

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité: Ecotoxicologie Animale

Intitulé :

"Toxicité subaiguë des Fe/Zn-NPs issues de feuilles
d'olivier chez *Oreochromis sp.* : approches intégrées en
écotoxicologie animale"

Présenté Par : BOUDEFFA Sana ; BOUFABA ines ;
BOUIDIOUA Abir & DRISS Nihal

Membre de Jury:

Mme. Zaidi Nedjouda (Prof)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Boucetta Sabrine (MCA)	Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Melle Boucetta Radja NADA(Doct)	Co-Promotrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Laib Imen (MCA)	Examineur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2024/2025

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions en premier lieu Allah le tout puissant de nous avoir donné la volonté d'entamer et terminer ce mémoire.

*Tout d'abord ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Mme. Dr. Boucetta Sabine** (MCA, université 20 août 55, Skikda), pour avoir accepté de diriger ce travail, et pour sa disponibilité, sa confiance et pour nous avoir fait bénéficier de son expérience et de précieux conseils.*

*Nous remercions et saluons vivement nos membres de jury,
Mme. Prof. Zaidi Nedjoua*

d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.

*Mes vifs remerciements s'adressent à **Mme. Imen LAIB**
qui a bien voulu examiner ce travail.*

Ces critiques et remarques nous seront d'une grande utilité.

*Toute notre gratitude et reconnaissance à **Radja Nada (doct)**,
pour sa disponibilité ses conseils .*

*Aux ingénieurs de laboratoire , notamment du hall
technologique **Mr Djilani Karim**, Université 20 Aout 55, Skikda.
Pour leurs conseils et leur aide, tout au long de notre séjour.*

*Nous remercions également à tout nous Enseignants
pour leurs générosités et grande patiences dont ils ont su faire preuve
malgré leurs charges académiques et professionnelles.*

*On tien chaleureusement à remercier tous ceux qui de près ou de
loin, nous ont apporté leur sollicitude pour accomplir ce travail.*

Dédicaces

Je rends grâce à Dieu pour chaque étape franchie et chaque soutien reçu.

Ce succès est le fruit de Sa bienveillance et de l'amour de ceux qui m'entourent.

*À mon père **Mohamed**, qui a toujours été mon modèle de persévérance et de sagesse, je dédie cette réussite avec tout mon respect et ma gratitude.*

*À ma mère **Rachida**, dont les prières et l'amour inconditionnel ont été ma force, je lui offre ce succès en témoignage de mon affection profonde.*

*À ma sœur **Safa** et à mes frères : **Abdellah, Abdelmoumen, Abdelhak et Abdellatif** votre soutien constant a été mon pilier.
Merci d'être toujours présents.*

*À mes amies **Ines et Abir**, merci pour vos encouragements et les moments partagés.
Vous avez rendu ce parcours plus léger et joyeux.*

Ce succès est le nôtre, et je suis honorée de le partager avec vous

Sana

Boudeffa Sana

2025

Dédicaces

*Avant toute chose, je rends grâce à **Allah**, Lui qui m'a guidée dans les moments de doute, soutenue dans les épreuves, et éclairée sur le chemin de la science, de la patience et de la persévérance. C'est par Sa lumière que ce travail a vu le jour.*

Je dédie ce travail à ceux et celles qui occupent une place unique dans mon cœur.

*À mon père bien-aimé, **Abdelouaheb**, Merci pour les principes et les valeurs que tu m'as transmis, pour ta confiance et ton amour silencieux.*

*À ma chère mère, **Saliha**, ton amour, ta patience et tes prières ont été ma force silencieuse. Qu'Allah te récompense pour tout ce que tu as donné, vu et ressenti sans jamais te plaindre.*

*À ma tante **Cherifa**, ton cœur généreux, tes conseils sincères et ton affection constante ont toujours su m'apaiser. Ta présence m'a donné la force dans les moments difficiles.*

*À mes frères : **Ala Eddine**, **Abderraouf** et mon jumeau **Ahmed Akram**, vous êtes ma force cachée, Votre présence a toujours été un soutien solide et précieux.*

*À mes sœurs : **Amina**, **Hadjer** et **Manel** et à **Mona** ma belle-sœur*

Merci pour votre amour sincère et votre soutien constant.

*À mes chers neveux et nièces : **Mohamed Racim**, **Sadja**, **Nour El Djinane**, **Tamim** et **Dania**,*

Vos sourires sont des rappels vivants de l'innocence, de l'espoir et de la joie pure.

Qu'Allah vous protège.

*À mes fidèles amies : **Sana**, **Abir** et **Nihed**, vous êtes plus que des camarades, vous êtes des sœurs de cœur. À travers les études et les épreuves de la vie, vous avez été des piliers, des confidentes et des soutiens sincères.*

*À **Hadjer** et **Lilia**, la distance physique n'a jamais affaibli le lien spirituel et affectif qui nous unit.*

Vous êtes des amies rares dont la présence se ressent dans le cœur, même en silence.

Vos mots et votre affection, même discrets, ont illuminé mes journées.

*Et enfin à moi-même **Inès***

Celle qui a douté, chuté, pleuré parfois... mais qui, par la grâce d'Allah, s'est toujours relevée.

Ce travail est le fruit d'une promesse intérieure. Ce travail est bien plus qu'un simple mémoire
:

C'est un chemin d'effort, une preuve de foi, un pas de plus sur la voie de la science utile.

Il s'est transformé en fruit mûr.

Avec tout mon respect, ma gratitude et ma foi.

Inès (Comaro)

Boyfafa Inès

2025

Dédicaces

Boudioua Abir

2025

Louange à Dieu, Seigneur des mondes, pour Ses innombrables bienfaits.
Par Sa grâce infinie, j'ai trouvé la force, la patience et la persévérance pour accomplir ce travail.

Je dédie ce modeste travail, du fond du cœur, à ceux qui ont été, après Dieu, mon soutien tout au long de ce parcours :

À mon cher père :

Tu as toujours été mon pilier, mon modèle et ma source d'inspiration.

Merci pour ton soutien inconditionnel, tes conseils, ta patience et ta présence constante. Que Dieu te protège et te comble de Ses bénédictions.

Ta fierté est ma plus belle récompense.

À ma chère maman "Farida" :

Maman, tu es le cœur de notre famille. Ton amour, ta tendresse et tes sacrifices m'ont portée jusqu'ici. Merci pour tout ce que tu fais et ce que tu es. Que Dieu te garde pour nous, je t'aime plus que les mots ne peuvent l'exprimer.

À mes frères et sœurs : Houda, Mounir, Iman et Saddam :

Votre amour, votre présence et vos encouragements ont été essentiels pour moi. Merci d'avoir toujours été là.

Et tout particulièrement à **ma petite sœur "Djihane" :**

Ton soutien, ton attention et ta tendresse m'ont profondément touchée.

Merci pour ta présence réconfortante à chaque étape.

À mes cousines proches Rayan et Hadeel :

Vous avez été là dans les moments les plus difficiles, avec vos paroles rassurantes et vos gestes pleins d'amour. Merci pour votre bienveillance, votre chaleur et votre complicité. Je suis fière de vous avoir dans ma vie.

À ma tante bien-aimée Amel Bouchâala :

Merci pour ton soutien précieux, ta gentillesse et ta sollicitude. Que Dieu te récompense pour tout ce que tu fais avec tant de générosité et d'amour.

À toute ma famille, avec mon amour et ma reconnaissance.

Et à **mes collègues et camarades : Nihel Driss, Sana Boudeffa, et Inès Boufafa :**

Merci pour votre collaboration, votre esprit d'équipe et votre implication. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous tout au long de ce projet. Votre énergie et vos idées ont enrichi cette expérience inoubliable.

Dédicaces

À la mémoire de mon père bien-aimé, **Ahmed Driss**,
père d'une sagesse infinie et d'une bonté rare,
dont l'absence a creusé un vide immense dans ma vie,
mais dont l'amour, les enseignements et les valeurs continuent de m'accompagner à
chaque pas.
Que Dieu lui accorde Sa miséricorde, l'accueille dans Son vaste paradis et lui offre la
paix éternelle

À ma précieuse mère, **Khamssa Zine**,
maman au cœur débordant d'amour et de patience,
qui a porté seule le poids des épreuves avec une force silencieuse et un courage
admirable,
dont les sacrifices quotidiens ont façonné la personne que je suis aujourd'hui.
Ton amour inconditionnel est ma plus grande richesse et mon refuge dans toutes les
tempêtes.

À mes sœurs chéries, **Aïcha** et **Yasmina**,
mes premières complices et alliées de toujours,
des femmes d'une force et d'une générosité rares,
qui ont su m'envelopper de leur amour, leur soutien indéfectible et leurs sages
conseils,
présentes dans chaque étape de ma vie, dans les joies comme dans les épreuves.

À **Chaïma**, ma sœur de cœur,
ma confidente, ma meilleure amie,
celle qui me comprend sans parler,
ta présence dans ma vie est un trésor d'amour, de tendresse et de complicité.

À **Kaouthar**, notre petite étoile,
ta joie, ta lumière, et ta spontanéité apportent un bonheur pur.
Ta tendresse et ton innocence sont une source d'inspiration et d'amour inestimable.

À **mes chers oncles**,
ces hommes d'une noblesse rare,
qui ont su, après la perte de mon père, devenir pour moi des piliers, des protecteurs et
des exemples.
Vous êtes l'image de la force tranquille et de la bonté véritable.
Merci d'avoir rempli ce vide avec tant d'amour et de présence.

À ma cousine et sœur de cœur, **Houria**,
ton amour m'a portée dans les moments les plus sombres,
ta loyauté et ta douceur font de toi une sœur à part entière.
Merci d'être toujours là, avec une présence vraie, tendre et lumineuse.

À **Noura, Nesrine et Kenza**,
pour leur affection, leur soutien et leur présence précieuse tout au long de mon
parcours.

Driss Nihel

2025



Résumés :

Résumés : Français, Anglais et Arabe

Intitulée : " Toxicité subaiguë des Fe/Zn-NPs issues de feuilles d'olivier chez *Oreochromis sp.* : approches intégrées en écotoxicologie animale ".

Spécialité : Ecotoxicologie Animale

Auteurs : BOUDEFFA Sana ; BOUFABA ines ; BOUIDIOUA Abir & DRISS Nihal

Année : 2024-2025

Résumé

La biosynthèse verte de nanoparticules constitue une voie alternative prometteuse pour améliorer la santé des poissons tout en limitant l'usage d'antibiotiques en aquaculture. Cette étude évalue les effets zootecniques, immuno-hématologiques et toxicologiques de deux formulations métalliques hybrides – **Fe/Zn-NPs-FOV** (issues de feuilles d'olivier vertes) et **Fe/Zn-NPs-FOD** (issues de feuilles d'olivier déposées) – administrées par voie alimentaire à *Oreochromis sp.* pendant huit semaines.

Sur 120 poissons, le groupe FOV a présenté la meilleure performance, avec un gain pondéral moyen de **35,2 ± 3,9 g** et un SGR de **1,52 ± 0,14 % j⁻¹**, contre **30,6 ± 3,5 g** pour FOD et **27,4 ± 2,9 g** chez les témoins. Les taux de survie ont atteint **100 % (FOV)** et **93 % (FOD)**, démontrant une bonne tolérance.

Les filets des poissons FOV affichaient la teneur protéique la plus élevée (**19,1 %**), tandis que FOD a induit une réduction significative des triglycérides musculaires. Les taux sériques de fer et de zinc ont augmenté respectivement jusqu'à **1 624 µg dL⁻¹** et **42 mg kg⁻¹** chez FOV, indiquant une reminéralisation efficace sans surcharge toxique.

Au niveau hématologique, les deux traitements ont stimulé l'hémoglobine (9,8 g dL⁻¹) et les globules rouges ($5,4 \times 10^6 \text{ mm}^{-3}$), ainsi que l'IgM sérique, sans provoquer d'anisocytose plaquettaire majeure. Les activités enzymatiques hépatiques sont restées dans les limites physiologiques pour FOD ; FOV a montré une élévation transitoire de la PAL, sans cytololyse.

Les essais Litchfield & Wilcoxon indiquent des **DL_{50-24 h} modérées : 0,398 mg g⁻¹ (FOV) et 0,382 mg g⁻¹ (FOD)**, avec des pentes probit raides, soulignant la nécessité d'un dosage précis. La **fenêtre thérapeutique optimale** se situe entre **0,19 et 0,31 mg g⁻¹ p.c.**, maximisant les bénéfices métaboliques tout en restant en-deçà des seuils toxiques.

À l'issue de ce travail de thèse, nous avons réussi à établir les bases d'une notice vétérinaire préliminaire pour les deux formulations, définissant les doses optimales, les paramètres de surveillance biologique, et les précautions d'usage chez les poissons d'élevage. Ce cadre pourrait servir de référence pour une future homologation en santé animale aquacole.

En conclusion, les **Fe/Zn-NPs-FOV** se révèlent particulièrement efficaces pour la croissance, la reminéralisation martiale et la stimulation immunitaire, tandis que les Fe/Zn-NPs-FOD se distinguent par leur effet hypolipémiant et leur stabilité métabolique. Ces résultats démontrent que des nanoparticules végétales formulées de manière raisonnée peuvent constituer une alternative sûre, efficace et durable aux antibiotiques en aquaculture intensive.

Mots-clés : Nanoparticules végétales ; synthèse verte ; *Olea europaea* ; fer-zinc ; croissance ; DL₅₀ ; immunité ; nutrition ; posologie vétérinaire. ; tilapia.

Titled: " Subacute Toxicity of Fe/Zn-NPs Synthesized from Olive Leaves in *Oreochromis* sp.: Integrated Approaches in Animal Ecotoxicology"

Speciality : Animal Ecotoxicology

Authors: BOUDEFFA Sana ; BOUFABA inès ; BOUIDIOUA Abir & DRISS Nihal

Year: 2024-2025

Summary

The green biosynthesis of nanoparticles is emerging as a promising alternative to antibiotics in aquaculture by enhancing fish health while minimizing chemical inputs. This study investigates the zootechnical, immuno-hematological, and toxicological effects of two hybrid metal-based formulations—**Fe/Zn-NPs-FOV** (from fresh olive leaves) and **Fe/Zn-NPs-FOD** (from deposited olive leaves)—administered orally to *Oreochromis* sp. over an eight-week period.

Among the 120 fish involved, the FOV group showed the best performance, with a mean weight gain of **35.2 ± 3.9 g** and a specific growth rate (SGR) of **1.52 ± 0.14 %/day**, compared to **30.6 ± 3.5 g** for FOD and **27.4 ± 2.9 g** in the control group. Survival rates reached **100% in FOV** and **93% in FOD**, indicating good tolerance.

FOV-treated fish displayed the highest muscle protein content (**19.1%**), while FOD induced a significant reduction in muscular triglycerides. Serum iron and zinc levels increased up to **1,624 µg/dL** and **42 mg/kg**, respectively, in FOV, reflecting effective remineralization without toxic overload.

Hematological analysis revealed enhanced hemoglobin levels (**9.8 g/dL**) and red blood cell counts (**5.4 × 10⁶/mm³**) in both treated groups, along with a marked rise in serum IgM, with no signs of platelet anisocytosis. Hepatic enzyme activities remained within physiological ranges for FOD; FOV exhibited a transient increase in alkaline phosphatase without signs of hepatocellular damage.

Litchfield & Wilcoxon bioassays determined moderate **24-h LD₅₀ values: 0.398 mg/g** for FOV and **0.382 mg/g** for FOD, with steep probit slopes emphasizing the importance of precise dosing. The **therapeutic window** was estimated between **0.19 and 0.31 mg/g body weight**, maximizing metabolic benefits while remaining below toxicity thresholds.

As a result of this doctoral work, we successfully developed a preliminary veterinary guideline for both formulations, outlining optimal dosages, key biological monitoring parameters, and usage precautions in aquaculture species. This framework may serve as a reference for future regulatory approval in aquatic animal health.

In conclusion, Fe/Zn-NPs-FOV proved highly effective in promoting growth, iron remineralization, and immune stimulation, whereas Fe/Zn-NPs-FOD showed hypolipidemic properties and stable metabolic responses. These findings support the rational use of plant-based nanoparticles as a safe, efficient, and sustainable alternative to conventional antibiotics in intensive aquaculture.

Keywords: Plant-based nanoparticles; green synthesis; *Olea europaea*; iron-zinc; growth; LD₅₀; immunity; nutrition; veterinary dosage; tilapia; aquaculture sustainability.

بعنوان: " السُمِّيَّة تحت الحادَّة للجسيمات النانوية Fe/Zn المُشتقة من أوراق الزيتون لدى *Oreochromis sp.* مقاربات متكاملة في السموم البيئية الحيوانية"

تخصص: علم السموم البيئية الحيوانية

المؤلفون: سناء بوضفة؛ إيناس بوقافة؛ عبير بويديوة؛ نهال دريس

سنة: 2025-2024

ملخص

تُعدّ التوليفات النانوية النباتية إحدى البدائل الواعدة للمضادات الحيوية في مجال الاستزراع السمكي. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثيرات الزوتقنية، الدموية المناعية، والسُمِّيَّة للتركيبتين المعدنيتين الهجينيتين (Fe/Zn-NPs) المشتقتين من أوراق الزيتون الخضراء (FOV) وأوراق الزيتون المترسبة (FOD)، بعد إدخالهما في الحماية الغذائية لأسماك *Oreochromis sp.* خلال فترة تجريبية دامت ثمانية أسابيع.

أظهرت النتائج أن مجموعة FOV حققت أفضل أداء نموي (35.2 ± 3.9) غ، بمعدل نمو نوعي $SGR = 1.52 \pm 0.14$ /يوم، تلتها مجموعة FOD (30.6 ± 3.5 غ)، في حين سجلت المجموعة الشاهدة أقل وزن نهائي. كما بلغت نسب البقاء 100 (FOV) و93 (FOD) %، ما يدل على تحمل جيد للعلاج.

من الناحية الغذائية، سجلت مجموعة FOV أعلى نسبة بروتين عضلي (19.1%)، في حين أظهرت مجموعة FOD تأثيرًا خافضًا للدهون الثلاثية العضلية. كما سجل ارتفاع معتبر في مستويات الحديد والزنك في المصل (1624 ميكروغرام/ديسيلتر و42 مغ/كغ على التوالي)، دون أعراض فرط تراكم سُمي.

أما التحاليل الدموية فقد بيّنت تحسُّنًا ملحوظًا في الهيموغلوبين (9.8 غ/ديسيلتر) وعدد الكريات الحمراء (5.4×10^6 /مم³)، إضافة إلى تنشيط مناعي عبر ارتفاع IgM، دون ظهور علامات إجهاد تأكسدي أو اضطرابات في الصفائح.

اختبارات السُمِّيَّة الحادة باستخدام نموذج Litchfield & Wilcoxon أظهرت قيم DL_{50} معتدلة بلغت 0.398 مغ/غ (FOV) و0.382 مغ/غ (FOD)، مع ميل حاد في منحنيات Probit، ما يستدعي تحديد جرعة دقيقة عند الاستخدام. وقد حُدِّت النافذة العلاجية المثلى بين 0.19 و0.31 مغ/غ من وزن الجسم.

وقد أفضت هذه الدراسة إلى صياغة مسودة أولية لنشرة بيطرية لكل من التركيبتين، تتضمن الجرعات الموصى بها، معايير المتابعة الحيوية، والتحذيرات الضرورية عند التطبيق في التربية المائية المكثفة.

ختامًا، تبيّن أن Fe/Zn-NPs-FOV تُحسِّن النمو والمناعة وإعادة التمعن الحديدي، بينما تتميز Fe/Zn-NPs-FOD بتأثيرها الخافض للدهون واستقرارها الأيضي. تمثل هذه النتائج خطوة واعدة نحو بديل آمن وفعال ومستدام للمضادات الحيوية في تربية الأسماك.

الكلمات المفتاحية: جسيمات نانوية نباتية؛ توليف أخضر؛ *Olea europaea*؛ الحديد والزنك؛ النمو؛ DL_{50} ؛ المناعة؛ التغذية؛ الجرعة البيطرية؛ الباطي.



Table des matières:

Table des matières, liste des figures et liste des tableaux.

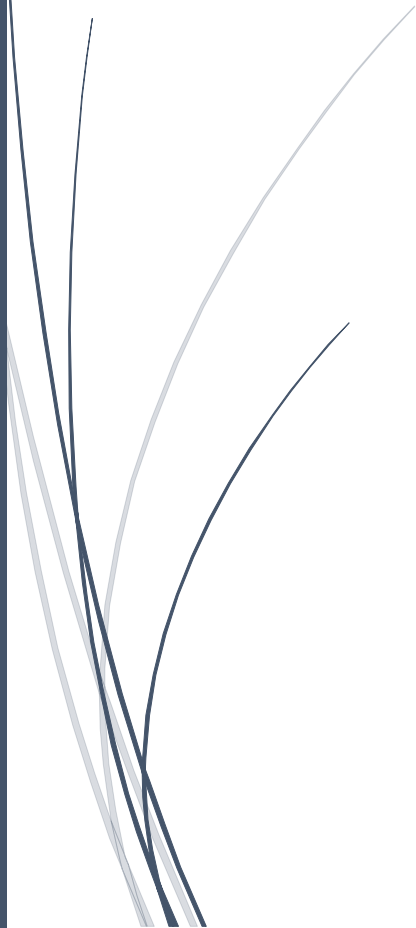


Table des matières

Remerciements & Dédicaces	
Résumé en 03 langues	
Table des matières	
Liste de figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
1.Contexte général : Les nanoparticules, une révolution scientifique.....	1
2.Rôle toxicologique, anticancéreux et phytothérapeutique des feuilles d'olivier.....	2
3.Intérêt des feuilles d'olivier dans la nanotechnologie et la nanoencapsulation.....	2
4.Risques émergents et préoccupations écotoxicologiques.....	3
5.Focus sur l'aquaculture : défis sanitaires et perspectives d'intégration des nanotechnologies vertes.....	4

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Collecte d'échantillons, traitement et synthèse des nano-particules	8
1.1. Produits chimiques et plante	8
1.2. Synthèse des nanoparticules Fe/Zn-NPs-FOD et FOV à partir d'extraits de feuilles d'olivier <i>Olea europaea</i> L.....	9
2. Animaux.....	11
2.1. Le Choix de l'animal.....	11
2.2. Poisson <i>Tilapia</i> du Nil.....	12
2.3. Conditions d'hébergement et d'alimentation.....	14
3. Bio-essais et condition d'élevages expérimentales.....	16
4. Formulation des aliments et préparation.....	17
5. Prélèvement du sang.....	20
6. L'étude histologique.....	21
6.1. Fixation et incubation.....	21
6.2. Enrobage et confection des coupes.....	22
6.3. Coloration et montage des coupes.....	22
7. Composition biochimique de la chair d' <i>Oreochromis. Sp.</i>	24
7.1. Extraction et dosage des constituants.....	24
7.1.1. Dosage des protéines.....	25
7.1.2. Dosage des glucides totaux.....	25
7.1.3. Dosage des lipides totaux	26
8. Evaluation de l'état de santé des bio-essaies.....	27
9. Analyses statistiques.....	29

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Masse et rendement de biosynthèse des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV).....	31
2. Survie, consommation alimentaire, performances de croissance et utilisation des aliments sous Fe-Zn NPs (FOD& FOV).....	32
2.1. Poids moyens et indices de croissance.....	32
2.2. Utilisation de l'aliment.....	33
2.3. Survie.....	33
3. Les symptômes morphologiques.....	34

4. Altération histopathologiques induites par les Fe-Zn NPs d'origine foliaire.....	37
4.1. Interprétation des lésions	38
4.2. Corrélations biologiques.....	40
5. Évaluation de l'état de santé générale des poissons.....	41
6. L'effet du régime alimentaire d' <i>Oreochromis</i> sp nourri avec deux(02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs FOD et FOV sur l'indice hémato-biochimique des bioessaies	42
5.1. Réponses érythrocytaires aux nanoparticules métalliques	44
5.2. Réponses leucocytaires et thrombocytaires aux nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD et FOV).	44
5.3. Évaluation hépatique comparative des groupes traités avec les nanoparticules	47
5.4. Bilan lipidique	
5.5. Bilan rénal.....	
5.6. Bilan glucidique et martial- Effets des traitements Fe/Zn-NPs-FOD et Fe/Zn-NPs-FOV..	
5.7. Synthèse générale comparative des bilans physiologiques chez <i>Oreochromis</i> sp. traités par les deux aliments nutraceutiques Fe/Zn-NPs-FOD et Fe/Zn-NPs-FOV.....	
6. Proposition de formulation nutraceutique intégrative à base de nanoparticules vertes chez <i>Oreochromis</i> sp.....	
7. Profil nutritionnel des bioessaies.....	
7.1 Composition biochimique du poisson entier d' <i>Oreochromis</i> sp. Nourris par les deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV).....	
8. Profil Eco- toxicologique (Méthode lichthfield et wilcoxon).....	
9. Discussion.....	49
9.1. Approche nutraceutique à base de Fe/Zn-NPs issues de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (FOD et FOV).....	49
9.2. Synthèse verte, disponibilité et potentiel écologique.....	50
9.3. Comparaison nutraceutique et efficacité métabolique	52
9.4. Positionnement technico-sanitaire et perspectives	52
9.5. Réponse immuno-hématologique modulée par les nanoparticules Fe/Zn issues de <i>Olea</i> <i>europaea</i>	53
9.6. Effets hépatométaboliques des nanoparticules Fe/Zn base de feuilles d'olivier...	56
9.7. Modulation de l'immunité adaptative par les nanoparticules Fe/Zn issues de feuilles.....	
9.8. Écotoxicologie et biosécurité : limites d'usage (DL ₅₀).....	
9.9. Performance zootechnique et assimilation nutritionnelle.....	
9.9.1. Gain de poids et indice de conversion alimentaire.....	
9.9.2. Taux d'assimilation nutritionnelle et utilisation protéique.....	
9.9.3. Tolérance métabolique à long terme.....	
9.10. Profil nutritionnel des poissons traités.....	
9.10.1. Teneur en protéines et croissance musculaire.....	
9.10.2. Teneur lipidique et équilibre énergétique.....	
9.10.3. Qualité globale du filet et potentiel commercial.....	
Conclusion générale	63
Perspectives de valorisation	
Références bibliographiques	

Liste des Figures

N° Figure	Titre	Page
Figure 1	Collecte d'échantillons, traitement et synthèse des nano-particules	09
Figure 2	Protocole de la synthèse verte des nano-particules	10
Figure 3	Le Bioessaie Tilapia Oreochromis sp	12
Figure 4	Acclimatation des bioessaies Tilapia Oreochromis sp	14
Figure 5	Paramètres physico-chimiques	15
Figure 6	Formulation pharmacologique des aliments	18
Figure 7	Paramètres Hémato-biochimique sanguin des bioessaies	20
Figure 8	Paramètres histologiques	22
Figure 9	Paramètres métabolites des bio-essaies	23
Figure 10	Photomicrographie de coupes des organes cibles chez Oreochromis sp de différents groupes nourris par Fe/Zn-NPs (FOV) (HP : complexe hepatopancreatique). ((x10 puis x40); le sens de la flèche : lésion).	35
Figure 11	Photomicrographie de coupes des organes cibles chez Oreochromis sp de différents groupes nourris par Fe/Zn-NPs (FOD) (HP : complexe hepatopancreatique). ((x10 puis x40); le sens de la flèche : lésion).	35
Figure12	Photomicrographie de coupes des organes cibles chez Oreochromis sp de différents groupes Témoin (HP : complexe hepatopancreatique). ((x10 puis x40); le sens de la flèche : lésion).	36
Figure 13	Globules rouges (A), Hb (B), Ht (C), MCV (D), MCH (E) et MCHC (F) d' Oreochromis sp nourri avec deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV).	41
Figure 14	Bilan immunologique [WBC (G), PLT (H), lymphocytes (I)], (K) d'Oreochromis sp nourri nourri avec deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV)	44
Figure15	Bilan hépatique : Cytolyse : TGO (ASAT), TGP (ALAT), Cholestase : Phosphatase alcaline, Bilirubine totale, Bilan hépatique et Synthèse hépatique : Albumine d' Oreochromis sp nourri nourri avec deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV).	46
Figure16	Bilan Lipidique(g/l) : Cholestérol(T), Triglcérides, LDLet HDL d' Oreochromis sp nourri avec nourri avec deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV).	48
Figure17	Bilan Rénal d'Oreochromis sp nourri nourri avec deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV).	50
Figure18	Bilan Glucidique (Glycémie (g/l) et Bilan Martial(Fer sérique (ug/dl) d' Oreochromis sp nourri nourri avec deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV).	52

Figure19	Composition approximative (Tissu ,HP et intestins ; $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) des Bioessais d'Oreochromis sp nourri avec deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV). (A : Protéine ; B : Glucides et C : Lipides) . Les valeurs (n = 3) sont moyennes \pm SE (erreur standard).	60
Figure20	Courbe dose-réponse (Leitchfield et wilcoxon) des doses Fe/Zn-NPs FOV.	61
Figure21	Courbe dose-réponse (Leitchfield et wilcoxon) des doses Fe/Zn-NPs FOD.	62
Figure22	Courbe dose-réponse (Probit) des DL50 des nanoparticules Fe/Zn-NPs à base de FOV et FOD.	64

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Limites de tolérance de certains paramètres physico-chimique <i>Oreochromis sp</i> (Arrignon,1996).	15
Tableau 2	Ingrédients et composition approximative des régimes expérimentaux (% de matière sèche).	21
Tableau 3	La gamme d'étalonnage de dosage des protéines (Bradford,1976) .	26
Tableau 4	Dosage des glucides totaux réalisation de la gamme d'étalonnage.	27
Tableau 5	la gamme d'étalonnage de dosage des lipides totaux.	28
Tableau 6	Masse et rendement de biosynthèse des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV)	30
Tableau 7	Performance de croissance des Bio-essaies d' <i>Oreochromis sp</i> recevant les deux (02) régimes alimentaires expérimentaux (FOD ; FOV).	33
Tableau 8	Symptômes morphologiques chez les bio-essaies (<i>Oreochromis sp</i>) observés dans le groupe témoin et les différents groupes expérimentaux.	34
Tableau 9	Altérations histopathologiques chez les bioessaies (<i>Oreochromis sp</i>) nourri avec deux (02) régimes supplémentés en des nanoparticules Fe/Zn-NPs (FOD) et Fe/Zn-NPs (FOV)	36
Tableau 10	Classement des groupes expérimentaux selon leur HAI	38
Tableau 11	"Effets comparés des nanoparticules Fe /Zn FOV et FOD sur la croissance, la survie, l'intégrité histologique et les mécanismes associés"	42
Tableau 12	Indices d'altération des organes et classement de la santé Bernet [72].	43
Tableau 13	Valeurs adaptative des extraits d'olivier dans la formulation verte des nanoparticules Fe/Zn-NPs-FOD et FOV	52
Tableau 14	Résultats comparatif DL ₅₀ (méthode litechelfield et wilcoxon) chez <i>Oreochromis sp</i> nourris par les deux (02) régimes Fe/Zn-NPs (FOD et FOV).	59



Introduction Générale

1. Contexte général : Les nanoparticules, une révolution scientifique

L'aquaculture, secteur en pleine expansion, joue un rôle crucial dans la sécurité alimentaire mondiale en compensant la stagnation des captures halieutiques (FAO, 2022). Toutefois, le développement intensif de cette activité s'accompagne de défis sanitaires majeurs, notamment la prolifération de pathogènes, le stress oxydatif et la détérioration de la qualité de l'eau (El-Sayed, 2020). Face à ces problématiques, l'usage intensif d'antibiotiques et de produits chimiques a soulevé des préoccupations liées à la résistance bactérienne, à la bioaccumulation et à l'impact environnemental (Rico et al., 2012).

Dans ce contexte, la recherche de solutions durables, respectueuses de l'environnement et économiquement viables est devenue une priorité. Parmi les alternatives émergentes, les **nanoparticules métalliques** biosynthétisées par des extraits de plantes attirent une attention croissante pour leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et immunostimulantes (Iravani, 2011; Ahmed et al., 2016). Ce procédé de **biosynthèse verte** offre l'avantage d'être non toxique, éco-compatible et peu coûteux comparé aux méthodes physiques et chimiques traditionnelles (Bar et al., 2009).

L'**olivier** (*Olea europaea*), espèce endémique du bassin méditerranéen, constitue une source végétale prometteuse pour la fabrication verte de nanoparticules. Ses feuilles, riches en composés phénoliques (oléuropéine, hydroxytyrosol, verbascoside), présentent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes bien documentées (Benavente-García et al., 2000; Sudjana et al., 2009). Plusieurs études ont démontré la capacité des extraits de feuilles d'olivier à réduire des ions métalliques en nanoparticules, tout en assurant leur stabilisation via les groupes fonctionnels des composés phénoliques (Gul et al., 2020).

Dans cette optique, l'utilisation de feuilles fraîches (Feuilles d'Olivier Vert, FOV) ainsi que de feuilles tombées naturellement et partiellement dégradées (Feuilles d'Olivier Déposées, FOD) présente un intérêt particulier. Cette valorisation de résidus végétaux non exploités s'inscrit dans une démarche d'économie circulaire. En parallèle, les nanoparticules de fer (Fe), dopées au zinc (Zn), sont particulièrement attractives pour l'aquaculture en raison de la synergie entre ces deux oligoéléments

essentiels. Le fer intervient dans le transport de l'oxygène et le métabolisme cellulaire, tandis que le zinc est impliqué dans les processus enzymatiques, la cicatrisation et l'immunité (Prasad, s. d.; Arif et al., 2021). Le dopage permet par ailleurs d'améliorer la stabilité, la biodisponibilité et l'activité biologique des nanoparticules [Shah et al., 2015].

L'espèce *Oreochromis sp.* (tilapia), modèle aquacole par excellence, est particulièrement adaptée pour ce type d'étude en raison de sa rusticité, de sa croissance rapide et de sa tolérance aux variations environnementales. Elle est souvent utilisée pour évaluer l'efficacité de nouveaux compléments alimentaires ou traitements naturels [El-Sayed, 2006 ; Abdel-Tawwab et al., 2019].

2. Rôle toxicologique, anticancéreux et phytothérapeutique des feuilles d'olivier

Les feuilles de l'olivier (*Olea europaea*) ont été utilisées depuis l'Antiquité dans la médecine traditionnelle méditerranéenne en raison de leur richesse en composés phénoliques aux vertus thérapeutiques reconnues. Parmi les principaux métabolites secondaires présents, l'oléuropéine, l'hydroxytyrosol et le tyrosol se distinguent par leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes puissantes (Benavente-García et al., 2000 ; El & Karakaya, 2009). Ces composés contribuent non seulement à la préservation de l'intégrité cellulaire, mais aussi à la régulation de voies métaboliques impliquées dans le développement de diverses pathologies, y compris le cancer.

L'oléuropéine a notamment démontré un fort potentiel anticancer, via l'induction de l'apoptose, l'inhibition de la prolifération cellulaire et la suppression de la néoangiogenèse tumorale (Bulotta et al., 2011 ; Hashmi et al., 2015). Des études in vitro ont montré son efficacité contre divers types de cellules cancéreuses, notamment le cancer du sein, du côlon, de la prostate et du poumon, sans affecter les cellules saines (Fares et al., 2020).

En phytothérapie moderne, les extraits de feuilles d'olivier sont de plus en plus valorisés comme agents naturels pouvant compléter les traitements conventionnels. Leur activité hépatoprotectrice, hypoglycémiante, antihypertensive et neuroprotectrice fait de cette plante une ressource précieuse dans le développement de nouveaux traitements phytopharmaceutiques (González et al., 2014 ; Lockyer et al., 2017). D'un point de vue toxicologique, les études de toxicité aiguë et subaiguë ont globalement montré que les extraits aqueux ou hydroalcooliques de feuilles d'olivier possèdent un profil sécuritaire élevé, avec des effets indésirables minimes même à des doses relativement élevées chez les modèles animaux (Hamdi et al., 2010 ; Mekni et al., 2013).

Ces multiples vertus pharmacologiques confèrent aux feuilles d'*Olea europaea* un intérêt croissant en nanomédecine, notamment dans le cadre de la **biosynthèse verte de nanoparticules** métalliques à visée thérapeutique. L'utilisation de ces extraits comme agents réducteurs et stabilisants dans la fabrication de nanoparticules contribue à réduire la toxicité environnementale tout en renforçant l'efficacité biologique des nanomatériaux produits.

3. Intérêt des feuilles d'olivier dans la nanotechnologie et la nanoencapsulation

Ces dernières années, l'essor de la nanotechnologie a révolutionné le domaine de la médecine, de l'environnement et de l'agroalimentaire, en particulier à travers le développement de nanoparticules métalliques (NPs) biosynthétisées à partir d'extraits végétaux. Dans ce contexte, les feuilles d'*Olea europaea* ont émergé comme une **source végétale prometteuse** pour la **synthèse verte** de nanoparticules, grâce à leur richesse en polyphénols, flavonoïdes, tanins et autres antioxydants naturels capables d'agir simultanément comme agents réducteurs et stabilisants (Salem et al., 2021 ; Nasrollahzadeh et al., 2019).

La **biosynthèse verte** constitue une alternative écologique et durable aux méthodes physico-chimiques classiques, souvent coûteuses et génératrices de résidus toxiques. L'emploi d'extraits de feuilles d'olivier permet ainsi de produire des nanoparticules d'argent (AgNPs), de fer (FeNPs), ou encore de zinc (ZnNPs),

présentant des propriétés biologiques remarquables telles qu'une activité antibactérienne, antioxydante, antifongique et anticancéreuse (Rasha et al., 2022 ; Khalil et al., 2017). Ces nanomatériaux montrent également un grand potentiel dans la dépollution des milieux aquatiques, notamment via la chélation ou la réduction des métaux lourds.

En parallèle, la **nanoencapsulation** à base de biomatériaux d'origine végétale, dont les composés bioactifs des feuilles d'olivier, ouvre de nouvelles perspectives pour améliorer la biodisponibilité, la stabilité et la délivrance ciblée des substances thérapeutiques. Les systèmes de libération contrôlée tels que les **nanocapsules**, **nanomicelles**, **liposomes** ou **nanogels** permettent de protéger les principes actifs contre la dégradation enzymatique ou oxydative, tout en assurant une libération prolongée au site d'action (Mukherjee et al., 2019 ; Singh et al., 2021). Dans ce cadre, les extraits de feuilles d'olivier nanoformulés sont étudiés comme vecteurs naturels pour des traitements anticancéreux ou anti-inflammatoires, en maximisant l'effet thérapeutique tout en réduisant les effets secondaires.

De surcroît, l'association des extraits de feuilles d'olivier avec des métaux dopés (comme le fer ou le zinc) dans des structures nanométriques offre un double avantage : une amélioration des propriétés physicochimiques des nanoparticules, et une synergie entre les effets pharmacologiques des métaux et ceux des composés végétaux. Ces **nanocomposites hybrides**, issus d'une approche éco-conçue, présentent ainsi un intérêt particulier dans les domaines de la médecine régénérative, du traitement des infections multirésistantes, ainsi que dans l'évaluation des interactions toxico-biologiques en aquaculture expérimentale.

4. Risques émergents et préoccupations écotoxicologiques

L'essor rapide des nanotechnologies et leur application croissante dans les domaines environnementaux et biomédicaux suscitent de vives inquiétudes quant à leurs effets potentiels sur les écosystèmes aquatiques. En particulier, les **nanoparticules métalliques (MNPs)** comme les **ZnO-NPs** et les **AgNPs** ont démontré, outre leurs bénéfices, des impacts biologiques parfois délétères.

Les **ZnO-NPs**, en raison de leur solubilité et de leur capacité à générer des **espèces réactives de l'oxygène (ROS)**, sont connues pour induire un **stress oxydatif**, des **perturbations enzymatiques**, une **inflammation tissulaire** et une **bioaccumulation** chez diverses espèces de poissons d'eau douce, notamment *Oreochromis niloticus* et *Cyprinus carpio* (Khan et al., 2015). Les **AgNPs**, quant à elles, bien que puissantes contre les agents pathogènes, peuvent causer une toxicité aiguë et chronique : leur taille nanométrique facilite la pénétration cellulaire, et l'ion Ag^+ libéré perturbe des fonctions cellulaires vitales, entraînant des effets négatifs sur la croissance, la reproduction et la survie de plusieurs espèces aquatiques (Fabrega et al., 2011).

Pour répondre à ces enjeux, les **Fe-Zn NPs** biosynthétisées à partir de **feuilles d'olivier vertes (FOV)** et **déposées (FOD)** s'inscrivent dans une démarche de **nanotechnologie verte**, conciliant efficacité thérapeutique et respect de l'environnement. Grâce à la richesse en composés antioxydants des extraits d'olive (tels que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol), ces nanoparticules présentent une **stabilité améliorée**, une **réduction de la toxicité** liée aux métaux libres et une **activité biologique ciblée**. Leur évaluation écotoxicologique représente donc une étape cruciale pour valider leur usage dans des systèmes aquatiques sensibles.

5. Focus sur l'aquaculture : défis sanitaires et perspectives d'intégration des nanotechnologies vertes

Face aux menaces sanitaires et environnementales croissantes, le secteur de l'aquaculture cherche à adopter des approches innovantes et durables. Les nanotechnologies, en particulier les formulations à base de **Fe-Zn NPs issues de FOV/FOD**, offrent une solution prometteuse pour répondre à ces défis, à condition d'en maîtriser les effets à long terme.

Les **ZnO-NPs** ont montré des effets positifs sur la **croissance**, l'**immunité** et la **résistance aux infections** chez les poissons d'élevage, mais elles présentent aussi des **effets toxiques à fortes doses**, notamment en induisant des déséquilibres

oxydatifs. Les AgNPs, bien qu'utilisées à très faibles concentrations, posent également des risques de **bioaccumulation** et de **toxicité chronique**.

Dans cette optique, les **Fe-Zn NPs phytosynthétisées à partir de feuilles d'olivier** offrent une alternative éco-innovante. Leur **encapsulation naturelle** dans une matrice riche en polyphénols permet une **meilleure biodisponibilité**, une **réduction des effets secondaires**, et une **synergie entre l'effet antioxydant et antimicrobien**. Ces nanostructures hybrides pourraient ainsi jouer un **rôle thérapeutique** en aquaculture tout en **stimulant la réponse immunitaire** et en **limitant les risques environnementaux**.

L'étude de leur impact sur un organisme modèle tel qu'*Oreochromis sp.* est donc essentielle pour déterminer leur **efficacité biologique**, leur **innocuité toxicologique** et leur **applicabilité dans un contexte aquacole durable**.

Justification et objectif de l'étude

Dans ce contexte d'innovation en nanomédecine verte, l'étude de nouveaux **nanomatériaux bio-inspirés** constitue une priorité afin de mieux comprendre leurs **interactions biologiques**, leur **toxicité potentielle** ainsi que leurs **applications thérapeutiques**. Les feuilles d'olivier, notamment sous leurs deux formes — **feuilles fraîches vertes (FOV)** et **feuilles sèches déposées (FOD)** — offrent un modèle idéal pour la **biosynthèse de nanoparticules dopées au fer et au zinc (Fe-Zn NPs)**, alliant biocompatibilité, fonctionnalité et potentiel thérapeutique.

Cependant, malgré l'intérêt croissant pour ces systèmes hybrides, **peu d'études se sont penchées sur leur impact toxicologique global**, notamment en conditions expérimentales contrôlées. À ce titre, les poissons téléostéens, et plus particulièrement *Oreochromis sp.*, représentent un excellent modèle biologique pour l'évaluation de la **toxicité subaiguë ou chronique** des nanomatériaux. En raison de leur **sensibilité hématologique**, de leur importance en aquaculture et de leur capacité à bioaccumuler les métaux, *Oreochromis sp.* permet une approche intégrée mêlant **biomarqueurs sanguins, réponses immunitaires et évaluations histopathologiques** (Velma et al., 2009 ; Ates et al., 2016).

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude, qui vise à **évaluer l'effet des nanoparticules biosynthétisées à partir des feuilles d'olivier (FOV et FOD), dopées au fer et au zinc**, sur la santé globale de *Oreochromis sp.*. L'approche adoptée repose sur une analyse comparative de plusieurs formulations nanométriques, afin d'explorer leur **potentiel thérapeutique, leur toxicité éventuelle** et leur **aptitude à être utilisées comme agents fonctionnels dans des stratégies de bioremédiation ou de traitement**. Les résultats attendus devraient contribuer à mieux cerner les **enjeux écotoxicologiques et pharmacologiques** liés à l'usage des nanomatériaux végétaux à base d'*Olea europaea*.



Chapitre 01 :

Matériels et Méthodes

