc synthétiques et leurs matériaux de base sont largement utilisés dans les industries pharmaceutiques, médicales et biologiques comme agents antioxydants, anticancéreux, hypoglycémiques et antibactériens, en plus de leur rôle vital en tant que systèmes d'administration de médicaments et d'utilisation dans les industries de l'ingénierie tissulaire (Singh et *al.*, 2021; Sharma et *al.*, 2022).

La littérature récente a largement documenté les précieuses propriétés antioxydantes des nanoparticules d'oxyde de zinc, qui peuvent réguler efficacement la respiration mitochondriale, inhiber les enzymes oxydantes et réduire les radicaux libres réactifs de l'oxygène oxydants (Robkhob et *al.*, 2020; Malik et *al.*, 2022). Aussi le magnésium joue un rôle clé dans de nombreux métabolismes en tant que cofacteur des voies enzymatiques. Des travaux antérieurs ont montré qu'une hypomagnésémie était signalée chez environ 30% des patients diabétiques (Xu et *al.*, 2023). De plus en plus de preuves ont démontré qu'un apport plus élevé en magnésium améliorerait la libération et la sensibilité à l'insuline (Barbagallo et *al.*, 2003; Song et *al.*, 2004), la

dyslipidémie et le dysfonctionnement des cellules endothéliales, et réduisait la tendance thrombotique et la contractilité vasculaire. Par conséquent, la supplémentation clinique en magnésium peut être une stratégie pour améliorer les résultats des cas de diabète de type 2 (Xu et *al.*, 2023).

Dans cette étude, pour la première fois, un extrait aqueux de noyau des dattes des palmiers de dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est utilisé pour synthétiser des nanoparticules de ZnO dopées Mg-Ag vertes et respectueuses de l'environnement et pour évaluer leur effet antidiabétique.

Notre étude en accord avec l'étude de El-Gharbawyet *al.*, (2016), les rats diabétiques ont montré une réduction significative du pourcentage de changement du poids corporel par rapport au groupe témoin. Ces données concordent aussi avec les conclusions de Zafar et Naqvi (2010) qui ont constaté que le poids corporel diminue dans le diabète.

Un diabète non contrôlé suffisamment pour produire les symptômes classiques de soif, de faim et de miction excessives entraîne généralement une perte de poids malgré un apport calorique élevé, car les tissus insulino-dépendants et les reins répondent à l'hyperglycémie en excréant l'excès de glucose dans l'urine (Rave et *al.*, 2006). L'initiation ou l'intensification du contrôle de la concentration de glucose dans le sang par un médicament qui élève les niveaux d'insuline ou stimule l'action de l'insuline peut entraîner une prise de poids, ce qui explique l'effet stabilisateur des traitements, en particulier au Metformine et ZnO NPs groupes.

En surveillant le niveau de glucose dans le sang des rats expérimentaux, il est clairement évident que le groupe sain a maintenu son niveau de glucose. En revanche, le groupe diabétique présente une augmentation significative. Les traitements par la Metformine et ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs influencent fortement les niveaux de glucose avec une forte diminution. Notre résultats en accord avec l'étude de Khyrun et *al.*, (2022), qui a révélé que les nanoparticules de ZnO dopé Mg produites à partir d'extrait de feuille de *Coleus aromaticus* pourraient être une ressource sûre et efficace en tant que composés antidiabétiques.

L'importance des oligo-éléments dans le métabolisme du glucose et leur lien avec le diabète ont été démontrés dans de nombreux rapports. La majorité des problèmes diabétiques sont causés par le stress oxydatif, qui diminue la quantité d'enzymes de zinc et d'antioxydants dépendants du zinc dans les cellules (Ashrafizadeh et *al.*, 2020), par conséquent, l'utilisation de nanoparticules d'oligo-éléments pour traiter le diabète sucré, tels que les produits contenant du cuivre, du cérium, du zinc, du magnésium et du sélénium, est plausible (Siddiqui et *al.*, 2020), particulièrement le zinc semble exercer des effets de type insulinique via la transduction du signal

de l'insuline (Jansen et *al.*, 2009). Ces données expliquent l'amélioration de l'état glycémique dans cette étude. De plus, Tan et son équipe (2020) ont montré que les nanoparticules d'oxyde de magnésium biosynthétique possédaient des propriétés antidiabétiques, réduisant notamment la concentration de glucose à seulement 0.01 µg/mL. De même, Jeevanandam et ses collègues (2020) ont utilisé l'extrait d'*Amaranthus tricolor* dans la synthèse de nanoparticules d'oxyde de magnésium pour traiter le diabète. L'étude d'Anjum et *al.*, (2022) met en évidence l'efficacité des nanoparticules bimétalliques (Au–AgB NPs, ZnO Au–B NPs et ZnO Ag–B NPs) synthétisées par voie verte dans l'inhibition des produits finaux de glycation avancée (AGE), notamment les AGE de type vesperlysine et pentosidine. Ces AGE, formés sous stress oxydatif, sont impliqués dans les complications du diabète et les maladies liées à l'âge (Gkogkolou & Böhm, 2012). Ces résultats suggèrent que les nanoparticules pourraient constituer une approche prometteuse pour atténuer les effets délétères de la glycation dans le diabète. Toutes ces preuves soutiennent nos résultats selon lesquels les nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par le magnésium et l'argent donnent des meilleurs résultats par rapport aux nanoparticules d'oxyde de zinc.

Afin de comprendre tous les aspects du mécanisme de réduction de la glycémie, il faut noter qu'il est bien connu que l'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase intestinale et de l' α -amylase pancréatique retarde la digestion des glucides des monosaccharides absorbables, ce qui entraîne une réduction de l'hyperglycémie postprandiale (Aloulou et *al.*, 2012).

L'inhibition des enzymes digestives clés α -glucosidase et α -amylase est l'une des options les plus viables pour contrôler les niveaux de glucose postprandial dans le diabète de type 2 (Ayaz et *al.*, 2022). Selon Iqbal et *al.*, (2021), Les nanoparticules de d'oxyde de zinc ont montré une activité inhibitrice de l'alpha-amylase de 60 % et 65 % et de l'alpha-glucosidase de 62% et 75% à des concentrations respectives de 100 µg/mL et 200 µg/mL. Leurs résultats aussi ont confirmés que les nanoparticules d'ZnO dopées Ag NPs ont démontré une plus grande. Ce qui confirme notre résultats concernant l'effet inhibitrice de ZnO NPs et ZnO dopé Mg-AgNPs se sont révélés très efficaces contre les enzymes α -glucosidase et α -amylase dans notre étude.

Les taux de glycémie et d'HbA1c aussi mesurés après l'expérience montrent des diminutions significatives chez les groupes traités par rapport le groupe diabétique non traité qui présente des valeurs très hautement élevées. Gouda et *al.*, (2019) ont rapporté que les nanoparticules peu réduisaient considérablement la glycémie à jeun et les niveaux d'hémoglobine glycosylée en augmentant l'expression de l'insuline et des ARNm des récepteurs de l'insuline (IR) chez les rats diabétiques, ce qui a profondément enraciné nos résultats obtenus dans ce travail, une autre étude

dans la même cadre a indiqué que les nanoparticules d'oxyde de zinc (5 mg/kg, pendant 21 jours) étaient censées être plus efficaces que les nanoparticules de curcumine (50 mg/kg, pendant 21 jours) dans le traitement du diabète en termes de réduction de la glycémie, d'amélioration de l'insuline sérique et d'activation des gènes GLUT2 et de la glucokinase dans le pancréas et le foie des rats diabétiques de type 2 (Raslan et *al.*, 2018).

Hypertriglycéridémie et hypercholestérolémie observées dans l'étude d'Ayaz et *al.*, (2022) Ce sont les troubles lipidiques les plus répandus chez les diabétiques. Dans notre travail, les rats diabétiques induits par l'alloxane avaient des taux de cholestérol et de triglycérides plus élevés que le groupe traité par des nanoparticules et les rats traités par la Metformine.

Nagaraja et *al.*, (2022) ont mené une étude récente, lorsqu'ils ont découvert que l'extrait de *Psidium guajava* et les Ag NPs de *Psidium guajava* abaissaient significativement la glycémie chez les rats diabétiques, évitant la perte de poids et améliorant les marqueurs du profil lipidique. Les PGE et les AgNPs PG ont amélioré les cellules du pancréas et du foie sur le plan histopathologique.

Dans le diabète, le profil lipidique est un élément essentiel qui doit être maintenu, car des taux élevés de lipides augmentent le risque d'infections cardiovasculaires et sont généralement observés chez les patients dont le diabète est mal géré. En raison de la diminution de la synthèse du cholestérol dans le diabète, la quantité de cholestérol retenue augmentera (Shaik et *al.*, 2012). De plus, l'activation accrue des acides gras du tissu adipeux entraîne une perturbation des processus métaboliques lipidiques. Lorsque l'alloxane est administré à des rats sains, il provoque une hyperlipidémie, comme en témoigne l'augmentation de la teneur en lipides détectée chez les rats diabétiques ayant reçu de l'alloxane (Shanmugasundaramet *al.*, 1990).

Les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag sont une influence sur les taux sanguins de cholestérol total, de triglycérides, de HDL et de LDL. Chez les rats diabétiques induits par l'alloxane, les taux de cholestérol, de triglycérides et de HDL ont tous augmenté, indiquant une régulation plus positive pour le groupe traité par les nanoparticules dopées dans notre étude. L'adénosine monophosphate cyclique prolongée, responsable de la production de lipides, est clairement la cause des fluctuations des taux de lipides sanguins. Le traitement aux Ag NPs a entraîné une réduction significative des taux de cholestérol, de triglycérides et de LDL, ainsi qu'une augmentation des taux de HDL chez les rats diabétiques.(Ul Haq et *al.*,2022).

Selon Umrani et Paknikar (2014), l'administration orale de nanoparticules d'oxyde de zinc a entraîné des effets antidiabétiques significatifs, à savoir une meilleure tolérance au glucose, une

augmentation de l'insuline sérique (70 %), une réduction de la glycémie (29 %), une réduction des acides gras non estérifiés (40 %) et une réduction des triglycérides (48 %). Les nanoparticules ont été absorbées par voie systémique, ce qui a entraîné une augmentation des taux de zinc dans le foie, le tissu adipeux et le pancréas. Une augmentation de la sécrétion d'insuline et de l'activité de la superoxydedismutase a également été observée dans les cellules d'insulinome de rat (RIN-5F). Dans un autre côté; Ul Haq et *al.*, (2022) ont déclaré qu'il y avait une diminution spectaculaire des niveaux de glucose dans le sang, une diminution du poids corporel et une amélioration marquée des profils lipidiques, hépatiques et rénaux. Les niveaux de cholestérol total, de triglycérides, de HDL et de LDL dans le sang ont été affectés par les extraits de *Phagnalon niveum* et les AgNPs. Les niveaux de cholestérol, de triglycérides et de lipoprotéines de haute densité (HDL) ont tous augmenté chez les rats diabétiques induits par l'alloxane. Les fluctuations des taux de lipides sanguins sont certainement causées par l'adénosine monophosphate cyclique prolongé, qui est responsable de la formation des lipides. Les Ag NPs ont considérablement diminué les taux de cholestérol, de triglycérides et de LDL tout en augmentant les taux de HDL chez les rats diabétiques. Il y a eu une correction notable des anomalies du poids corporel, des niveaux d'urine et de sérum après l'administration des Ag NPsbiosynthétisés, ce qui suggère que le médicament a un grand potentiel en tant que traitement antidiabétique.

De plus, les résultats du profil lipidique dans cette étude concordent avec ceux de Shaheen et *al.*, (2016) qui ont rapporté que les nanoparticules d'Ag et d'Au apportent une réduction efficace du profil lipidique et une propriété antioxydante potentielle dans le contrôle de la peroxydation lipidique médiée par le stress oxydatif et de la génération de ROS. Opris et *al.*, (2017) ont soutenu nos résultats en affirmant que les nanoparticules présentent un grand potentiel pour une utilisation ultérieure comme traitement adjuvant dans le diabète en raison de l'augmentation de la défense antioxydante. Cela peut être induit à la réduction des niveaux de MDA dans les groupes traités peut être due à l'activité de nanoparticules étudiés dans notre travail pour augmenter les activités antioxydantes.

Les résultats de travail actuel ont montré que l'administration de ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs a restauré la barrière épithéliale rénale et amélioré les changements fonctionnels du rein diabétique. Les groupes traités ont affiché des mesures réduites de créatinine sérique, d'urée sanguine et l'acid urique par rapport au groupe diabétique. Nos résultats en accord avec l'étude de Abd El-Baset et al (2022) ont démontré que les ZnO NPs sont absorbées dans les organes sous

forme ionique plutôt que particulaire. Le foie et les reins sont considérés comme des organes cibles fréquents. Les particules se dissolvent dans l'environnement acide des cellules alors qu'elles circulent des endosomes précoces aux endosomes tardifs puis aux lysosomes. Le composant particulaire agit comme un dépôt d'ions zinc. Le zinc améliore la structure de barrière et la fonction de l'épithélium rénal grâce à son action sur des cibles moléculaires définies, notamment les protéines des complexes de jonction serrée (Wang et *al.*, 2014). Aussi les résultats de Sivalingam et *al.*, (2024), apparaît une signification indiquant l'importance du contrôle et des nanoparticules d'argent en tant que groupes STZ *Costus Spicatus*-Ag NPs, démontrent une restauration significative du tissu rénal et une activité antidiabétique prometteuse, offrant un potentiel dans les stratégies de gestion du diabète.

De nombreuses études ont prouvé l'effet antidiabétique des ZnO NPs et des Ag NPs et Mg NPs en tant que nouveaux agents pour contrôler le diabète sucré chez les rats (Hussein et *al.*, 2018; Alkaladi et *al.*, 2018; Tanweer et *al.*, 2022).

L'effet de nanoparticules dopées Mg Ag plus efficace pour les paramètres rénale dans notre étude au niveau les taux d'urée, la créatinine et l'acide urique; puisque la présence de plusieurs métaux dans une seule nanoparticule, cela nous donne la plus grande efficacité contre le diabète en nanotechnologie, comme l'indiquent des études récentes.

Concernant nos résultats du bilan hépatique montre que une diminution des enzymes hépatiques (ALT, AST et GGT) chez tous les groupes traités surtout le groupe consommé le nanoparticules dopées (ZnO dopé Mg-Ag NPs). En général; ils sont cohérents avec les résultats rapportés par Ahmed et *al.*, (2020), qui ont indiqué que les niveaux d'ALT et d'AST dans les groupes diabétiques ont montré une diminution dose-dépendante lors de la réception de nanoparticules d'oxyde de zinc. De plus, il a été détecté que dans le groupe diabétique induit par STZ, les nanoparticules d'oxyde de zinc ont réduit les niveaux d'AST, d'ALT et de glucose sanguin tout en augmentant les niveaux d'insuline (Jobie et *al.*, 2021).

Souha et *al.*, (2021) ont constaté aussi que le groupe diabétique qui avait obtenu des Ag NPs fabriqués soit par une méthode chimique, soit par un extrait d'Eryngium avait des niveaux de glucose, d'urée, d'ALT et l'expression génétique relative de la chémérine et de la résistine bien inférieurs à ceux du groupe témoin diabétique. La quantité de créatinine dans le sang n'a pas beaucoup changé ni dans le groupe diabétique témoin ni dans le groupe diabétique qui avait obtenu des Ag NPs fabriqués chimiquement ou avec l'extrait d'Eryngium. Les Ag NPs fabriqués chimiquement ou de manière verte protègent les hépatocytes du foie des dommages. Ils

diminuent les facteurs inflammatoires en abaissant la glycémie. Le diabète sucré (DS) provoque souvent une dyslipidémie, qui augmente le cholestérol et les triglycérides. Les enzymes sensibles aux hormones comme la lipase peuvent provoquer cette augmentation (Soni et *al.*, 2018).

Les résultats montrent des variations significatives de l'activité de l' α -amylase sérique et des niveaux d'insuline dans les groupes expérimentaux. L' α -amylase est plus élevée dans le groupe sain et diminue fortement chez les rats diabétiques non traités, tandis que les traitements, notamment avec le groupe de la Metformine et les deux groupes de nanoparticules surtout les nanoparticules dopées, permettent une amélioration notable. De même, les niveaux d'insuline sont significativement réduits chez les rats diabétiques non traités, mais augmentent avec chez les groupes traités, la Metformine et le ZnO dopé Mg-Ag NPs montrant les effets les plus marqués. Ces observations mettent en évidence l'impact positif des traitements sur ces paramètres dans le cas du diabète. Des études ont examiné l'effet thérapeutique des ZnO NPs sur les taux ou la sécrétion d'insuline. Cependant, d'autres ont démontré que le zinc pouvait améliorer la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose à partir d'îlots pancréatiques isolés de rats (Richards-Williams et *al.*, 2021).

De plus, les nanoparticules d'argent (Ag NPs) et les nanoparticules de magnésium (Mg NPs) ont été signalées comme étant antidiabétiques (Robkhob et *al.*, 2020; Mazhar et *al.*, 2024). Ce qui est confirmé par l'étude d'Afolabi et *al.*, (2021), l'administration de Mg (OH) 2NP-*Monodora myristica* biosynthétisé a entraîné une amélioration significative ($p < 0.05$) des indices hématologiques, une réduction de la glycémie, une augmentation de la sécrétion d'insuline et de l'activité hexokinase et de l'activité lactate déshydrogénase dans le diabète induit par le STZ, une bonne indication que le Mg (OH)2NP-Mm pourrait probablement atténuer l'hyperglycémie par la protection des cellules β et la restauration de l'activité enzymatique glycolytique.

L'insuline et le glucose sont des régulateurs importants du métabolisme du Mg. Le Mg intracellulaire joue un rôle clé dans la régulation de l'action de l'insuline, de l'absorption du glucose par l'insuline et du tonus vasculaire. Des concentrations intracellulaires réduites de Mg entraînent une activité tyrosine-kinase défectueuse, une altération post-réceptrice de l'action de l'insuline et une aggravation de la résistance à l'insuline chez les patients diabétiques. Un faible apport en Mg et une augmentation des pertes urinaires de Mg semblent être les mécanismes les plus importants qui peuvent favoriser l'épuisement du Mg chez les patients atteints de diabète. Un faible apport alimentaire en Mg a été associé au développement du diabète de type 2 et du syndrome métabolique (Barbagallo et Dominguez, 2015).

Cette étude et celle d'Alkaladi (2014), ont montré que le zinc régule généralement la fonction des îlots et la sécrétion d'insuline. Ainsi, à notre connaissance, nous sommes parmi les premiers à montrer que le ZnO dopé Mg-Ag NPs comme source de oligoélément exogène, qui considéré un sécrétagogue de l'insuline et que le zinc joue un rôle autocrine régulateur intégral dans l'amélioration de la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose. Richards-Williams et *al.*, (2008) ont postulé que la sécrétion parallèle de zinc peut déclencher l'entrée de Ca^{2+} suite à l'activation du récepteur P2X pour amplifier le signal Ca^{2+} piloté par les canaux d'entrée de Ca^{2+} activés par la tension et déclencher la sécrétion d'insuline. Ces données suggèrent que le zinc autocrine peut participer au transfert de la voie de signalisation stimulatrice dans la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose, comme nous mentionnerons dans notre étude actuelle, le traitement par les ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs ont induit une augmentation significative des taux d'insuline sérique par rapport au groupe diabétique.

Cependant, il n'existe aucun rapport sur l'activité antidiabétique et antioxydante des nanoparticules de ZnO dopées par le magnésium et l'argent. Les nanoparticules d'oxyde de zinc et les autres nanoparticules dopées ont été identifiées comme agents antidiabétiques. Bien que nous avons conclu que les ZnO NPs ont un bien effet avec les autres nanoparticules, elles conduisent toutes à une réduction de la glycémie, à une augmentation du taux et de l'expression de l'insuline, à une augmentation de l'activité et de l'expression de la GK et à une amélioration du niveau d'expression de l'IRA, du GLUT-2 chez les rats diabétiques (Alkaladi et *al.*,2014).L'action antioxydante d'une molécule dans l'organisme a des effets bénéfiques sur la préservation de la fonction des cellules β dans le diabète (Bhaskaran et *al.*,2019). L'induction du stress oxydatif est un processus clé dans la pathogenèse de différentes maladies, notamment le diabète sucré et ses complications, et le rôle des antioxydants dans le traitement du diabète et de ses complications par la prévention du stress oxydatif a été expliqué dans différentes études (Zangeneh et *al.*,2019a; Zangeneh et *al.*,2019b; Asmat et *al.*,2016).

En ce qui concerne les résultats de l'étude hématologique, nos résultats ont montré une diminution du nombre de globules rouges, de l'hématocrite et du volume globulaire moyen chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins, ce qui signifie une hématotoxicité révélée par l'anémie due à la toxicité des cellules sanguines. Cotoraci et *al.*, (2021) Au cours du diabète, de nombreux paramètres hématologiques et le système immunitaire ont été observés comme étant affectés. La glycosylation non enzymatique des protéines membranaires des globules rouges a augmenté, ce qui coïncide avec l'hyperglycémie et a été liée à l'anémie dans le diabète sucré

(Lapić et *al.*, 2022). Dans le diabète sucré, l'oxydation de ces protéines et l'hyperglycémie produisent une augmentation de la formation de peroxydes lipidiques, ce qui conduit à l'hémolyse des globules rouges (Derouiche et *al.*, 2022). Ainsi, les résultats obtenus montrent que le traitement par ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs chez les rats diabétiques a induit une amélioration des paramètres hématologiques. De plus, l'activation du signal zinc de la production de globules rouges semble prévalente chez plusieurs mammifères. Cependant, la concentration en zinc pour une activation maximale des globules rouges chez le rat, le zinc est un signal fort pour stimuler l'érythropoïèse ce qui explique cette amélioration (Chen et *al.*, 2017). La réduction des globules rouges pourrait être attribuée à l'effet néfaste des ROS qui peut s'accompagner d'une baisse de l'Hb. Alors que l'augmentation des globules blancs pourrait être une indication d'une réponse inflammatoire biologique qui a été rapportée avec le diabète sucré (Afolabiet et *al.*, 2021). Cependant, les résultats de globules rouges, l'Hb et les globules blancs montrent une similarité et aucune différence significative chez les groupes ayant reçu la Metformine, ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs par rapport le groupe témoin, contrairement au groupe diabétique. Les résultats de ZnO dopé Mg-Ag NPs groupe peu mieux que l'autre groupe traité peut être dû à la présence de Mg surtout améliore le taux de l'Hb ce qui confirmé par Afolabi et *al.*, (2021), cette amélioration des paramètres sanguins a indiqué que le ZnO dopé Mg-Ag NPs synthétisé pourrait avoir déclenché l'érythropoïèse en stimulant l'hormone glycoprotéique qui produit les globules rouges et amélioré par la suite la capacité de transport d'oxygène.

L'examen histologique global du foie de tous les groupes a soutenu les résultats des enzymes hépatiques sériques obtenus, ils ont montré que les deux nanoparticules surtout les nanoparticules dopées ont restauré les tissus endommagés et nécrotiques dans une plus large mesure de foie chez les rats diabétiques par rapport les rats diabétiques non traités.

Les analyses histologiques du pancréas de groupes traités apparaissent les îlots de Langerhans et les acini pancréatiques de bonne structure par rapport les îlots de Langerhans atrophiques chez le groupe diabétique et ses pancréas soumettent à une inflammation justifiée par la présence de cellules immunitaires dans l'organe. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Slepchenko et *al.*, (2013) qui ont montré que le zinc est capable d'induire la sécrétion d'insuline dans les lignées cellulaires productrices d'insuline, telles que les cellules HIT-T15. Cette étude montre qu'il est possible de régénérer de nouvelles cellules B chez les animaux. Donc, les ZnO NPs et ZnO dopées Mg-Ag NPs peuvent augmenter le nombre de cellules β et la sensibilité du récepteur de l'insuline.

Nos résultats suggèrent que les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag restaurent potentiellement la morphologie cellulaire du foie et du pancréas en particulier. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats. Il est nécessaire de réaliser d'autres études pharmacologiques *in vivo* pour élucider le mécanisme d'action des ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs en ciblant d'autres gènes impliqués dans le diabète.

Shanker et *al.*, (2017) ont soutenu nos conclusions en affirmant que les nanomatériaux sont utilisés comme agents antidiabétiques pour leurs propriétés exclusives telles qu'une plus grande surface, une petite taille, une solubilité améliorée et une biocompatibilité. De plus, Hussein et *al.*, (2017) ont expliqué que la petite taille des nanoparticules leur permet d'être transportées à travers la membrane cellulaire par un mécanisme de transport et peut être responsable des effets biologiques potentiels par rapport au médicament brut.

Malgré le nombre important d'études sur les nanoparticules de d'oxyde de zinc biosynthétisées, aucune étude n'a évalué l'amélioration de l'activité antidiabétique du d'oxyde de zinc lorsqu'il est les nanoparticules dopées par Mg et Ag préparé par l'extrait d'une plante. Étant donné les nombreux avantages médicaux de l'extrait aqueux des noyaux des dattes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), il est essentiel d'étudier ses effets médicaux en association avec ZnO dopé Mg-Ag NPs dans des autres cotés.

Sur la base de l'activité antidiabétique du ZnO NPs et du ZnO dopé Mg-Ag NPs biosynthétisées par extrait aqueux des noyaux des dattes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). sur les rats de wistar dans notre étude, ils peuvent être recommandés comme agents antidiabétiques améliorés, peu coûteux, efficaces et sécurisée par rapport aux médicaments commerciaux coûteux qui entraînent généralement des effets secondaires.

En général, les nanoparticules ZnO et du ZnO dopé Mg-Ag se sont avérées avoir d'excellentes et importantes propriétés biologiques, notamment antioxydantes et antimicrobiennes, antidiabétiques.

Conclusion

CONCLUSION

Dans notre étude, nous avons utilisé l'extrait aqueux des noyaux de dattes de la variété *Ghars* pour la synthèse vert des nanoparticules pour deux raisons, d'une part, en utilisant une méthode sécurisée, peu coûteuse et respectueuse de l'environnement pour fabriquer des nanoparticules, et d'autre part, cette approche vise à exploiter et à valoriser les ressources naturelles ainsi que les matériaux souvent négligés, en effet, les noyaux de dattes sont généralement considérés comme un déchet non rentable, principalement utilisés comme aliment pour les animaux.

On utilisé l'extrait aqueux des noyaux de dattes pour biosynthétiser des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et d'oxyde de zinc dopées par magnésium (0.5%) et l'argent (0.5%) (ZnO dopé Mg-Ag NPs), qui ont ensuite été caractérisées. Dans ce travail, les activités biologiques des nanoparticules produites de manière écologique ont été évaluées *in vitro* et *in vivo* contre le diabète de type 2 induit par l'alloxane chez les rats Wistar. En fonction des résultats obtenus, nous pouvons conclure que :

Les noyaux de dattes de palmier dattier est extrêmement riche en composants bioactifs à la fois qualitativement et quantitativement grâce à diverses analyses, notamment la HPLC. Cela nous permet d'identifier une nouvelle source des molécules bioactives qui peuvent être utilisées pour former des nouvelles nanoprticules à traiter des différentes maladies.

Les études UV-Vis, FTIR, XRD, SEM et EDX ont démontré la meilleure synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc et d'oxyde de zinc dopées par magnésium et d'argent. Cela indique que l'extrait des noyaux de dattes de palmier dattier contiennent des composés bioactifs qui sont chargés et réduire le zinc et le magnésium et l'argent en nanoparticules d'oxyde de zinc et d'oxyde de zinc dopées par magnésium et l'argent.

En outre, nous pouvons classer ces nanoparticules (ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs) comme des molécules biologiques et médicales importantes en raison de leur puissante activité antioxydante et antidiabétique, activité antibactérienne *in vitro*.

Dans notre étude, les nanoparticules d'oxyde de zinc dopées au magnésium et à l'argent ont démontré une bonne activité inhibitrice de β -carotène contre l'oxydation et aussi une meilleure efficacité antihémolytique pour protéger les érythrocytes contre l'hémolyse par rapport aux nanoparticules d'oxyde de zinc.

Dans ce travail également, les nanoparticules d'oxyde de zinc ont montré une efficacité de photodégradation meilleure du colorant bleu de méthylène par rapport aux nanoparticules d'oxyde de zinc dopées au magnésium et à l'argent.

Aussi l'activité antidiabétique *in vitro* des nanoparticules d'oxyde de zinc dopées au magnésium et à l'argent (ZnO dopées Mg-Ag NPs) donnent des bonnes resultats par rapport aux nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) à l'aide de l'évaluation de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase et de l' α -amylase et pour l'activité d'absorption du glucose par les cellules de levure.

Dans notre étude, il existe des preuves substantielles que les ZnO dopé Mg-Ag NPs peuvent améliorer l'efficacité des agents anticoagulants du temps de thromboplastine partielle activée.

Les nanoparticules ZnO dopées Mg-Ag et ZnO présentent une bonne activité antibactérienne contre les bactéries sélectionnées; par conséquent, ce approches de traitement, en particulier les ZnO dopées Mg-Ag NPs, qui se sont révélées les plus efficaces, peuvent être utilisées à l'avenir comme nanoantibiotiques contre les agents pathogènes bactériens qui affectent les humains.

Tout cela ouvre des espoirs prometteurs quant à leur présentation comme médicaments ou traitements contre certains maladies.

Grâce à l'étude de toxicité subaiguë, les nanoparticules ZnO et ZnO dopées Mg-Ag biosynthétisées peuvent être utilisées de manière sécurisée et efficace à de faibles concentrations à des fins thérapeutiques. En tant que paramètres physiologiques, notre traitement à base de ces nanoparticules améliore le poids corporel et le taux de glucose sanguin des rats, confirmant ainsi leur efficacité contre le diabète de type 2 induit par l'alloxane. De plus, leur action principalement curative présente des effets protecteurs potentiels.

L'effet bénéfique de deux type des nanoparticules en particulier les ZnO dopées Mg-Ag, sur la restauration des marqueurs biochimiques et des profils lipidiques, rénaux, hépatiques, alfa amylase,l'insuline et hématologiques met en évidence leur efficacité dans le traitement de diabète de type 2. Celle-ci est caractérisée par un déséquilibre métabolique ainsi qu'une altération des fonctions hépatiques et pancréatiques, affectant plusieurs systèmes biologiques, comme l'indiquent les données de notre étude.

Nos résultats démontrent que le traitement avec ZnO dopé Mg-Ag NPs à une excellentes capacités de réparation tissulaire contre les dommages pancréatique et hépatiques, induits par la maladie de diabète de type 2. Cela nous donne l'occasion de faire des hypothèses sur la manière

dont ces nanoparticules réduiraient toute dégradation métabolique qui pourrait être causée par la maladie de diabète.

Enfin, on conclure que le nanoparticule dopées au magnésium et à l'argent à un pourcentage de 0.5%, il est prouvé leur efficacité biologique aux différents niveaux, offrant ainsi un potentiel prometteur pour leur application dans le domaine médical contre divers problèmes de santé.

Perspectives

Vu l'importance de ces résultats, ils ouvrent des perspectives expérimentales et d'autres études approfondies qui devraient nous permettre d'identifier clairement :

- Dépendance les noyaux de dattes est une excellente source pour la synthèse de diverses nanoparticules.
- Amélioration de rendement de synthèse vert des nanoparticules par des nouvelles conditions de synthèse.
- Evaluation de l'effet thérapeutique ZnO NPs et ZnO dopé Mg-Ag NPs contre autres maladies comme le cancer, Al Zaheimer...etc.
- Etude d'interaction des nanoparticules ZnO et ZnO dopé Mg-Ag avec l'enzyme transcriptase inverse pour l'inhibition du développement du VIH et du Covid 19.
- lier les nanoparticules par des conducteurs ciblés certaines cellules qui donne des thérapies ciblées.
- proposer les nanoparticules comme un médicament plus efficace que les médicaments utilisés.
- Exploitation des résultats pour la formation d'une start-up après obtention du Brevet.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCE

1. Abdelbaky A S, Mohamed A M, Sharaky M, Mohamed N A and Diab Y M (2023) Green approach for the synthesis of ZnO nanoparticles using Cymbopogon citratus aqueous leaf extract: characterization and evaluation of their biological activities. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 1:63.
2. Abdelmadjide, S. E. L. A. I. M. I. A., Mounir, A. Z. O. U. Z., Atef, C. H. O. U. I. K. H., Nadia, Z. G. A., & Neji, B. E. S. B. E. S. (2020). PHYTOCHEMICAL STUDY, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF FLAVONOIDS AND DIETHYL ETHER EXTRACTS FROM LEAVES AND SEEDS OF MEDICINAL PLANT OF ALGERIA FLORA: *Retamamonosperma* (L.) Boiss. *PONTE International Journal of Science and Research*, 76(4).
3. Aberlenc-Bertossi, F. (2010). *Biotechnologies du palmier dattier*. IRD éd., Institut de recherche pour le développement. <https://books.google.dz/books?id=Ohgm291Vym8C>
4. Abu-Reidah, I. M., Gil-Izquierdo, Á., Medina, S., & Ferreres, F. (2017). Phenolic composition profiling of different edible parts and by-products of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by using HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food research international*, 100, 494-500.
5. Adam, R. E., Alnoor, H., Pozina, G., Liu, X., Willeter, M., et Nur, O. (2020). Synthesis of Mg-doped ZnONPs via a chemical low-temperature method et investigation of the efficient photocatalytic activity for the degradation of dyes under solar light. *Solid State Sciences*, 99, 106053.
6. Adeyemi, J. O., Oriola, A. O., Onwudiwe, D. C., et Oyedeji, A. O. (2022). Plant extracts mediated metal-based nanoparticles: Synthesis et biological applications. *Biomolecules*, 12(5), 627.
7. Afolalu, S. A., Okwilagwe, O., Abdulkareem, A., Emetere, M. E., Ongbali, S. O., et Yusuf, O. O. (2021). Overview Of physicochemical et surface properties of nanoparticles for engineering applications. *IOP Conference Series: Earth et Environmental Science*.
8. Afsar, T., Razak, S., Khan, M. R., Mawash, S., Almajwal, A., Shabir, M., & Haq, I. U. (2016). Evaluation of antioxidant, anti-hemolytic and anticancer activity of various solvent extracts of *Acacia hydasypica* R. Parker aerial parts. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-16.
9. Agarwal, H., Venkat Kumar, S., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—an eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 406-413. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.03.002>

10. Agnoletti, M., Santoro, A., Fiore, B., Piras, F., Romano, F., et Bazzurro, A. (2023). Potential GIAHS Sites in Africa. In *Agricultural Heritage Systems in Europe, Asia, Africa, Central et South America* (pp. 19-103). Springer.
11. Ahmad, F., Khan, R. A., & Rasheed, S. (1992). Study of analgesic and anti-inflammatory activity from plant extracts of *Lactuca scariola* and *Artemisia absinthium*. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, 5(2), 111-114.
12. Ahmad, H., Venugopal, K., Bhat, A. H., Kavitha, K., Ramanan, A., Rajagopal, K., Srinivasan, R., et Maniketan, E. (2020). Enhanced Biosynthesis Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles (CuO-NPs) for their Antifungal Activity Toxicity against Major Phyto-Pathogens of Apple Orchards. *Pharmaceutical Research*, 37(12). <https://doi.org/10.1007/s11095-020-02966-x>
13. Ahmad, I., Saeed, H. A.-u.-R., et Khan, M. A. S. (2020). Ornamental Horticulture: Economic Importance, Current Scenario et Future Prospects. *Etiology et Integrated Management of Economically Important Fungal Diseases of Ornamental Palms*, 3-40.
14. Ahmed F, Sairam S, Urooj A. Effect of various Ayurvedic formulations and medicinal plants on carbohydrate hydrolyzing enzymes and glucose uptake by yeast cells-an in vitro study. *J Pharm Res*. 2009;2:563-8.
15. Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., et Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal of advanced research*, 7(1), 17-28.
16. Ahmeda, A., Mahdavi, B., Zaker, F., Kaviani, S., Hosseini, S., Zangeneh, M. M., Zangeneh, A., Paydarfar, S., & Moradi, R. (2020). Chemical characterization and anti-hemolytic anemia potentials of tin nanoparticles synthesized by a green approach for bioremediation applications. *Applied Organometallic Chemistry*, 34(3), e5433.
17. Ahren, B., Landin-Olsson, M., Jansson, P. A., Svenson, M., Holmes, D., & Schweizer, A. (2004). Inhibition of dipeptidyl peptidase-4 reduces glycemia, sustains insulin levels, and reduces glucagon levels in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(5), 2078–2084. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031967>
18. Akash, M. S. H., Rehman, K., Akash, M. S. H., et Rehman, K. (2020). Ultraviolet-visible (UV-VIS) spectroscopy. *Essentials of pharmaceutical analysis*, 29-56.
19. Akbar, S. (2020). Hetbook of 200 medicinal plants: a comprehensive review of their traditional medical uses et scientific justifications.

20. Akella, M., & Malla, R. (2020). Molecular modeling and in vitro study on pyrocatechol as potential pharmacophore of CD151 inhibitor. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 100, 107681.
21. Akhtar, M. J., Ahamed, M., Kumar, S., Khan, M. M., Ahmad, J., & Alrokayan, S. A. (2012). Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 845–857. <https://doi.org/10.2147/ijn.s29129>
22. Akter S, & Al-Faruk M (2017). Evaluation of Anti-Diabetic Activity of Gliclazide Formulation of Bangladesh on Alloxan Induced Diabetes in Mice. Daffodil International University,
23. Al-Agha, A. S. (2019). *Study of Conversion Fresh Hyani Date to Dried Dates (Tamer) in Gaza*
24. Alaizeri Z M, Alhadlaq H A, Aldawood S, Akhtar M J, Amer M S and Ahamed M (2021) Facile synthesis, characterization, photocatalytic activity, and cytotoxicity of Ag-doped MgO nanoparticles. *Nanomaterials* 11:2915.
25. Alamdari S, Sasani Ghamsari M, Lee C, Han W, Park H-H, Tafreshi M J, Afarideh H and Ara M H M (2020) Preparation and characterization of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Sambucus ebulus*. *Applied Sciences* 10:3620.
26. Alameen, A. S., S. B. Undre, and P. B. Undre. "Synthesis, dispersion, functionalization, biological and antioxidant activity of metal oxide nanoparticles." *Nano-Structures & Nano-Objects* 39 (2024): 101298.
27. Albarakaty F M, Alzaban M I, Alharbi N K, Bagrwan F S, Abd El-Aziz A R and Mahmoud M A (2023) Zinc oxide nanoparticles, biosynthesis, characterization and their potent photocatalytic degradation, and antioxidant activities. *Journal of King Saud University-Science* 1:102434.
28. Alex, J., et Mathew, T. V. (2023). Surface Modification of Bi₂O₃ Nanoparticles with Biotinylated β -Cyclodextrin as a Biocompatible Therapeutic Agent for Anticancer et Antimicrobial Applications. *Molecules*, 28(8), 3604.
29. Al-Farsi, M. A., et Lee, C. Y. (2008). Nutritional et functional properties of dates: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48(10), 877-887. <https://doi.org/10.1080/10408390701724264>
30. Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., & Shahidi, F. (2005). Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *J Agric Food Chem*, 53(19), 7586-7591. <https://doi.org/10.1021/jf050578y>.
31. Ali, S., et al. (2021). "Green synthesis of ZnO nanoparticles using date seed extract: Characterization and applications." *Journal of Nanomaterials*, 2021.

32. Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mohamed, S. (2018). Quantitative analysis of phenolic compounds of an algerian endemic *Scabiosa atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bull Company R Sci Liège*, 87, 13-21.
33. Alkazazz, F. F., & Taher, Z. A. (2021). A review on nanoparticles as a promising approach to improving diabetes mellitus. *Journal of Physics: Conference Series*, 1853(1), 012056. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1853/1/012056>
34. Al-Murshidi, M. M., Khadhim, I. A., Al-Mafragy, H. S., & Al-Saily, H. (2023). Evaluation of antidiabetic activity of zinc oxide and chromium oxide nanoparticles alone or in combination on the pancreas of alloxan-induced diabetes mellitus in male albino mice (*Mus musculus*). *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 37(Supplement I-IV), 159-163. doi: 10.33899/ijvs.2023.138380.2797
35. Aloke, C., Egwu, C. O., Aja, P. M., Obasi, N. A., Chukwu, J., Akumadu, B. O., Ogbu, P. N., & Achilonu, I. (2022). Current Advances in the Management of Diabetes Mellitus. *Biomedicines*, 10(10), 2436. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10102436>
36. Alotaibi, K. D., Alharbi, H. A., Yaish, M. W., Ahmed, I., Alharbi, S. A., Alotaibi, F., et Kuzyakov, Y. (2023). Date palm cultivation: A review of soil et environmental conditions et future challenges. *Let Degradation et Development*, 34(9), 2431-2444.
37. Aloulou A, Hamden K, Elloumi D, et al. Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. *BMC Complement Alternat Med*. 2012;12:63
38. Al-Radadi, N. S. (2019). Green synthesis of platinum nanoparticles using Saudi's dates extract and their usage on the cancer cell treatment. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(3), 330-349. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.05.008>
39. Al-Radadi, N. S. (2019). Green synthesis of platinum nanoparticles using Saudi's dates extract and their usage on the cancer cell treatment. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(3), 330-349. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.05.008>
40. AL-Shemmari, I. M., Kassim Altaee, R. A., & Mahdi, H. A. (2018). Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic activity of Kefir in alloxan-induced diabetes mellitus rat. *Scientific Journal of Medical Research*, 2(6), 83–86. <https://doi.org/10.37623/sjmr.2018.2606>
41. American Diabetes Association. (2021). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes—2021. *Diabetes Care*, 44(Supplement_1), S15–S33. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>

42. Amin Z S, Afzal M, Ahmad J, Ahmed N, Zeshan B, Hashim N H H N and Yean C Y (2023) Synthesis, characterization and biological activities of zinc oxide nanoparticles derived from secondary metabolites of *Lentinula edodes*. *Molecules* 8:3532.
43. Anastas, P. T., Heine, L. G., et Williamson, T. C. (2000). Green chemical syntheses et processes: introduction. In. ACS Publications.
44. Anbu, P., Jayanthi, S., et Velusamy, P. (2021). Characterization of nanoparticles using nano-analytical techniques. In *Nanoparticles in Analytical et Medical Devices* (pp. 59-70). Elsevier.
45. Andleeb S, Tariq F, Muneer A, Nazir T, Shahid B, Latif Z, Abbasi S A, Haq I U, Majeed Z and Khan S U-D (2020) In vitro bactericidal, antidiabetic, cytotoxic, anticoagulant, and hemolytic effect of green-synthesized silver nanoparticles using *Allium sativum* clove extract incubated at various temperatures. *Green Processing and Synthesis* 1:538-553.
46. Anetalakshmi, K. (2021). GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING PLANT EXTRACTS – A REVIEW. *Plant Archives*, 21, 2091-2097.
47. Anguraj, G., Ashok Kumar, R., Inmozhi, C., Uthrakumar, R., Elshikh, M. S., Almutairi, S. M., et Kaviyarasu, K. (2023). MnO₂ doped with Ag nanoparticles et their applications in antimicrobial et photocatalytic reactions. *Catalysts*, 13(2), 397.
48. Annicchiarico, A., Barile, B., Buccoliero, C., Nicchia, G. P., et Brunetti, G. (2024). Alternative therapeutic strategies in diabetes management. *World Journal of Diabetes*, 15(6), 1142.
49. Ansari M A and Alzohairy M A (2018) One-pot facile green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Phoenix dactylifera* and their bactericidal potential against MRSA. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1:1860280.
50. Anselmann, R. (2001). Nanoparticles et nanolayers in commercial applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 3, 329-336.
51. Antar, S. A., Ashour, N. A., Sharaky, M., Khattab, M., Ashour, N. A., Zaid, R. T., Roh, E. J., Elkamhawy, A., & Al-Karmalawy, A. A. (2023). Diabetes mellitus: Classification, mediators, and complications; A gate to identify potential targets for the development of new effective treatments. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 168, 115734. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115734>
52. Applerot, G. et al. (2009). "Understanding the antibacterial mechanism of ZnO nanoparticles." *Advanced Functional Materials*, 19(6), 842-852.

53. Aribi, M. M., Khali, M., et Boutekrabt, L. (2021). Individual et Combined Effects of Postharvest Heat Disinfestation Treatments Associated with a Modified Atmosphere Packaging (MAP) on the Quality of Algerian Dates Fruits (*Phoenix dactylifera* L.).
54. Arra, D. A. (2023). *PANCREATIC IMMUNE CELL ALTERATIONS IN AN ANIMAL MICE MODEL OF LIVER FIBROSIS* Faculty of Graduate Studies PANCREATIC IMMUNE CELL ALTERATIONS IN AN ANIMAL ...].
55. Arshad, F., Hassan, I. U., et Naikoo, G. A. (2023). Characterization of nanomaterials. In *Nanotechnology in Herbal Medicine* (pp. 37-61). Elsevier.
56. Aschner, P., Kipnes, M. S., Lunceford, J. K., Sanchez, M., Mickel, C., & Williams-Herman, D. E. (2006). Effect of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin as monotherapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 29(12), 2632–2637. <https://doi.org/10.2337/dc06-0703>
57. Asdaq, S. M. B., Almutiri, A. A., Alenzi, A., Shaikh, M., Shaik, M. A., Alshehri, S., & Rabbani, S. I. (2024). Unveiling the Neuroprotective Potential of Date Palm (*Phoenix dactylifera*): A Systematic Review. *Pharmaceuticals*, 17(9), 1221.
58. Ashrafizadeh, H., Abtahi, S. R., & Oroojan, A. A. (2020). Trace element nanoparticles improved diabetes mellitus: A brief report. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14(4), 443–445. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.04.026>
59. Askri, D. (2018). Etude de la biodistribution et de la toxicité des Nanoparticules de Fer chez le rat et sur une lignée de neuroblastome (Doctoral dissertation, Université Grenoble Alpes; Université de Carthage (Tunisie)).
60. Atolaiye, B., Edward-Ekpu, D., et Bamidele, T. (2019). Effect of pH et Hypo-Osmotic Stress on NaCl Electrolyte Permeation across Red Blood Cell Membrane. *Journal of Applied Sciences et Environmental Management*, 23(7), 1353-1356.
61. Attallah, K., Moussaoui, H., Ben Lahcene, F., et Boulal, A. (2022). *Etude de l'extraction et composition chimique d'huile de noyaux de dattes dans la région d'ADRAR* UNIVERSITE AHMED DRAIA-ADRAR].
62. Attia, A. I., Reda, F. M., Patra, A. K., Elnesr, S. S., Attia, Y. A., et Alagawany, M. (2021). Date (*Phoenix dactylifera* L.) by-products: Chemical composition, nutritive value et applications in poultry nutrition, an updating review. *Animals*, 11(4), 1133.

63. Awwad A M, Salem N M and Abdeen A O (2013) Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its antibacterial activity. *International journal of Industrial chemistry* 1-6. <https://10.1186/2228-5547-4-29>
64. Ayaz, M., Sadiq, A., Mosa, O. F., Zafar, T. A., Eisa Hamdoon, A. A., Elkhailifa, M. E. M., & Kabra, A. (2022). Antioxidant, Enzyme Inhibitory, and Molecular Docking Approaches to the Antidiabetic Potentials of Bioactive Compounds from *Persicaria hydropiper* L. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1), 6705810.
65. Babatunde, D. E., Denwigwe, I. H., Babatunde, O. M., Gbadamosi, S. L., Babalola, I. P., et Agboola, O. (2019). Environmental et societal impact of nanotechnology. *IEEE Access*, 8, 4640-4667.
66. Baetta, R., & Corsini, A. (2011). Pharmacology of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: Similarities and differences. *Drugs*, 71(11), 1441–1467. <https://doi.org/10.2165/11592860-000000000-00000>
67. Bahi, D., Becer, S., et Belhachani, M. (2022). Etude comparative entre les différentes méthodes de conservation des dattes.
68. BaitSoumiya, (2023) , Schizophrénie et Diabète : Caractéristiques Épidémiologiques et Clinique. Étude Réalisée au Service de Psychiatrie de Ouargla Durant la Période Allant Du 01 Février 2019 au 31 Janvier 2020. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Université de Constantine 3.
69. Balogun S W, James O O, Sanusi Y K and Olayinka O H (2020) Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using bashful (*Mimosa pudica*), leaf extract: A precursor for organic electronics applications. *Sn Applied Sciences* 1-8.
70. Banfantini P. Lara, (2014). Prise en charge du diabète et impact sur les neuropathies périphériques au Togo. Thèse pour obtenir le grade de Docteur des Universités de Limoges et de Lomé Santé publique, épidémiologie, environnement et sociétés. Le 9 février 2024, Université de Limoges Biologie, Chimie, Santé (BCS).
71. Barani D. Tedjani ML., Younes Z, Meneceur S. Laouini SE, Ham-mami H (2023) Biomass-mediated synthesis of ZnO and Mg@ ZnO nanoparticles for enhancing the degradation of m-toluidine and p-toluidine. *Biomass Convers Biorefinery* 13(8):7311-7318
72. Barathmanikanth, S., Kalishwaralal, K., Sriram, M., Pandian, S. R., Youn, H. S., & Eom, S., et al. (2010). Anti-oxidant effect of gold nanoparticles restrains hyperglycemic conditions in diabetic mice. *Journal of Nanobiotechnology*, 8(1), 16.

73. BartoloméAlberto. (2022) Stem Cell-Derived β Cells: A Versatile Research Platform to Interrogate the Genetic Basis of β Cell Dysfunction. *Int J Mol Sci.* 2 janv 2022;23(1):501. DOI: [10.3390/ijms23010501](https://doi.org/10.3390/ijms23010501)
74. Barzinjy A A and Azeez H H (2020) Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using Eucalyptus globulus Labill. leaf extract and zinc nitrate hexahydrate salt. *SN Applied Sciences* 5:991. [https://10.1007/s42452-020-2813-1](https://doi.org/10.1007/s42452-020-2813-1)
75. Bays, H. E. (2023). Why does type 2 diabetes mellitus impair weight reduction in patients with obesity? A review. *Obes Pillars*, 7, 100076. <https://doi.org/10.1016/j.obpill.2023.100076>
76. Bedjaoui, H., et Benbouza, H. (2020). Assessment of phenotypic diversity of local Algerian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19(1), 65-75.
77. Bednarski, M., Dudek, M., Knutelska, J., Nowiński, L., Sapa, J., & Zygmunt, M., et al. (2015). The influence of the route of administration of gold nanoparticles on their tissue distribution and basic biochemical parameters: *In vivo* studies. *Pharmacological Reports*, 67(3), 405–409.
78. Belguedj, M. (2002). Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-Est. *Algérien, Ed. D*, 3.
79. Benahmed, K., Naima, B., et Elbar, D. (2016). *GUIDE DE BONNES PRATIQUES ORIENTATIONS POUR UNE MEILLEURE CONSERVATION DES DATTES - Choix de l'emballage et de la température de stockage.*
80. Benakli, L. (2021). *Valeur nutritive de la poudre de noyaux de dattes* Université Mouloud Mammeri].
81. Benchikha, N., Messaoudi, M., Larkem, I., Ouakouak, H., Rebiai, A., Boubekur, S., & Youssef, F. S. (2022). Evaluation of possible antioxidant, anti-hyperglycaemic, anti-alzheimer and anti-inflammatory effects of *Teucrium polium* aerial parts (Lamiaceae). *Life*, 12(10), 1579.
82. Benmohamed, M., Hamza, H., Boudiche, S., Tombari, T., Bornaz, S., et Ettaib, R. (2020). Etude de la stabilité d'huile de noyaux de dattes au cours du stockage. *Revue Des Régions Arides*(46), 749-753.
83. Bentradi, N., et Hamida-Ferhat, A. (2020). Date palm fruit (*Phoenix dactylifera*): Nutritional values et potential benefits on health. In *The Mediterranean Diet* (pp. 239-255). Elsevier.

84. Binaut R, Maisonneuve N, Vanhille P, (2004), Néphropathies glomérulaires. Orientation diagnostique et évolution, EMC - Médecine, Elsevier Masson, Volume 1, Issue 2, 2004, Pages 110-120. doi: [10.1016/S1762-4193\(03\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S1762-4193(03)00016-X)
85. BISHT S., KANT R et KUMAR V., 2013. α -d-Glucosidase inhibitory activity of polysaccharide isolated from *Acacia tortilis* gum exudate. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 59: 214–220.
86. Bose, P., Black, S., Kadyrov, M., Weissenborn, U., Neulen, J., Regan, L., & Huppertz, B. (2005). Heparin and aspirin attenuate placental apoptosis in vitro: implications for early pregnancy failure. American journal of obstetrics and gynecology, 192(1), 23-30.
87. Boulkoumane, K., et Mouissi, F. M. *Synthèse des nanoparticules d'argent par méthode biologique pour des applications antibactériennes et photocatalytiques*
88. Braun, K., Passon, J., Jeworutzki, A., Braun, K., Passon, J., Braun, K., Passon, J., Braun, K., Passon, J., et Jeworutzki, A. (2020). Across the Vast Let—Some Aspects on Libya's Geography. In *Across the Sahara: Tracks, Trade et Cross-Cultural Exchange in Libya* (pp. 1-28). Springer.
89. Bril Vera, PerkinsBrue, Toth Cory, (2013) Neuropathie, Canadian Journal of Diabetes, Elsevier Masson, Volume 37, Supplément 5, 2013, Pages 518-521. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcjd.2013.07.028>
90. Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. Journal of the Science of Food and Agriculture, 29(9), 788-794
91. BunceCetey, Wormald Richard, (2006) Leading causes of certification for blindness and partial sight in England & Wales. BMC Public Health. 2006 Mar 8; 6:58; DOI: [10.1186/1471-2458-6-58](https://doi.org/10.1186/1471-2458-6-58)
92. Camel, V., Maillard, M.-N., Piard, J., Dumas, C., Cladière, M., Fitoussi, G., Brun, E., Billault, I., et Sicard-Roselli, C. (2020). CHIMACTIV: An Open-Access Website for Student-Centered Learning in Analytical Chemistry. In: ACS Publications.
93. CBI (2023) (Centre pour la promotion des importations de pays en développement) :* [MarketStudy on Dates] (<https://www.cbi.eu/>)
94. CEEDMM (2023). Diabète de type 2 [Internet]. Société Française d'Endocrinologie. 2022 [cité 18 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.s fendocrino.org/diabete-de-type-2/>.
95. Chalmers, J. M., Edwards, H. G. M., et Hargreaves, M. D. (2012). *Infrared et Raman Spectroscopy in Forensic Science*. Wiley. <https://books.google.dz/books?id=CQiPliafQF8C>

96. Chang Annette M, Halter Jeffrey B, (2003). Aging and insulin secretion. *Am J Physiol - EndocrinolMetab.* 1 janv 2003 ; 284 (1) : E7-12.DOI: [10.1152/ajpendo.00366.2002](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00366.2002)
97. Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., et Chern, J.-C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of food et drug analysis*, 10(3), 3.
98. Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Abbou, F., Aissaoui, M., Boudjemai, O., Ghellai, I., et Senhadji, S. (2021). Phytochemical screening et evaluation of the antioxidant et antibacterial activity of *Atriplex halimus* from two regions Algeria (El Oued et Tlemcen).
99. Charbonnel, B., Karasik, A., Liu, J., Wu, M., &Meininger, G. (2006). Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin added to ongoing metformin therapy in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin alone. *Diabetes Care*, 29(12), 2638–2643. <https://doi.org/10.2337/dc06-0706>
100. Chen, D.-J., Letis, J. B., Wang, H.-X., Sun, Q.-H., Wang, Q., et Wang, H.-F. (2022). Plastome structure, phylogenomic analyses et molecular dating of *Arecaceae*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 960588.
101. Chen, J., Li, L., Zhou, X., Li, B., Zhang, X., et Hui, R. (2018). Structural characterization et α -glucosidase inhibitory activity of polysaccharides extracted from Chinese traditional medicine Huidouba. *International journal of biological macromolecules*, 117, 815-819.
102. Chen, L. Q., Fang, L., Ling, J., Ding, C. Z., Kang, B., & Huang, C. Z. (2015). Nanotoxicity of silver nanoparticles to red blood cells: size dependent adsorption, uptake, and hemolytic activity. *Chemical research in toxicology*, 28(3), 501-509.
103. ChianitiSofien, (2015), Optimisation de la bioproduction d'éthanol par valorisation des refus de l'industrie de conditionnement des dattes (Université Rennes 1). July 2015.
104. Chniti, S., Jemni, M., Bentahar, I., Shariati, M. A., Djelal, H., Amrane, A., et Hassouna, M. (2017). By-products of dates: optimization of the extraction of juice using response surface methodology et ethanol production. *Journal of Microbiology, Biotechnology et Food Sciences*, 7(2), 204-208.
105. Chong, S., Ding, D., Byun, R., Comino, E., Bauman, A., &Jalaludin, B. (2017). Lifestyle changes after a diagnosis of type 2 diabetes. *Diabetes Spectrum*, 30(1), 43–50. <https://doi.org/10.2337/ds15-0044>
106. Christensen, A. A., &Gannon, M. (2019). The beta cell in type 2 diabetes. *Current diabetes reports*, 19, 1-8.

107. Chukwunyere, C. F., Awonuga, D. O., Adesina, O. F., & Udenze, I. C. J. D. (2020). Gestational diabetes: Comparison of random and fasting plasma glucose as modalities of screening. *European Medical Journal*. Retrieved from <https://www.emjreviews.com/wp-content/uploads/2020/11/Gestational-Diabetes-Comparison-of-Random-and-Fasting-Plasma-Glucose-as-Modalities-of-Screening.pdf>
108. Cirillo, V.P., Mechanism of glucose transport across the yeast cell membrane. *Journal of bacteriology*, 1962. 84(3): p. 485-491.
109. Claudel, M. I. (2018). *Carbon dots: synthèse pour des études toxicologiques et développement d'outils théranostiques* Université de Strasbourg].
110. Clogston, J. D., Crist, R. M., et McNeil, S. E. (2016). Physicochemical characterization of polymer nanoparticles: challenges et present limitations. *Polymer nanoparticles for nanomedicines: A guide for their design, preparation et development*, 187-203.
111. Cosson E, Valensi P, (2019), Complications cardiovasculaires macroangiopathiques et insuffisance cardiaque chez le diabétique, *Diabétologie*, Elsevier Masson, 2019, Pages 265- 275. DOI:[10.1016/B978-2-294-75889-8.00016-6](https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75889-8.00016-6)
112. Cotter, A. P., Durant, N., Agne, A. A., & Cherrington, A. L. (2014). Internet interventions to support lifestyle modification for diabetes management: A systematic review of the evidence. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 28(3), 243–251. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2013.07.003>
113. Czech, M. P. (2017). Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature medicine*, 23(7), 804-814.
114. Daisy, P., & Saipriya, K. (2012). Biochemical analysis of Cassia fistula aqueous extract and phytochemically synthesized gold nanoparticles as hypoglycemic treatment for diabetes mellitus. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 1189–1202.
115. Danial, E. N., Hjiri, M., Abdel-wahab, M. S., Alonizan, N. H., El Mir, L., et Aida, M. S. (2020). Antibacterial activity of In-doped ZnO nanoparticles. *Inorganic Chemistry Communications*, 122, 108281. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.inoche.2020.108281>
116. De Fronzo Ralph A, (2009) From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. 1 avr 2009;58(4):773-95. doi: [10.2337/db09-9028](https://doi.org/10.2337/db09-9028)

117. Deacon, C. F., & Holst, J. J. (2010). Linagliptin: A xanthine-based dipeptidyl peptidase-4 inhibitor with an unusual profile for the treatment of type 2 diabetes. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 19(2), 133–140. <https://doi.org/10.1517/13543780903519006>
118. DeFronzo R. A. (1999). Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Annals of internal medicine*, 131(4), 281–303. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-131-4-199908170-00008>
119. Dehghani, F., Mosleh-Shirazi, S., Shafiee, M., Kasaei, S. R., et Amani, A. M. (2023). Antiviral et antioxidant properties of green synthesized gold nanoparticles using *Glaucium flavum* leaf extract. *Applied Nanoscience*, 13(6), 4395-4405.
120. Delcourt C, Vauzelle-Kervroedan F, Cathelineau G, Papoz L, (1998), Low prevalence of long-term complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus in France: a multicenter study. *J Diabetes Complications* 1998 ;12(2) :88-95. DOI: [10.1016/s1056-8727\(97\)98005-3](https://doi.org/10.1016/s1056-8727(97)98005-3)
121. Dharavath S B, Chirumamilla P and Taduri S (2023) Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic activities of green synthesized silver nanoparticles and in vivo plant extracts of *Nothapodytes foetida*. *Vegetos* 3:920-928.
122. Dima, J., Raghdha, L., et Abdul-Jalil, G. (2017). Evaluation of hemolytic et anti-hemolytic activity of the aerial parts of *Sonchus oleraceus* extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences et Nanotechnology (IJPSN)*, 3745-3751.
123. Din, M. I., Khalid, R., Najeeb, J., et Hussain, Z. (2021). Fundamentals et photocatalysis of methylene blue dye using various nanocatalytic assemblies-a critical review. *Journal of Cleaner Production*, 298, 126567.
124. Doan, C. T., Tran, T. N., Nguyen, M. T., Nguyen, V. B., Nguyen, A. D., et Wang, S.-L. (2019). Anti- α -glucosidase activity by a protease from *Bacillus licheniformis*. *Molecules*, 24(4), 691.
125. Domingos, R. F., Baalousha, M. A., Ju-Nam, Y., Reid, M. M., Tufenkji, N., Lead, J. R., Leppard, G. G., et Wilkinson, K. J. (2009). Characterizing manufactured nanoparticles in the environment: multimethod determination of particle sizes. *Environmental science et technology*, 43(19), 7277-7284.
126. Druet C, Roudier C, Romon I, Assogba F, Bourdel-Marchasson I, et al. Échantillon national témoin représentatif des personnes diabétiques, Entred 2007-2010. Caractéristiques, état de santé, prise en charge et poids économique des personnes diabétiques. Saint - Maurice InVS Institut de veille sanitaire,; 2013 .http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=9074

127. Dufurrena, Q., Amjad, F. M., Scherer, P. E., Weiss, L. M., Nagajyothi, J., Roth, J., Tanowitz, H. B., & Kuliawat, R. J. (2017). Alterations in pancreatic β -cell function and Trypanosomacruzi infection: Evidence from human and animal studies. *ParasitologyResearch*, 116(3), 827–838. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5350-5>
128. DuredDardari, (2021). Impact de la normalisation rapide de l'hyperglycémie chronique dans la physiopathologie de la neuroarthropathie de Charcot chez les patients vivant avec un diabète. Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Saclay, 2021. Français.
129. Dutta S, Banerjee P, Das P and Mukhopadhyay A (2021) Phytogenic synthesis of nanoparticles and their application in photo catalysis of dye rich effluents. *Photocatalytic Degradation of Dyes* 647-694. <https://10.1016/B978-0-12-823876-9.00024-X>
130. Ebar, M. H. O., Mohamed Abdalla, R. A. A., Merghani, M. M., et Babiker, N. E. (2022). Measurement of Prothrombin Time (PT) et Activated Partial Thromboplastin Time (APTT), Fibrinogen Level, D-Dimer in Sudanese Infants et Children with Sepsis Khartoum State, 2022.
131. Ebelt, H., Peschke, D., Brömme, H. J., Mörke, W., Blume, R., & Peschke, E. (2000). Influence of melatonin on free radical-induced changes in rat pancreatic beta-cells *in vitro*. *Journal of Pineal Research*, 28(2), 65–72. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2001.280201.x>
132. Edeoga, H. O., Okwu, D., & Mbaebie, B. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(7), 685-688.
133. Edwin M H M, Mani A and Raj A S S (2023) Efficient and environmentally friendly synthesis of biologically inspired titanium dioxide nanoparticles using Jasminum auriculatum for diverse biological applications: antibacterial, antifungal, antidiabetic, and anti-inflammatory properties. *Biomass Conversion and Biorefinery* 1-19.
134. Eizirik, D. L., Pasquali, L., et Cnop, M. (2020). Pancreatic β -cells in type 1 et type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. *Nature Reviews Endocrinology*, 16(7), 349-362.
135. Elahi, N., Kamali, M., & Baghersad, M. H. (2018). Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Talanta*, 184, 537–556. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.088>
136. El-Behery R R, El-Sayed E-S R and El-Sayyad G S (2023) Gamma rays-assisted bacterial synthesis of bimetallic silver-selenium nanoparticles: powerful antimicrobial, antibiofilm, antioxidant, and photocatalytic activities. *BMC microbiology* 1:224.

137. El-Far, A. H., Ragab, R. F., et Mousa, S. A. (2021). Date palm bioactive compounds: nutraceuticals, functional nutrients, et pharmaceuticals. In *The Date Palm Genome, Vol. 2: Omics et Molecular Breeding* (pp. 27-50). Springer.
138. El-Gendy, Z. A., Abdelazeem, S., Jaleel, G. A. A., Ali, M. E., Mohamed, A., Salah, A., & Raslan, M. A. (2024). Anti-inflammatory and anti-rheumatic effects of *Phoenix dactylifera* L.(date palm) seed by controlling cytokines and inhibiting JAK1/STAT3 pathway on CFA-induced arthritis rat and its phytochemical profiling. *Journal of Ethnopharmacology*, 329, 118138.
139. Elsanhoty, R. M., Al-Turki, I., & Ramadan, M. F. (2012). Screening of medium components by Plackett–Burman design for carotenoid production using date (*Phoenix dactylifera*) wastes. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 313-320.
140. El-Seedi, H. R., El-Shabasy, R. M., Khalifa, S. A., Saeed, A., Shah, A., Shah, R., Iftikhar, F. J., Abdel-Daim, M. M., Omri, A., et Hajrahet, N. H. (2019). Metal nanoparticles fabricated by green chemistry using natural extracts: Biosynthesis, mechanisms, et applications. *RSC advances*, 9(42), 24539-24559.
141. Elsevier Masson, (2019). collège des enseignants d'endocrinologie, diabète et maladies métaboliques Endocrinologie, diabétologie et maladies métaboliques (4e éd). Issy-les-Moulineaux cedex.
142. El-Sohaimy, S., et Hafez, E. (2010). Biochemical et nutritional characterizations of date palm fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *J Appl Sci Res*, 6(6), 1060-1067.
143. Elwakeel, A. E., Tantawy, A. S., Alsebiey, M., et Elliby, A. (2022). The date fruit drying systems: acritical over review. *Al-Azhar Journal of Agricultural Engineering*.
144. Epp, J. (2016). X-ray diffraction (XRD) techniques for materials characterization. In *Materials characterization using nondestructive evaluation (NDE) methods* (pp. 81-124). Elsevier.
145. Essou, J. I. L., Zanklan, A. S., Adomou, A. C., et Assogba, F. (2017). Studies on Phytochemistry et Antioxidant Potential of *Cleome gynandra* L.(Capparidaceae) Collected from Contrasted Agro-Ecological Zones in Benin. *Eur J Sci Res*, 147, 251-274.
146. Faiza, B. S., Babahani, S., Boutouil, A., et Ben Ziouche, S. E. (2022). Economic Importance of Common Dates (*Phoenix Dactylifera* L) et Their Impact on the Sustainability of Palm Date's Biodiversity in Ouargla Oasis (Algeria). *Al-Qadisiyah Journal For Agriculture Sciences*, 12(2), 1-11.
147. FAO (2023) (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture) :* [FAO Statistics] (<https://www.fao.org/>)

148. Farag, M. A., Otify, A., et Baky, M. H. (2023). *Phoenix dactylifera L.* date fruit by-products outgoing et potential novel trends of phytochemical, nutritive et medicinal merits. *Food Reviews International*, 39(1), 488-510.
149. Feng, Q. L. et al. (2000). "A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *E. coli* and *S. aureus*." *Journal of Biomedical Materials Research*, 52(4), 662-668.
150. Ferdous, T., Nur, I. J., Romel, M. H., & Bhuiyan, S. R. (2023). The Study on Genetic Variability and Heritability in F4 Population of Rain-fed Rice (*Oryza sativa L.*). *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 11(2), 99–105. <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v11i2.52545>.
151. Florence, J. A., & Bryan, F. Y. (1999). *American Academy of Family Physicians*, 59, 1123.
152. Fonseca Vivian A, (2009), Defining and Characterizing the Progression of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 1 nov 2009;32(suppl_2):S151-6. DOI: [10.2337/dc09-S301](https://doi.org/10.2337/dc09-S301)
153. Fornaguera, C., et Solans, C. (2018). Characterization of polymeric nanoparticle dispersions for biomedical applications: size, surface charge et stability. *Pharmaceutical nanotechnology*, 6(3), 147-164.
154. Franca, A. S., et Oliveira, L. S. (2022). *FTIR spectroscopy: advances in research et applications*. Nova Science Publishers, Incorporated.
155. Franz, M. J. (1997). Lifestyle modifications for diabetes management. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 26(3), 499–510. [https://doi.org/10.1016/S0889-8529\(05\)70263-2](https://doi.org/10.1016/S0889-8529(05)70263-2)
156. Gabriel A Gregory, Thomas I G Robinson, Sarah E Linklater, Fei Wang, Stephen Colagiuri, Carine de Beaufort, Kim C Donaghue; International Diabetes Federation Diabetes Atlas Type 1 Diabetes in Adults Special Interest Group; Dianna J Magliano, JayanthiManiam, Trevor J Orchard, PriyankaRai, Graham D Ogle, (2001); Global incidence, prevalence, and mortality of type 1 diabetes in 2021 with projection to 2040: a modelling study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 1 oct 2022;10(10):741-60. □ DOI: [10.1016/S2213-8587\(22\)00218-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(22)00218-2)
157. Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., ... & Martín, C. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6275.
158. Gallaher D, Schneeman B O. Nutritional and metabolic response to plant inhibitors of digestive enzymes. *AdvExp Med Biol* 1986;199:167-84. 23. Jenkins D J, Wolever T M, Leeds A R, et al.

- Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity. *Br Med J.* 1978;1:1392-4.
159. Gangwar J and Joseph K S (2024) Eco-conscious photocatalytic degradation of organic textile dyes using green synthesized silver nanoparticles: a safe and green approach toward sustainability. *Biomass Conversion and Biorefinery* 1-12.
 160. Gao, L., Yue, R., Xu, J., Liu, Z., & Chai, J. (2018). Pt-PEDOT/rGO nanocomposites: One-pot preparation and superior electrochemical sensing performance for caffeic acid in tea. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 816, 14-20.
 161. Genuth, S., Alberti, K. G. M. M., Bennett, P., Buse, J., DeFronzo, R., Kahn, R., Kitzmiller, J., Knowler, W. C., Lebovitz, H., Lernmark, A., & Nathan, D. (2003). Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 26(11), 3160–3167. <https://doi.org/10.2337/diacare.26.11.3160>
 162. Geurtsen, M. L., van Soest, E. E., Voerman, E., Steegers, E. A., Jaddoe, V. W., & Gaillard, R. J. D. (2019). High maternal early-pregnancy blood glucose levels are associated with altered fetal growth and increased risk of adverse birth outcomes. *Diabetologia*, 62(10), 1880–1890. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4957-3>
 163. Ghafoor, K., Sarker, M., Al-Juhaimi, F., Babiker, E., Alkaltham, M., & Almubarak, A. (2022). Extraction and Evaluation of Bioactive Compounds from Date (*Phoenix dactylifera*) Seed Using Supercritical and Subcritical CO₂ Techniques. *Foods*, 11. <https://doi.org/10.3390/foods11121806>
 164. Ghania, A., & Djahra, A. B. (2023). Protective and antioxidant capacity of date palm seeds (*Phoenix dactylifera* L.) on hepatotoxicity in rats. *Farmacia*, 71(2), 303-311.
 165. Ghania, A., & Siboukeur, O. (2014). Boissons de noyaux de dattes torréfiés: Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques d'une boisson à base de noyaux de dattes torréfiés. Éditions universitaires européennes.
 166. Gherbi B, Laouini S E, Meneceur S, Bouafia A, Hemmami H, Tedjani M L, Thiripuranathar G, Barhoum A and Menaa F (2022) Effect of pH value on the bandgap energy and particles size for biosynthesis of ZnO nanoparticles: Efficiency for photocatalytic adsorption of methyl orange. *Sustainability* 18:11300. <https://10.3390/su141811300>
 167. Ghosh, P., Das, C., & Biswas, S. (2020). Phytochemical composition analysis and evaluation of in vitro. medicinal properties and cytotoxicity of five wild weeds: A comparative study [version 1; peer review: 1 approved, 2 approved with reservations]. *F1000Res.* 2020; 9: 493. PubMed Abstract| Publisher Full Text| Free Full Text.

168. Gil, D. M. d. A., et Rebelo, M. J. F. (2009). Metabisulfite interference in biosensing et Folin-Ciocalteu analysis of polyphenols. *Microchimica acta*, 167, 253-258.
169. Gilday, L. C., Robinson, S. W., Barendt, T. A., Langton, M. J., Mullaney, B. R., et Beer, P. D. (2015). Halogen Bonding in Supramolecular Chemistry. *Chem Rev*, 115(15), 7118-7195. <https://doi.org/10.1021/cr500674c>
170. Gin H; Rigalleau V, (2010); L'exploration de la neuropathie diabétique périphérique : How to explore diabetic peripheral neuropathy ? Médecine des Maladies Métaboliques, Volume 4, Issue 5, 2010, Pages 575-578. DOI: [10.1016/S1957-2557\(10\)70125-5](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(10)70125-5)
171. Goldstein, J., Newbury, D., Michael, J., Ritchie, N., Scott, J., et Joy, D. (2018). *Scanning Electron Microscopy et X-Ray Microanalysis*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6676-9>
172. Goodhead, L. K., et MacMillan, F. M. (2017). Measuring osmosis et hemolysis of red blood cells. *Advances in physiology education*, 41(2), 298-305.
173. Grant, T., Soriano, Y., Marantz, P. R., Nelson, I., Williams, E., Ramirez, D., Burg, J., & Nordin, C. J. A. (2004). Community-based screening for cardiovascular disease and diabetes using HbA1c. *American Journal of Preventive Medicine*, 26(4), 271-275. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2003.12.015>
174. Gray, F. (2018). *Palm*. Reaktion Books.
175. Greenbaum CJ, Cuthbertson D, Krischer JP, (2001), the Diabetes Prevention Trial of Type 1 Diabetes Study Group. Type 1 Diabetes Manifested Solely by 2-h Oral Glucose Tolerance Test Criteria. *Diabetes*. 1 févr 2001;50(2):470-6. DOI: [10.2337/diabetes.50.2.470](https://doi.org/10.2337/diabetes.50.2.470)
176. Gros-Balthazard, M., Baker, W. J., Leitch, I. J., Pellicer, J., Powell, R. F., et Bellot, S. (2021). Systematics et Evolution of the Genus Phoenix: Towards Understating Date Palm Origins. In *The Date Palm Genome, Vol. 1: Phylogeny, Biodiversity et Mapping* (pp. 29-54). Springer.
177. Gueboudji, Z., Addad, D., Kadi, K., Nagaz, K., Secrafi, M., Yahya, L. B., Lachehib, B., et Abdelmalek, A. (2022). Biological activities et phenolic compounds of olive oil mill wastewater from Abani, endemic Algerian variety. *Scientific reports*, 12(1), 6042.
178. Gueutin Victor, Marion Gauthier, Maud Cazenave, Hassane Izzedine, (2014), Néphropathie diabétique: traitements émergents, Néphrologie & Thérapeutique, Elsevier Masson, Volume 10, Issue 4, 2014, Pages 210-215. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2014.02.004>

179. Gul, K., Tak, A., Singh, A., Singh, P., Yousuf, B., et Wani, A. A. (2015). Chemistry, encapsulation, et health benefits of β -carotene-A review. *Cogent Food et Agriculture*, 1(1), 1018696.
180. Guo, Y., Jiang, N., Zhang, L., & Yin, M. (2020). Green synthesis of gold nanoparticles from *Fritillaria cirrhosa* and its anti-diabetic activity on Streptozotocin induced rats. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(4), 5096–5106. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.02.009>
181. Gupta D, Kondongala S C, Pai G K. InvitroAntidiabetic Activity of PentacyclicTritrpenoids and Fatty Acid Esters from *Bauhinia Purpurea*. *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology (Int J Pharmacol Pharm Technol)*. 2013;2:25-8.
182. Habib, H. M., & Ibrahim, W. H. (2011). Nutritional quality of 18 date fruit varieties. *International journal of food sciences and nutrition*, 62(5), 544-551.
183. Haleemkhan, A., Naseem, B., et Vardhini, B. (2015). Synthesis of nanoparticles from plant extracts. *Int J Mod Chem Appl Sci*, 2(3), 195-203.
184. Hameed, M., & Ahmed, Z. (2018). *Phoenix dactylifera* L.: A review of its biological properties and medical applications. *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(4), 58–65.
185. Hamsi W, Mallem S., (2024), Rôle de la lécitine liant le mannose dans le diabète de type 2.
186. Hamza, K. M., et Abdeen, A. H. (2015). Prothrombin Time (PT) et Activated Partial Thromblastin Time (APTT) In Sudanese Diabetic Patients–Khartoum State.
187. Haq, I. U., et Khan, N. A. (2020). Fungal Diseases of Date Palm (*Phoenix dactylifera*): Etiology et Management. *Etiology et Integrated Management of Economically Important Fungal Diseases of Ornamental Palms*, 169-196.
188. Harborne, J.B. (1998) Textbook of Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 5th Edition, Chapman and Hall Ltd, London, 21-72.
189. Harkat, H., Ratiba, B., Benincasa, C., Atrouz, K., Gültekin-Özgüven, M., Altuntaş, Ü., Demircan, E., Zahran, H., et Ozcelik, B. (2022). Assessment of Biochemical Composition et Antioxidant Properties of Algerian Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Seed Oil. *Plants*, 11. <https://doi.org/10.3390/plants11030381>
190. Hartemann A, Grimaldi A, (2013); Guide pratique du diabète. Elsevier Masson; 2013.328 [https://books.google.com/books?hl=ar&lr=&id=wNTtEAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=59.%09Hartemann+A,+Grimaldi+A,+\(2013\)%3B+Guide+pratique+du+diab%C3%A8te.+Elsevier+Masson%3B+2013.328+p&ots=Hj47-GAZcB&sig=A2SLHngwrV8FNW198aLiHCftJ8w](https://books.google.com/books?hl=ar&lr=&id=wNTtEAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=59.%09Hartemann+A,+Grimaldi+A,+(2013)%3B+Guide+pratique+du+diab%C3%A8te.+Elsevier+Masson%3B+2013.328+p&ots=Hj47-GAZcB&sig=A2SLHngwrV8FNW198aLiHCftJ8w)

191. Haruna A and Yahaya S M (2021) Recent advances in the chemistry of bioactive compounds from plants and soil microbes: A review. *Chemistry Africa* 2:231-248. <https://10.1007/s42250-020-00213-9>
192. He, Z., Nie, T., Hu, Y., Zhou, Y., Zhu, J., Liu, Z., Liu, L., Leong, K. W., Chen, Y., et Mao, H.-Q. (2020). A polyphenol-metal nanoparticle platform for tunable release of liraglutide to improve blood glycemic control et reduce cardiovascular complications in a mouse model of type II diabetes. *Journal of controlled release*, 318, 86-97.
193. Heit John A, Leibson Cynthia L, AshraniAneel A, Tanya M Petterson, Kent R Bailey, L Joseph Melton, (2009), Is Diabetes Mellitus an Independent Risk Factor for Venous Thromboembolism?: A Population-Based Case-Control Study. *ArteriosclerThrombVasc Biol.* sept 2009;29(9):1399-405. DOI: [10.1161/ATVBAHA.109.189290](https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.189290)
194. Herman, W. H., Ye, W., Griffin, S. J., Simmons, R. K., Davies, M. J., Khunti, K., Rutten, G. E. H. M., Sandbaek, A., Lauritzen, T., Borch-Johnsen, K., et al. (2015). Early detection and treatment of type 2 diabetes reduce cardiovascular morbidity and mortality: A simulation of the results of the Anglo-Danish-Dutch study of intensive treatment in people with screen-detected diabetes in primary care (ADDITION-Europe). *Diabetes Care*, 38(8), 1449–1455. <https://doi.org/10.2337/dc14-2459>
195. Hodoroba, V.-D. (2020). Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS). In *Characterization of Nanoparticles* (pp. 397-417). Elsevier.
196. Hollander, M. H., Paarlberg, K. M., &Huisjes, A. J. J. O. (2007). Gestational diabetes: A review of the current literature and guidelines. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 62(2), 125–136. <https://doi.org/10.1097/01.ogx.0000253303.92229.59>
197. Hu FB,(2011); Globalization of Diabetes. *Diabetes Care*. 1 juin 2011; 34(6):1249-57. DOI: [10.2337/dc11-0442](https://doi.org/10.2337/dc11-0442)
198. Huang, R., Wu, W., Shen, S., Fan, J., Chang, Y., Chen, S., et Ye, X. (2018). Evaluation of colorimetric methods for quantification of citrus flavonoids to avoid misuse. *Analytical methods*, 10(22), 2575-2587.
199. Hubeaux K, Deffieux X., P. Raibaut, D. Rogez, F. Lebreton, A. Marquer, G. Amarenco, (2008), Neuropathie végétative diabétique : principes et méthodes d'exploration, *Pelvi-péri néologie*, Volume 3, Issue 3, 09/2008, Pages 233-239. DOI: [10.1007/s11608-008-0204-y](https://doi.org/10.1007/s11608-008-0204-y)

200. Hui, A., Ma, J., Liu, J., Bao, Y., et Zhang, J. (2017). Morphological evolution of Fe doped sea urchin-shaped ZnO nanoparticles with enhanced photocatalytic activity. *Journal of Alloys et Compounds*, 696, 639-647. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.10.319>
201. Hussain, M. I., Farooq, M., et Syed, Q. A. (2020). Nutritional et biological characteristics of the date palm fruit (*Phoenix dactylifera L.*)—A review. *Food Bioscience*, 34, 100509.
202. Huston, M., DeBella, M., DiBella, M., et Gupta, A. (2021). Green synthesis of nanomaterials. *Nanomaterials*, 11(8), 2130.
203. Ibrahim, A. S., Sukor, R., Anwar, F., Murugesu, S., Selamat, J., et Siva, R. (2024). Nutritional, nutraceutical attributes, microbiological et chemical safety of different varieties of dates—A review. *Future Foods*, 100421.
204. Ikram, S. (2015). Synthesis of gold nanoparticles using plant extract: an overview. *Nano Res*, 1(5).
205. Ilinskaya A N and Dobrovolskaia M A (2013) Nanoparticles and the blood coagulation system. Part II: safety concerns. *Nanomedicine* 6:969-981.
206. Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J ichiro, Matsuzawa Y, (2020), A Novel Subtype of Type 1 Diabetes Mellitus Characterized by a Rapid Onset and an Absence of Diabetes-Related Antibodies. *N Engl J Med*. 3 févr 2000;342(5):DOI: [10.1056/NEJM200002033420501](https://doi.org/10.1056/NEJM200002033420501)
207. ImagawaAkihisa, DmrHanafusaToshiaki.J, (2006); Fulminant type 1 diabetes mellitus 53 (5) ,pp. 577-584, 10.1507/endocrj.KR-720. DOI: [10.1507/endocrj.kr-72](https://doi.org/10.1507/endocrj.kr-72)
208. ImagawaAkihisa, DmrHanafusaToshiaki.J, (2011); Fulminant type 1 diabetes—an important subtype in East Asia reviews, 27 (8) pp. 959-964. DOI: [10.1002/dmrr.1236](https://doi.org/10.1002/dmrr.1236)
209. Imagawa, A., Hanafusa, T., Miyagawa, J., & others. (2000). A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. *The New England Journal of Medicine*, 342(5), 301–307. <https://doi.org/10.1056/NEJM200002033420503>
210. International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas*, 10th edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation.
211. Iqbal Y, Malik A R, Iqbal T, Aziz M H, Ahmed F, Abolaban F A, Ali S M and Ullah H (2021) Green synthesis of ZnO and Ag-doped ZnO nanoparticles using *Azadirachta indica* leaves: Characterization and their potential antibacterial, antidiabetic, and wound-healing activities. *Materials Letters* 130671.

212. Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638–2650.
213. Irshad, M. A., Sattar, S., Al-Huqail, A. A., Alghanem, S. M., Nawaz, R., Ain, N. u., Hussaini, K. M., et Abeer, A. H. (2023). Green synthesis et characterization of silver et copper nanoparticles et their use as an effective adsorbent for chromium removal et recovery from wastewater. *Environmental Science et Pollution Research*, 1-16.
214. Ishak, N. M., Kamarudin, S., et Timmiati, S. (2019). Green synthesis of metal et metal oxide nanoparticles via plant extracts: an overview. *Materials Research Express*, 6(11), 112004.
215. Islam M B, Haque M J, Shehab N and Rahman M S (2023) Synthesis and characterization (optical and antibacterial) of silver doped zinc oxide nanoparticles. *Open Ceramics* 100370.
216. Ismail, H. B., et Hassine, D. B. (2021). Tunisian date cultivars: Economical aspect, physicochemical properties, sensory characterization et potential valorization. In *Agriculture Productivity in Tunisia Under Stressed Environment* (pp. 57-71). Springer.
217. Jaafar N, Najman A, Marfur A and Jusoh N (2020) Strategies for the formation of oxygen vacancies in zinc oxide nanoparticles used for photocatalytic degradation of phenol under visible light irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 112202. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.112202>
218. Jagodzinski, H. (1965). Theorie et technique de la radiocristallographie by A. Guinier. *Acta Crystallographica*, 18(2), 300. <https://doi.org/doi:10.1107/S0365110X65000713>
219. Jain, K. K. (2008). Nanotechnology in clinical laboratory diagnostics. *Clinica Chimica Acta*, 395(1-2), 22–28.
220. Jamwal, A. N. U. P. A. M. (2020). Systematic Review on Medicaments Used in Management of Diabetes Mellitus. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 12(8), 21-29.
221. Jeon, J. H., & Oh, T. K. (2011). Comparison of vildagliptin-metformin and glimepiride-metformin treatments in type 2 diabetic patients. *Diabetes & Metabolism Journal*, 35(5), 529–535. <https://doi.org/10.4093/dmj.2011.35.5.529>
222. Jini D., S. Sharmila, Green synthesis of silver nanoparticles from *Allium cepa* and its in vitro antidiabetic activity, *Materials Today: Proceedings*, 22, 3, 2020, 432-438, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.07.672>.

223. Jobe M C, Mthiyane D M, Mwanza M and Onwudiwe D C (2022) Biosynthesis of zinc oxide and silver/zinc oxide nanoparticles from *Urginea epigea* for antibacterial and antioxidant applications. *Heliyon* 12:<https://10.1016/j.heliyon.2022.e12243>
224. Johnson, A. P., Sabu, C., Nivitha, K., Sankar, R., Shirin, V. A., Henna, T., Raphey, V., Gangadharappa, H., Kotta, S., et Pramod, K. (2022). Bioinspired et biomimetic micro-et nanostructures in biomedicine. *Journal of Controlled Release*, 343, 724-754.
225. Jozanov-Stankov, O., Demajo, M., Djujić, I., & Mandić, M. (1998). Selenium intake as a modulator of responsiveness to oxidative stress. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 17(34), 251–257.
226. Kahanovitz Lindy, M Sluss Patrick, J Russell Steven, (2017), Type 1 diabetes—a clinical perspective 16 (1) , p. 37 □ DOI: [10.1097/POC.000000000000125](https://doi.org/10.1097/POC.000000000000125)
227. Kajbaf, F., Mojtahedzadeh, M., & Abdollahi, M. (2007). Mechanisms underlying stress-induced hyperglycemia in critically ill patients. *Clinical Practice*, 4(1), 97-106.
228. Kammari, R., Das, N. G., & Das, S. K. (2017). Nanoparticulate systems for therapeutic and diagnostic applications. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 148, 1-34. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.001>
229. Kammari, R., Das, N. G., et Das, S. K. (2017). Nanoparticulate systems for therapeutic et diagnostic applications. *Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery et Medical Devices*, 105-144.
230. Kar, T., & Misra, A. K. (1999). Therapeutic properties of whey used as fermented drink. *Revista de Microbiologia*, 30(2), 163-169.
231. Karam, J. H., Matin, S. B., & Paul, H. (1975). Annual review of pharmacology, 15, 351.
232. Karami, M., Hasaninejad, A., Mahdavi, H., Iraj, A., Mojtavavi, S., Faramarzi, M. A., Mahdavi, M. One-pot multi-component synthesis of novel chromeno[4,3-b]pyrrol-3-yl derivatives as alpha-glucosidase inhibitors. *Mol. Divers.* (2021).
233. Karthick, V., Kumar, V. G., Dhas, T. S., Singaravelu, G., Sadiq, A. M., & Govindaraju, K. (2014). Effect of biologically synthesized gold nanoparticles on alloxan-induced diabetic rats—An *in vivo* approach. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 505–511.
234. Kashyap Sangeeta, Belfort Renata, Gastaldelli Amalia, Pratipanawat Thongchai, Rachele Berria, Wilailak Pratipanawat, Mandeep Bajaj, Lawrence Mandarino, Ralph DeFronzo, Kenneth Cusi,

- (2003), A Sustained Increase in Plasma Free Fatty Acids Impairs Insulin Secretion in Nondiabetic Subjects Genetically Predisposed to Develop Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 1 oct 2003;52(10):2461-74. DOI: [10.2337/diabetes.52.10.2461](https://doi.org/10.2337/diabetes.52.10.2461)
235. Kavitha, A., Doss, A., Pole, R. P., Rani, T. K. P., Prasad, R., et Satheesh, S. (2023). A mini review on plant-mediated zinc oxide nanoparticles et their antibacterial potency. *Biocatalysis et Agricultural Biotechnology*, 102654.
236. Kazemi, M., Akbari, A., Zarrinfar, H., Soleimanpour, S., Sabouri, Z., Khatami, M., & Darroudi, M. (2020). Evaluation of antifungal and photocatalytic activities of gelatin-stabilized selenium oxide nanoparticles. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30, 3036-3044.
237. Kazempour-Dizaji, M., Mojtabavi, S., Sadri, A., Ghanbarpour, A., Faramarzi, M. A., et Navidpour, L. (2023). Arylureidoaurones: Synthesis, *in vitro* α -glucosidase, et α -amylase inhibition activity. *Bioorganic Chemistry*, 139, 106709.
238. Kelen, M., et Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxidant et antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource technology*, 99(10), 4096-4104.
239. Kelly, D. E. (1995). *Diabetes Review*, 3, 366.
240. Kenza. Kadi, R. Mrah, S. Hamli, S. Lekmine, D. Dib, D. Addad, S Boukeria, Z. Gueboudji, I. Hafsaoui. (2020). EVALUATION OF THE ANTICOAGULANT ACTIVITY OF MARGINS FROM OLIVES EXTRACTION IN THE KHENCHELA REGION. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 12(2), 634-649.
241. Kern, M., Kloting, N., Heiko, G., Niessen, H. G., Thomas, L., Stiller, D., et al. (2012). Linagliptin improves insulin sensitivity and hepatic steatosis in diet-induced obesity. *PLoS ONE*, 7(7), e38435. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038435>
242. Khan H A, Ghufraan M, Shams S, Jamal A, Khan A, Abdullah, Awan Z A, & Khan M I (2023). Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Plant *Fagonia Cretica* and Evaluating Its Anti-Diabetic Activity through Indepth in-Vitro and in-Vivo Analysis. *Front Pharmacol*, 14, 1194809. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1194809>
243. Khan M S, Dhavan P P, Ratna D and Shimpi N G (2022) Ultrasonic-assisted biosynthesis of ZnO nanoparticles using *Sonneratia alba* leaf extract and investigation of its photocatalytic and biological activities. *Journal of Cluster Science* 1-17. <https://10.1007/s10876-021-02036-1>

244. Khan S A, Khan S B, Khan L U, Farooq A, Akhtar K and Asiri A M (2018) Fourier transform infrared spectroscopy: fundamentals and application in functional groups and nanomaterials characterization. *Handbook of materials characterization* 317-344.
245. Khan, A. U., Yuan, Q., Wei, Y., Tahir, K., Khan, S. U., Ahmad, A., Khan, S., Nazir, S., et Khan, F. U. (2016). Ultra-efficient photocatalytic deprivation of methylene blue et biological activities of biogenic silver nanoparticles. *Journal of Photochemistry et Photobiology B: Biology*, 159, 49-58.
246. Khan, H. A., Abdelhalim, M. A. K., Al-Ayed, M. S., & Alhomida, A. S. (2012). Effect of gold nanoparticles on glutathione and malondialdehyde levels in liver, lung, and heart of rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(4), 461–464.
247. Khan, I., Saeed, K., et Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications et toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
248. Khandel, P., Yadaw, R. K., Soni, D. K., Kanwar, L., & Shahi, S. K. (2018). Biogenesis of metal nanoparticles and their pharmacological applications: present status and application prospects. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(3), 217-254. <https://doi.org/10.1007/s40097-018-0267-4>
249. Khanizadeh, B., Khosravi, M., Behnajady, M. A., Shamel, A., et Vahid, B. (2020). Mg et La Co-doped ZnO nanoparticles prepared by sol–gel method: synthesis, characterization et photocatalytic activity. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 64(1), 61-74.
250. Khouane, A. C., Akkak, A., et Benbouza, H. (2020). Molecular identification of Date palm (*Phoenix dactylifera L.*) " Deglet noor" pollinator through analysis of genetic diversity of Algerian male et female ecotypes using SSRs markers. *Scientia Horticulturae*, 274, 109668.
251. Khursheed, R., Singh, S. K., Wadhwa, S., Kapoor, B., Gulati, M., Kumar, R., Ramanunny, A. K., Awasthi, A., et Dua, K. (2019). Treatment strategies against diabetes: Success so far et challenges ahead. *European journal of pharmacology*, 862, 172625.
252. Khyrun S.F., Z.M. Riyas, V. Raja, S.S. Sarbudeen, V. Natesan, K. Velsankar, S. Sudhahar, M.R. Prabhu, M. Govindarasu, M. Thiruvengadam, Environmental and biomedical applications in the synthesis and structural, optical, elemental characterizations of Mg doped ZnO nanoparticles using *Coleus aromaticus* leaf extract, *South African Journal of Botany*, 151 (2022) 290-300.
253. Kim H K, Choi M-J, Cha S-H, Koo Y K, Jun S H, Cho S and Park Y (2013) Earthworm extracts utilized in the green synthesis of gold nanoparticles capable of reinforcing the anticoagulant activities of heparin. *Nanoscale research letters* 1-7. <https://10.1186/1556-276X-8-542>

254. Kim H-S, Jun S H, Koo Y K, Cho S and Park Y (2013) Green synthesis and nanotopography of heparin-reduced gold nanoparticles with enhanced anticoagulant activity. *Journal of nanoscience and nanotechnology* 3:2068-2076.
255. Klein, J. (2007). Probing the interactions of proteins and nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(7), 2029-2030.
256. Koduru, J. R., Kailasa, S. K., Bhamore, J. R., Kim, K.-H., Dutta, T., et Vellingiri, K. (2018). Phytochemical-assisted synthetic approaches for silver nanoparticles antimicrobial applications: A review. *Advances in Colloid et Interface Science*, 256, 326-339.
257. Köhrle, J., & Gärtner, R. (2009). Selenium and thyroid. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 23(6), 815–827.
258. Kolan, S. R., Wang, R., Hoffmann, T., et Tsotsas, E. (2024). Mixing nanoparticles in a ProCell type spouted bed. *Powder Technology*, 431, 119129. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.powtec.2023.119129>
259. Korakaki E, Simos Y V, Karouta N, Spyrou K, Zygouri P, Gournis D P, Tsamis K I, Stamatis H, Dounousi E and Vezyraki P (2023) Effect of Highly Hydrophilic Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles on Macrophage Function and Survival. *Journal of Functional Biomaterials* 10:514.
260. Korsvik, C., Patil, S., Seal, S., & Self, W. T. (2007). Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles. *Chemical Communications*, (10), 1056-1058.
261. Kowalczyk, B., Lagzi, I., et Grzybowski, B. A. (2011). Nanoseparations: Strategies for size et/or shape-selective purification of nanoparticles. *Current Opinion in Colloid et Interface Science*, 16, 135-148.
262. Krahne, R., Morello, G., Figuerola, A., George, C., Deka, S., et Manna, L. (2011). Physical properties of elongated inorganic nanoparticles. *Physics Reports*, 501(3-5), 75-221.
263. Krueger, R. R. (2021). Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) biology et utilization. In *The Date Palm Genome, Vol. 1: Phylogeny, Biodiversity et Mapping* (pp. 3-28). Springer.
264. Kučuk, N., Primožič, M., Knez, Ž., et Leitgeb, M. (2023). Sustainable Biodegradable Biopolymer-Based Nanoparticles for Healthcare Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3188.
265. Kulkarni, N., et Muddapur, U. (2014). Biosynthesis of metal nanoparticles: a review. *Journal of Nanotechnology*, 2014.

266. Kumar, P., Sarkar, N., Singh, A., et Kaushik, M. (2023). Role reversal of silica nanoparticles with bovine trypsin from enzyme inhibitor to enzyme activator on surface modification. *Process Biochemistry*, 130, 614-624.
267. Kumar, R., Saha, P., Kumar, Y., Sahana, S., Dubey, A., et Prakash, O. (2020). A review on diabetes mellitus: type1 et Type2. *World Journal of Pharmacy et Pharmaceutical Sciences*, 9(10), 838-850.
268. Laakso, M. (2010). Cardiovascular disease in type 2 diabetes from population to man to mechanisms. *Diabetes Care*, 33(2), 442-449.
269. Lade, B. D., et Shanware, A. S. (2020). Phytonanofabrication: methodology et factors affecting biosynthesis of nanoparticles. In *Smart nanosystems for biomedicine, optoelectronics et catalysis*. IntechOpen.
270. Lahitte, J.-F. (2017). Nanomatériaux et modification de surface: de la recherche fondamentale à la mise en place d'un procédé.
271. Lam S-M, Quek J-A and Sin J-C (2018) Mechanistic investigation of visible light responsive Ag/ZnO micro/nanoflowers for enhanced photocatalytic performance and antibacterial activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 171-184. <https://10.1016/j.jphotochem.2017.11.021>
272. Latra Benkhira, Mohammed Fouad Ferhat, Mohammed Tayeb Oucif Khaled, Ridha Messai, Nourelhouda Bounedjar, Mohammed Laid Tedjani, Abdelhalim Zoukel, Muhammad Humayun, Mohamed Bououdina. "Multifunctional assessment of copper-doped ZnO nanoparticles synthesized via gliding arc discharge plasma technique: antioxidant, antibacterial, and photocatalytic performance."
273. Lee, J., Kim, H. Y., Zhou, H., Hwang, S., Koh, K., Han, D., et Lee, J. (2011). Green synthesis of phytochemical-stabilized Au nanoparticles under ambient conditions et their biocompatibility et antioxidative activity. *Journal of Materials Chemistry*, 21, 13316-13326.
274. Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216-226.
275. Li Shaoxiu, Chan Lai, Changhui Li, Jintang Zhong, Zhifeng He, Qiuyi Peng, Xi Liu, and Bohan Ke. (2021). 'Enhanced photocatalytic degradation of dimethyl phthalate by magnetic dual Z-scheme iron oxide/mpg-C3N4/BiOBr/polythiophene heterostructure photocatalyst under visible light', *Journal of Molecular Liquids*, 342: 116947. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116947>

276. Li, C. x., Li, J. c., Lai, J., & Liu, Y. (2022). The pharmacological and pharmacokinetic properties of esculin: A comprehensive review. *Phytotherapy research*, 36(6), 2434-2448.
277. Li, Q. et al. (2010). "Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications." *Water Research*, 44(15), 4690-4707.
278. Liu Lichen, and Avelino Corma. (2020). 'Evolution of isolated atoms and clusters in catalysis', *Trends in Chemistry*, 2: 383-400. <https://doi.org/10.1016/j.trechm.2020.02.003>
279. Lodovici, M., Giovannelli, L., Pitozzi, V., Bigagli, E., Bardini, G., & Rotella, C. M. (2008). Oxidative DNA damage and plasma antioxidant capacity in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 638(1-2), 98-102.
280. Lomonosov, V., Wayman, T. M., Hopper, E. R., Ivanov, Y. P., Divitini, G., et Ringe, E. (2023). Plasmonic magnesium nanoparticles decorated with palladium catalyze thermal et light-driven hydrogenation of acetylene. *Nanoscale*, 15(16), 7420-7429.
281. Loo, Y. Y., Chieng, B. W., Nishibuchi, M., et Radu, S. (2012). Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*. *International journal of nanomedicine*, 4263-4267.
282. López-Mireta, J. L., Cervantes-Chávez, J., Hernández-Martínez, A., Pérez, R., Esparza, R., et Estévez-González, M. (2019). Study on the photocatalytic et antibacterial properties of silver nanoparticles synthesized by a green approach. *Materials Research Express*, 6(6), 065066.
283. Loy, A. C. M., Ng, W. L., et Bhattacharya, S. (2023). Advanced characterization techniques for the development of Subatomic scale catalysts: One step closer to industrial scale fabrication. *Materials Today Catalysis*, 100033.
284. M Kazemi, A Akbari, H Zarrinfar, S Soleimanpour, Z Sabouri, M Khatami, M Darroudi. "Evaluation of antifungal and photocatalytic activities of gelatin-stabilized selenium oxide nanoparticles." *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* 30 (2020): 3036-3044.
285. Madi K, Chebli D, Ait Youcef H, Tahraoui H, Bouguettoucha A, Kebir M, Zhang J and Amrane A (2024) Green Fabrication of ZnO Nanoparticles and ZnO/rGO Nanocomposites from Algerian Date Syrup Extract: Synthesis, Characterization, and Augmented Photocatalytic Efficiency in Methylene Blue Degradation. *Catalysts* 1:62. <https://10.3390/catal14010062>
286. Magliano, D. J., et Boyko, E. J. (2022). IDF diabetes atlas.

287. Mahomoodally, M. F., Khadaroo, S. K., Hosenally, M., Zengin, G., Rebezov, M., Ali Shariati, M., Khalid, A., Abdalla, A. N., Algarni, A. S., et Simal-Getara, J. (2024). Nutritional, medicinal et functional properties of different parts of the date palm et its fruit (*Phoenix dactylifera* L.)–A systematic review. *Critical reviews in food science et nutrition*, 64(22), 7748-7803.
288. Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). “Green” nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae*, 6(1), 35-44. <https://doi.org/10.32607/20758251-2014-6-1-35-44>
289. Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). “Green” nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae*, 6(1), 35-44. <https://doi.org/10.32607/20758251-2014-6-1-35-44>
290. Makkar, H. P. S., Blümmel, M., Borowy, N. K., et Becker, K. (1993). Gravimetric determination of tannins et their correlations with chemical et protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food et Agriculture*, 61(2), 161-165. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610205>
291. Malukani, K. K., Gaur, N., et Patel, H. K. (2021). Application of Nanobiotechnology in Agriculture: Novel Strategy for Food Security. *Omics Technologies for Sustainable Agriculture et Global Food Security (Vol II)*, 247-265.
292. Mariko Souleymane,(2012), Pancréatopathies chez les diabétiques dans le service de médecine du CHU Gabriel Touré et centre national de lutte contre le diabète. Université de Bamako, Mali. <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/1533>
293. Mark Davies, Sinead Brophy, Rhys Williams, Ann Taylor, (2006) The prevalence, severity, and impact of painful diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006 Jul ;29 (7) :1518–22 ; DOI: [10.2337/dc05-2228](https://doi.org/10.2337/dc05-2228)
294. Martínez, J., Chequer, N., González, J., et Cordova, T. (2012). Alternative methodology for gold nanoparticles diameter characterization using PCA technique et UV-VIS spectrophotometry. *Nanosci. Nanotechnol*, 2(6), 184-189.
295. Matai, I., Sachdev, A., Dubey, P., Kumar, S. U., Bhushan, B., et Gopinath, P. (2014). Antibacterial activity et mechanism of Ag-ZnO nanocomposite on *S. aureus* et GFP-expressing antibiotic resistant *E. coli*. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 115, 359-367. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.12.005>
296. Matsui, I. (2005). Nanoparticles for electronic device applications: a brief review. *Journal of chemical engineering of Japan*, 38(8), 535-546.

297. McNamara, K., et Tofail, S. A. (2017). Nanoparticles in biomedical applications. *Advances in Physics: X*, 2(1), 54-88.
298. Md Ishak, N. A. I., Kamarudin, S., et Timmiati, S. N. (2019). Green synthesis of metal et metal oxide nanoparticles via plant extracts: an overview. *Materials Research Express*, 6.
299. Meenakshi, S., et Misra, A. (2023). Effect of dates on blood glucose et other metabolic variables: A narrative review. *Diabetes et Metabolic Syndrome: Clinical Research et Reviews*, 17(2), 102705.
300. Meftah, N., Hani, A., et Merdas, A. (2023). Extraction et Physicochemical Characterization of Highly-pure Amorphous Silica Nanoparticles from Locally Available Dunes Set. *Chemistry Africa*, 1-10.
301. Melakhessou, M. A., Benkiki, N., et Marref, S. E. (2018). Determination of antioxidant capacity, flavonoids et total phenolic content of extracts from *Atractylis flava* Desf. *Research Journal of Pharmacy et Technology*, 11(12), 5221-5226.
302. Melchior, W. R., & Jaber, L. A. (1996). Metformin: An antihyperglycemic agent for treatment of type II diabetes. *Annals of Pharmacotherapy*, 30(2), 158–164.
303. Merger S, Leslie R.D, Boehm B.O. (2013), The broad clinical phenotype of Type 1 diabetes at presentation *Diabetic Medicine*, pp. 170-178. DOI: [10.1111/dme.12048](https://doi.org/10.1111/dme.12048)
304. Merghem, M., Nouioua, W., et Merouani, N. (2022). DPPH RADICAL SCAVENGING ET β -CAROTENE BLEACHING ACTIVITIES OF MENTHA ROTUNDIFOLIA EXTRACTS.
305. Messai, Ridha, et al. "GAD plasma-assisted synthesis of ZnO nanoparticles and their photocatalytic activity." *Materials Research Express* 11.1 (2024): 015006.
306. Mills GW, Levy JC, Sampson M, Walker M, Avery PJ, Hitman GA, M I McCarthy, A T Hattersley, (2004), Heritability estimates for beta cell function and features of the insulin resistance syndrome in UK families with an increased susceptibility to Type 2 diabetes. *Diabetologia*. 1 avr 2004. DOI: [10.1007/s00125-004-1338-2](https://doi.org/10.1007/s00125-004-1338-2)
307. Ministère de l'Agriculture Algérien* : Statistiques sur les surfaces cultivées et les rendements des palmeraies.
308. Miseljic, M., et Olsen, S. I. (2014). Life-cycle assessment of engineered nanomaterials: a literature review of assessment status. *Journal of nanoparticle research*, 16, 1-33.

309. Mishra, S., & Singh, H. B. (2015). Biosynthesized silver nanoparticles as a nanoweapon against phytopathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(3), 1097–1107.
310. Mishra, S., & Singh, H. B. (2015). Biosynthesized silver nanoparticles as a nanoweapon against phytopathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(3), 1097–1107.
311. Mittal, A. K., Chisti, Y., et Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.
312. Mobarak, M. B., Hossain, M. S., Chowdhury, F., et Ahmed, S. (2022). Synthesis et characterization of CuO nanoparticles utilizing waste fish scale et exploitation of XRD peak profile analysis for approximating the structural parameters. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(10), 104117.
313. Mogana, R., Adhikari, A., Tzar, M., Ramliza, R., & Wiart, C. (2020). Antibacterial activities of the extracts, fractions and isolated compounds from *Canarium patentinervium* Miq. against bacterial clinical isolates. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 1-11.
314. Mohamed Hassan Osman Ebar, Alia bushraosman Mohamed, Remaz Ahmed Alamen Mohamed Abdalla, Maye M. Merghani, NihadElsadigBabiker.(2022). Measurement of Prothrombin Time (PT) and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT), Fibrinogen Level, D-Dimer in Sudanese Infants and Children with Sepsis Khartoum State. *International Journal of Medical Science and Clinical Invention* 9(8): 6217-6222.
315. Mohammed, A., et Abdullah, A. (2018). Scanning electron microscopy (SEM): A review. *Proceedings of the 2018 International Conference on Hydraulics et Pneumatics—HERVEX, Băile Govora, Romania*.
316. Mohammed, M., Alqahtani, N. K., et Munir, M. (2023). Artificial Ripening Technologies for Dates.
317. Mohamoud, Y. A., Mathew, L. S., Torres, M. F., Younuskunju, S., Krueger, R., Suhre, K., et Malek, J. A. (2019). Novel subpopulations in date palm (*Phoenix dactylifera*) identified by population-wide organellar genome sequencing. *BMC genomics*, 20(1), 1-7.
318. Mohanasundaram, S., Bhong, M., Vatsa, G., Verma, R. P., Srivastava, M., Kumar, G., Mohammed, K. A., Singh, D., et Gupta, L. R. (2023). Mg-based metal matrix composite in biomedical applications: A review. *Materials Today: Proceedings*.
319. Mohd Yusof H, Mohamad R, Zaidan U H and Abdul Rahman N A (2019) Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in

- animal industry: a review. *Journal of animal science and biotechnology* 1-22. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0368-z>
320. Mooradian A. D. (1996). Drug therapy of non-insulin-dependent diabetes mellitus in the elderly. *Drugs*, 51(6), 931–941. <https://doi.org/10.2165/00003495-199651060-00002>
321. Mubaiwa, J., Linnemann, A. R., et Maqsood, S. (2024). New Insights into the Influence of the Characteristic “Stone” Feature of the Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Seeds on Its Sustainable Processing Approaches—A Review. *Food et Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03474-1>
322. Mukhtar A., Aruge S., A. Tariq, L. Tabassam, S. Arif, S. Haq, M. Waseem, Enhanced Role of Flower Shaped Curcumin Loaded ZnO/Ag₂O Nanocomposites for Biological Applications, *BioNanoScience*, 15 (2025) 11.
323. Mukhtar A., et al. (2025). Enhanced Role of Flower Shaped Curcumin Loaded ZnO/Ag₂O Nanocomposites for Biological Applications. *BioNanoScience*, 15, 11.
324. Munier P, (1973), Le palmier dattier. Paris, Maisonneuve et Larose, 221 p
325. Munteanu, I. G., et Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.
326. Murugan, K., Senthilkumar, B., Senbagam, D., et Al-Sohaibani, S. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Acacia leucophloea* extract et their antibacterial activity. *International Journal of Nanomedicine*, 2431-2438.
327. Nabavi, F.S., Nabavi, M.S., Hellio, C., Alinezh, H., Zare, M., Azimi, R., Baharfar, R. (2012). Antioxidant and antihemolytic activities of methanol extract of *Hyssopus angustifolius*. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 85: 198-201.
328. Nabhan, F. F. M. (2021). *Nip/Zno-Doped C3n4 Nanocapsules: A New Highly Corrosion-Resistant Electroless-Plated Coating with Superior Mechanical et Antibacterial Properties*
329. Nagal, A., et Singlab, R. K. (2013). Nanoparticles in different delivery systems: a brief review. *organ*, 1, 4.
330. Naikoo, G. A., Mustaqeem, M., Hassan, I. U., Awan, T., Arshad, F., Salim, H., et Qurashi, A. (2021). Bioinspired et green synthesis of nanoparticles from plant extracts with antiviral et antimicrobial properties: A critical review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 25(9), 101304.

331. Nakagami, T., Tominaga, M., Nishimura, R., Yoshiike, N., Daimon, M., Oizumi, T., & Tajima, N. (2007). Is glycated hemoglobin A1c alone an efficient screening test for undiagnosed diabetes? *Diabetes Research and Clinical Practice*, 76(2), 251–256. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2006.09.015>
332. Nasab, N. K., Sabouri, Z., Ghazal, S., et Darroudi, M. (2020). Green-based synthesis of mixed-phase silver nanoparticles as an effective photocatalyst et investigation of their antibacterial properties. *Journal of Molecular Structure*, 1203, 127411.
333. Naseer H, Al-Zaqri N, Iqbal T, Yousaf M, Afsheen S, Sultan M S, Warad I, Farooq M and Masood A (2023) Investigation of Mg doped ZnO nanoparticles decorated with Ag for efficient photocatalytic degradation. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* 9:2790-2802.
334. Nasrollahzadeh, M., Sajjadi, M., Dadashi, J., et Ghafuri, H. (2020). Pd-based nanoparticles: Plant-assisted biosynthesis, characterization, mechanism, stability, catalytic et antimicrobial activities. *Advances in Colloid et Interface Science*, 276, 102103.
335. Ndefo, U. A., Okoli, O., & Erowele, G. (2014). Alogliptin: A new dipeptidyl peptidase-4 inhibitor for the management of type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 71(1), 103–109. <https://doi.org/10.2146/ajhp130609>
336. Negro, C., Aprile, A., Luvisi, A., Nicolì, F., Nutricati, E., Vergine, M., Miceli, A., Blando, F., Sabella, E., & De Bellis, L. (2019). Phenolic profile and antioxidant activity of Italian monovarietal extra virgin olive oils. *Antioxidants*, 8(6), 161.
337. Nejmeddine K., Bensouda M., Salhi H., El Ouahabi H. (2020). Neuropathie diabétique Douloureuse : fréquence et facteurs de risque, *Annales d'Endocrinologie*, Elsevier Masson, Volume 81, Issue 4, 2020, Page 436. DOI:[10.1016/j.ando.2020.07.840](https://doi.org/10.1016/j.ando.2020.07.840)
338. Nete, A., Raut, S., Michalska-Domańska, M., et Dhoble, S. J. (2020). Green Synthesis of Nanomaterials Using Plant Extract: A Review. *Current pharmaceutical biotechnology*.
339. Neumiller, J. J., & Campbell, R. K. (2010). Saxagliptin: A dipeptidyl peptidase-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67(18), 1515–1525. <https://doi.org/10.2146/ajhp100047>
340. Ng, C. T., Ong, C. N., Liya, E. Y., Bay, B. H., & Baeg, G. H. (2019). Toxicity study of zinc oxide nanoparticles in cell culture and in *Drosophila melanogaster*. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (151), e59510.

341. Nguyen, N. T. T., Nguyen, T. T. T., Nguyen, D. T. C., et Van Tran, T. (2023). Green synthesis of ZnFe₂O₄ nanoparticles using plant extracts et their applications: A review. *Science of The Total Environment*, 872, 162212.
342. Noohpisheh Z, Amiri H, Farhadi S and Mohammadi-Gholami A (2020) Green synthesis of Ag-ZnO nanocomposites using *Trigonella foenum-graecum* leaf extract and their antibacterial, antifungal, antioxidant and photocatalytic properties. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 118595. <https://10.1016/j.saa.2020.118595>
343. Nouairia, G., Larbi, M., Yahyaoui, M., Naceur, M., et Hadded, B. (2013). *Comparaison de methodes d'extraction de l'ADN de lapin à partir du sang: Fiabilité et coût*.
344. Nuha A ElSayed, Grazia Aleppo, Vanita R Aroda, Raveendhara R Bannuru, Florence M Brown, Dennis Bruemmer, Billy S Collins, Marisa E Hilliard, Diana Isaacs, Eric L Johnson, Scott Kahan, KamleshKhunti, Jose Leon, Sarah K Lyons, Mary Lou Perry, PriyaPrahallad, Richard E Pratley, Jane JeffrieSeley, Robert C Stanton, Robert A Gabbay, on behalf of the American Diabetes Association (2023), Johnson2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of care in diabetes—2023 *Diabetes care*, 46 (Supplement_1), pp. S19-S40. DOI: [10.2337/dc23-S002](https://doi.org/10.2337/dc23-S002).
345. Odeyemi, S., et Dewar, J. (2019). *In vitro* antidiabetic activity affecting glucose uptake in hepg2 cells following their exposure to extracts of *Lauridia tetragona* (Lf) RH Archer. *Processes*, 8(1), 33.
346. Okoko, T., Ere, D. (2012). Reduction of hydrogen peroxide–induced erythrocyte damage by *Carica papaya* leaf extract. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(6): 449-453.
347. ONAGRI (2023) (Office National de l'Agriculture de la Tunisie) :* Analyse sur la production agricole tunisienne.
348. Opris, R., Tatomir, C., Olteanu, D., Moldovan, R., Moldovan, B., & David, L., et al. (2017). The effect of *Sambucusnigra* L. extract and phytosynthesized gold nanoparticles on diabetic rats. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 150, 192–200.
349. Otto, T., Zones, S. I., Hong, Y., et Iglesia, E. (2017). Synthesis of highly dispersed cobalt oxide clusters encapsulated within LTA zeolites. *Journal of Catalysis*, 356, 173-185.
350. Ovais, M., Khalil, A. T., Islam, N. U., Ahmad, I., Ayaz, M., Saravanan, M., Shinwari, Z. K., et Mukherjee, S. (2018). Role of plant phytochemicals et microbial enzymes in biosynthesis of metallic nanoparticles. *Applied Microbiology et Biotechnology*, 102, 6799 - 6814.

351. Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reactionAntioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44, 307–315.
352. Paliwal, R., Babu, R. J., et Palakurthi, S. (2014). Nanomedicine scale-up technologies: feasibilities et challenges. *Aaps Pharmscitech*, 15(6), 1527-1534.
353. Panchal P, Sharma R, Reddy A S, Nehra K, Sharma A and Nehra S (2023) Eco-friendly synthesis of Ag-doped ZnO/MgO as a potential photocatalyst for antimicrobial and dye degradation applications. *Coordination Chemistry Reviews* 215283.
354. Parveen, K., Banse, V., et Ledwani, L. (2016). Green synthesis of nanoparticles: Their advantages et disadvantages. *AIP conference proceedings*,
355. Passos, M. L., et Saraiva, M. L. M. (2019). Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, et detection strategies. *Measurement*, 135, 896-904.
356. Patil, S. S., Shedbalkar, U. U., Truskewycz, A., Chopade, B. A., et Ball, A. S. (2016). Nanoparticles for environmental clean-up: a review of potential risks et emerging solutions. *Environmental Technology et Innovation*, 5, 10-21.
357. Pearson, T., Wattis, J. A., King, J. R., MacDonald, I. A., & Mazzatti, D. J. (2016). The effects of insulin resistance on individual tissues: an application of a mathematical model of metabolism in humans. *Bulletin of mathematical biology*, 78, 1189-1217.
358. Pecharsky, V., et Zavalij, P. (2003). In *Fundamentals of Powder Diffraction et Structural Characterization of Materials*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-09579-0>
359. Penfornis A, Baleyrier A, Clavel T, (2012); LDL-cholestérol chez des patients diabétiques de type 2: perception du taux cible par médecins généralistes et diabétologues et adéquation du taux réel avec la cible selon les recommandations de la HAS, *Diabetes&Metabolism*, Elsevier Masson, Volume 38, Supplément 2, Pages A73-A74. Doi : [10.1016/S1262-3636\(12\)71282-X](https://doi.org/10.1016/S1262-3636(12)71282-X)
360. Peters, J. U. (2007). 11 years of cyanopyrrolidines as DPP-IV inhibitors. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7(6), 579–595. <https://doi.org/10.2174/156802607780599850>
361. Pitchaipillai, R., et Ponniah, T. (2016). *In vitro* antidiabetic activity of ethanolic leaf extract of bruguiera Cylindrica L.–glucose uptake by yeast cells method. *International Biological et Biomedical Journal*, 2(4), 171-175.

362. Plows, J. F., Stanley, J. L., Baker, P. N., Reynolds, C. M., & Vickers, M. H. (2018). The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3342. <https://doi.org/10.3390/ijms19113342>
363. Poitout V, Robertson RP, (2002), Minireview: Secondary β -Cell Failure in Type 2 Diabetes-A Convergence of Glucotoxicity and Lipotoxicity. *Endocrinology*. févr;DOI: [10.1210/endo.143.2.8623](https://doi.org/10.1210/endo.143.2.8623)
364. Pokorný J. (2007). Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(6), 629-642.
365. Pradeev Raj K, Sadaiyandi K, Kennedy A, Sagadevan S, Chowdhury Z Z, Johan M R B, Aziz F A, Rafique R F, Thamiz Selvi R and Rathina Bala R (2018) Influence of Mg doping on ZnO nanoparticles for enhanced photocatalytic evaluation and antibacterial analysis. *Nanoscale research letters* 1-13. [https://10.1186/s11671-018-2643-x](https://doi.org/10.1186/s11671-018-2643-x)
366. Prasad, A. R., Basheer, S. M., Williams, L., & Joseph, A. (2019). Highly selective inhibition of α -glucosidase by green synthesised ZnO nanoparticles-In-vitro screening and in-silico docking studies. *International journal of biological macromolecules*, 139, 712-718.
367. Prathipkumar S, Vijayakumar S, Alsalhi M S, Devanesan S, Nilavukkarasi M, Sangeetha R and Kim W (2023) Biogenic-mediated silver nanoparticles using heneicosane and their enhanced antimicrobial, antiproliferative, sensing capability and photocatalytic potential. *Applied Nanoscience* 9:5839-5849.
368. Price, M. L., Van Scoyoc, S., et Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural et Food Chemistry*, 26(5), 1214-1218. <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>
369. Primo JDO, Bittencourt C. Acosta S. Sierra-Castillo A, Colomer J-F, Jaerger S, Teixeira VC, Anaissi FJ (2020) Synthesis of zinc oxide nanoparticles by ecofriendly routes: adsorbent for copper removal from wastewater. *Front Chem* 8:571790
370. Published in *Environmental Science and Pollution Research* (2024). DOI: 10.1007/s11356-024-34054-7
371. Punthakee Zubin, Ronald Goldenberg, Pamela Katz, (2018), Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome , *Can J Diabetes*. 2018 Apr;42 Suppl 1:S10-S15. DOI:[10.1016/j.jcjd.2017.10.003](https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.10.003)

372. Qaiyumi, S., Macro-and microdilution methods of antimicrobial susceptibility testing, in Antimicrobial susceptibility testing protocols. 2007, Taylor & Francis Boca Raton. p. 75-79.
373. Raghupathi, K., Koodali, R. T., & Manna, A. C. (2011). "Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles." *Langmuir*, **27**(7), 4020-402
374. Rahman, A., Harunsani, M., Tan, A., Ahmad, N., Hojamberdiev, M., et Khan, M. M. (2021). Effect of Mg doping on ZnO fabricated using aqueous leaf extract of *Ziziphus mauritiana* Lam. for antioxidant et antibacterial studies. *Bioprocess et Biosystems Engineering*, **44**.
<https://doi.org/10.1007/s00449-020-02496-1>
375. Rai, M. et al. (2012). "Silver nanoparticles: The powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria." *Journal of Applied Microbiology*, **112**(5), 841-852.
376. Raja S, Ramesh V and Thivaharan V (2015) Antibacterial and anticoagulant activity of silver nanoparticles synthesised from a novel source–pods of *Peltophorum pterocarpum*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 257-264.
377. Rajeshwari, C.U., Shobha, R.I., Andalle, B. (2012). Anti-hemolytic activity of various fraction of methanolic extract of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves and seeds :A comparative study. *Pak .J.Food Sci.* **22**(1):1-6.
378. Rajiv S, Bruce R, Kevin C A, Lawrence YCA, Jennifer B-G, Rajesh B, Nicole B, Xue D, Zhechen D, Paul WE, Abduzhappar G, Daniel G, Debbie G, Haoyu G, Paula G, Diana H, Yun H, Kevin H, William H, Michael H, Richard AH, Jui-Ting H, David H, Aya I, Steven JJ, Yan J, Kamyar K-Z, Alissa K, Carola-Ellen K, Csaba PK, William K, Vivian K, Yiting L, Sai L, Maria VM, Keith MC, Miklos ZM, Zubin M, Maria M-R, Hamid M, Hal M, Purna M, Brahmajee N, Danh VN, Keith CN, Ann MO'H, Yoshitsugu O, Christina P, Jeffrey P, Ronald P, Praveen KP, Kaitlyn R, Connie MR, Douglas ES, Jillian S, David TS, Ruth S, Sally FS, Jiaxiao MS, Monica S, John JS, Melissa S, Diane S, Elani S, Keiichi S, Manjula KT, Anca T, Megan T, Dongyu W, Wenjing W, Kenneth JW, April W, Jie X, Xin X, Maggie Y, Amy SY, Xiaosong Z, Hui Z, Vahakn S, (2018) US Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. Bethesda: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2018. Available, DOI: [10.1053/j.ajkd.2019.01.001](https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.01.001)
379. Rajkumar, P., Selvaraj, S., et GP, S. M. (2024). Structural, Optical, et Magnetic Studies of Palladium (Pd) Doped Cerium Oxide (CeO₂) Nano Particles. *Physical Chemistry Research*, **12**(2), 407-417.

380. Ramesh P, Saravanan K, Manogar P, Johnson J, Vinoth E and Mayakannan M (2021) Green synthesis and characterization of biocompatible zinc oxide nanoparticles and evaluation of its antibacterial potential. *Sensing and Bio-Sensing Research* 100399.
381. Rana, A., Yadav, K. K., et Jagadevan, S. (2020). A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application et toxicity. *Journal of Cleaner Production*, 272, 122880.
382. Raverot G , (2005), Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. La collection Hippocrate : EndocrinologieMétabolismeRéanimation-urgences.
383. Relhan A, Guleria S, Bhasin A, Mirza A and Zhou J L (2024) Biosynthesized copper oxide nanoparticles by Psidiumguajava plants with antibacterial, antidiabetic, antioxidant, and photocatalytic capacity. *Biomass Conversion and Biorefinery* 1-18.
384. Rigalleau V., Gonzalez C., Combe C., Gin H. (2011), Les maladies rénales du DT2: comment assurer le diagnostic? *Médecine des Maladies Métaboliques*, Elsevier Masson, Volume 5, Supplément 1, Pages S14-S18. DOI:[10.1016/S1957-2557\(11\)70054-2](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(11)70054-2)
385. Rivera, D., Obón, C., Alcaraz, F., Laguna, E., et Johnson, D. (2019). Date-palm (Phoenix, Arecaceae) iconography in coins from the Mediterranean et West Asia (485 BC–1189 AD). *Journal of Cultural Heritage*, 37, 199-214.
386. Rocha, F., Sugahara, L. Y., Leimann, F. V., de Oliveira, S. M., da Silva Brum, E., Calhelha, R. C., Barreiro, M. F., Ferreira, I. C., Ineu, R. P., & Gonçalves, O. H. (2018). Nanodispersions of beta-carotene: effects on antioxidant enzymes and cytotoxic properties. *Food & function*, 9(7), 3698-3706.
387. Rocha, M., Araujo, F. P., Castro-Lopes, S., de Lima, I. S., Silva-Filho, E. C., Osajima, J. A., Oliveira, C. S., Viana, B. C., Almeida, L. C., et Guerra, Y. (2023). Synthesis of Fe–Pr co-doped ZnO nanoparticles: Structural, optical et antibacterial properties. *Ceramics International*, 49(2), 2282-2295.
388. Romulo, A. (2020). The principle of some *in vitro* antioxidant activity methods. *IOP Conference Series: Earth et Environmental Science*.
389. Rónavári, A., Igaz, N., Adamecz, D. I., Szerencsés, B., Molnar, C., Kónya, Z., Pfeiffer, I., et Kiricsi, M. (2021). Green silver et gold nanoparticles: Biological synthesis approaches et potentials for biomedical applications. *Molecules*, 26(4), 844.

390. Rouabah, N., et Boudine, B. (2020). Fabrication et characerization of semiconductor materials doped polymer.
391. Roussel R, (2011), Histoire naturelle de la néphropathie diabétique, Médecine des Maladies Métaboliques, Elsevier Masson, Volume 5, Supplément 1, Pages S8-S13. Doi : [10.1016/S1957-2557\(11\)70053-0](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(11)70053-0)
392. Roy K, Srivastwa A K and Ghosh C K (2019) Anticoagulant, thrombolytic and antibacterial activities of Euphorbia acruensis latex-mediated bioengineered silver nanoparticles. Green processing and synthesis 1:590-599.
393. Rudayni, H.A. Alenazi N.A., A.M. Rabie, M. Aladwani, L.M. Alneghery, G.M. Abu-Taweel, A.A. Allam, M.R. Abukhadra, Biological characterization of microwave based synthesized ZnO and Ce doped ZnO nanoflowers impeded chitosan matrix with enhanced antioxidant and anti-diabetic properties, International Journal of Biological Macromolecules, 242 (2023) 124713.
394. Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., et Mahomoodally, F. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science et Safety-Chemistry, Applications, Strengths, et Limitations. *Antioxidants*, 9, 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
395. SaeediPouya, Inga Petersohn, ParaskeviSalpea, BelmaMalanda, SuviKaruranga, Nigel Unwin, Stephen Colagiuri, Leonor Guariguata, Ayesha A Motala, Katherine Ogurtsova, Jonathan E Shaw, Dominic Bright, Rhys Williams; IDF Diabetes Atlas Committee, (2019); Global and regionaldiabetesprevalenceestimates and projections for 2030 and 2045: Resultsfrom the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. DiabetesRes Clin Pract. DOI: [10.1016/j.diabres.2019.107843](https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843)
396. Said G, (1998), Les neuropathies diabétiques: classification et prise en charge, Diabetes&Metabolism, Elsevier Masson, Volume 852, Issue 3, Pages 5-291. <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=1673202>
397. Saklani, S., Chandra, S., & Mishra, A. P. (2011). Evaluation of Nutritional profile, medicinal value and quantitative estimation in different parts of Pyrus pashia, Ficus palmata and Pyracantha crenulata. JGTPS, 2(3), 350-354.
398. Salavati-Niasari, M., et al. (2014). Influence of doping agents on ZnO nanoparticles properties. Applied Surface Science, 292, 25–30.
399. Saleh A K, Hussein A S, Ray J B and Elzaref A S (2024) Comparative versatility and diverse biological applications of eco-friendly zinc oxide and cobalt oxide nanoparticles using

- Punicagranatum L. peel extract. Nano-Structures & Nano-Objects 101174. <https://10.1016/j.nanoso2024.101174>
400. Saleh A K, Shaban A S, Diab M A, Debarnot D and Elzaref A S (2023) Green synthesis and characterization of aluminum oxide nanoparticles using Phoenix dactylifera seed extract along with antimicrobial activity, phytotoxicity, and cytological effects on Vicia faba seeds. Biomass Conversion and Biorefinery <https://10.1007/s13399-023-04800-x>
401. salem, M. S. E.-d., Mahfouz, A. Y., & Fathy, R. M. (2021). The antibacterial and antihemolytic activities assessment of zinc oxide nanoparticles synthesized using plant extracts and gamma irradiation against the uro-pathogenic multidrug resistant Proteus vulgaris. *Biometals*, 34, 175-196.
402. Sanjivkumar, M., et Silambarasan, T. S. (2023). Exploration on Green Synthesis of Nanoparticles from Plants et Microorganisms et Their Biological Applications. In *Modern Nanotechnology: Volume 2: Green Synthesis, Sustainable Energy et Impacts* (pp. 149-173). Springer.
403. Sankhalkar, S., et Vernekar, V. (2016). Quantitative et Qualitative analysis of Phenolic et Flavonoid content in Moringa oleifera Lam et Ocimum tenuiflorum L. *Pharmacognosy research*, 8(1), 16.
404. Saradha, M., Paulsamy, S., Vinitha, R. (2013). Antioxidant and antihemolytic activity of endangered plant species, Hildegardia populifolia and Nigella sativa. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(5):135-137.
405. Saravanan, A., Kumar, P. S., Karishma, S., Vo, D.-V. N., Jeevanantham, S., Yaashikaa, P., et George, C. S. (2021). A review on biosynthesis of metal nanoparticles et its environmental applications. *Chemosphere*, 264, 128580.
406. Sassi, C. B., Talbi, W., Ghazouani, T., Amara, S. B., et Fattouch, S. (2020). Date palm. In *Nutritional Composition et Antioxidant Properties of Fruits et Vegetables* (pp. 681-694). Elsevier.
407. Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 215S-217S.
408. Scheen A. J. (1997). Drug treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus in the 1990s. Achievements and future developments. *Drugs*, 54(3), 355–368. <https://doi.org/10.2165/00003495-199754030-00001>
409. Schneider, R. (2011). Energy-Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDXS). *Surface et Thin Film Analysis: A Compendium of Principles, Instrumentation, et Applications*, 293-310.

410. Schulz, A. I. (2020). *Analyse de l'impact du cycle de vie des NPs TiO₂ manufacturées à l'échelle du site spécifique: cas de la vallée de la Thur, 68, France* Université de Strasbourg].
411. Schwalbe, R., L. Steele-Moore, and A.C. Goodwin, Antimicrobial susceptibility testing protocols. 2007: Crc Press.
412. Scimeca, M., Bischetti, S., Lamsira, H. K., Bonfiglio, R., et Bonanno, E. (2018). Energy Dispersive X-ray (EDX) microanalysis: A powerful tool in biomedical research et diagnosis. *European journal of histochemistry: EJH*, 62(1).
413. Scott, R. V. (2004). A review. 282 N.B.R. (2d) 202 (TD); 282 R.N.-B. (2e) 202; 738 A.P.R. 202.
414. Şengönül, H., et Demircan, O. (2023). Synthesis et Characterization of Fe₃O₄ Nanoparticles Using Prunus serrulata Leaf Extract. *BioNanoScience*, 1-11.
415. Senol, S. D., Ozugurlu, E., et Arda, L. (2020). Synthesis, structure et optical properties of (Mn/Cu) co-doped ZnO nanoparticles. *Journal of Alloys et Compounds*, 822, 153514. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.153514>
416. Shaban A S, Owda M E, Basuoni M M, Mousa M A, Radwan A A and Saleh A K (2024) Punicagranatum peel extract mediated green synthesis of zinc oxide nanoparticles: structure and evaluation of their biological applications. *Biomass Conversion and Biorefinery* 11:12265-12281. <https://10.1007/s13399-022-03185-7>
417. Shahidi, F., et Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18, 757-781.
418. Shamim, F., Ali, M. A., Asghar, M., Din, A., Babu, I. A., et Yasmin, Z. (2013). CONTROLLED RIPENING OF DATE PALM FRUIT ET IMPACT ON QUALITY DURING POST HARVEST STORAGE.
419. Shareghi-Boroujeni, D. et al. Synthesis, in vitro evaluation, and molecular docking studies of novel hydrazineylideneindolinone linked to phenoxymethyl-1,2,3-triazole derivatives as potential α -glucosidase inhibitors. *Bioorg. Chem.* 111, 104869 (2021).
420. Sharma, P., et al. (2020). "Biogenic synthesis of metal oxide nanoparticles: A sustainable approach for biomedical applications." *Nanomedicine*, 2020.
421. Sherry, L. J., Jin, R., Mirkin, C. A., Schatz, G. C., et Van Duyne, R. P. (2006). Localized surface plasmon resonance spectroscopy of single silver triangular nanoprisms. *Nano letters*, 6(9), 2060-2065.

422. Shikha, D., Singh, A., Rangra, N. K., Monga, V., & Bhatia, R. (2024). Insights to therapeutic potentials, pharmaceutical formulations, chemistry and analytical methods of catechin. *Phytochemistry Reviews*, 1-42.
423. Siddiqui, S. A., Or Rashid, M. M., Uddin, M. G., Robel, F. N., Hossain, M. S., Haque, M. A., & Jakaria, M. (2020). Biological efficacy of zinc oxide nanoparticles against diabetes: A preliminary study conducted in mice. *Bioscience Reports*, 40 (4), BSR20193972. <https://doi.org/10.1042/bsr20193972>
424. Simó, R., & Hernández, C. (n.d.).2025. Treatment of diabetes mellitus: General goals and clinical practice management. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. <https://www.revespcardiol.org/en-treatment-of-diabetes-mellitus-general-g-articulo-13037902>
425. Singh, J., Dutta, T., Kim, K.-H., Rawat, M., Samddar, P., et Kumar, P. (2018). 'Green'synthesis of metals et their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 1-24.
426. Singh, T. A., Sharma, A., Tejwan, N., Ghosh, N., Das, J., & Sil, P. C. (2021). A state of the art review on the synthesis, antibacterial, antioxidant, antidiabetic and tissue regeneration activities of zinc oxide nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 295, 102495.
427. Singh, V., Yadav, S. S., Chauhan, V., Shukla, S., et Vishnolia, K. K. (2021). Applications of Nanoparticles in Various Fields. *Diagnostic Applications of Health Intelligence et Surveillance Systems*, 221-236.
428. Sirelkhatim, A. et al. (2015). "Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism." *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219-242.
429. Sivaprasad, S., Gupta, B., Gulliford, M. C., Dodhia, H., Mohamed, M., Nagi, D., & Evans, J. R. (2012). Ethnic variations in the prevalence of diabetic retinopathy in people with diabetes attending screening in the United Kingdom (DRIVE UK). *PLOS ONE*, 7(3), e32182. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032182>
430. SobhaniSahar, Asayesh Hamid, FarshadSharifi, ShirinDjalalinia, Hamid Reza Baradaran, SeyedMasoudArzaghi, MortezaMansourian, Aziz Rezapoor, Hossein Ansari, Mohammad ParvareshMasoud, MostafaQorbani, (2014), Prevalence of diabetic peripheral neuropathy in Iran: a systematic review and meta-analysis. *J DiabetesMetab Disord*;13(1):97; DOI: [10.1186/s40200-014-0097-y](https://doi.org/10.1186/s40200-014-0097-y)

431. Sohal, J. K., Saraf, A., et Shukla, K. K. (2017). Green Synthesis of Silver Nanoparticles (Ag-NPs) Using Plant Extract For Antimicrobial et Antioxidant Applications : A Review.
432. Sonkar R, Mondal NJ, Boro B, Ghosh MP, Chowdhury D (2024) Cu doped ZnO nanoparticles: correlations between tuneable opto-electronic, antioxidant and photocatalytic activities. *J Phys Chem Solids* 185:111715
433. Sorbiun, M., Shayegan Mehr, E., Ramazani, A., et Taghavi Fardood, S. (2018). Biosynthesis of Ag, ZnO et bimetallic Ag/ZnO alloy nanoparticles by aqueous extract of oak fruit hull (Jaft) et investigation of photocatalytic activity of ZnO et bimetallic Ag/ZnO for degradation of basic violet 3 dye. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29, 2806-2814.
434. Southon, S., Gee, J. M., & Johnson, I. (1984). Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *British Journal of Nutrition*, 52(2), 371-380.
435. Stan, M., Popa, A., Toloman, D., Dehelean, A., Lung, I., et Katona, G. (2015). Enhanced photocatalytic degradation properties of zinc oxide nanoparticles synthesized by using plant extracts. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 39, 23-29.
436. Sudiarti T, Ulpah F, Listiani P, Ichikawa Y, Honda M, Amelia S R, Nurrosyid N and Ivansyah A L (2024) Unlocking the photocatalytic and antibacterial properties of triple and quadruple doped ZnO nanoparticles (Mg/Cu/N-ZnO and Mg/Cu/N/B-ZnO) prepared by one pot facile solid state synthesis. *Advanced Powder Technology* 9:104567.
437. Sugahara, S., Ueda, Y., Fukuhara, K., Kamamuta, Y., Matsuda, Y., Murata, T., Kuroda, Y., Kabata, K., Ono, M., et Igoshi, K. (2015). Antioxidant effects of herbal tea leaves from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on multiple free radical et reducing power assays, especially on different superoxide anion radical generation systems. *Journal of food science*, 80(11), C2420-C2429.
438. Suganeswari, M., Shering, A., Bharathi, M., et JayaSutha, J. (2011). Nano particles: a novel system in current century. *Int J Pharm Biol Arch*, 2(3), 847-854.
439. Sui, S. (2023). Application prospect et preparation method of nanomaterials. *Journal of Physics: Conference Series*,
440. Sulistiyani, Mega S., Yonq P., 2016. Inhibition of α -glucosidase activity by ethanolic extract of *Melia azadirach* L. leaves, IOP Publishing, Series: Earth and Environmental Science, vol. 31, 012025.
441. Suresh D, Shobharani R, Nethravathi P, Kumar M P, Nagabhushana H and Sharma S (2015) *Artocarpus gomezianus* aided green synthesis of ZnO nanoparticles: Luminescence, photocatalytic

- and antioxidant properties. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 128-134. <https://10.1016/j.saa.2015.01.048>
442. Suzuki, E. M., et Buzzing, P. (2018). Applications of Raman spectroscopy in forensic science. I: Principles, comparison to infrared spectroscopy, et instrumentation. *Forensic Sci Rev*, 30(2), 111-135.
443. Tafti, A., Dahdivan, N., et Ardakani, S. A. (2017). Physicochemical properties et applications of date seed et its oil. *International Food Research Journal*, 24, 1399-1406.
444. Talat-Mehrabad J, Khosravi M, Modirshahla N and Behnajady M A (2016) Synthesis, characterization, and photocatalytic activity of co-doped Ag-, Mg-TiO₂-P25 by photodeposition and impregnation methods. *Desalination and Water Treatment* 22:10451-10461.
445. Tehrani, S. F., Bharadwaj, P., Chain, J. L., et Roullin, V. G. (2023). Purification processes of polymeric nanoparticles: How to improve their clinical translation? *Journal of Controlled Release*, 360, 591-612.
446. Thete, M., et Dilip, A. (2020). Recent advances et methods for in-vitro evaluation of antidiabetic activity: A review. *Int. J. Eng. Appl. Sci. Technol*, 4, 194-198.
447. Timsit J, Saint-Martin C, Dubois-Laforgue D, Bellanné-Chantelot C, (2016); Diabètes de type MODY. *EMC-Endocrinologie-Nutrition*;13(2):1-13 [Article 10-366- D-40]; Doi : [10.1016/S1155-1941\(16\)67772-7](https://doi.org/10.1016/S1155-1941(16)67772-7)
448. Titus, D., Samuel, E. J. J., et Roopan, S. M. (2019). Nanoparticle characterization techniques. In *Green synthesis, characterization et applications of nanoparticles* (pp. 303-319). Elsevier.
449. Trease, G., et Evans, W. (1989). *Pharmacognosy*. 13th. ELBS/Bailliere Tindall, London, 345-346.
450. Tripathy, A., Raichur, A. M., Chetrasekaran, N., Prathna, T., et Mukherjee, A. (2010). Process variables in biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) leaves. *Journal of Nanoparticle Research*, 12, 237-246.
451. Tuomilehto, J., Lindström, J., Eriksson, J., & the Finnish Diabetes Study Group. (2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *The New England Journal of Medicine*, 344(18), 1343–1350. <https://doi.org/10.1056/NEJM200105033441801>
452. Ufitikirezi J D D M, Filip M, Ghorbani M, Zoubek T, Olšan P, Bumbálek R, Strob M, Bartoš P, Umurungi S N and Murindangabo Y T (2024) Agricultural Waste Valorization: Exploring

- Environmentally Friendly Approaches to Bioenergy Conversion. Sustainability 9:3617. <https://doi.org/10.3390/su16093617>
453. United Kingdom Prospective Diabetes Study Group. (1998). United Kingdom Prospective Diabetes Study 24: A 6-year, randomized, controlled trial comparing sulfonylurea, insulin, and metformin therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes that could not be controlled with diet therapy. *Annals of Internal Medicine*, 128(3), 165–175. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-128-3-199802010-00001>
454. Upadhyaya H, Shome S, Sarma R, Tewari S, Bhattacharya M K and Panda S K (2018) Green synthesis, characterization and antibacterial activity of ZnO nanoparticles. *American Journal of Plant Sciences* 6:1279-1291.
455. Usrey, E. Z., Ghanim, N. F. A., Mahana, H., Zomarra, M. A. E., & Amer, M. A. A. (2020). Biochemical and histopathological studies on the role of selenium nanoparticles and selenium oxide against chemically-induced diabetes in male rats. *East African Scholars Multidisciplinary Bulletin*, 3 (7), 256–267
456. Vanaja, M., Gnanajobitha, G., Paulkumar, K., Rajeshkumar, S., Malarkodi, C., et Annadurai, G. (2013). Phytosynthesis of silver nanoparticles by *Cissus quadrangularis*: influence of physicochemical factors. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 3, 1-8.
457. Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., et Rokhum, S. L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts et their antimicrobial activities: a review of recent literature. *RSC Advances*, 11(5), 2804-2837. <https://doi.org/10.1039/d0ra09941d>
458. Vijayaraghavan, M., Sengupta, P., Sumantran, V., Suganya, N., et Chatterjee, S. (2020). Induced Stress on Red Blood Cell Promotes Red Blood Cell-Endothelial Adhesion. *Cell et Tissue Biology*, 14, 448-457.
459. Vijayaram, S., Razafindralambo, H., Sun, Y.-Z., Vasantharaj, S., Ghafarifarsani, H., Hoseinifar, S. H., et Raeeszadeh, M. (2023). Applications of Green Synthesized Metal Nanoparticles—A Review. *Biological Trace Element Research*, 1-27.
460. Vishwakarma, V., Samal, S. S., et Manoharan, N. (2010). Safety et risk associated with nanoparticles-a review. *J. Miner. Mater. Charact. Eng*, 9(5), 455-459.
461. Vithiya S.M. B Arul Prasad, A. T, V. Mangesh, T. Perumal, W.H. Al-Qahtani, M. Govindasamy, Cytotoxic, antidiabetic, and antioxidant study of biogenically improvised elsholtzia blanda and chitosan-assisted zinc oxide nanoparticles, *ACS omega*, 8 (2023) 10954-10967.

462. Wadood, A., Ghufuran, M., Jamal, S. B., Naeem, M., Khan, A., & Ghaffar, R. (2013). Phytochemical analysis of medicinal plants occurring in local area of Mardan. *Biochem anal biochem*, 2(4), 1-4.
463. Wahab, R., Ansari, S. G., Kim, Y. S., et al. (2009). ZnO nanoparticles: Synthesis and characterization. *Materials Research Bulletin*, 44(5), 1473–1477.
464. Wahab, R., Ansari, S. G., Kim, Y. S., et al. (2009). ZnO nanoparticles: Synthesis and characterization. *Materials Research Bulletin*, 44(5), 1473–1477.
465. WANG Y., YANG Z et WEI X., 2010. Sugar compositions, α -glucosidase inhibitory and amylase inhibitory activities of polysaccharides from leaves and flowers of *Camellia sinensis* obtained by different extraction methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 47: 534– 539.
466. Wang Yinan, David O'connor, Zhengtao Shen, Irene MC Lo, Daniel CW Tsang, Simo Pehkonen, Shengyan Pu, and Deyi Hou. (2019). 'Green synthesis of nanoparticles for the remediation of contaminated waters and soils: Constituents, synthesizing methods, and influencing factors', *Journal of Cleaner Production*, 226: 540-49. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.128>
467. Wang, X., Kang, J., Liu, Q., Tong, T., et Quan, H. (2020). Fighting diabetes mellitus: Pharmacological et non-pharmacological approaches. *Current Pharmaceutical Design*, 26(39), 4992-5001.
468. Wani, I. A., Khatoon, S., Ganguly, A., Ahmed, J., Ganguli, A. K., et Ahmad, T. (2010). Silver nanoparticles: Large scale solvothermal synthesis et optical properties. *Materials Research Bulletin*, 45(8), 1033-1038.
469. Warner, S. (2023). *Wild Edible Plants of the Southwest: Locate, Identify, Store, et Prepare Your Foraged Finds*. Rowan's Publishing, LLC.
470. Warram JH, Martin B C, Krolewski A S, Soeldner J S, Kahn C R, (1990); Slow Glucose Removal Rate and Hyperinsulinemia Precede the Development of Type II Diabetes in the Offspring of Diabetic Parents. *Ann Intern Med*. 15 déc 1990, DOI: [10.7326/0003-4819-113-12-909](https://doi.org/10.7326/0003-4819-113-12-909)
471. WassJohn A.H. and Paul M , (2016), *Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes*, 2nd ed., vol.1, Oxford University Press. www.who.int
472. Wayne, P., Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. CLSI document M100-S20, 2010.

473. Wegner, K., Schimmoeller, B., Thiebaut, B., Fernetez, C., et Rao, T. N. (2011). Pilot plants for industrial nanoparticle production by flame spray pyrolysis. *KONA Powder et Particle Journal*, 29, 251-265.
474. Weinman S. And Mehul P., 2004. *Toute la biochimie*. Ed. Dunod, Paris: 452.
475. Weinstein, M.P., *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. (No Title), 2018.
476. Weldegebriael, G. K., et Sibhatu, A. K. (2021). Photocatalytic activity of biosynthesized α -Fe₂O₃ nanoparticles for the degradation of methylene blue et methyl orange dyes. *Optik*, 241, 167226.
477. Weng 1-H. Kan M-C, Chen K-H. 1 M-Z (2023) Influences of Cu doping on the microstructure, optical and resistance switching proper ties of zinc oxidethin films. *Nanomaterials* 13. <https://doi.org/10.3390/manol3192685>
478. Weng J-H, Kao M-C, Chen K-H, Li M-Z (2023) Influences of Cu dop-ing on the microstructure, optical and resistance switching proper-ties of zinc oxidethin films. *Nanomaterials* 13. <https://doi.org/10.3390/nano13192685>.
479. Wenning, M., et Scherer, S. (2013). Identification of microorganisms by FTIR spectroscopy: perspectives et limitations of the method. *Applied microbiology et biotechnology*, 97, 7111-7120.
480. WHO,(1999), World Health Organization, Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1: “Diagnosis and classification of diabetes mellitus”, 1999, Geneva. www.who.int
481. WHO,(2006), World Health Organization, Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: report of a WHO/IDF consultation, 2006. www.who.int
482. WHO,(2013), World Health Organization. Universal eye health: A global action plan 2014 – 2019. Geneva 26 October 2013. www.who.int
483. WHO,(2015),World Health Organization. TADDS: Tool for assessment of diabetes and diabetic retinopathy. Geneva; 2015. www.who.int
484. WHO,(2016), Journee mondiale de la sante 2016 : Soyez plus fort que le diabète, Geneva, World HealthOrganization, 2016. <https://www.who.int/campaigns/worldhealth-day/2016/fr/>
485. WHO,(2016), Journee mondiale de la sante 2016 : Soyez plus fort que le diabète, Geneva, World HealthOrganization, 2016. <https://www.who.int/campaigns/worldhealth-day/2016/fr/>

486. Wijesinghe U, Thiripuranathar G, Menaa F, Iqbal H, Razzaq A and Almukhlifi H (2021) Green synthesis, structural characterization and photocatalytic applications of ZnO nanoconjugates using *Heliotropium indicum*. *Catalysts* 7:831. <https://10.3390/catal11070831>
487. Wijesinghe U, Thiripuranathar G, Menaa F, Iqbal H, Razzaq A and Almukhlifi H (2021) Green synthesis, structural characterization and photocatalytic applications of ZnO nanoconjugates using *Heliotropium indicum*. *Catalysts* 7:831. <https://10.3390/catal11070831>
488. Wong, S. P., Leong, L. P., et Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry*, 99(4), 775-783.
489. Wysham, C., &Shubrook, J. J. P. M. (2020). Beta-cell failure in type 2 diabetes: Mechanisms, markers, and clinical implications. *Postgraduate Medicine*, 132(8), 676–686. <https://doi.org/10.1080/00325481.2020.1771047>
490. Xiao, F., Xu, T., Lu, B., et Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69.
491. Xu, J., Huang, Y., Zhu, S., Abbes, N., Jing, X., et Zhang, L. (2021). A review of the green synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts et their prospects for application in antibacterial textiles. *Journal of Engineered Fibers et Fabrics*, 16, 15589250211046242. <https://doi.org/10.1177/15589250211046242>
492. Xu, N., Wu, H., Li, D., & Wang, J. J. (2014). Diagnostic accuracy of glycated hemoglobin compared with oral glucose tolerance test for diagnosing diabetes mellitus in Chinese adults: A meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 106(1), 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.04.010>
493. Yadav M K, Singh S K, Singh M, Mishra S S, Singh A K, Tripathi J S, & Tripathi Y B (2019). *In Vivo* Toxicity Study of Ethanolic Extracts of *Evolvulus Alsinoides* & *Centella Asiatica* in Swiss Albino Mice. *Open Access Maced J Med Sci*, 7(7), 1071-1076. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.209>.
494. Yahaya, S. A. (2021). *GENETIC STUDIES ON DATE PALM (Phoenix dactylifera L.) GERMPLASM GENE POOLS FROM JIGAWA, NIGERIA*
495. Yam, M. F., Ang, L. F., Ameer, O. Z., Salman, I. M., Aziz, H. A., et Asmawi, M. Z. (2009). Anti-inflammatory et analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *Journal of Acupuncture et Meridian Studies*, 2(4), 280-287.

496. Yan F, Wang Y, Zhang J, Lin Z, Zheng J and Huang F (2014) Schottky or ohmic metal–semiconductor contact: influence on photocatalytic efficiency of Ag/ZnO and Pt/ZnO model systems. *ChemSusChem* 1:101-104. <https://10.1002/cssc.201300818> .
497. Yang, Y., Ju, Z., Yang, Y., Zhang, Y., Yang, L., et Wang, Z. (2021). Phytochemical analysis of Panax species: a review. *Journal of Ginseng Research*, 45(1), 1-21.
498. Yasin, B. R., El-Fawal, H. A., & Mousa, S. A. (2015). Date (Phoenix dactylifera) polyphenolics and other bioactive compounds: A traditional islamic remedy's potential in prevention of cell damage, cancer therapeutics and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 30075-30090.
499. Yasotha, P., Kalaiselvi, V., Vidhya, N., & Ramya, V. (2020). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using Ocimum tenuiflorum. *Int. J. Adv. Sci. Eng*, 2020, 1584-1588.
500. Yesmin, S., Paul, A., Naz, T., Rahman, A., Akhter, S. F., Wahed, M. I. I., Emran, T. B., & Siddiqui, S. A. (2020). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of ethanolic root extract of Choi (Piper chaba). *Clinical Phytoscience*, 6(1), 1-10.
501. Yusuf, M., Khan, R. A., Khan, M., & Ahmed, B. (2012). Plausible antioxidant biomechanics and anticonvulsant pharmacological activity of brain-targeted β -carotene nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 4311-4322.
502. Zaid, S. E. (2019). *Molecular Investigations in Date Palm Genetic Structure et Diversity among Commercially Important Date Palm Cultivars (Phoenix dactylifera L.)* Colorado State University].
503. Zeinali Heris, S., Etemadi, M., Mousavi, S. B., Mohammadpourfard, M., et Ramaveti, B. (2023). Preparation et characterizations of TiO₂/ZnO nanohybrid et its application in photocatalytic degradation of tetracycline in wastewater. *Journal of Photochemistry et Photobiology A: Chemistry*, 443, 114893. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2023.114893>
504. Zengin, G., Locatelli, M., Carradori, S., Mocan, A. M., et Aktumsek, A. (2016). Total phenolics, flavonoids, condensed tannins content of eight Centaurea species et their broad inhibitory activities against cholinesterase, tyrosinase, α -amylase et α -glucosidase. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1), 195-200.
505. Zhao Y, Wu Y and Wang M (2015) Bioactive substances of plant origin 30. Handbook of food chemistry 967-1008.

Les Annexes

Annexe 01: Biosynthèse des nanoparticules

$$m_{\text{Oxyd de Zinc (ZnO)}} = \frac{m_{(\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})} \times M_{(\text{ZnO})}}{M_{(\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})}}$$

$$m_{\text{Oxyd de Zinc (ZnO)}} = \frac{2.97 \times 81.40}{297.48} = 0.81 \text{ g}$$

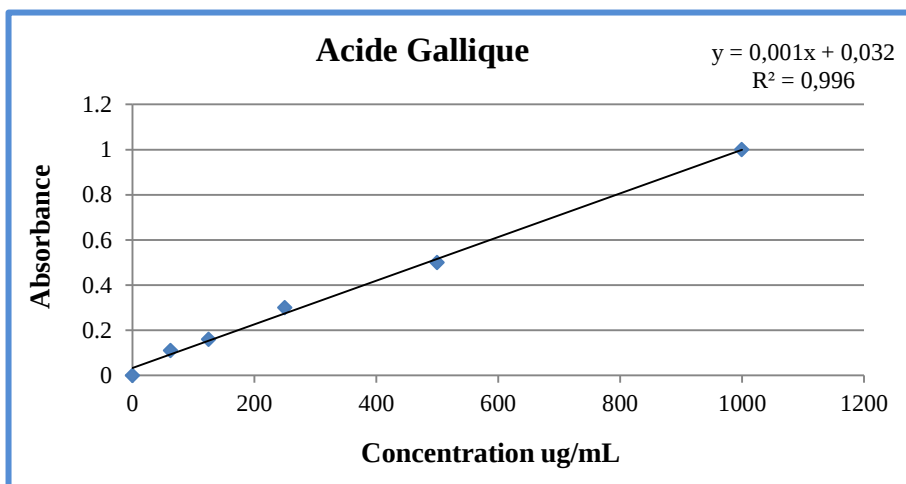
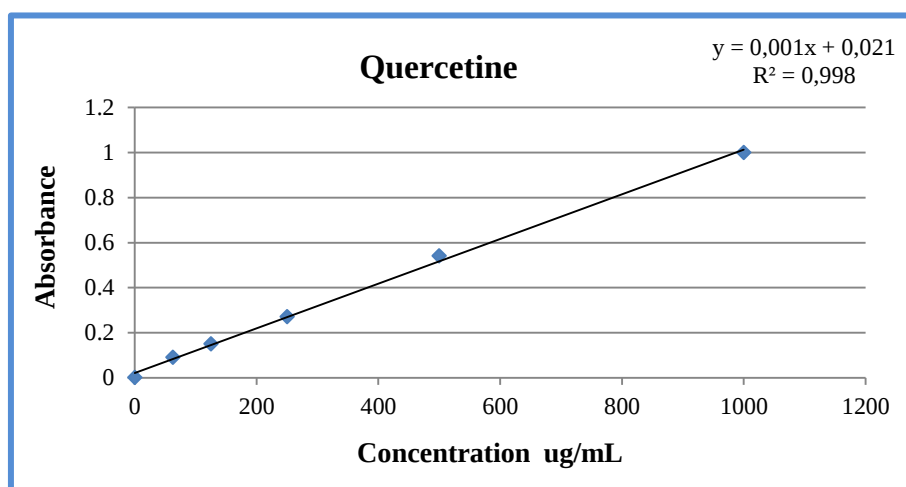
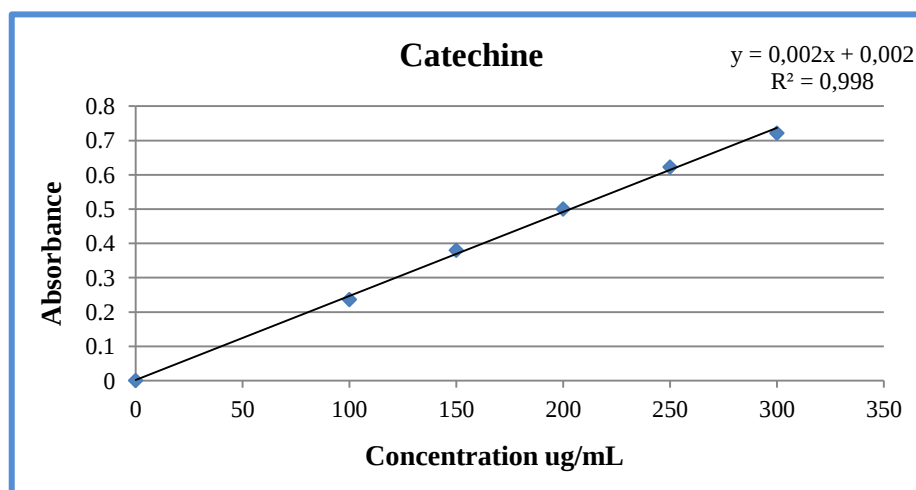
$$m_{\text{nitrate de magnésium (Mg(NO}_3)_2)} = \frac{m_{(\text{ZnO})} \times 0.005 \times M_{(\text{Mg(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})}}{M_{(\text{Mg})}} \times 100$$

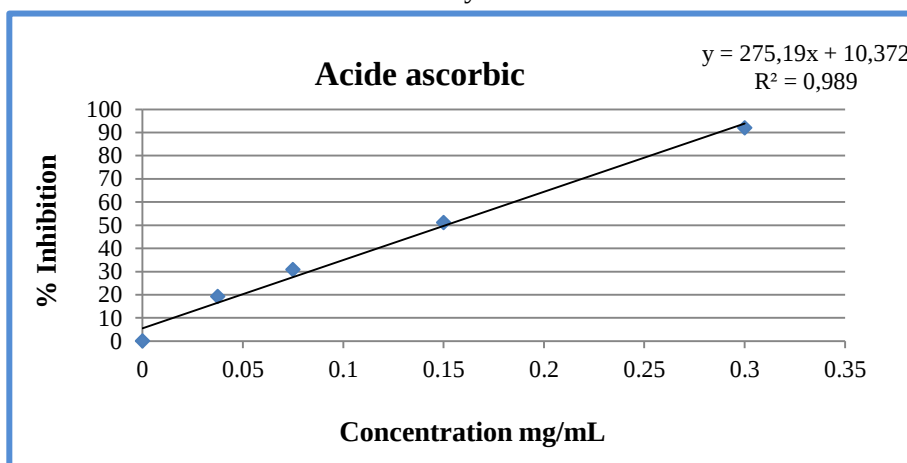
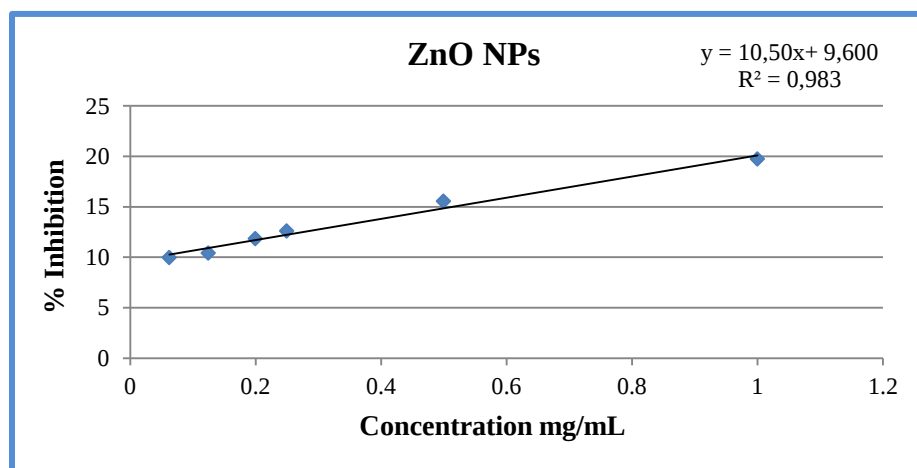
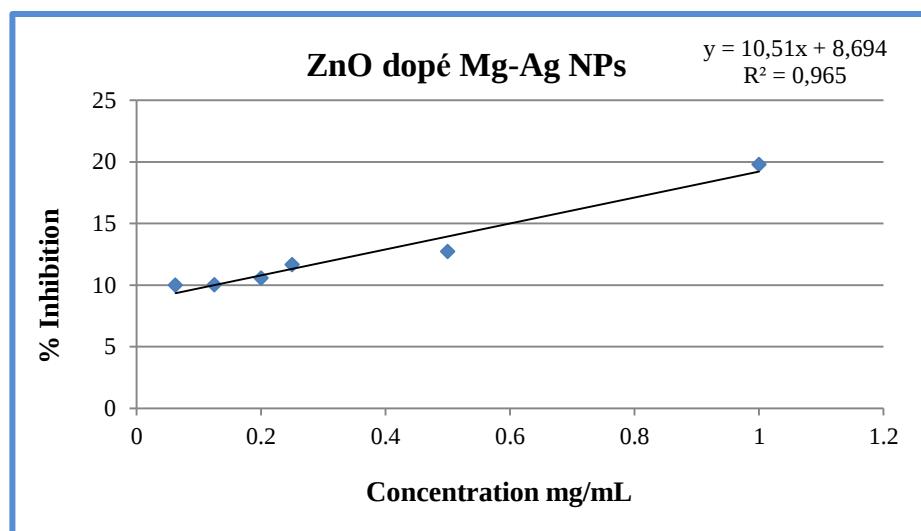
$$m_{\text{nitrate de magnésium (Mg(NO}_3)_2)} = \frac{0.81 \times 0.005 \times 256.41}{24} \times 1000 = 43.26 \text{ mg}$$

$$m_{\text{nitrate d'argent (Ag NO}_3)} = \frac{m_{(\text{ZnO})} \times 0.005 \times M_{(\text{Ag NO}_3)}}{M_{(\text{Ag})}} \times 100$$

$$m_{\text{nitrate d'argent (Ag NO}_3)} = \frac{0.81 \times 0.005 \times 169.87}{107} \times 1000 = 6.42 \text{ mg}$$

Figure: Les équations utilisées pour mesurer les masses de nitrate de zinc, de magnésium et d'argent

Annexe 02: Courbe d'étalonnage pour quantification des composés phytochimiques.**Figure:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la détermination de la teneur totale en phénols**Figure:** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes**Figure:** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour la détermination de la teneur en tanins condensés.

Annexe 03: Courbe d'étalonnage et pourcentage d'inhibition pour la détermination de la capacité antioxydante.**Figure:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'acide ascorbique**Figure:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par des nanoparticules ZnONPs**Figure:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par des nanoparticules ZnO dopées Mg-AgNPs.

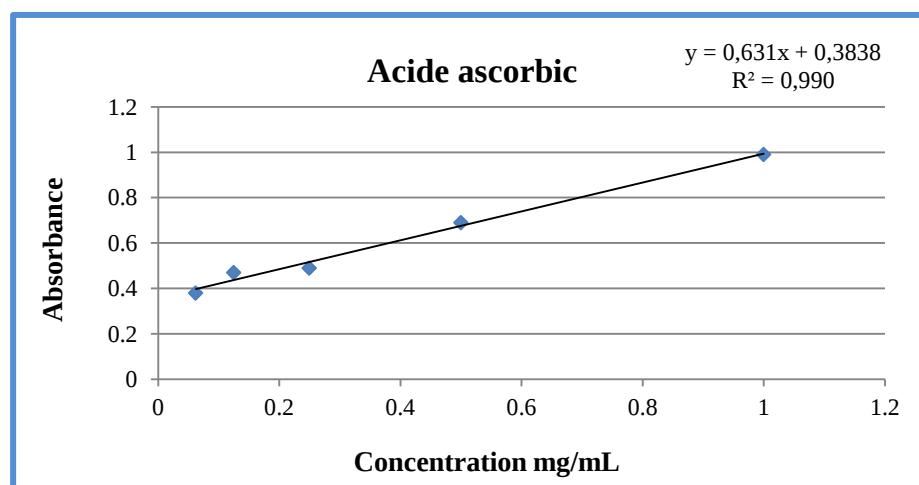


Figure: Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydant FRAP de l'acide ascorbique

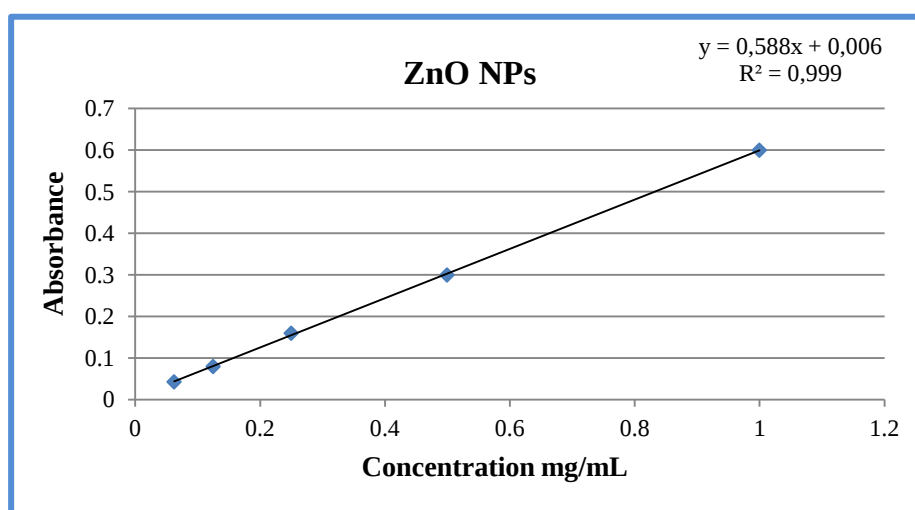


Figure: Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydant FRAP des nanoparticules ZnONPs

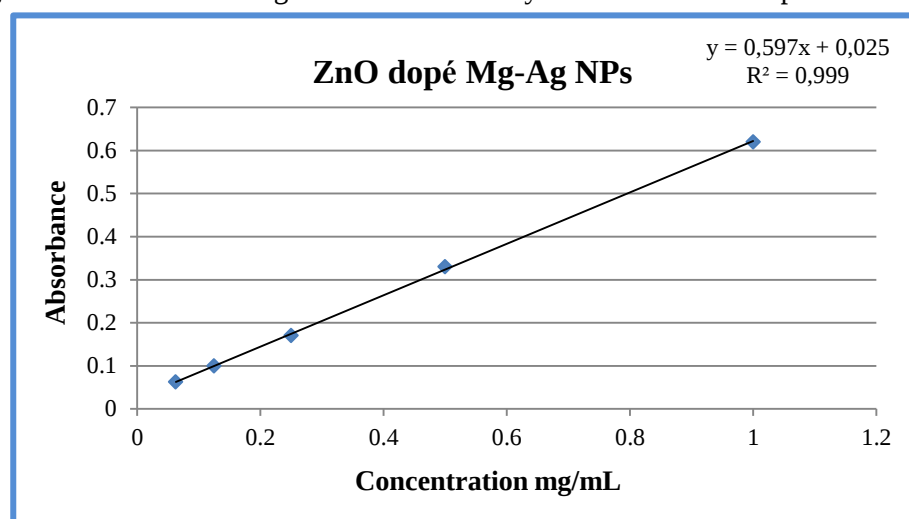


Figure: Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydant FRAP des nanoparticules ZnO dopé Mg-AgNPs

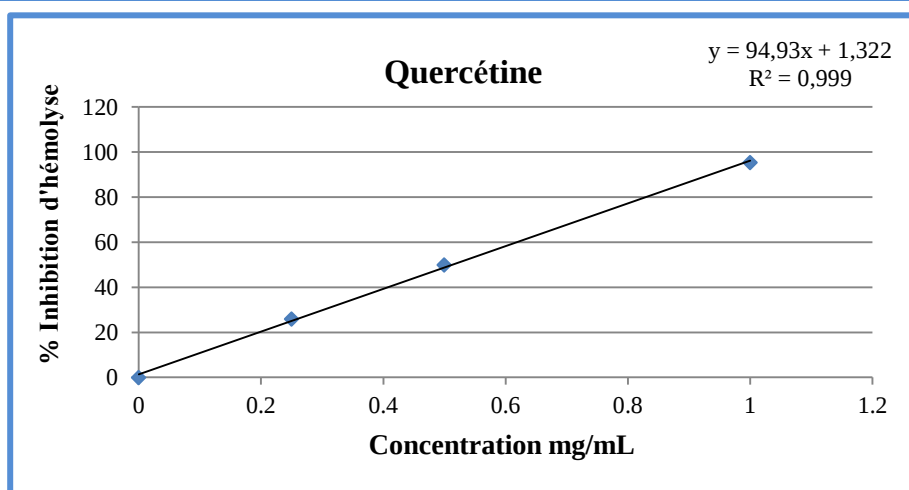


Figure: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse par quercétine

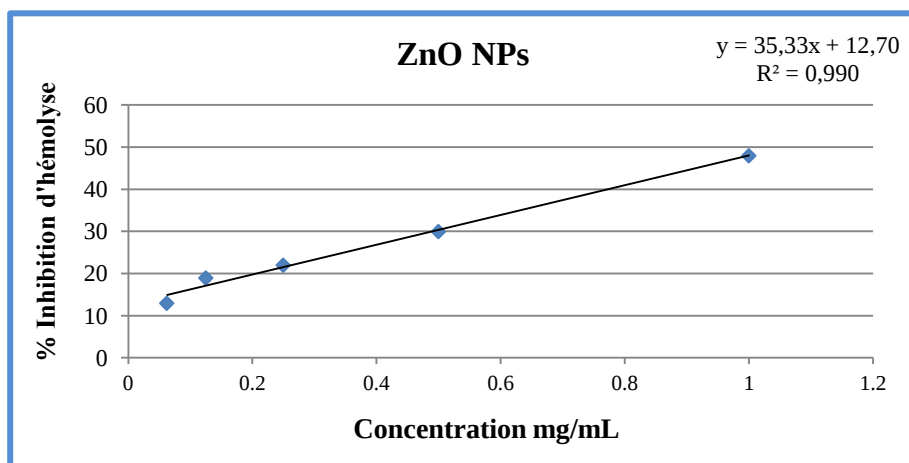


Figure: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse par des nanoparticules ZnONPs

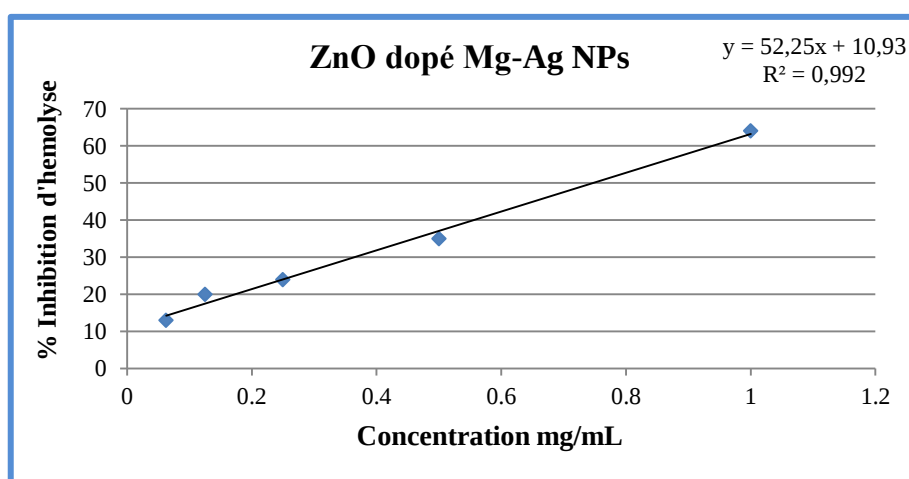


Figure: Pourcentage d'inhibition d'hémolyse par des nanoparticules ZnO dopées Mg-AgNPs

Annexe 04. Les méthodes d'analyse utilisées

0104404463190CORN9.0

GLUC3

Glucose HK Gen.3

centrifugé à température ambiante, la diminution moyenne du glucose sérique est d'environ 7 % par heure (0.28 à 0.56 mmol/L ou 5 à 10 mg/dL). Cette diminution est due à la glycolyse. Il est possible d'inhiber la glycolyse en prélevant les échantillons sur des tubes au fluorure.¹

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité (sans hémolyse): ⁵	8 heures entre 15 et 25 °C
	72 heures entre 2 et 8 °C

Stabilité dans le plasma sur fluorure: ⁶	3 jours entre 15 et 25 °C
---	---------------------------

Urine

Recueillir l'urine dans un flacon brun. Pour les urines de 24 heures, 5 mL d'acide acétique glacial peuvent être ajoutés comme conservateur dans le flacon avant le recueil. Si les échantillons d'urine sont recueillis sans conservateur, la diminution de la concentration en glucose peut atteindre 40 % après 24 heures de conservation à température ambiante.³ Les échantillons doivent, de ce fait, être conservés dans la glace tout au long du recueil.⁵

LCR

Le liquide céphalo-rachidien peut être contaminé par des bactéries et contient souvent d'autres éléments cellulaires. Les échantillons de LCR destinés à la détermination du glucose doivent donc être analysés immédiatement ou conservés à 4 °C ou -20 °C.^{3,5}

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Applications pour le sérum, le plasma, l'urine et le LCR**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	340/652 nm
Calc. premier/dernier	
Test ID 0-031, 0-141, 0-051	33/69
Test ID 0-231, 0-241, 0-251	33/46
Unité	mmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	28 µL	125 µL
Echantillon	2 µL	16 µL
SR	10 µL	20 µL
Volume total	201 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final

cobas[®]

Substrats

Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	340/652 nm
Calc. premier/dernier	
Test ID 0-031, 0-141, 0-051	44/98
Test ID 0-231, 0-241, 0-251	44/66
Unité	mmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	28 µL	125 µL
Echantillon	2 µL	16 µL
SR	10 µL	20 µL
Volume total	201 µL	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s.
	Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité: La méthode a été standardisée par rapport à la DI-SM.^{a)}

a) Dilution isotopique-spectrométrie de masse

Contrôle de qualité

Sérum/plasma	
Valeurs de référence	Precinorm U, Precinorm U plus ou PreciControl ClinChem Multi 1
Limites pathologiques	Precipath U, Precipath U plus ou PreciControl ClinChem Multi 2
Urine	Pour le contrôle de qualité de routine, utiliser de préférence des contrôles urinaires quantitatifs.
LCR	Pour le contrôle de qualité de routine, utiliser de préférence des contrôles LCR quantitatifs.
Fréquence des contrôles	24 heures recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus/800).

Facteur de conversion: mmol/L x 18.02 = mg/dL

0003039773190CCHNV5.0

CHOL2

Cholestérol, 2ème génération

Références de commande

cobas[®]
Substrats

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyses suivants
03039773 190	Cholesterol Gen.2 (400 tests)	System-ID 07 6726 3
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 7999 7
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 8000 6
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
10781827 122	Precinorm L (4 x 3 mL)	System-ID 07 9026 5
11285874 122	Precipath L (4 x 3 mL)	System-ID 07 9500 3
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7469 3
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7470 7

Français

Informations techniques

Test CHOL2, test ID 0-586

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative du cholestérol total dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12}

Le cholestérol est un stéroïde possédant un groupe hydroxyle secondaire en position C3. Il est synthétisé dans de nombreux tissus, en particulier dans le foie et la paroi intestinale. Environ les trois quarts du cholestérol sont synthétisés dans l'organisme; un quart est apporté par l'alimentation. Les tests de cholestérol sont utilisés pour dépister le risque individuel d'athérosclérose, ainsi que pour le diagnostic et le traitement de maladies impliquant des taux de cholestérol élevés, et de troubles du métabolisme des lipides et des lipoprotéines.

La première méthode de dosage du cholestérol a été décrite par Liebermann en 1885 et, par la suite, par Burchard en 1889. Dans la réaction de Liebermann-Burchard le cholestérol donne en présence d'acide acétique, d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré des dérivés colorés bleu-vert constitués d'hydrocarbures insaturés polymérisés. La méthode d'Abell et Kendall est spécifique du cholestérol, mais techniquement complexe et nécessite l'utilisation de réactifs corrosifs. En 1974, Roeschlaue et Allain ont décrit la première méthode entièrement enzymatique de dosage du cholestérol. La méthode décrite ci-dessous repose sur la détermination de la Δ^4 -cholesténone formée par l'hydrolyse enzymatique des esters du cholestérol par la cholestérol estérase, suivie de la transformation du cholestérol en présence de cholestérol oxydase. L'eau oxygénée formée au cours de cette dernière réaction est mesurée à l'aide d'une réaction de Trinder. L'optimisation de l'hydrolyse des esters (> 99.5 %) permet une standardisation à l'aide de standards primaires et secondaires et une comparaison directe avec les méthodes de référence du CDC et du NIST. Les valeurs post-prandiales sont légèrement inférieures aux valeurs à jeun.

La méthode de dosage du cholestérol de Roche répond aux objectifs de performance de 1992 du N.I.H. (National Institute of Health) (précision et erreur systématique inférieure ou égale à 3 %).

Principe

Méthode colorimétrique enzymatique

Sous l'action de la cholestérol-estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par la cholestérol-oxydase le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en cholestène-4 one-3 avec formation d'eau oxygénée. En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec le phénol et l'amino-4 phénazone pour former un dérivé coloré rouge (quinoneimine).



L'intensité du dérivé coloré formé est directement proportionnelle au taux de cholestérol. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 512 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R Tampon PIPES^{a)}: 225 mmol/L, pH 6.8; Mg²⁺: 10 mmol/L; cholate de sodium: 0.6 mmol/L; 4-amino-antipyrine: ≥ 0.45 mmol/L; phénol: ≥ 12.6 mmol/L; monoéthyl d'alcool gras de polyéthylène glycol: 3 %; cholestérol estérase (de Pseudomonas): ≥ 25 $\mu\text{kat/L}$ (≥ 1.5 U/mL); cholestérol-oxydase (d'E. coli): ≥ 7.5 $\mu\text{kat/L}$ (≥ 0.45 U/mL); peroxydase (de raifort): ≥ 12.5 $\mu\text{kat/L}$ (≥ 0.75 U/mL); stabilisateurs; conservateur

a) PIPES = acide pipérazine-1,4-bis(éthane-2 sulfonique)

R est en position B.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

0003039773180COINV5.0

CHOL2

Cholestérol, 2ème génération

cobas[®]

Substrats

Ce coffret contient des substances classées de la manière suivante selon le règlement CE 1272/2008:

Substances dangereuses:

3,6,9,12,15,18,21,24,27-nonaioxanonatriacotan-1-ol



Mise en garde

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

Prévention:

P264 Se laver les mains avec soin après manipulation.

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

Réponse:

P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer à l'eau avec précaution plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P337 + P313 Si l'irritation des yeux persiste: consulter un médecin.

Contact tél.: tous pays: +49-621-7590, USA: +1-800-428-2336

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c** pack.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C

8 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C

8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum

Plasma: sang total recueilli sur héparine de lithium ou EDTA tripotassique (l'utilisation d'EDTA conduit à l'obtention de résultats légèrement abaissés).

Ne pas utiliser de citrate, d'oxalate ou de fluorure.¹³

Les échantillons prélevés à jeun ou non peuvent être utilisés pour l'analyse.¹¹

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité: ^{14,15}

7 jours entre 15 et 25 °C

7 jours entre 2 et 8 °C

3 mois entre -15 et -25 °C

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum et le plasma**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R-S
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	512/659 nm
Calc. premier/dernier	17/69
Unité	mmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R	47 µL	70 µL
Echantillon	2 µL	23 µL
Volume total	142 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R-S
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	512/659 nm
Calc. premier/dernier	17/98
Unité	mmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R	47 µL	73 µL
Echantillon	2 µL	20 µL
Volume total	142 µL	

Calibration

Calibrateur Calibrator f.a.s.
Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.

Type calibration Régression linéaire

Nombre de répliques Duplication recommandée

Fréquence des calibrations A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Tracabilité: La méthode été standardisée par rapport à la DI-SM[®] et selon Abell-Kendall.

Cette standardisation répond aux exigences du National Institute of Standards and Technology (NIST).

b) Dilution isotopique-spectrométrie de masse

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm U, Precinorm U plus, Precinorm L ou PreciControl ClinChem Multi 1
Limites pathologiques	Precipath U, Precipath U plus, Precipath L ou PreciControl ClinChem Multi 2

0020767107322C00NV8.0

TRIGL

Triglycérides

Références de commande

cobas[®]
Substrats

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
20767107 322	Triglycerides (250 tests)	System-ID 07 6710 7 COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 7999 7
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 8000 6
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
10781827 122	Precinorm L (4 x 3 mL)	System-ID 07 9026 5
11285874 122	Precipath L (4 x 3 mL)	System-ID 07 9500 3
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7469 3
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7470 7

Français

Informations techniques

Test TRIGL, test ID 0-010

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative des triglycérides dans le sérum et le plasma humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques^{1,2,3,4,5,6}

Les triglycérides sont des esters du glycérol et de 3 acides gras à longue chaîne. Ils proviennent en partie des aliments et sont en partie synthétisés dans le foie.

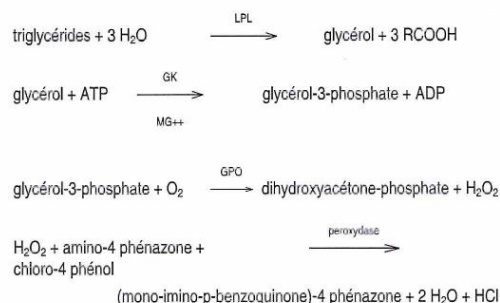
Les dosages de triglycérides sont indiqués pour le diagnostic et le traitement du diabète sucré, de néphrose, d'obstruction des voies biliaires, de troubles du métabolisme des lipides, ainsi que dans de nombreuses maladies endocrinologiques.

Le dosage enzymatique des triglycérides, tel qu'il a été décrit par Eggstein et Kreutz, nécessitait encore une saponification par la potasse. De nombreux essais furent ensuite tentés pour remplacer la saponification chimique par une hydrolyse enzymatique faisant appel à la lipase. Bucolo et David testèrent un mélange constitué de lipase et d'une protéase, Wahlefeld utilisa une estérase d'origine hépatique qu'il associa à une lipase particulièrement efficace de *Rhizopus arrizus*.

La présente méthode repose sur les travaux de Wahlefeld et fait appel, pour l'hydrolyse rapide et complète des triglycérides en glycérol et acides gras, à une lipoprotéine-lipase de microorganismes; le glycérol formé est ensuite transformé en glycérol-3-phosphate, puis oxydé en dihydroxyacétone-phosphate avec formation d'eau oxygénée. En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec l'amino-4 phénazone et le chloro-4 phénol avec formation d'un dérivé coloré rouge (méthode en point final selon Trinder). L'intensité de la coloration rouge développée est directement proportionnelle à la concentration en triglycérides et est mesurée par photométrie.

Principe⁶

Test colorimétrique enzymatique



Réactifs - composition et concentrations

R Tampon PIPES: 50 mmol/L, pH 6.8; Mg^{2+} : 40 mmol/L; cholate de sodium: 0.20 mmol/L; ATP: ≥ 1.4 mmol/L; amino-4 phénazone: ≥ 0.13 mmol/L; chloro-4 phénol: 4.7 mmol/L; LPL (d'origine microbienne): ≥ 83 $\mu\text{kat/L}$; GK (d'origine microbienne): ≥ 3 $\mu\text{kat/L}$; GPO (d'origine microbienne): ≥ 41 $\mu\text{kat/L}$; POD (raffort): ≥ 1.6 $\mu\text{kat/L}$; conservateur; stabilisateurs

R est en position B.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

0004399803190COINV4.0

HDL C3

HDL-Cholesterol plus 3rd generation

Order information

cobas®
 Substrats

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
04399803 190	HDL-Cholesterol plus 3rd generation (200 tests)	System-ID 07 6833 2 COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
12172623 122	C.f.a.s. Lipids (3 x 1 mL)	System-ID 07 6570 8
12172623 160	C.f.a.s. Lipids (3 x 1 mL, pour les USA)	System-ID 07 6570 8
10781827 122	Precinorm L (4 x 3 mL)	System-ID 07 9026 5
11778552 122	Precipath HDL/LDL-C (4 x 3 mL)	System-ID 07 9028 1
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7469 3
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7470 7
20756350 322	NaCl Diluent 9 % (6 x 22 mL)	System-ID 07 5635 0

Français**Informations techniques**

Test HDL C3, test ID 0-331 sur les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus;
test ID 0-333 sur les analyseurs COBAS INTEGRA 800

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative du cholestérol HDL dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques

Les HDL (High Density Lipoproteins) sont des lipoprotéines de haute densité. Elles ramènent le cholestérol des tissus périphériques vers le foie où il est transformé en acides biliaires qui seront excrétés par les voies biliaires dans l'intestin. La surveillance du cholestérol HDL présente un intérêt clinique majeur, le risque d'athérosclérose étant inversement proportionnel au taux de cholestérol HDL. Une concentration élevée en cholestérol HDL a un effet protecteur vis-à-vis de l'athérosclérose, alors qu'un faible taux de cholestérol HDL augmente le risque de maladie cardiovasculaire (MC), surtout si le taux de triglycérides est également augmenté. ¹ Différentes stratégies ont été développées afin d'élever le taux de cholestérol HDL pour le traitement des maladies cardiovasculaires. ^{2,3}

Il existe plusieurs méthodes de dosage du cholestérol HDL:

l'ultracentrifugation, l'électrophorèse, la chromatographie liquide haute performance (HPLC), les méthodes par précipitation et les méthodes directes. Ces dernières sont utilisées en routine. Les méthodes directes de dosage du cholestérol HDL font appel aux propriétés magnétiques de particules (résultant de combinaisons avec un mélange polyanion/cation métallique), ou reposent sur l'utilisation conjointe de polyéthylène glycol (PEG) et d'anticorps anti-apolipoprotéine B et anti-apolipoprotéine CIII.

Cette méthode automatisée de dosage direct du cholestérol HDL dans le sérum et le plasma utilise le sulfate de dextran et des enzymes modifiées par le PEG. La cholestérol estérase et la cholestérol oxydase modifiées par le PEG présentent une activité catalytique sélective vis-à-vis des différentes fractions lipoprotéiques avec une réactivité croissante dans l'ordre suivant: LDL < VLDL = chylomicrons < HDL. ^{4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16}

Les valeurs post-prandiales sont légèrement inférieures aux valeurs à jeun. Des valeurs post-prandiales comparables ont été obtenues par bêta-quantification. ^{17,18,19}

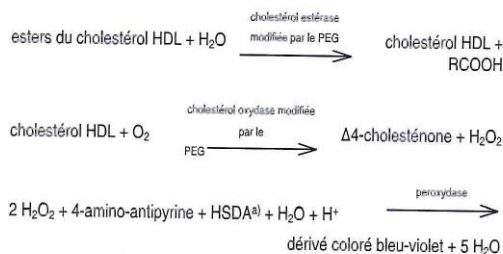
La méthode directe de dosage du cholestérol HDL de Roche répond aux objectifs de performance pour 1998 du NIH (National Institute of Health) et du NCEP (National Cholesterol Education Program). ²⁰ Les résultats de cette méthode concordent avec ceux obtenus avec des méthodes de précipitation et d'ultracentrifugation.

La cassette COBAS INTEGRA HDL-Cholesterol plus 3rd generation est conçue pour la détermination spécifique directe du cholestérol HDL en présence de LDL, de VLDL et de chylomicrons. Aucun prétraitement des échantillons n'est nécessaire.

Principe^{4,5}

Test colorimétrique enzymatique en phase homogène

En présence d'ions magnésium et de sulfate de dextran, il se forme des complexes hydrosolubles avec les LDL, les VLDL et les chylomicrons; ces complexes sont résistants vis-à-vis d'enzymes modifiées par du PEG. La concentration en cholestérol des HDL est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol estérase et de cholestérol oxydase modifiées par du PEG (environ 40 % des groupes aminés de ces enzymes sont couplés à du PEG). Sous l'action de la cholestérol estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction catalysée par la cholestérol oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en Δ^4 -cholesténone avec formation d'eau oxygénée.



a) Sodium N-(hydroxy-2 sulfo-3 propyl) diméthoxy-3,5 aniline

L'intensité du dérivé coloré bleu quinonéimine formé est directement proportionnelle au taux de cholestérol HDL. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 583 nm.

Réactifs - composition et concentrations

- R1** Tampon HEPES: 10.07 mmol/L; CHES: 96.95 mmol/L, pH 7.4; sulfate de dextran: 1.5 g/L; nitrate de magnésium hexahydrate: > 11.7 mmol/L; HSDA: 0.96 mmol/L; ascorbate oxydase (d'Eupenicillium, recombinante): > 50 μ kat/L; peroxydase (de raifort): > 16.7 μ kat/L; conservateur
- SR** Tampon HEPES: 10.07 mmol/L; pH 7.0; cholestérol estérase modifiée par le PEG (de Pseudomonas): > 3.33 μ kat/L; cholestérol oxydase modifiée par le PEG (de Streptomyces, recombinante): > 127 μ kat/L; peroxydase (de raifort): > 333 μ kat/L; 4-amino-antipyrine: 2.46 mmol/L; conservateur

R1 est en position B et SR est en position C.

0004399803190C01N4.0

HDLC3

HDL-Cholesterol plus 3rd generation

cobas®
Substrats**Précautions d'emploi et mises en garde**

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquées dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

La couleur rose du réactif cholestérol n'a aucune influence sur la réaction.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c pack**.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C

12 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C

12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons indiqués ci-dessous ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum.

Plasma: sang total recueilli sur EDTA tripotassique, héparinate de lithium, d'ammonium et de sodium

Le plasma sur EDTA conduit à l'obtention de résultats diminués.²¹ (cf. paragraphe Directives du NCEP)

Les échantillons prélevés à jeun ou non peuvent être utilisés pour l'analyse.¹⁸

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité:¹⁹

7 jours entre 2 et 8 °C

30 jours à -70 °C

Selon la littérature, l'EDTA stabilise les lipoprotéines.²²

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire

NaCl Diluent 9 %, Réf. 20756350 322, system-ID 07 5635 0 pour la post-dilution automatique. NaCl Diluent 9 % est placé sur le rack à une position prédéfinie. La solution est stable 4 semaines sur les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus/800.

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum et le plasma**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	583/659 nm
Calc. premier/dernier	33/69

Unité mmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	150 µL	
Echantillon	2.5 µL	7.0 µL
SR	50 µL	
Volume total	209.5 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	583/659 nm
Calc. premier/dernier	44/98
Unité	mmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	150 µL	
Echantillon	2.5 µL	7.0 µL
SR	50 µL	
Volume total	209.5 µL	

Calibration

Calibrateur	C.f.a.s. Lipids
	Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité:¹⁹ La méthode a été standardisée par rapport à la méthode de référence recommandée par le CDC (Center for Disease Control) (méthode de comparaison désignée).²⁰ Cette standardisation répond aux exigences du protocole d'évaluation « HDL Cholesterol Method Evaluation Protocol for Manufacturers » du système de référence américain « National Reference System for Cholesterol, CRMLN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network) », novembre 1994.

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm L ou PreciControl ClinChem Multi 1
Limites pathologiques	Precipath HDL/LDL-C ou PreciControl ClinChem Multi 2
Fréquence des contrôles	24 heures recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

0104607151RKCOPV6 D

UREAL

Urea/BUN

Références de commande

REF	CONTENT	System-ID	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
04460715 190	Urea/BUN (500 tests)	System-ID 07 6303 9	COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6	
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7	
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 7999 7	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 8000 6	
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0	
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0	
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9	
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7	

Français

Informations techniques

Test UREL, test ID 0-003 pour le sérum et le plasma

Test UREL, test ID 0-004 pour l'urine

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'urée et de l'azote uréique dans des échantillons de sérum, de plasma et d'urine humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques¹

L'urée est le principal produit final du métabolisme azoté des protéines. Elle est synthétisée par le cycle de l'urée dans le foie à partir de l'ammoniac qui est produit par la désamination des acides aminés. L'urée est principalement excrétée par les reins mais des quantités minimes sont également excrétées dans la sueur et dégradées au niveau intestinal sous l'action de bactéries.

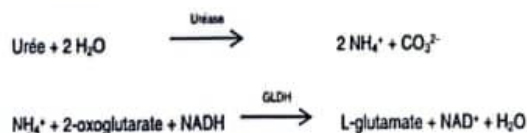
La détermination de l'azote uréique sanguin est la méthode la plus largement utilisée pour l'exploration de la fonction rénale. Utilisée conjointement aux déterminations de créatinine sérique, elle peut être une aide pour le diagnostic différentiel de trois types d'azotémies: pré-rénale, rénale et post-rénale.

On observe une augmentation de la concentration d'azote uréique dans le sang lors de dialyse non adéquate, de choc, de volume sanguin diminué (causes pré-rénales), de néphrite chronique, de néphrosclérose, de nécrose tubulaire, de glomérulonéphrite (causes rénales) et d'obstruction des voies urinaires (causes post-rénales). Des augmentations transitoires peuvent également être observées lors de périodes où l'apport protéique est élevé. Des taux inattendus apparaissent lors de troubles hépatiques.

Principe

Test cinétique utilisant l'uréase et la glutamate déshydrogénase.^{2,3,4,5}

Sous l'action de l'uréase, l'urée est hydrolysée en ammoniac et carbonate. Lors d'une seconde réaction, le 2-oxoglutarate réagit avec l'ammoniac en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) et de la coenzyme NADH pour former le L-glutamate. Dans cette réaction, deux moles de NADH sont oxydées en NAD⁺ pour chaque mole d'urée hydrolysée.



La vitesse de diminution du NADH est directement proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon. Elle est déterminée en mesurant l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon TRIS: 220 mmol/L; 2-oxoglutarate: 73 mmol/L; NADH: 2.5 mmol/L; ADP: 6.5 mmol/L; uréase (de Canavalia ensiformis): ≥ 300 µkat/L; GLDH (bovin): ≥ 80 µkat/L; stabilisateurs: pH 8.6

R1 est en position B.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquées dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption sur l'étiquette du cobas c pack.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C

8 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C

8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum

Plasma: sang total recueilli sur héparinate de lithium, EDTA ou fluorure. Ne pas utiliser d'héparinate d'ammonium.

Urine: Une croissance bactérienne dans l'échantillon ainsi qu'une concentration d'azote atmosphérique élevée et une contamination par des ions ammonium peuvent conduire à l'obtention de résultats faussement élevés.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

0004810716190COINV7.0

CREJ2

Créatinine Jaffé, 2ème génération - Urine

Références de commande

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
04810716 190	Creatinine Jaffé Gen.2 (700 tests)	System-ID 07 6928 2 COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6
03121313 122	Precinorm PUC (4 x 3 mL)	System-ID 07 6756 5
03121291 122	Precipath PUC (4 x 3 mL)	System-ID 07 6757 3

Français

Informations techniques

Test CRJ2U, test ID 0-546 sur les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus;
test ID 0-346 sur les analyseurs COBAS INTEGRA 800

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de la créatinine dans l'urine humaine sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques^{1,2,3,4,5}

La maladie rénale chronique comporte un risque important de morbi-mortalité cardiovasculaire et est un problème mondial. Les directives actuelles définissent la maladie rénale chronique comme une insuffisance rénale caractérisée par un taux de filtration glomérulaire (TFG) inférieur à 60 mL/min/1.73 m² pendant trois mois et plus, quelle qu'en soit la cause.

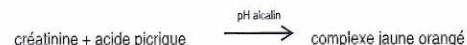
Le dosage de la créatinine dans le sérum ou le plasma est le test le plus communément pratiqué pour évaluer la fonction rénale. La créatinine est un produit de dégradation du phosphate de créatine dans le muscle. Elle est normalement produite à un taux constant en fonction de la masse corporelle. Elle est filtrée en très grande partie dans le glomérule mais n'est pas réabsorbée par les tubules en quantité appréciable. Une petite quantité significative est également sécrétée activement.

Comme la créatinine n'est augmentée dans le sang que lors de lésions des néphrons, celle-ci ne permet pas la détection précoce d'une affection rénale. La clairance de la créatinine, mesurée à partir de la concentration en créatinine dans l'urine, le sérum ou le plasma et le débit urinaire, constitue un test bien plus sensible donnant une meilleure estimation du taux de filtration glomérulaire (TFG). Pour réaliser ce test, les urines recueillies dans un laps de temps déterminé (habituellement 24 heures) et un échantillon de sang sont nécessaires. Cependant, comme ce test comporte un risque d'erreur en raison de l'étroitesse de la période du recueil de l'urine, des tentatives mathématiques d'estimation du TFG sur la seule base de la concentration en créatinine dans le sérum et le plasma ont été faites. Parmi les diverses approches suggérées, deux ont trouvé une large approbation: la formule de Cockcroft et Gault, et la formule MDRD. Tandis que la première est dérivée de données obtenues avec la méthode de Jaffé conventionnelle, une version plus récente de la seconde est utilisable pour les méthodes de mesure de créatinine traçables via DI-MS. Les deux formules sont applicables pour les adultes. Chez les enfants, il convient d'utiliser la formule de Schwartz.^{6,7,8,9}

En dehors du diagnostic et du traitement de l'insuffisance rénale, du monitoring de la dialyse rénale, les mesures de créatinine servent à calculer l'excrétion fractionnelle d'autres analytes (albumine, α -amylase, par ex.). De nombreuses méthodes de détermination de la créatinine ont été décrites. Parmi les tests automatisés utilisés en routine de laboratoire, on trouve la méthode de Jaffé au picrate alcalin sous diverses variantes et des méthodes enzymatiques.

Principe^{10,11,12}

Ce test colorimétrique cinétique se fonde sur la méthode de Jaffé. En milieu alcalin, la créatinine forme avec le picrate un complexe jaune rouge. La vitesse de formation de la coloration est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon.



Réactifs - composition et concentrations

R1 Hydroxyde de potassium: 900 mmol/L; phosphate: 135 mmol/L;
pH $\geq$ 13.5

cobas[®]
Substrats

SR Acide picrique: 38 mmol/L, pH 6.5; tampon non réactif

R1 est en position B et SR est en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Ce coffret contient les substances suivantes classées selon la directive européenne 1999/45/CE:



R1 contient de l'hydroxyde de potassium 5 % (p/p).

C Corrosif

- R 1 Explosif à l'état sec.
- R 4 Forme des composés métalliques explosifs très sensibles.
- R 34 Provoque des brûlures.
- S 24/25 Éviter le contact avec la peau et les yeux.
- S 26 En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
- S 35 Ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes précautions d'usage.
- S 36/37/39 Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage.
- S 45 En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).

Contact tél.: tous pays: +49-621-7590, USA: +1-800-428-2336

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 15 et 25 °C Voir date de péremption sur l'étiquette du cobas c pack.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus
Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C 8 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800
Sur l'analyseur, à 8 °C 8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons¹³

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Recueillir l'urine sans additifs. Si l'urine doit être recueillie avec un conservateur pour d'autres analytes, utiliser uniquement l'acide chlorhydrique (14 à 47 mmol/L d'urine, par ex. 5 mL 10 % HCl ou 5 mL 30 % HCl par litre d'urine) ou l'acide borique (81 mmol/L, par ex. 5 g par litre d'urine).

L'analyseur gère la prédilution des échantillons d'urine au 1/25 (rapport 1 + 24) avec de l'eau.

0004810716190COINV7.0

CREJ2

Créatinine Jaffé, 2ème génération - Urine

cobas[®]
Substrat

Stabilité sans conservateur: ¹⁴	2 jours entre 15 et 25 °C
	6 jours entre 2 et 8 °C
	6 mois entre -15 et -25 °C
Stabilité avec conservateurs: ¹⁵	3 jours entre 15 et 25 °C
	8 jours entre 2 et 8 °C
	3 semaines entre -15 et -25 °C

Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus: A chaque cobas c pack, tous les 7 jours et si le contrôle de qualité l'exige Analyseur COBAS INTEGRA 800: A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Applications pour l'urine**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	512/583 nm
Calc. premier/dernier	40/49
Mode réactionnel	D-R1-S-SR
Facteur de prédilution	25
Unité	mmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	13 µL	71 µL
Echantillon	10 µL	20 µL
SR	17 µL	16 µL
Volume total	147 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	512/583 nm
Calc. premier/dernier	55/70
Mode réactionnel	D-R1-S-SR
Facteur de prédilution	25
Unité	mmol/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	13 µL	41 µL
Echantillon	10 µL	30 µL
SR	17 µL	36 µL
Volume total	147 µL	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s. Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
-------------	--

Traçabilité: La méthode a été standardisée par rapport à l'ID/MS.^{a)}

Pour les USA, la méthode a été standardisée par rapport à un matériel de référence primaire (SRM^{b)} 914 et SRM 967 (ID/MS))

a) Dilution isotopique/spectrométrie de masse

b) Standard Reference Material

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm PUC
Limites pathologiques	Precipath PUC
Fréquence des contrôles	24 heures recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus/800).

Facteur de conversion: mmol/L x 11.3 = mg/dL

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: Recouvrement dans les limites de décision pour les adultes (créatinine: 20 mmol/L dans l'urine) $\pm$ 10 % de la valeur initiale.

Ictère: Pas d'interférence significative par la bilirubine jusqu'à 855 µmol/L (50 mg/dL).

Hémolyse: Pas d'interférence significative par l'hémoglobine jusqu'à 683 µmol/L (1100 mg/dL).

12 médicaments fréquemment administrés ont été testés in vitro: aucune interférence n'a été observée. Exception: L'hydroxocobalamine (Cyanokit) peut conduire à l'obtention de résultats artificiellement bas.

Le glucose < 117 mmol/L (< 2100 mg/dL) et l'urobilinogène < 676 µmol/L (< 40 mg/dL) ne gênent pas la réaction.

Des concentrations élevées d'acide homogentisique dans les échantillons d'urine conduisent à l'obtention de résultats erronés.

La présence de corps cétoniques peut conduire à l'obtention de résultats artificiellement élevés dans l'urine.

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.¹⁶

L'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) à partir de la formule de Schwartz peut conduire à une surestimation.¹⁷

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de lavages spéciaux: Sur les analyseurs COBAS INTEGRA, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour de plus amples

0003163807180C0INV7.0

UA2

Uric Acid ver.2

Références de commande

cobas®
Substrats

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
03183807 190	Uric Acid ver.2 (400 tests)	System-ID 07 6615 1 COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 7999 7
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 8000 6
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7469 3
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7470 7

Français

Informations techniques

Test UA2, test ID 0-615 (sérum, plasma)
Test UAU2, test ID 0-515 (urine)

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'acide urique dans des échantillons de sérum, de plasma et d'urine humains sur les systèmes COBAS INTEGRA.

Caractéristiques^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14}

L'acide urique est le produit final du métabolisme des purines dans l'organisme humain. Le dosage de l'acide urique s'utilise dans le diagnostic et le suivi d'atteintes rénales et de troubles du métabolisme, tels que l'insuffisance rénale, la goutte, les leucémies, le psoriasis, dans les états de jeûne ou d'autres troubles nutritionnels ainsi que chez les patients sous traitement cytostatique.

L'oxydation de l'acide urique est à la base de deux procédés permettant la détermination quantitative de ce produit du métabolisme des purines. L'un fait appel à la réduction de l'acide phosphotungstique dans une solution alcaline, le bleu de tungstène formé est mesuré par photométrie. Cette méthode n'est pas spécifique en raison de l'interférence de médicaments et de substances réductrices autres que l'acide urique.

Le deuxième procédé, décrit par Praetorius et Poulsen, fait appel à l'uricase pour l'oxydation de l'acide urique. Ce procédé ne présente plus les interférences inhérentes à l'oxydation chimique. L'uricase peut être utilisée dans des tests UV (mesure de la consommation d'acide urique dans l'UV) ou colorimétriques (en faisant appel à d'autres enzymes).

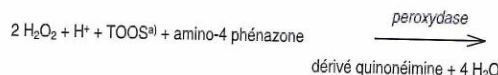
Un test colorimétrique a été développé par Town et coll. L'échantillon est incubé en présence d'un réactif contenant de l'ascorbate oxydase et un système clarifiant. L'acide ascorbique est éliminé dans une réaction préliminaire pour ne pas gêner la réaction indicatrice. Après addition du réactif de déclenchement de la réaction, commence l'oxydation de l'acide urique en présence d'uricase.

La méthode Roche décrite ci-dessous est une variante de la méthode colorimétrique décrite précédemment. En présence de peroxydase (POD), l'eau oxygénée formée réagit avec l'amino-4 phénazone et le TOOS pour former un complexe quinonéimine. L'intensité de la coloration rouge développée est directement proportionnelle à la concentration en acide urique dans l'échantillon et est mesurée par photométrie.

Principe

Test colorimétrique enzymatique

L'acide urique est catalysée par l'uricase pour former de l'allantoïne et de l'eau oxygénée.



a) [N-éthyl-(3-méthylanilino)]-2-hydroxypropyl-3-sulfonate de sodium

L'intensité de la couleur de la quinonéimine formée est directement proportionnelle à la concentration d'acide urique qui est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 552 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon phosphate: 0.05 mol/L, pH 7.8; TOOS: 7 mmol/L; monoéthyl d'alcool gras de polyéthylène glycol: 4.8 %; ascorbate oxydase (EC 1.10.3.3; cucurbita) ≥ 83.5 µkat/L (25 °C); stabilisateurs

SR Tampon phosphate: 0.1 mol/L, pH 7.8; hexacyanoferrate (II) de potassium: 0.3 mmol/L; amino-4 phénazone ≥ 3 mmol/L; uricase (EC 1.7.3.3; d'Arthrobacter protophormiae) ≥ 83.4 µkat/L (25 °C); peroxydase (POD) (de raifort; EC 1.11.1.7) ≥ 50 µkat/L (25 °C); stabilisateurs

R1 est en position B et SR est en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Ce coffret contient des substances classées de la manière suivante selon le règlement CE 1272/2008:

Substances dangereuses:

3,6,9,12,15,18,21,24,27-nonaoxanonatriacotan-1-ol
Isodécanol éthoxylé

0003183807190C0INV7.0

UA2

Uric Acid ver.2



Danger

H318 Provoque des lésions oculaires graves.

Prévention

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

Réponse

P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P310 Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

Contact tél.: tous pays: +49-621-7590, USA: +1-800-428-2336

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c** pack.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C 12 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C 8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum

Plasma: sang total recueilli sur héparine (Li, Na, NH₄⁺) ou sur EDTA (K₂, K₃)

Les résultats obtenus dans le plasma recueilli sur EDTA sont d'environ 8 % inférieurs à ceux obtenus dans le sérum.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Urine: effectuer l'analyse aussitôt que possible. Ne pas réfrigérer. Afin d'éviter la précipitation d'urée dans les échantillons d'urine, ajouter de l'hydroxyde de sodium pour conserver l'urine alcaline (pH > 8,0). Pour garantir l'obtention de la stabilité de l'acide urique indiquée, ajouter du NaOH avant le recueil de l'échantillon.

L'analyseur gère la prédilution des échantillons d'urine au 1/11 (rapport 1+10) avec de l'eau.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité dans le sérum/plasma:¹⁵ 5 jours entre 2 et 8 °C
6 mois entre -15 et -25 °CStabilité dans l'urine¹⁶ 4 jours entre 15 et 25 °C
(additionnée de NaOH):cobas®
Substrats**Matériel fourni**

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum, le plasma et l'urine**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	552/659 nm
Calc. premier/dernier	33/39
Unité	µmol/L
Sérum, plasma	
Mode réactionnel	R1-S-SR
Urine	
Mode réactionnel	D-R1-S-SR
Facteur de prédilution	11

Paramètres de pipetage

Sérum, plasma, urine		Diluant (H ₂ O)
R1	72 µL	
Echantillon	3 µL	45 µL
SR	14 µL	
Volume total	134 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	552/659 nm
Calc. premier/dernier	44/55
Unité	µmol/L
Sérum, plasma	
Mode réactionnel	R1-S-SR
Urine	
Mode réactionnel	D-R1-S-SR
Facteur de prédilution	11

Paramètres de pipetage

Sérum, plasma, urine		Diluant (H ₂ O)
R1	72 µL	
Echantillon	3 µL	45 µL
SR	14 µL	
Volume total	134 µL	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s. Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
Type calibration	Régression linéaire

0020764949322COINV7.0

ASTL

Aspartate Aminotransferase

Références de commande

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
20764949 322	Aspartate Aminotransferase (500 tests)	System-ID 07 6494 9 COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 7999 7
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 8000 6
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7469 3
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7470 7

Français**Informations techniques**

Test ASTL, test ID 0-494

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'activité catalytique de l'AST (EC 2.6.1.1; L-aspartate: 2-oxoglutarate aminotransférase) dans le sérum et le plasma humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

La présente fiche technique décrit l'application pour l'AST sans activation par le pyridoxal phosphate (test ASTL, 0-494). L'application pour l'AST avec activation par le pyridoxal phosphate est décrite dans la fiche technique Aspartate Aminotransferase - Pyridoxal phosphate activated.

Caractéristiques^{1,2}

L'aspartate-aminotransférase (AST) est présente dans de nombreux tissus et plus particulièrement dans les tissus hépatique, cardiaque, musculaire, ainsi que dans les reins. Les maladies impliquant ces tissus se manifestent par des taux sériques élevés. Les maladies hépatobiliaires comme la cirrhose, les carcinomes métastatiques et les hépatites virales augmentent également les taux d'AST dans le sérum. Suite à un infarctus du myocarde, le taux d'AST sérique augmente et atteint son maximum 2 jours après l'attaque.

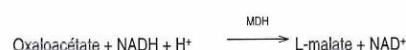
Le taux d'AST sérique peut être diminué chez les patients dialysés ou présentant une carence en vitamine B₆. Cette diminution apparente de l'activité de l'AST peut être due à une diminution du pyridoxal phosphate, groupement prosthétique des AST, conduisant à une augmentation du rapport apoenzyme/holoenzyme.

2 isoenzymes de l'AST ont été détectées, l'une cytoplasmique et l'autre mitochondriale. Le sérum normal ne contient que des isoenzymes cytoplasmiques. En revanche, lors des maladies coronariennes ou hépatobiliaires, le sérum contient les deux formes d'isoenzyme.

Principe

Selon les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) mais sans pyridoxal-5'-phosphate.^{3,4}

L'AST de l'échantillon catalyse le transfert du groupement amine entre le L-aspartate et le 2-oxoglutarate pour former de l'oxaloacétate et du L-glutamate. L'oxaloacétate réagit ensuite avec le NADH, en présence de malate-déshydrogénase (MDH), pour former du NAD⁺.



La vitesse de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'AST. Elle est déterminée par la diminution de l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon TRIS: 264 mmol/L, pH 7.8 (37 °C); L-aspartate: 792 mmol/L; MDH (de microorganismes): ≥ 24 µkat/L; LDH (de microorganismes): ≥ 48 µkat/L; albumine (bovine): 0.25 %; conservateur

SR NADH: ≥ 1.7 mmol/L; 2-oxoglutarate: 94 mmol/L, conservateur

R1 est en position A, SR est en position B et C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c pack**.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C

12 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C

12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

0020764957322COINV7.0

ALT

Alanine aminotransférase

Références de commande

cobas[®]
Enzymes

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
20764957 322	Alanine Aminotransférase (500 tests)	System-ID 07 6495 7
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 7999 7
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 8000 6
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7469 3
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7470 7

Français

Informations techniques

Test ALT, test ID 0-495

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'activité catalytique de l'ALT (EC 2.6.1.2; L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransférase) dans le sérum et le plasma humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

La présente fiche technique décrit l'application pour l'ALT sans activation par le pyridoxal phosphate (test ALT, 0-495). L'application pour l'ALT avec activation par le pyridoxal phosphate est décrite dans la fiche technique Alanine Aminotransférase *Pyridoxal Phosphate Activated*.

Caractéristiques^{1,2}

L'enzyme alanine-aminotransférase (ALT) est présente dans de nombreux tissus. On la trouve surtout dans le foie, d'où l'intérêt de mesurer son activité pour le diagnostic des maladies hépatiques. Les taux sériques d'ALT sont élevés lors d'hépatite, de cirrhose, d'ictère par obstruction, d'épithéliome du foie, de même que chez les alcooliques chroniques. L'ALT est légèrement élevée chez les patients souffrant d'un infarctus du myocarde sans complication.

Bien que l'AST (aspartate-aminotransférase) et l'ALT sériques augmentent toutes les deux lorsque une maladie altère l'intégrité des cellules hépatiques, l'ALT est plus spécifique du foie. De plus, les augmentations d'activité de l'ALT persistent davantage que celles de l'AST.

Chez les patients présentant une carence en vitamine B₆, l'activité de l'aminotransférase sérique peut être diminuée. Cette diminution apparente de l'activité de l'aminotransférase peut être due à une diminution du pyridoxal phosphate, groupement prosthétique des aminotransférases, conduisant à une augmentation du rapport apoenzyme/holoenzyme.

Principe

Selon les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) mais sans pyridoxal-5'-phosphate.^{3,4}

L'ALT catalyse la réaction entre la L-alanine et le 2-oxoglutarate. Le pyruvate formé est réduit par le NADH, dans une réaction catalysée par la lactate-déshydrogénase (LDH), pour former du L-lactate et du NAD⁺.



La vitesse initiale de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'ALT. Elle est déterminée par la diminution de l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon TRIS: 224 mmol/L, pH 7.3 (37 °C); L-alanine: 1120 mmol/L; albumine (bovine): 0.25 %; LDH (de microorganismes): ≥ 45 µkat/L; stabilisateurs; conservateur

SR 2-Oxoglutarate: 94 mmol/L; NADH: ≥ 1.7 mmol/L; conservateur

R1 est en position B et SR est en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c** pack.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C

12 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C

12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons indiqués ci-dessous ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum (exempt d'hémolyse)

Plasma (exempt d'hémolyse): Plasma recueilli sur héparinate de lithium ou EDTA. Ne pas utiliser d'autres anticoagulants.

Utiliser de préférence du sérum exempt d'hémolyse.

0020764957322C0INV7.0

ALTL**Alanine aminotransférase**

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité:	3 jours entre 15 et 25 °C ^{5,6}
	7 jours entre 2 et 8 °C ^{5,6}
	> 7 jours à -70 °C ⁶

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum et le plasma**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Décroissant
Longueur d'onde A/B	340/378 nm
Calc. premier/dernier	39/64
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	59 µL	10 µL
Echantillon	11 µL	26 µL
SR	17 µL	9 µL
Volume total	132 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Décroissant
Longueur d'onde A/B	340/378 nm
Calc. premier/dernier	54/97
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	59 µL	10 µL
Echantillon	11 µL	26 µL
SR	17 µL	9 µL
Volume total	132 µL	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s. Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
-------------	---

cobas[®]
Enzymes

Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité: La méthode a été standardisée manuellement par rapport à la formule originale de l'IFCC mais sans pyridoxal-5'-phosphate (utilisation de pipettes calibrées et d'un photomètre manuel donnant des valeurs absolues, et calcul de l'activité enzymatique à l'aide du coefficient d'extinction ϵ spécifique du substrat).⁷

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm U, Precinorm U plus ou PreciControl ClinChem Multi 1
Limites pathologiques	Precipath U, Precipath U plus ou PreciControl ClinChem Multi 2
Fréquence des contrôles	24 heures recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement l'activité en analyse de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus/800).

Facteur de conversion: U/L $\times$ 0.0167 = μ kat/L

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: Recouvrement $\pm$ 10 % de la valeur initiale.

Sérum, plasma

Ictère:⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 pour la bilirubine conjuguée et non conjuguée (concentration approximative en bilirubine conjuguée et non conjuguée: 1026 μ mol/L ou 60 mg/dL).

Hémolyse:⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 130 (concentration approximative d'hémoglobine: 81 μ mol/L ou 130 mg/dL).

Lipémie (Intralipid):⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 150. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre l'indice de turbidité L et la concentration en triglycérides.

Les échantillons lipémiques peuvent être à l'origine de l'alarme > Abs.

Sélectionner la réanalyse automatique après dilution de l'échantillon.

Anticoagulants: Le citrate et le fluorure inhibent l'activité enzymatique.

Médicaments: Aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques dans un panel de médicaments fréquemment administrés.⁹

¹⁰ Exceptions: Le dobesilate de calcium, le monohydrate de doxycycline ont conduit, aux concentrations testées, à l'obtention de valeurs d'ALT artificiellement basses. L'isoniazide peut conduire, aux concentrations thérapeutiques, à l'obtention de valeurs d'ALT artificiellement basses. Le furosémide peut conduire, aux concentrations thérapeutiques, à l'obtention de valeurs d'ALT artificiellement élevées. L'hydroxocobalamine (Cyanokit) peut conduire à l'obtention de résultats faussement bas. Les concentrations physiologiques de sulfasalazine et de sulfapyridine peuvent conduire des résultats erronés.

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.¹¹

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de lavages spéciaux: Sur les analyseurs

010333752190C0INV3.0

ALP2

ALP IFCC 2e génération Tube primaire

Références de commande

cobas[®]
Enzymes

REF	CONTENT		cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
03333752 190	ALP IFCC Gen.2 Small (200 tests)	System-ID 07 6761 1	COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
03333701 190	ALP IFCC Gen.2 Large (400 tests)	System-ID 07 6760 3	COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6	
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0	
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0	
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9	
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7	

Français**Informations techniques**

cobas c pack ALP2S, Réf. 03333752 190:

Test AP2SP, test-ID 0-554

cobas c pack ALP2L, Réf. 03333701 190:

Test AP2LP, test-ID 0-553

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'activité catalytique de la phosphatase alcaline (EC 3.1.3.1; orthophosphorique monoester phosphohydrolase, alcaline optimum) dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA Les applications AP2SP et AP2LP sont destinées aux utilisateurs ayant obtenu des résultats erronés dus à un gradient de phosphatase alcaline dans les tubes primaires de plasma.

Caractéristiques^{1,2,3,4,5,6}

La phosphatase alcaline sérique est constituée de quatre types différents de phosphatase alcaline codés par quatre gènes structuraux différents: la phosphatase alcaline d'origine hépatique, osseuse et rénale, la phosphatase alcaline intestinale, la phosphatase alcaline placentaire et la phosphatase alcaline des cellules germinales. La phosphatase alcaline se trouve dans les ostéoblastes, les hépatocytes, les leucocytes, le rein, la rate, le placenta, la prostate et l'intestin grêle. La phosphatase alcaline d'origine hépatique, osseuse et rénale présente une importance toute particulière.

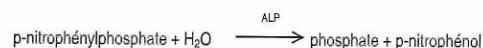
Une augmentation du taux de phosphatase alcaline se rencontre dans toutes les formes de cholestase, en particulier en cas d'ictère par obstruction. Elle est également augmentée dans les maladies osseuses (maladie de Paget, hyperparathyroïdie, rachitisme, ostéomalacie) ainsi qu'en cas de fractures et de tumeurs malignes. Une augmentation importante de l'activité de la phosphatase alcaline peut être observée temporairement chez les enfants et les adolescents; elle est due à une activité accrue des ostéoblastes par suite d'une accélération de la croissance osseuse.

La méthode de dosage de la phosphatase alcaline a été décrite pour la première fois par King et Armstrong; elle a ensuite été modifiée par Ohmori, puis par Bessey, Lowry et Brock et améliorée par Hausamen et coll. En 1983, la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) a recommandé une méthode standardisée de détermination de l'activité de la phosphatase alcaline avec une concentration optimisée de substrat et utilisation d'amino-2 méthyl-2 propanol(-1) avec des cations magnésium et zinc comme tampon. La méthode décrite ci-après est conforme aux recommandations de l'IFCC.

Principe⁶

Test colorimétrique selon une méthode standardisée.

En présence d'ions magnésium et zinc, le p-nitrophénylphosphate est scindé par les phosphatases alcalines en phosphate et p-nitrophénol.



La quantité de p-nitrophénol libéré est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 409 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Amino-2 méthyl-2 propanol(-1): 1.724 mol/L, pH 10.44 (30 °C);
acétate de magnésium: 3.83 mmol/L; sulfate de zinc:
0.766 mmol/L; acide N-(hydroxy-2
éthyl)-éthylènediaminetriacétique: 3.83 mmol/L

SR p-nitrophénylphosphate: 132.8 mmol/L, pH 8.5 (25 °C);
conservateurs

R1 est en position B et SR est en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Ce coffret contient les substances suivantes classées selon la directive européenne 1999/45/CE:



Le réactif R1 contient de l'amino-2 méthyl-2 propanol(-1).
Irritant

R 36/38 Irritant pour les yeux et la peau.

S 24/25 Éviter le contact avec la peau et les yeux.

Contact tél.: tous pays: +49-621-7590

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption
sur l'étiquette du
cobas c pack.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C 4 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C 8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

010333752190C00WV3.0

ALP2

ALP IFCC 2e génération Tube primaire

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum: Prélever le sérum sur des tubes standard.

Plasma: Plasma recueilli sur héparinate de lithium, de sodium, d'ammonium

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité: ⁷	7 jours entre 15 et 25 °C
	7 jours entre 2 et 8 °C
	2 mois entre -15 et -25 °C

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum et le plasma**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	D-R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	409/659 nm
Calc. premier/dernier	41/64
Facteur de prédilution	10
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	75 µL	11 µL
Echantillon	27.5 µL	
SR	17 µL	10 µL
Volume total	140.5 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	D-R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	409/659 nm
Calc. premier/dernier	58/98
Facteur de prédilution	10
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	75 µL	11 µL
Echantillon	27.5 µL	

cobas[®]
Enzymes

SR	17 µL	10 µL
Volume total	140.5 µL	
Calibration		
Calibrateur	Calibrator f.a.s. Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.	
Type calibration	Régression linéaire	
Nombre de répliques	Duplication recommandée	
Fréquence des calibrations	A chaque lot	
Traçabilité:	la méthode a été standardisée manuellement par rapport à la formulation originale de l'IFCC.	
Contrôle de qualité		
Valeurs de référence	Precinorm U, Precinorm U plus ou PreciControl ClinChem Multi 1	
Limites pathologiques	Precipath U, Precipath U plus ou PreciControl ClinChem Multi 2	
Fréquence des contrôles	24 h recommandé	
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur	
Contrôle après calibration	Recommandé	

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus/800).

Facteur de conversion: U/L x 0.0167 = µkat/L

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: Recouvrement ± 10 % de la valeur initiale.

Ictère:⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 42 pour la bilirubine conjuguée et non conjuguée (concentration approximative en bilirubine conjuguée et non conjuguée: 718 µmol/L ou 42 mg/dL).

Hémolyse:⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 250 (concentration approximative d'hémoglobine: 155 µmol/L ou 250 mg/dL).

Lipémie (Intralipid):⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 2000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre l'indice de turbidité L et la concentration en triglycérides.

Médicaments: Aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques dans un panel de médicaments fréquemment administrés.^{9, 10}

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.¹¹

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de séquences de lavages spéciaux: Sur les analyseurs COBAS INTEGRA, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour plus d'informations, se référer au Recueil de Méthodologies, Introduction, Cycles de lavage supplémentaires.

Le cas échéant, la programmation des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doit être implémentée avant d'effectuer le rapport de ce test.

0103002721122C0INV8.0

GGT-2**γ-Glutamyl transférase, version 2 - Standardisation IFCC**

Références de commande

cobas®

Enzymes

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
03002721 122	γ-Glutamyltransférase ver.2 (400 tests)	System-ID 07 6598 8 COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7

Français**Informations techniques**

Test GGT12, test ID 0-498, standardisation IFCC

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'activité catalytique de la GGT (EC 2.3.2.2; peptide γ-glutamyl: acide aminé γ-glutamyl transférase) dans le sérum et le plasma humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques^{1,2,3,4,5}

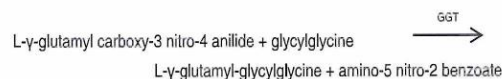
La détermination de la gamma-glutamyl transférase est utilisée dans le diagnostic et le suivi des affections hépatobiliaires. L'augmentation, souvent isolée, de l'activité de la GGT est l'un des indicateurs les plus sensibles d'une telle affection. La GGT est en outre un test sensible utilisé dans le dépistage de l'alcoolisme occulte. Des taux élevés de GGT dans le sérum se rencontrent également en cas de traitements de longue durée par le phénobarbital ou la phénytoïne.

La première méthode cinétique de détermination de l'activité de la GGT dans le sérum a été décrite par Szasz en 1969. En 1983, la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) a recommandé la méthode standardisée de détermination de l'activité de la GGT avec une concentration optimisée de substrat, l'utilisation de soude et de glycylglycine, ainsi que le déclenchement de la réaction avec l'échantillon. L'IFCC a confirmé cette recommandation en 2002 et étendu la méthode pour la détermination à 37 °C.⁶

Principe⁷

Test colorimétrique enzymatique

La gamma-glutamyl transférase transfère le groupement γ-glutamyl du L-γ-glutamyl carboxy-3 nitro-4 anilide sur la glycylglycine.



La quantité d'amino-5 nitro-2 benzoate formée est proportionnelle à l'activité de la GGT dans l'échantillon. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 409 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon TRIS: 492 mmol/L, pH 8.25; glycylglycine: 492 mmol/L; conservateur; additif

SR L-γ-glutamyl carboxy-3 nitro-4 anilide 22.5 mmol/L; acétate: 10 mmol/L, pH 4.5; stabilisateur; conservateur

R1 est en position B et SR est en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption sur l'étiquette du cobas c pack.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C

12 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C

12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés:

Sérum: Prélever le sérum sur des tubes standard.

Plasma: Sang total recueilli sur héparine (lithium, sodium, ammonium) ou

sur EDTA dipotassique ou tripotassique. Les résultats obtenus dans le plasma recueilli sur EDTA tripotassique sont d'environ 6 % inférieurs à ceux obtenus dans le sérum.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité: 7 jours entre 15 et 25 °C⁸7 jours entre 2 et 8 °C⁸1 an entre -15 et -25 °C⁹**Matériel fourni**

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

0103092721122COINV8.0

GGT-2**γ-Glutamyl transférase, version 2 - Standardisation IFCC****cobas®**
Enzymes**Application pour le sérum et le plasma****COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	409/659 nm
Calc. premier/dernier	50/69
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	25 µL	35 µL
Echantillon	3 µL	20 µL
SR	20 µL	20 µL
Volume total	123 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	409/659 nm
Calc. premier/dernier	73/98
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	25 µL	35 µL
Echantillon	3 µL	20 µL
SR	20 µL	20 µL
Volume total	123 µL	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s. Système COBAS INTEGRA 400 plus: STD-2 est défini comme valeur fixe. Système COBAS INTEGRA 800: STD-2 est défini par une dilution de STD-1 au 1/100 effectuée automatiquement par l'analyseur.
-------------	---

Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot

Traçabilité: La méthode a été standardisée par rapport à la formulation et aux procédures originales recommandées par l'IFCC.⁶ Utiliser la valeur de calibration « GGT liquide, standardisation IFCC ».

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm U, Precinorm U plus ou PreciControl ClinChem Multi 1
Limites pathologiques	Precipath U, Precipath U plus ou PreciControl ClinChem Multi 2
Fréquence des contrôles	24 heures recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur

Contrôle après calibration**Recommandé**

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies. Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement l'activité en analyse de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus/800).

Facteur de conversion: U/L × 0.0167 = µkat/L

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: Recouvrement ± 10 % de la valeur initiale.

Ictère:¹⁰ Pas d'interférence significative de la bilirubine non conjuguée jusqu'à un indice I de 48 (concentration approximative en bilirubine non conjuguée: 821 µmol/L ou 48 mg/dL). Pas d'interférence significative de la bilirubine conjuguée.

Hémolyse:¹⁰ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 550 (concentration approximative d'hémoglobine: 0.34 mmol/L ou 550 mg/dL).

Lipémie (Intralipid):¹⁰ Pas d'interférence significative.

Médicaments: Aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques dans un panel de médicaments fréquemment administrés.^{11, 12}

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.¹³

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de lavages spéciaux: Sur les analyseurs COBAS INTEGRA, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour de plus amples informations, se référer à la fiche technique CLEAN et la dernière version de la liste des cycles de lavage spéciaux (EWC).

Le cas échéant, des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doivent être implémentés avant d'établir un rapport avec ce test.

Limites et intervalles**Domaine de mesure**

3-1200 U/L (0.05-20 µkat/L)

Déterminer les échantillons ayant des activités plus élevées via la fonction Réanalyse. La dilution des échantillons déterminés par la fonction réanalyse est de 1/10. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 10.

Limites inférieures de mesure

Limite inférieure de détection du test:

3 U/L (0.05 µkat/L)

La limite inférieure de détection correspond à la plus faible concentration mesurable en analyte pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard zéro + 3s, répétabilité, n = 21).

Valeurs de référence

Etude des intervalles de référence à 37 °C (corrigés en 2005)^{14,15}

Hommes (n = 216)	10-71 U/L	(0.17-1.19 µkat/L)
Femmes (n = 228)	6-42 U/L	(0.10-0.70 µkat/L)

Valeurs consensuelles¹⁶

Hommes	< 60 U/L	(< 1.00 µkat/L)
Femmes	< 40 U/L	(< 0.67 µkat/L)

COBAS

INTEGRA 400/800

Enzymes

Réactifs - composition et concentrations

Composants	Concentrations		Test
	R1	R2 = SR	
HEPES	52,4	52,4	49,1 mmol/L
Chlorure de sodium	87		68 mmol/L
Chlorure de calcium	0,08		0,06 mmol/L
Chlorure de magnésium	12,6		9,8 mmol/L
α -Glucosidase (microbienne)	$\geq 66,8$		$\geq 52,3$ μ kat/L ($\geq 3,1$ kU/L)
Ethylidène-G7-PNP		22	3,4 mmol/L
pH (37 °C)	7,00	7,00	

Les deux réactifs contiennent un détergent et des stabilisateurs non réactifs.

Précautions d'emploi et mises en garde

Il est impératif d'observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde figurant dans le Recueil de Méthodologies, Chapitre 1, Introduction.

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8 °C : voir date de péremption sur l'étiquette du cobas c pack.

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C : 12 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C : 12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons^{9,12}

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés :

Sérum

Plasma recueilli sur héparinate de lithium, de sodium, d'ammonium ou EDTA dipotassique/tripotassique.

Les résultats obtenus pour le plasma recueilli sur EDTA sont d'env. 5 à 10 % inférieurs à ceux obtenus pour le sérum.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Urine : urine recueillie sans conservateur. L' α -amylase est instable dans l'urine acide. Effectuer promptement le dosage ou, en cas de conservation, alcaliniser l'urine (pH juste au-dessus de 7).¹³

Stabilité dans le sérum :¹³

7 jours entre 15 et 25 °C

1 mois entre 2 et 8 °C

Stabilité dans l'urine :¹⁴

2 jours entre 15 et 25 °C

10 jours entre 2 et 8 °C

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la

présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application dans le sérum, le plasma et l'urine**Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	409/659 nm
Calc. premier/dernier	50/69
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

Sérum, plasma et urine	Diluant (H ₂ O)	
R1	100 μ L	
Echantillon	4 μ L	4 μ L
SR	20 μ L	
Volume total	128 μ L	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	409/659 nm
Calc. premier/dernier	73/98
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

Sérum, plasma et urine	Diluant (H ₂ O)	
R1	100 μ L	
Echantillon	4 μ L	4 μ L
SR	20 μ L	
Volume total	128 μ L	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s. Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité : la méthode a été calibrée manuellement par rapport au réactif de Roche selon l'IFCC.

Contrôle de qualité

Contrôle de qualité	Precinorm U ou Precinorm U plus
sérum, plasma	Precipath U ou Precipath U plus
Urine	Pour le contrôle de qualité de routine, utiliser de préférence des contrôles urinaires quantitatifs.
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Référence des réactifs ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies.

Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.