

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR -

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DE TOXICOLOGIE CELLULAIRE



THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3^{ème} cycle
Spécialité : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

THEME

Synthèse et caractérisation des hydroxydes doubles lamellaires :
application antibactérienne, cytotoxique et anticancéreuse

Présentée par : Mlle BOUROUBA Amira

Directeur de thèse : BENBOUZID Houneida Professeur, Prof., Université Badji Mokhtar- Annaba

Co-Directeur de thèse : Mr. BOUARROUDJ Tayeb MCA, CRAPC Tipaza

Membres de Jury:

Président : M. BENSOLTANE Samira Professeur, Université Badji Mokhtar- Annaba

Examineurs : M. BOURAOUI Houda MCA, Université Badji Mokhtar-Annaba

M. DAHAMNA Saliha Professeur, Université Ferhat Abbas Sétif 1

M. BECHEKER Imène Professeur, Université 20 Août 1955-Skikda

Année universitaire : 2025/2026

Table des matières

Remerciements	1
Résumé	1
Liste des abréviations.....	4
Liste des figures	8
Liste des tableaux	9
Introduction	1
Partie A : Revue Bibliographique.....	5
Chapitre 1. Généralités sur les nanomatériaux	5
1. Définitions et concepts de base.....	5
2. Classification des nanoparticules	5
2.1. Classification des nanomatériaux selon le nombre de dimensions	5
2.2. Classification des nanomatériaux selon leur origine.....	7
2.3. Classification des nanomatériaux selon leur nature	7
3. Propriétés des nanomatériaux.....	8
4. Domaines d'application des nanomatériaux.....	9
5. Les nanomatériaux dérivés d'hydroxydes doubles lamellaires.....	11
5.1. Définition des hydroxydes doubles lamellaires.....	11
5.2. Propriétés fonctionnelles et application des Hydroxyde Double Lamellaire	12
Chapitre 2 : Activité antibactérienne et résistance aux antibiotiques	15
1. Généralités sur les infections bactériennes	15
1.1. Modes de transmission des agents infectieux.....	15
1.1.1. Transmission par voie alimentaire.....	15
1.1.2. Transmission par voie hydrique.....	16
1.1.3. Infections associées aux soins (infections nosocomiales).....	16
1.1.4. Transmission par voie aérienne.....	16
1.1.5. Infections d'origine tellurique.....	16
1.1.6. Transmission vectorielle.....	16
2. Principes et mécanismes de la résistance aux antibiotiques	17
2.1. Définition de la résistance.....	17
2.1.1. Résistance naturelle.....	17
2.1.2. Résistance acquise	17
2.2. Mécanisme de résistance aux antibiotiques	18

2.2.1.	Inactivation enzymatique de l'antibiotique	19
2.2.2.	Altération de la cible bactérienne	19
2.2.3.	Pompes à efflux.....	19
2.2.4.	Protection de la cible	20
3.	Caractéristiques des souches microbiennes étudiées	20
Chapitre 3 : Biocompatibilité et Cytotoxicité des nanomatériaux.....		22
1.	Interactions des nanoparticules avec les systèmes biologiques	22
1.1.	Toxicocinétique et devenir intracellulaire chez les procaryotes	22
1.1.1.	Adsorption.....	22
1.1.2.	Internalisation des NPs	23
1.1.3.	Devenir intracellulaire	23
1.2.	Mécanismes d'adsorption et d'internalisation chez les eucaryotes.....	24
1.1.1.	Absorption et voies d'exposition	24
1.2.1.	Distribution systémique et cellulaire	24
1.2.2.	Métabolisme	24
1.2.3.	Élimination.....	25
2.	Mécanismes moléculaires de la cytotoxicité.....	25
2.1.	Stress oxydant.....	25
2.1.1.	Génération directe des espèces réactives de l'oxygène.....	25
2.1.2.	Induction indirecte des espèces réactives de l'oxygène.....	25
2.2.	Dysfonctionnement mitochondrial.....	26
2.3.	Réponses inflammatoires et immunotoxicité	26
2.4.	Génotoxicité et mutagenèse	27
2.4.1.	Domages à l'ADN	27
2.4.2.	Perturbations épigénétiques et génotoxicité secondaire	27
Chapitre 4 : Cancer Colorectal et stratégies anticancéreuses.....		29
1.	Généralités sur le Cancer Colorectal.....	29
1.1.	Définition.....	29
1.2.	Étiologie du cancer colorectal	29
1.3.	Caractérisation histopathologique.....	30
1.4.	Classification histologique des carcinomes colorectaux	30
1.4.1.	Adénocarcinome colorectal mucineux.....	30
1.4.2.	Adénocarcinome à cellules en bague à chaton.....	31
1.4.3.	Carcinome médullaire.....	32

3. Mécanismes moléculaires et voies de signalisation.....	32
3.1. Wnt/ β -caténine.....	32
3.2. PI3K/AKT/mTOR (PAM)	33
3.3. MAPK/ERK.....	33
3.4. TGF- β /SMAD	33
3.5. P 53.....	34
3.6. Voie de signalisation Notch	34
3.7. Voie Hedgehog (SHH)	35
3.8. Voie JAK/STAT.....	35
3.9. Voie TNF α /NF- κ B	35
3.10. Signalisation Insulin / IGF-1	36
4. Stratégies anticancéreuses conventionnelles	36
4.1. Chirurgie	36
4.2. Radiothérapie	36
4.3. Chimiothérapie	37
5. Limites des traitements conventionnels.....	37
6. Thérapies ciblées et nouvelles approches	37
6.1. Immunothérapie	38
6.2. Thérapie ciblée par anticorps monoclonaux.....	38
6.3. Nanomédecine.....	39
Partie B : Étude Expérimentale	45
Chapitre 1 : Matériel et Méthodes.....	45
1. Les nanocomposites de ZnNiAl.....	45
1.1. Techniques de synthèse.....	45
1.2. Caractérisation des nanoparticules ZnNiAl-HDLs.....	46
1.2.1. Caractérisation par diffraction des rayons X	46
1.2.2. Caractérisation par microscope électronique à balayage	47
1.2.3. Caractérisation par spectrométrie de dispersion d'énergie des rayons X.....	48
1.2.4. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	49
2. Activité biologique des nanocomposites de ZnNiAl	51
2.1. Matériel	51
2.1.1. Matériel chimique	51
2.1.2. Matériel biologique	51
2.1.2.1. Souches microbiennes	51

2.1.2.2.	Lignées cellulaires.....	52
2.1.2.3.	Animaux et conditions d'élevage	52
2.2.	Méthodes	53
2.2.1.	Activité antimicrobienne.....	53
2.2.1.1.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice par méthode de microdilution en milieu liquide	53
2.2.1.2.	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	54
2.2.2.	Activité antibiofilm.....	55
2.2.3.	Activité antioxydante	56
2.2.3.1.	Activité antioxydante des HDLs par la méthode DPPH	56
2.2.3.2.	Activité antioxydante des HDLs par la FRAP.....	57
2.2.4.	Activité cytotoxique.....	58
2.2.5.	Évaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë des ZnNiAl-HDL	60
2.2.6.	Modélisation <i>in vivo</i> du CCR et procédures de collecte des échantillons biologiques.....	61
2.2.7.	Dosages des marqueurs biochimiques et inflammatoires	62
2.2.8.	Étude des paramètres du stress oxydatif.....	63
2.2.9.	Examen histopathologique	66
2.2.10.	Analyse statistique.....	66
Chapitre 2 :	Résultats & Discussion	68
1.	Techniques d'analyse et de caractérisation	68
1.1.	Caractérisation par DRX.....	68
1.2.	Caractérisation par MEB	70
1.3.	Caractérisation par spectroscopie à dispersion d'énergie des rayons X	72
1.4.	Caractérisation par FTIR.....	72
2.1.	Activité antimicrobienne.....	74
2.1.1.	Effets des HDLs-ZnNiAl sur les bacilles à Gram positif	74
2.1.2.	Effet des HDLs de ZnAl ₂ O ₄ sur les bactéries à Gram négatif	75
2.1.3.	Effets des HDLs de ZnNiAl sur les mycètes	76
2.2.	Activité antibiofilm	79
2.3.	Activité antioxydante des nanocomposites ZnNiAl-MMO	81
2.4.	Activité cytotoxique	83
2.5.	Étude <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë des HDLs-ZnNiAl	85
2.5.1.	Histologie rénale	85

2.5.2. Effet des HDLs-ZnNiAl sur les paramètres biochimiques sériques	87
2.5.3. Effets des HDLs-ZnNiAl sur les marqueurs de stress oxydatif et de l'inflammation	88
2.5.4. Effets des HDLs-ZnNiAl sur les enzymes antioxydantes.....	89
2.6. Effets du nanocomposite ZnNiAl sur la carcinogenèse colorectale <i>in vivo</i>	90
2.6.1. Résultats histopathologiques du tissu colorectal chez les souris adultes après 12 semaines de traitement.....	91
2.6.2. Évaluation des paramètres pondéraux et du poids relatif du côlon des souris adultes.....	93
2.6.3. Effets des traitements sur les paramètres hématologiques et les marqueurs inflammatoires	94
2.6.4. Effets des traitements sur les marqueurs enzymatiques et non enzymatiques du stress oxydatif.....	97
2.6.5. Mécanismes d'action antitumorale des HDLs	100
Conclusion générale et perspectives	103
Références bibliographiques	106
Annexes	138

Remerciements

Tout d'abord, الحمد لله رب العالمين, je rends grâce à Dieu, le Tout-Puissant, de m'avoir dotée de volonté, de courage et de patience, et de m'avoir accordé la force et la persévérance nécessaires pour surmonter les difficultés et mener ce travail à bien.

Derrière chaque travail de recherche se cache un chemin fait de doutes, d'efforts et de détermination, mais aussi de rencontres et de soutiens précieux que je souhaite aujourd'hui reconnaître.

Je tiens à adresser mes remerciements les plus profonds à mon encadrante, **Mme BENBOUZID Hounaida**, pour la richesse de son savoir, la justesse de ses orientations et l'accompagnement constant dont elle a fait preuve tout au long de ce travail. Bien au-delà de son rôle académique, elle a su être un véritable pilier dans les moments de doute et de difficulté. Par sa patience, son écoute et sa bienveillance, elle m'a soutenue avec une générosité remarquable, trouvant toujours les mots justes pour raviver ma motivation lorsque celle-ci faiblissait. Sa rigueur scientifique, alliée à ses grandes qualités humaines, a profondément marqué mon parcours. Je lui exprime toute ma reconnaissance et ma gratitude pour son engagement, sa confiance et son soutien indéfectible, qui ont largement contribué à l'aboutissement de ce travail. C'est un honneur pour moi d'avoir été encadrée par une personne d'une telle valeur, dont l'empreinte restera durablement gravée dans mon cheminement académique et personnel.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements à mon co-encadrant, **M. BOUAAROU DJ Tayeb**, pour son précieux accompagnement et son implication constante tout au long de ce travail. Par ses conseils pertinents, sa disponibilité et son sens critique, il a contribué de manière significative à l'orientation et à l'amélioration de cette recherche. Par son soutien, sa patience et son sens de l'écoute, il a su m'apporter l'encouragement nécessaire dans les moments de doute, tout en me guidant avec rigueur et exigence scientifique. Je lui adresse ma profonde gratitude pour son engagement, sa confiance et son aide précieuse, qui ont largement contribué à l'aboutissement de ce travail. Je garderai un grand respect pour la qualité de son encadrement et l'influence positive qu'il a exercée sur mon parcours.

Je remercie Mme **BENSOLTANE Samira**, Professeure à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Je tiens également à adresser mes sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail : Mme **BOURAOUI Houda**, Professeure à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, Mme Professeur **DAHAMNA Saliha** à Professeure à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1, ainsi que Mme **BECHEKER Imène**, l'Université du 20 Août 1955 à Skikda,

J'adresse mes sincères remerciements à Mme **BERRABAH Houria**, cheffe de notre laboratoire de recherche en toxicologie cellulaire, pour son encadrement, sa disponibilité et son soutien tout au long de ce travail.

Je tiens également à exprimer ma gratitude au professeur **DAHDOUH Faouzi** pour ses précieux conseils et son accompagnement.

Mes remerciements vont aussi aux techniciennes du laboratoire pour leur aide, leur disponibilité et leur collaboration durant la réalisation de ce travail

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Mme **BERREDJEM Hajira**, professeure à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba et directrice du Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquée (LBMA), ainsi qu'à Mme **BENZAID Chahrazed**, pour m'avoir accueillie au sein du Laboratoire de microbiologie appliquée de l'Université Badji Mokhtar d'Annaba et pour m'avoir offert les meilleures conditions de travail.

J'adresse également mes sincères remerciements au Professeur **DJAHOUDI Abdelghani**, chef du Laboratoire de microbiologie appliquée de la Faculté de Médecine, Département de Pharmacie, à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, pour son accueil et son soutien.

Je remercie aussi chaleureusement M. **ZERROUG Mohamed Mihoub**, chef du Laboratoire de microbiologie appliquée de l'Université Sétif 1, pour m'avoir permis de réaliser une partie pratique de ce travail dans son laboratoire.

Mes vifs remerciements vont à mon tuteur de stage, le professeur **Selcen CELIK UZUNER**, chef du groupe de recherche **Épigénétique et Cancer** à l'Université **Karadeniz Teknik, Trabzon, Turquie**, ainsi qu'au **Dr Sinan TETIKOGLU, Semra KARADENIZ, Dilara OZTURK et Sümeyye CELEBI**, pour leur accueil chaleureux, leur encadrement et leur soutien dans la réalisation de cette partie de mon travail.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à **Dr CHENNA Housseem** pour sa précieuse participation à la réalisation de la partie pratique de ce travail. Son aide, son engagement, ses conseils avisés et sa disponibilité constante ont grandement contribué à l'avancement de ce travail. Merci pour son accompagnement et son soutien tout au long de cette expérience.

Je remercie mes collègues **BELFIHADJ Feryal, LAROU Haifaa, Djendi Manel, Lina Amani Amamra, Laouabdia Sellami Meriem et Khaled Belhamzaoui**, qui m'ont accompagnée tout au long de la réalisation de ce travail de recherche, pour leur aide précieuse, leur soutien constant et leur amitié.

J'adresse mes sincères remerciements aux étudiantes de master, **Haddad Mouna Ouafa, Saadi Aya, Bouhemila Ghoufrane, Boudaroua Amira et Bendaas Samar**, pour leur participation remarquable à l'élaboration de ce travail. Leur sérieux, leur disponibilité et leur précieuse collaboration ont grandement contribué à son aboutissement. Leur dynamisme et leur dévouement ont été pour moi une réelle source d'inspiration.

Enfin, j'adresse mes remerciements à toutes les personnes que j'ai eu le plaisir de rencontrer au cours de ce travail, dont les contributions, qu'elles soient scientifiques, administratives ou humaines, ont largement contribué à la réalisation de ce projet. Votre soutien, votre bienveillance et vos encouragements ont été d'une grande valeur.

Dédicaces

Je dédie ce travail, fruit de plusieurs années d'efforts et de persévérance, à ceux qui ont toujours été à mes côtés.

À mes très chers parents, aucun mot ne saurait exprimer pleinement ma profonde gratitude et mon immense amour pour vous. Vous avez été ma force dans les moments de doute, mon refuge dans les moments de faiblesse, et la lumière qui a guidé chacun de mes pas. Merci pour votre patience infinie, pour tous les sacrifices que vous avez consentis sans jamais compter, et pour votre soutien indéfectible, aussi bien moral que matériel. Vous avez cru en moi même lorsque je doutais de moi-même, et vous m'avez donné la détermination nécessaire pour aller jusqu'au bout. Ce travail est avant tout le vôtre. Il est le fruit de votre éducation, de vos valeurs et de votre amour. Que Dieu vous protège et vous accorde santé, bonheur et longue vie.

À ma sœur jumelle Amine, ma première complice et mon plus grand soutien, avec qui j'ai partagé chaque étape, de la première année primaire jusqu'au doctorat. Ce parcours n'aurait pas été le même sans toi.

À mon grand frère Anouar, pour ses encouragements constants, son soutien précieux et sa présence rassurante.

À mes chers petits frères et sœurs, Maram et Mohamed, que j'aime profondément et qui sont une source de joie et de motivation.

À ma belle-sœur Madjeda, qui est bien plus qu'une belle-sœur pour moi, une véritable sœur, toujours présente pour m'encourager et me soutenir.

À mes adorables neveux et nièces, Ayan Abdelraouf et Iram Mayssan, qui illuminent ma vie.

À ma chère grand-mère,

Toi qui attendais avec impatience la fin de ce parcours, toi qui étais la personne la plus positive et une lumière dans ma vie. Tu rêvais de me voir diplômée, mais la vie a pris un autre tournant.

Que Dieu soit d'accord, Sa miséricorde t'accueille dans Son vaste paradis. Tu resteras à jamais dans mon cœur.

À ma chère Mani, toujours parmi nous, pour son amour, sa tendresse et ses prières qui m'accompagnent chaque jour.

À mon cher oncle Fakher Eddine, pour ton soutien constant, ta présence à mes côtés et ton accompagnement tout au long de mon parcours. Merci pour tes encouragements qui m'ont toujours donné la force d'avancer.

À toute ma famille BOUROUBA et TALHI.

Résumé

Dans ce travail de recherche, des nanocomposites à base de ZnNiAl, structurés en hydroxydes doubles lamellaires (HDLs), ont été synthétisés par coprécipitation, puis calcinés à différentes températures (400, 600 et 800 °C). Cette calcination a permis d'obtenir des oxydes métalliques mixtes et d'étudier l'influence de ce traitement sur les propriétés physico-chimiques et biologiques des matériaux.

Les analyses structurales et morphologiques ont révélé une transformation progressive des phases en oxydes mixtes à 800 °C, accompagnée d'une diminution de la taille des cristallites et d'une réorganisation morphologique. Ces évolutions favorisent une meilleure réactivité chimique et biologique des nanocomposites.

Les évaluations *in vitro*, montrent que les nanocomposites calcinés à haute température, en particulier à 800 °C, présentent les activités biologiques les plus marquées. Selon les souches microbiennes testées, les concentrations inhibitrices minimales (CMI) varient de 1,9 à 31,25 µg/mL pour les bactéries et de 3,9 à 125 µg/mL pour les champignons. Les concentrations inhibitrices à 50 % (CI₅₀) pour l'activité antibiofilm se situent entre 28 et 64 µg/mL. L'activité antioxydante (test DPPH) s'améliore avec l'augmentation de la température de calcination, la CI₅₀ passant d'environ 56 à 33 µg/mL. Les tests de cytotoxicité *in vitro*, sur des cellules saines montrent une inhibition cellulaire de 35 % à 46 % aux fortes concentrations pour le nanocomposite calciné à 800 °C.

Sur la base de ces résultats, le nanocomposite calciné à 800 °C a été sélectionné pour des tests *in vivo*, sur un modèle animal. Ces expérimentations ont confirmé sa biocompatibilité, l'absence de toxicité significative aux doses étudiées, ainsi que sa capacité à moduler le stress oxydatif et les réponses immunitaires, contribuant ainsi à une réponse antitumorale globale.

Ces travaux montrent que les nanocomposites ZnNiAl constituent des matériaux multifonctionnels prometteurs, dont l'efficacité biologique est étroitement dépendante des conditions de calcination. Ils présentent un potentiel notable pour des applications thérapeutiques ciblées, notamment en oncologie et dans la lutte contre les infections.

Mots-clés : Nanocomposites ZnNiAl, Hydroxydes Doubles Lamellaires, Calcination, Activité antimicrobienne, Antibiofilm, Activité antioxydante, Cytotoxicité, Biocompatibilité

Abstract

In this research work, ZnNiAl-based nanocomposites structured as layered double hydroxides (LDHs) were synthesized via coprecipitation and subsequently calcined at different temperatures (400, 600, and 800 °C). This calcination process led to the formation of mixed metal oxides and enabled the investigation of its impact on the physicochemical and biological properties of the materials.

Structural and morphological analyses revealed a progressive transformation into mixed oxide phases at 800 °C, accompanied by a reduction in crystallite size and morphological reorganization. These changes promote enhanced chemical and biological reactivity of the nanocomposites.

In vitro, evaluations demonstrated that nanocomposites calcined at high temperatures, particularly at 800 °C, exhibited the most pronounced biological activities. Depending on the tested microbial strains, minimum inhibitory concentrations (MICs) ranged from 1.9 to 31.25 µg/mL for bacteria and from 3.9 to 125 µg/mL for fungi. The half-maximal inhibitory concentrations (IC₅₀) for antibiofilm activity ranged between 28 and 64 µg/mL. Antioxidant activity (DPPH assay) improved with increasing calcination temperature, with IC₅₀ values decreasing from approximately 56 to 33 µg/mL.

In vitro, cytotoxicity assays on normal cells showed cell inhibition ranging from 35% to 46% at high concentrations for the nanocomposite calcined at 800 °C.

Based on these findings, the nanocomposite calcined at 800 °C was selected for *in vivo*, testing using an animal model. These experiments confirmed its biocompatibility, the absence of significant toxicity at the tested doses, and its ability to modulate oxidative stress and immune responses, thereby contributing to an overall antitumor effect.

These results demonstrate that ZnNiAl nanocomposites are promising multifunctional materials whose biological efficacy is closely dependent on calcination conditions. They exhibit significant potential for targeted therapeutic applications, particularly in oncology and in the control of infections.

Keywords: ZnNiAl nanocomposites, Layered Double Hydroxides, Calcination, Antimicrobial activity, Antibiofilm activity, Antioxidant activity, Cytotoxicity, Biocompatibility

ملخص

في هذا البحث قمنا بتصنيع مركبات نانوية قائمة على الزنك والنيكل والألومنيوم، ذات بنية الهيدروكسيدات المزدوجة الصفائحية (LDHs)، عن طريق الترسيب المشترك، ثم أُخضعت لعملية التكلّيس عند درجات حرارة مختلفة (400، 600، و800 درجة مئوية). وقد أسفر هذا التكلّيس عن تكوين أكاسيد معدنية مختلطة، مما أتاح دراسة تأثير هذه المعالجة على الخصائص الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية للمواد.

كشفت التحليلات البنيوية والمورفولوجية عن تحول تدريجي للأطوار نحو أكاسيد مختلطة عند 800 درجة مئوية، مصحوبًا بانخفاض في حجم البلورات وإعادة تنظيم مورفولوجي. وتسهم هذه التغيرات في تعزيز التفاعلية الكيميائية والبيولوجية للمركبات النانوية.

تشير التقييمات المخبرية إلى أن المركبات النانوية المُكَلَّسة عند درجات حرارة مرتفعة، وخاصة عند 800 درجة مئوية، تُظهر أعلى مستويات النشاط البيولوجي ووفقًا للسلاسل الميكروبية المختبرة، تتراوح التراكيز المثبطة الدنيا (MICs) بين 1.9 و31.25 ميكروغرام/مل للبكتيريا، وبين 3.9 و125 ميكروغرام/مل للفطريات. أما تراكيز التثبيط النصفية (IC_{50}) لنشاط مضاد الأغشية الحيوية، فتتراوح بين 28 و64 ميكروغرام/مل. كما يتحسن النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH مع ارتفاع درجة حرارة التكلّيس، حيث تنخفض قيمة IC_{50} من حوالي 56 إلى 33 ميكروغرام/مل. أظهرت اختبارات السمية الخلوية المخبرية على الخلايا السليمة تثبيطًا خلويًا يتراوح بين 35% و46% عند التراكيز المرتفعة للمركب النانوي المُكَلَّس عند 800 درجة مئوية.

وبناءً على هذه النتائج، تم اختيار المركب النانوي المُكَلَّس عند 800 درجة مئوية لإجراء اختبارات حيوية على نموذج حيواني. وقد أكدت هذه التجارب توافقه الحيوي، وعدم وجود سمية ملحوظة عند الجرعات المدروسة، إضافةً إلى قدرته على تعديل الإجهاد التأكسدي والاستجابات المناعية، مما يُسهم في إحداث تأثير مضاد للأورام بشكل عام.

يُبين هذا العمل أن مركبات ZnNiAl النانوية مواد متعددة الوظائف واعدة، إذ تعتمد فعاليتها البيولوجية بشكل كبير على ظروف التكلّيس، كما تُظهر إمكانات كبيرة في التطبيقات العلاجية الموجهة، لا سيما في مجال الأورام ومكافحة العدوى.

الكلمات المفتاحية: مركبات ZnNiAl النانوية، الهيدروكسيدات المزدوجة الصفائحية، التكلّيس، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأغشية الحيوية، النشاط المضاد للأكسدة، السمية الخلوية، التوافق الحيوي.

Liste des abréviations

Å	Angström
ADCC	<i>Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity</i>
ADN	acide désoxyribonucléique
Ag-NPs	nanoparticules d'argent
AKT	Protéine kinase B
Al(NO₃)₃·9H₂O	Nitrate d'aluminium nonahydraté
Al₂O₃	Oxyde d'aluminium
AOM	Azoxyméthane
AOPP	<i>Advanced Oxidation Protein Products</i>
APC	<i>Adenomatous Polyposis Coli</i>
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine triphosphate
Au-NPs	Nanoparticules d'or
Bax / Bcl-2	Protéines régulatrices de l'apoptose
BER	Base Excision Repair
BET	Brunauer–Emmett–Teller
BLSE	Bêta-lactamases à spectre étendu
CCND1	Cycline D1
CI₅₀ / CE₅₀	Concentration inhibitrice / efficace à 50 %
Cl⁻	Ion chlorure
CO₃²⁻	Ion carbonate
CP	Cristaux photoniques
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CP	Cristaux photoniques
CRC	<i>Colorectal Cancer</i>
CRP / C-RP	<i>C-Reactive Protein</i>
D	Taille moyenne des cristallites (équation de Scherrer)
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité optique
DPPH	diphenyl picrylhydrazyl
DRX	Diffraction des rayons X

ECG	Électrocardiogramme
ECG	Électrocardiogramme
EDS	Energy Dispersive Spectroscopy
EDX	Energy Dispersive X-ray (synonyme de EDS)
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
EGFR	Récepteur du facteur de croissance épidermique
ERK	<i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
ERO / ROS	Espèces réactives de l'oxygène
FADD	<i>Fas-Associated Death Domain</i>
Fe-NPs	Nanoparticules de fer
FOLFIRI	5-Fluorouracile + Leucovorine + Irinotécan
FOLFOX	5-Fluorouracile + Leucovorine + Oxaliplatine
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GR	Globules rouges
GSH	Glutathion réduit
HB	Hémoglobine
HDL / LDH	Hydroxydes doubles lamellaires (<i>Layered Double Hydroxides</i>)
HES1	<i>Hairy and Enhancer of Split-1</i>
Hz	Hertz
IL-6	Interleukine-6
IRM	Imagerie par résonance magnétique
JAK	<i>Janus Kinase</i>
JNK	<i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
KRAS	<i>Kirsten Rat Sarcoma viral oncogene</i>
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
LSPR	<i>Localized Surface Plasmon Resonance</i>
M	Molaire ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
M²⁺	Cation divalent
M³⁺	Cation trivalent
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
McF	McFarland

MDA	Malondialdéhyde
MDR	Multidrug Resistance
MEB	Microscopie Électronique à Balayage
MEB-FEG	Microscopie Électronique à Balayage à Émission de Champ
Mg(OH)₂	Hydroxyde de magnésium
MH	Mueller-Hinton (milieu de culture)
MMO	Mixed Metal Oxides
MMP	Mitochondrial Membrane Potential
MMP9	Métalloprotéinase-9
MTT	méthylthiazol tétrazolium bromure
MXène	Matériaux 2D dérivés de carbures/nitrures de métaux de transition
MYC	Oncogène MYC
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
NaOH	Hydroxyde de sodium
NF-κB	<i>Nuclear Factor kappa B</i>
Ni(NO₃)₂·6H₂O	Nitrate de nickel hexahydraté
NiO	Oxyde de nickel
NM	Nanomatériaux
nm	Nanomètre
NOTCH1	Récepteur Notch-1
NPs	Nanoparticles
NSM	<i>Nanostructured Materials</i>
OI	Opales inverses
pH	Potentiel hydrogène
PIP2 / PIP3	Phosphatidylinositol-bisphosphate / triphosphate
PLC	Phospholipase C
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
r	Rapport molaire [M ²⁺]/[M ³⁺]
RAS	Protéine G Ras
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
RTK	<i>Receptor Tyrosine Kinase</i>

S²⁻	Ion sulfure
SARS-CoV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2</i>
SDR	<i>Single Drug Resistance</i>
SHH	<i>Sonic Hedgehog</i>
SiO₂	Dioxyde de silicium
SMAD	Protéines de signalisation TGF-β
STAT	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
TBA	Acide thiobarbiturique
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>
TGF-β	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
TiO₂	Dioxyde de titane
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
TNM	Tumeur – Nœud – Métastase
TP53	Gène suppresseur de tumeur p53
UFC	Unités formant colonies
UFP	Unités formant plaque
UFP/mL	Ultra Fine Particles par millilitre
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy
XRD	X-Ray Diffraction
Zn(NO₃)₂·6H₂O	Nitrate de zinc hexahydrate
ZnNiAl-HDL	Hydroxyde Double Lamellaire Zinc–Nickel–Aluminium
ZnNiAl₂O₄	Spinnelle zinc–nickel–aluminium
ZnO	Oxyde de zinc
Zn²⁺ / Ni²⁺	Ions zinc/nickel
ZnNiAl-MMO	Oxydes mixtes Zn-Ni-Al

Liste des figures

Figure I.1. Représentation schématique des différentes classes de nanomatériaux (0D, 1D, 2D, 3D).	6
Figure I.2. Classification des nanomatériaux selon leur origine.	7
Figure I.3. Classification des nanomatériaux selon leur nature chimique.	8
Figure I.4. Structure d'un Hydroxyde Double Lamellaire (HDL)	12
Figure I.5. Représentation schématique des méthodes de synthèse des nanomatériaux HDLs et des morphologies associées	14
Figure I.6. Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques	18
Figure I.7. Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez une bactérie Gram négative	18
Figure I.8. Représentation schématique des cinq familles de pompes à efflux bactériennes.....	20
Figure I.9 Mécanismes moléculaires de la toxicité des nanocomposites	28
Figure I.10 Histologie d'un adénocarcinome modérément différencié (Grossissement $\times 200$)	30
Figure I.11 Adénocarcinome mucineux.	31
Figure I.12 Carcinome à cellules en bague à chaton	31
Figure I.13 Carcinome médullaire (grossissement $\times 40$)	32
Figure I.14 Schéma de principe d'un diffractomètre à rayons X	47
Figure I.15 Schéma de principe d'un microscope électronique à balayage (MEB).....	48
Figure I.16. Mécanisme en deux étapes d'émission X caractéristique : (1) excitation électronique et (2) désexcitation radiative	49
Figure I.17 Schéma de principe d'un spectromètre FTIR	50
Figure II.1. Diagrammes de diffraction des rayons X (DRX) des nanoparticules de ZnNiAl-HDL calcinées à 400, 600 et 800 °C.	69
Figure II.2. Images MEB des nanoparticules de ZnNiAl-HDL calcinées à 400, 600 et 800 °C.....	71
Figure II.3. Spectres EDS des nanoparticules de ZnNiAl-HDL calcinées à 400, 600 et 800 °C.	72
Figure II.4 Spectres FTIR des nanoparticules de ZnNiAl-HDL calcinées à 400, 600 et 800 °C.....	73
Figure II.5. Variation de l'activité antibiofilm du MMO-HDL calciné à 400, 600 et 800 °C.	80
Figure II.6. Activité antioxydante (test DPPH) des nanocomposites ZnNiAl-HDLs calcinés à 400, 600 et 800 °C. (a) Pourcentage d'inhibition des radicaux libres ; (b) valeurs de la CI_{50}	82
Figure II.7. Activité antioxydante (FRAP) du MMO-HDL calciné aux températures de 400, 600 et 800 °C	83
Figure II.8. Activité anticancéreuse du MMO-HDL calciné à 400, 600 et 800 °C après 24 et 48 h de traitement.....	84
Figure II.9. Coupes histologiques des tissus rénaux de rats traités par les nanocomposites ZnNiAl-MMO à différentes doses pendant 14 jours, colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E) et observées au microscope optique au grossissement $\times 400$	86
Figure II.10. Effets des HDL-ZnNiAl sur l'activité des enzymes antioxydantes glutathion peroxydase (GPx) et catalase (CAT) dans le tissu rénal de souris adultes après deux semaines de traitement.	89
Figure II.11. Coupes histologiques représentatives des tissus coliques de souris traitées par l'AOM et/ou les nanocomposites ZnNiAl-MMO, colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E) et observées au microscope optique au grossissement $\times 100$	91
Figure II.12. Effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDL sur les enzymes antioxydantes du tissu colorectal.	98

Liste des tableaux

Tableau I.1. Principales propriétés et caractéristiques des nanomatériaux	9
Tableau I.2. Domaines et applications industrielles des nanomatériaux.	10
Tableau I.3. Principales propriétés et domaines d'application des HDL.	13
Tableau II. 1. Taille moyenne des cristallites des nanoparticules ZnNiAl-HDL en fonction de la température de calcination, estimée par DRX.....	70
Tableau II.2. Valeurs des CMI, CMB et du rapport (CMB/CMI) des bactéries à Gram positif traitées aux HDLs de ZnNiAl calciné aux trois températures (400 °C, 600 °C, 800 °C).....	74
Tableau II.3 Valeurs des CMI, CMB et du rapport (CMB/CMI) des bactéries à Gram négatif traitées aux HDLs de ZnNiAl calciné aux trois températures (400 °C, 600 °C, 800 °C).....	75
Tableau II.4. Valeurs des CMI, CMB et du rapport (CMB/CMI) des mycètes traités aux HDLs de ZnNiAl calciné aux températures de : 400 °C, 600 °C et 800 °C.....	76
Tableau II.5. Effets des HDL-ZnNiAl sur les paramètres biochimiques sériques des souris adultes après 2 semaines de traitement.	87
Tableau II.6. Effets du ZnNiAl HDLS sur le stress oxydatif et les marqueurs d'inflammation dans le tissu rénal de souris adultes après 2 semaines de traitement	88
Tableau II.7. Effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDLS sur le poids corporel et le poids relatif du côlon chez les souris après 12 semaines.....	93
Tableau II.8. Effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDLS sur les marqueurs inflammatoires dans le tissu colorectal des souris adultes après 12 semaines de traitement	94
Tableau II.9. Effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDLS sur les paramètres du stress oxydatif dans le tissu colorectal des souris adultes après 12 semaines de traitement.....	97

Introduction

Introduction

La santé humaine est confrontée à un large éventail de pathologies, qu'elles soient aiguës ou chroniques, infectieuses ou non infectieuses. Ces maladies peuvent toucher divers organes et systèmes, et leur incidence continue d'augmenter en raison de facteurs environnementaux, génétiques et liés au mode de vie (El-Gilany et Abou-ElWafa 2023). Elles représentent un enjeu majeur pour la santé publique, non seulement par leur gravité médicale mais également par leur impact socio-économique, en termes de coûts de soins, de perte de productivité et de qualité de vie des patients (Zeggout et Berrached 2025).

Malgré les avancées médicales considérables, de nombreux traitements existants présentent des limites importantes. L'inefficacité de certains médicaments, la survenue de résistances, la toxicité envers les tissus sains et les effets secondaires indésirables compliquent la prise en charge des patients (Kroschinsky et al. 2017; Alara et Alara 2024). Ces défis soulignent l'urgence de développer des stratégies thérapeutiques innovantes, ciblées et plus sûres, capables de répondre aux besoins croissants de la santé publique.

Parmi les différentes pathologies, les infections microbiennes et les cancers constituent des défis particulièrement complexes. Les infections, causées par des bactéries, virus ou champignons, peuvent évoluer rapidement et parfois devenir graves, surtout lorsque les agents pathogènes développent une résistance aux traitements existants. L'émergence de bactéries multirésistantes, responsables d'infections nosocomiales sévères, illustre parfaitement ce problème et limite l'efficacité des antibiotiques classiques (Sousa et al. 2021; Bakhtiyari et al. 2024).

Par ailleurs, le cancer reste l'une des principales causes de mortalité dans le monde. Parmi eux, le cancer colorectal est particulièrement préoccupant en raison de sa fréquence élevée et de sa résistance aux traitements conventionnels (Gandomani et al. 2017; Marcellinaro et al. 2023). La résistance aux chimiothérapies et la toxicité importante de ces traitements sur les tissus sains compromettent non seulement leur efficacité mais aussi la qualité de vie des patients (Yazbeck et al. 2022; Baltussen et al. 2023). Ces situations mettent en évidence le besoin urgent de nouvelles stratégies thérapeutiques capables d'améliorer l'efficacité des traitements tout en réduisant leurs effets secondaires.

Face aux limites des traitements classiques pour les infections et le cancer, la nanotechnologie émerge comme une solution prometteuse. Cette discipline multidisciplinaire permet de concevoir des matériaux à l'échelle nanométrique dont les propriétés physico-chimiques peuvent être modulées pour interagir efficacement avec les systèmes biologiques, améliorer la biodisponibilité des agents actifs et réduire la toxicité pour les tissus sains. Les nanomatériaux offrent ainsi la possibilité de développer des stratégies thérapeutiques ciblées, capables de surmonter la résistance et l'inefficacité des traitements conventionnels (Baraton et Merhari 2004; Zhu et al. 2009; Garg et al. 2024; Pidgeon et al. 2004).

Parmi ces nanomatériaux, les nanoparticules de l'oxyde de zinc ZnO ont été largement étudiées pour leurs propriétés biologiques. Elles présentent des effets antimicrobiens et anticancéreux intéressants, principalement liés à la génération de stress oxydatif et à l'interaction directe avec les membranes cellulaires. Cependant, l'efficacité des nanoparticules de ZnO seules peut être limitée par la taille, la forme, la stabilité des particules et la libération contrôlée des ions (Sirelkhatim et al. 2015; Mohammed et al. 2025; Lebaka et al. 2025). Ces limitations motivent le développement de formulations nanocomposites, capables de combiner plusieurs métaux pour améliorer les performances biologiques.

Parmi les nanocomposites les plus prometteurs, les hydroxydes doubles lamellaires (HDLs, ou Layered Double Hydroxides, LDHs) se distinguent par leur structure lamellaire unique, formée de feuillets de type brucite chargés positivement, séparés par des anions compensateurs et des molécules d'eau (Q. Wang et O'Hare 2012). Leur formule générale permet une grande flexibilité chimique grâce à la substitution contrôlée des cations métalliques divalents ($M^{2+} = Zn^{2+}, Ni^{2+}, Mg^{2+}$) et trivalents ($M^{3+} = Al^{3+}, Fe^{3+}, Ga^{3+}$), ainsi qu'à la variabilité des anions intercalés ($CO_3^{2-}, Cl^-, SO_4^{2-}$, etc.) (Q. Wang et O'Hare 2012; Chaillot et al. 2021).

Les nanoparticules de ZnNiAl-HDL constituent une approche innovante dans ce contexte. La combinaison de Zn^{2+} avec d'autres cations métalliques comme Ni^{2+} et Al^{3+} , intégrés dans une structure lamellaire stable, permet de renforcer les activités antimicrobiennes, antioxydantes et anticancéreuses. Cette configuration offre également un contrôle précis de la libération ionique et une meilleure stabilité physico-chimique, ouvrant la voie à des applications biomédicales multifonctionnelles, répondant aux problématiques de résistance, d'inefficacité et de toxicité des traitements classiques (Sharma et al. 2021; Hu et al. 2022; Ayub et al. 2024; Mahgoub et al. 2025;).

Sur la base de ces propriétés et de ces applications potentielles, cette thèse se propose de synthétiser et caractériser des nanoparticules HDLs à base de Zn, Ni et Al, et d'évaluer leurs effets biologiques à travers :

- L'analyse structurale, morphologique et chimique en fonction des conditions de synthèse et des différentes températures de calcination, afin d'étudier leur influence sur la composition, la taille des cristallites et la stabilité du matériau ;
- L'étude de leur activité antimicrobienne et de leur capacité d'inhibition des biofilms vis-à-vis de différentes souches pathogènes ;
- L'évaluation de leur cytotoxicité et de leur potentiel anticancéreux, en particulier vis-à-vis du cancer colorectal, à la fois *in vitro*, sur des lignées cellulaires tumorales et *in vivo* sur des modèles animaux expérimentaux, ainsi que de leur activité antioxydante, afin de mieux comprendre leurs mécanismes d'action.

Ces travaux permettront de mieux comprendre les interactions entre les propriétés physico-chimiques des HDLs et leurs réponses biologiques, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles applications thérapeutiques et antimicrobiennes des nanomatériaux hybrides à base de métaux.

Partie A : Revue Bibliographique

Partie A : Revue Bibliographique**Chapitre 1. Généralités sur les nanomatériaux****1. Définitions et concepts de base**

Les nanomatériaux sont des substances dont au moins une dimension se situe à l'échelle du nanomètre, généralement entre 1 et 100 nm, ce qui leur confère des comportements physico-chimiques distincts de ceux des matériaux massifs de même composition. À ces dimensions, la forte réduction de taille augmente considérablement la fraction d'atomes en surface, modifiant le nombre de coordination, l'énergie de cohésion, le point de fusion et les températures de transition de phase, tout en facilitant la fonctionnalisation des surfaces pour des applications ciblées.

Par ailleurs, lorsque la taille des nano-objets devient comparable à la longueur de délocalisation des états électroniques, des effets quantiques apparaissent et influencent des paramètres tels que l'énergie de bande interdite, le potentiel d'ionisation, l'activité catalytique ainsi que les propriétés optiques et magnétiques, permettant par exemple d'observer des transitions du ferromagnétisme vers le superparamagnétisme. Cette famille très large, inclut des nano-objets variés (nanoparticules, nanotubes, nanofibres, films minces), pouvant être d'origine naturelle, accidentelle ou synthétisés intentionnellement afin d'exploiter leur grande surface spécifique, leur réactivité élevée et leurs propriétés optiques, électriques ou magnétiques singulières, d'où leur utilisation croissante en catalyse, en électronique, en médecine et dans la protection de l'environnement (Rozhdestvenskiy et al. 2024; Amjad Ali et al. 2025).

2. Classification des nanoparticules

Les nanomatériaux se classent selon trois critères principaux : leurs dimensions, leur composition chimique et leur origine. Les dimensions distinguent les structures selon le nombre de dimensions nanométriques. La composition peut être carbonée, inorganique ou organique, tandis que l'origine inclut naturelle, accidentelle (involontaire) ou manufacturée (synthétique).

2.1. Classification des nanomatériaux selon le nombre de dimensions

Les nanomatériaux sont catégorisés en quatre types selon leurs dimensions nanométriques : 0D, 1D, 2D et 3D (Figure I.1).

Les nanomatériaux 0D, ou nanosphères, ont toutes leurs dimensions inférieures à 100 nm, offrant un confinement quantique, une biocompatibilité élevée et des propriétés physico-

chimiques exceptionnelles, ce qui les rend idéaux pour la biodétection (*via* des nanoparticules ou des points quantiques fonctionnalisés par biomarqueurs) (Z. Wang et al. 2020).

Les structures 1D, avec deux dimensions entre 1 et 100 nm et un fort rapport d'aspect (nanotubes, nanofils, nanopiliers, nanofibres, nanobâtonnets), se distinguent par leur compatibilité biologique et leurs performances électrochimiques économiques (Hahm 2016; Z. Zhang et al. 2022).

Les matériaux 2D, au moins deux dimensions sont à l'échelle nanométrique (MXènes, phosphorène, dichalcogénures de métaux de transition, graphène, borophène, nanofeuillets d'oxydes). Leurs propriétés électriques et mécaniques supérieures en font d'excellents candidats pour les biocapteurs (Byakodi et al. 2022a; Zahed et al. 2022).

Enfin, les nanostructures 3D intègrent des caractéristiques 0D/1D/2D dans une architecture complexe (nanocomposites, cristaux photoniques, opales inverses), offrant une surface électroactive étendue pour une amplification de signal et une biodétection ciblée (Fathi et al. 2021; Byakodi et al. 2022b).

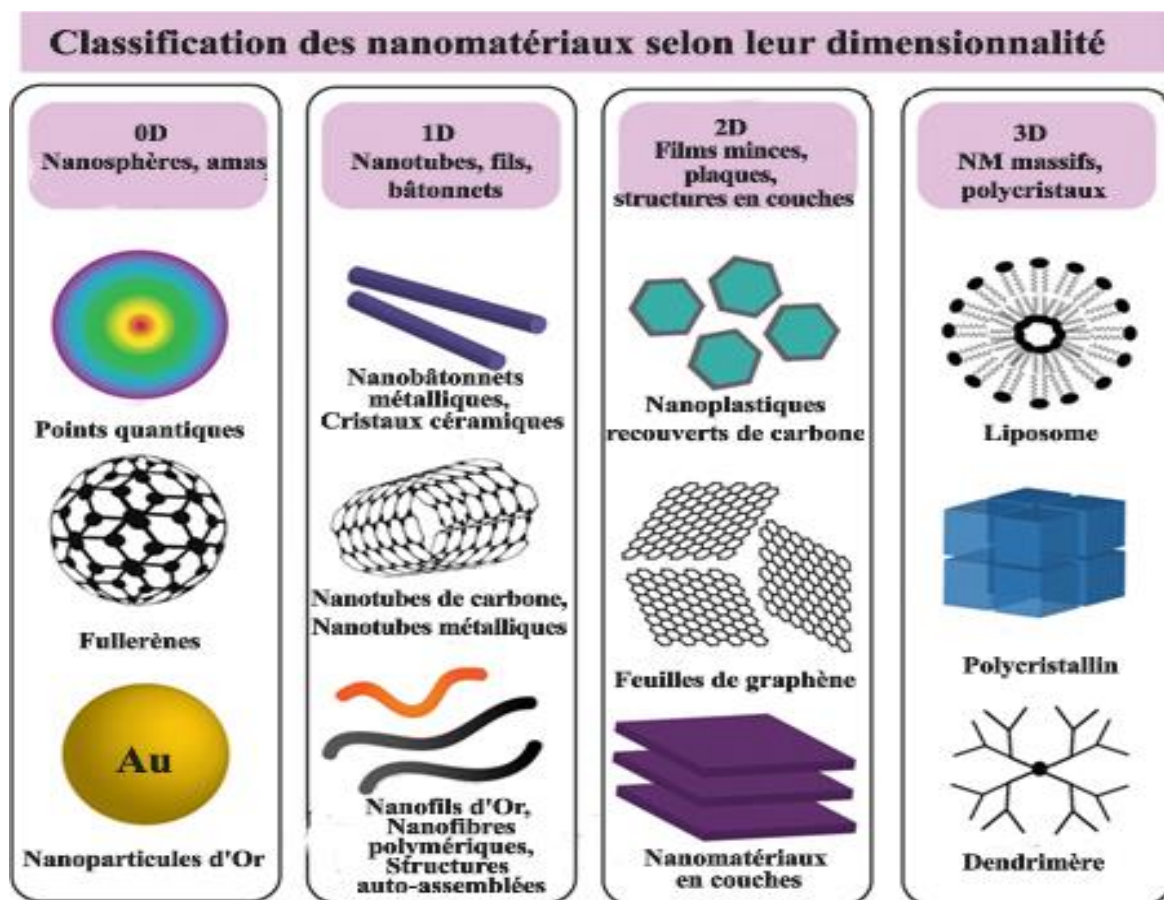


Figure I.1. Représentation schématique des différentes classes de nanomatériaux (0D, 1D, 2D, 3D) (Poh et al. 2018).

2.2. Classification des nanomatériaux selon leur origine

La classification des nanomatériaux selon leur origine permet de mieux comprendre la diversité de ces matériaux et leurs impacts potentiels. En effet, les nanomatériaux peuvent provenir de sources variées, qu'elles soient naturelles, issues de processus accidentels liés aux activités humaines, ou bien intentionnellement fabriquées pour des applications spécifiques.

Ainsi, on distingue généralement quatre catégories : les nanomatériaux naturels, accidentels (ou involontaires), manufacturés (ou synthétiques) et bio-inspirés (Figure I.2). Chacune de ces catégories présente des caractéristiques propres, des modes de formation distincts et des domaines d'utilisation variés, ce qui facilite l'évaluation de leurs risques, de leur comportement dans l'environnement et de leur potentiel technologique (Harish et al. 2022; Barhoum et al. 2022).

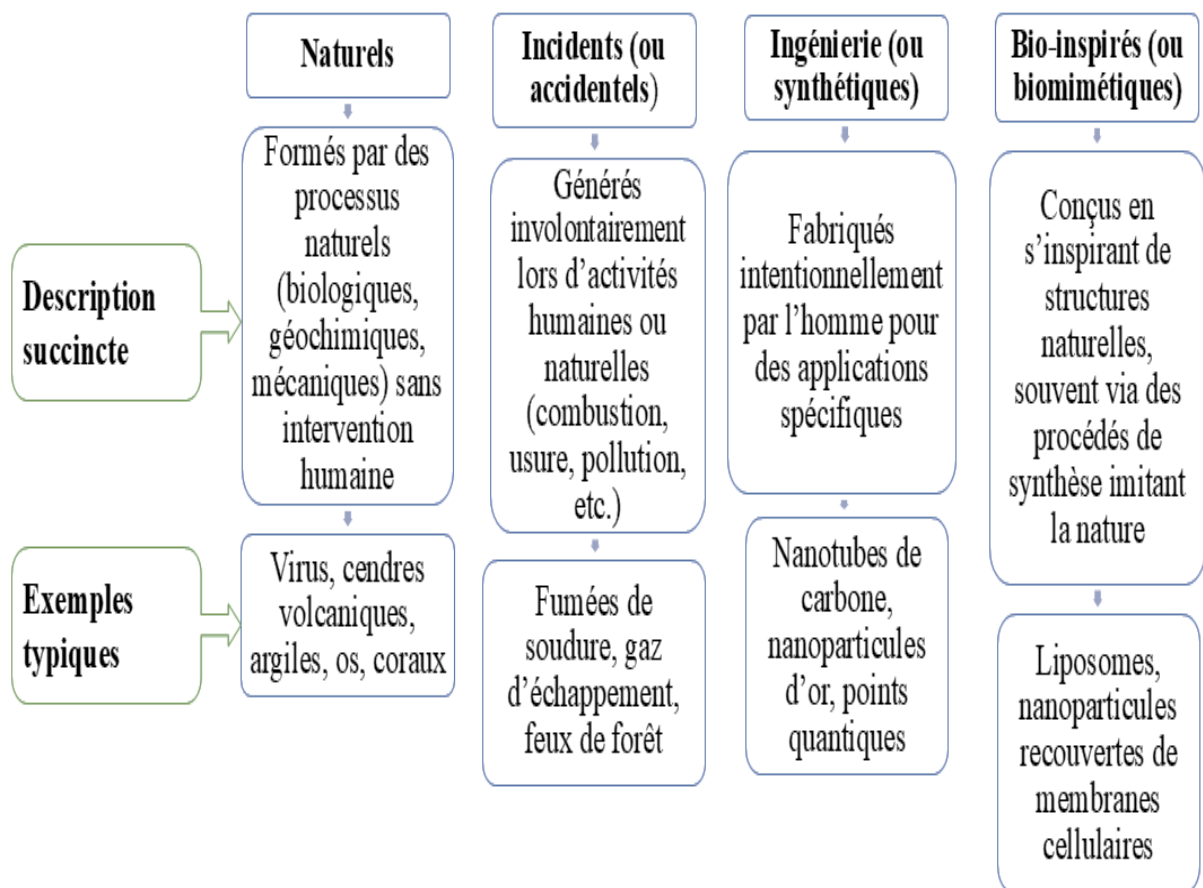


Figure I.2. Classification des nanomatériaux selon leur origine.

2.3. Classification des nanomatériaux selon leur nature

Les nanomatériaux suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques uniques, qui diffèrent considérablement de celles des matériaux à l'échelle macroscopique. Leur diversité provient non seulement de leur taille nanométrique,

mais aussi de leur composition chimique, de leur structure et de leur origine. Pour mieux comprendre et exploiter ces matériaux innovants dans des domaines variés comme la médecine, l'électronique ou l'environnement, il est essentiel de les classer selon leur nature (Harish et al. 2022; Rizwan et al. 2021). Cette classification par composition chimique (Figure I.3) permet de distinguer les différentes familles de nanomatériaux afin d'optimiser leur sélection pour des applications spécifiques.

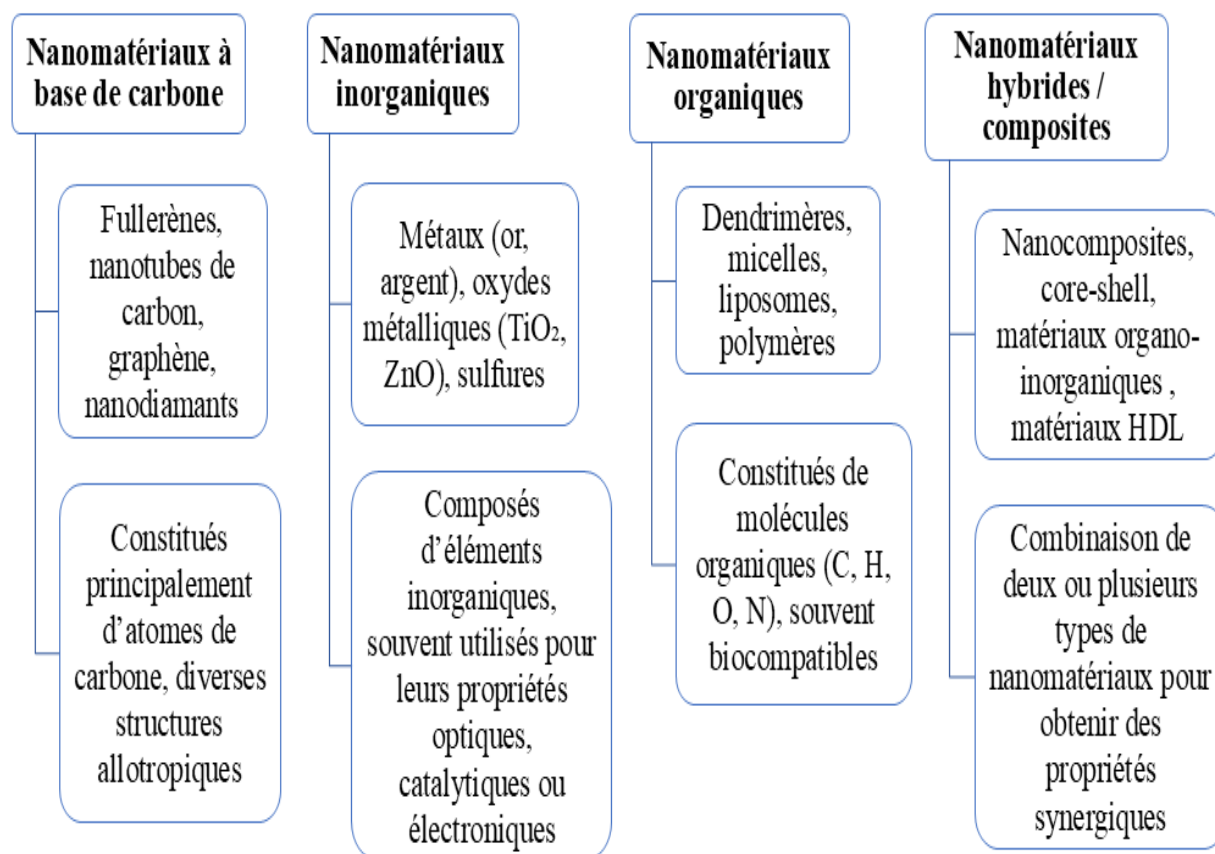


Figure I.3. Classification des nanomatériaux selon leur nature chimique.

3. Propriétés des nanomatériaux

Les propriétés des nanomatériaux (Tableau I.1) diffèrent significativement de celles des matériaux massifs en raison de leur échelle nanométrique, de leur rapport surface/volume élevé, des effets quantiques ainsi que de la charge de surface, influençant leurs comportements physiques, chimiques, mécaniques, optiques, électriques, magnétiques et biologiques. Ces caractéristiques, étroitement liées à la taille, à la morphologie et à la composition, sont déterminantes pour leurs applications en biomédecine, en énergie et en électronique (Shekhawat et al. 2022; Joudeh et Linke 2022; Pietrzak et al. 2021).

Tableau I.1. Principales propriétés et caractéristiques des nanomatériaux

Propriété	Caractéristiques principales	Exemples/Conséquences
Physiques	Point de fusion diminue avec la taille ; ratio surface/volume accru ; énergie de surface élevée favorisant l'agglomération ; taille par microscopie électronique, surface par BET.	- Les atomes de surface non liés augmentent la réactivité.
Magnétiques	Superparamagnétisme, coercivité accrue ; non-magnétiques (Au, Pt) deviennent magnétiques ; aimants mous/durs améliorés.	- Délivrance de médicaments - IRM - Hyperthermie magnétique.
Optiques	Résonance Plasmon de Surface Localisée (LSPR) ; couleur taille-dépendante (Au : jaune → rouge ; Ag : orange → bleu) ; photoluminescence ; pic d'émission vers UV.	- Confinement quantique modifie l'émission visible - Verre coloré.
Électriques	Conductivité accrue (céramiques), résistance (métaux) ; délocalisation axiale ; états discrets d'énergie ; métaux → semi-conducteurs.	- Nanotubes de carbone : conducteurs/semi-conducteurs selon chiralité.
Chimiques	Réactivité/stabilité accrue (humidité/chaleur/lumière) ; inflammabilité, anticorrosion ; catalyse améliorée (réactivité/sélectivité).	- Interactions cibles déterminent les applications - Potentiel redox modifié.
Mécaniques	Dureté/résistance/élasticité/ductilité/ténacité accrue ; force↑ avec taille grain↓ ; superplasticité céramique ; moins de défauts.	- Alliages renforcés - Outils de coupe durs
Biologiques	Propriétés uniques vs échelles supérieures ; état distinct (solide/liquide/gaz/plasma) ; biocompatibilité/toxicité dépendante de composition/taille ; antibactérien (métaux).	- Applications biomédicales - Diagnostique - Risque toxique (CMAR)

4. Domaines d'application des nanomatériaux

Les nanomatériaux, de par leurs dimensions extrêmement réduites et leurs propriétés physico-chimiques uniques, suscitent un intérêt croissant dans de nombreux secteurs industriels. Leur capacité à modifier ou améliorer les caractéristiques des matériaux

conventionnels ouvre la voie à diverses applications novatrices et performantes (Tableau I.2) (Kumari et Sarkar 2021; Altammar 2023).

Tableau I.2. Domaines et applications industrielles des nanomatériaux.

Domaine d'application	Applications spécifiques
Industrie de l'Environnement	- Bioremédiation (polluants, métaux lourds) - Capteurs environnementaux - Catalyseurs (biocarburants, conversion biomasse) - Purification de l'eau - Ag-NPs, Fe-NPs, zéolites nanométriques, nZVI
Industrie Médicale	- Livraison ciblée de médicaments - Imagerie diagnostique (contraste IRM) - Ingénierie tissulaire - Agents antimicrobiens (pansements, dispositifs médicaux) - Au-NPs, Ag-NPs, ZnO-NPs, Cu-NPs, TiO₂- NPs
Industrie Agricole	- Ciblage des pesticides et herbicides - Nano-engrais - Sécurité alimentaire, détection de pathogènes - Purification des eaux d'irrigation - Ag-NPs, Cu-NPs pour contrôle des ravageurs
Industrie Alimentaire	- Traitement alimentaire (broyage, mélange, séchage) - Emballages alimentaires améliorés - Fortification nutritionnelle - Capteurs alimentaires - Ag-NPs antimicrobiens, Fe₂O₃ et Cu-NPs pour la fortification
Électronique et Automobile	- Amélioration d'écrans LCD, OLED - Batteries et supercondensateurs - Stockage données (disques durs, clés USB) - Ag et Au-NPs conductivité, ZnO stockage d'énergie, Fe-NPs dispositifs magnétiques
Industrie Chimique	- Catalyseurs de réactions chimiques (Pt, Pd, Fe, Ni-NPs) - Séparation et purification (Fe₂O₃, Ag, Au, Al-NPs) - Traitement chimique et raffinage
Industrie de la Défense	- Capteurs de menaces chimiques, biologiques, radiologiques - Revêtements protecteurs (Al/Zn anti-corrosion, Ni/Cr anti-usure) - Armes contre virus, bactéries - Stockage d'énergie : batteries (LiCoO₂, Fe₂O₃, MnO₂-NPs)

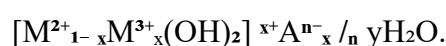
5. Les nanomatériaux dérivés d'hydroxydes doubles lamellaires

Les hydroxydes doubles lamellaires (HDLs), également connus sous le nom de layered double hydroxides (LDH), occupent une place particulière dans le domaine des nanosciences en raison de leur structure lamellaire modulable, de leur grande capacité d'échange anionique et de leurs propriétés physicochimiques polyvalentes.

Le présent travail de thèse s'articule autour de la synthèse, de la caractérisation et de la valorisation de ce type de nanomatériaux.

5.1. Définition des hydroxydes doubles lamellaires

Les HDLs sont des composés cristallins constitués de couches de cations métalliques bivalents (M^{2+}) et trivalents (M^{3+}) associés à des ions hydroxyles, alternant avec des feuillets intercalaires contenant des anions inorganiques ou organiques (A^{n-}) assurant la neutralité électrique. Leur formule générale peut s'écrire :



La structure de ces matériaux est analogue à celle de l'hydroxyde de magnésium, $Mg(OH)_2$, dans lequel une partie des cations divalents est remplacée par des cations trivalents, entraînant un excès de charge positive compensé par des anions intercalés. Les couches métalliques, formées d'un empilement dense d'unités hydroxyles, présentent des cavités octaédriques occupées par les ions métalliques. Des molécules d'eau s'insèrent entre les feuillets et interagissent par liaisons hydrogène avec les groupes hydroxyles, leur quantité varie selon la nature et la proportion des métaux constitutifs (Figure I.4) (Kloprogge 2025).

Les HDLs naturels sont classés selon le rapport molaire entre cations divalents (M^{2+}) et trivalents (M^{3+}), une caractéristique déterminante pour la structure cristalline et la composition ionique des phases. Le groupe des hydrotalcites, présentant un rapport typique de 3 :1, comprend des minéraux dont la formule générale est donnée par $Mg_3Al_2CO_3(OH)_6 \cdot 4H_2O$, où le magnésium et l'aluminium occupent respectivement les positions divalentes et trivalentes, tandis que le carbonate est l'anion principal intercalé entre les feuillets. En comparaison, la famille des quintinites se caractérise par un rapport M^{2+}/M^{3+} proche de 2 :1, avec une composition plus diversifiée incluant plusieurs cations divalents (Mg, Ca, Fe, Ni) et trivalents (Al, Fe, Co), ainsi qu'une variété d'anions intercalés, tels que carbonate (CO_3^{2-}), sulfure (S^{2-}), chlorure (Cl^-) ou bromure (Br^-), conférant à ces phases une adaptabilité structurale notable (Sherry et al. 2022; Gevers et al. 2019).

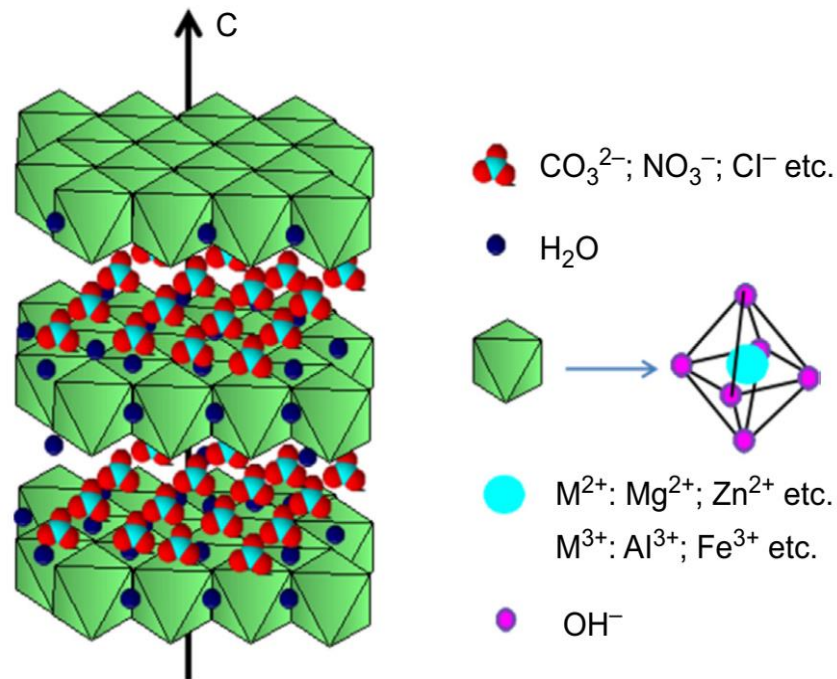


Figure I.4. Structure d'un Hydroxyde Double Lamellaire (HDL) (Babu et al. 2017).

5.2. Propriétés fonctionnelles et application des Hydroxyde Double Lamellaire

Les HDLs, représentent une classe de matériaux nanostructurés qui suscitent un intérêt croissant en raison de leur structure en couches, leur grande surface spécifique et leur capacité à échanger des anions. Leur composition chimique modulable et leur stabilité permettent de les exploiter dans divers domaines, tels que l'environnement, la catalyse, la biotechnologie et la médecine. Les recherches récentes mettent en avant la possibilité de personnaliser leurs propriétés par des modifications structurales ou de surface, ce qui ouvre la voie à des applications innovantes et à l'optimisation de leurs performances (L. Li et al. 2024).

Les HDLs se distinguent par leur polyvalence : ils peuvent être utilisés comme adsorbants pour la dépollution de l'eau, supports catalytiques, agents de délivrance contrôlée de médicaments, ou encore composants de capteurs et de matériaux composites. Leur biocompatibilité, leur capacité à encapsuler et libérer des molécules de façon ciblée, ainsi que leur facilité de synthèse et de modification, en font des candidats de choix pour des applications avancées. De plus, l'intégration d'autres nanomatériaux ou de polymères permet d'améliorer encore leurs propriétés, comme la stabilité colloïdale, la sélectivité ou la réactivité (Farhan et al. 2024a), élargissant ainsi leur champ d'application dans divers secteurs de recherche et d'innovation (Tableau I.3) (Farhan et al. 2024b; Iqbal et al. 2025).

Tableau I.3. Principales propriétés et domaines d'application des HDLs.

Propriétés	Description/Principal avantage	Applications principales
Capacité d'échange d'anions	Échange facile des anions intercalés	Dépollution, catalyse, délivrance
Biocompatibilité et faible toxicité	Compatibilité avec les cellules, faible toxicité <i>in vitro/in vivo</i>	Biomédecine, délivrance de médicaments
Stabilité chimique et thermique	Résistance à divers milieux et températures	Catalyse, matériaux composites
Surface spécifique élevée	Grande surface pour l'adsorption ou la fonctionnalisation	Adsorption, capteurs, catalyse
Facilité de fonctionnalisation	Greffage de polymères, biomolécules, nanomatériaux	Nanocomposites, biosenseurs
Solubilité et dégradabilité contrôlées	Solubilité dépendante du pH, dégradation contrôlée	Délivrance ciblée, biomédecine
Propriétés optiques et électriques	Propriétés modulables selon la composition	Capteurs, dispositifs électroniques
Effet mémoire	Capacité à retrouver la structure initiale après traitement	Réutilisation, recyclage
Propriétés magnétiques (si hybridées)	Possibilité d'intégrer des nanoparticules magnétiques	Séparation, imagerie, catalyse
Propriétés mécaniques	Amélioration de la résistance dans les composites	Matériaux polymères, revêtements
Propriétés antimicrobiennes	Activité contre certains micro-organismes	Biomédecine, revêtements

5.3. Méthodes de synthèse des Hydroxyde Double Lamellaire

Les nanomatériaux dérivés des HDLs peuvent être synthétisés par diverses approches, dont le choix repose essentiellement sur les propriétés physicochimiques visées, telles que la taille et la morphologie des particules, ainsi que leur composition élémentaire.

Dans ce contexte, un aperçu comparatif des principales méthodes de synthèse met en évidence les morphologies résultantes (Figure I.5). Cette perspective globale permet d'identifier la stratégie la plus appropriée pour l'élaboration de nanomatériaux HDL répondant à des applications spécifiques.

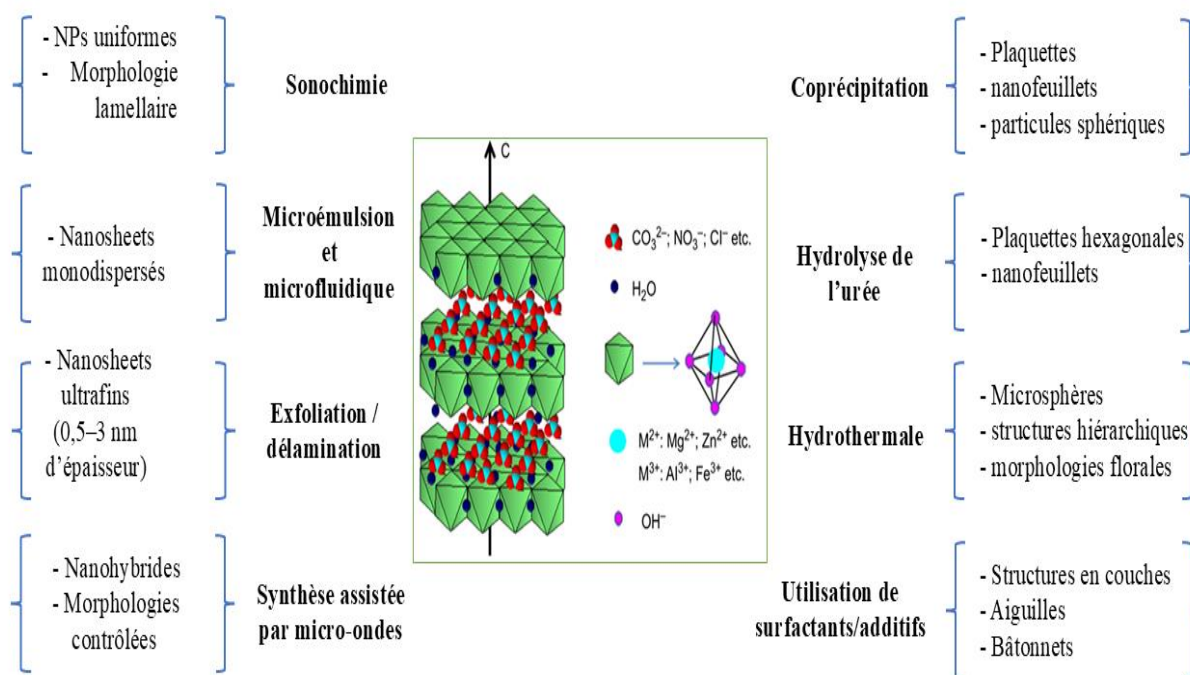


Figure I.5. Représentation schématique des méthodes de synthèse des nanomatériaux HDLs et des morphologies associées (Y. Zhang et al. 2021; Tonelli et al. 2021; Dhakal et al. 2021).

De manière générale, les nanomatériaux se distinguent par des propriétés spécifiques liées à leur dimension nanométrique, qui influencent considérablement leurs performances et leurs applications potentielles. Dans cette perspective, une attention particulière est accordée à l'étude de leur activité biologique, en mettant l'accent sur leurs effets antimicrobiens et anticancéreux, ainsi que sur les mécanismes d'action sous-jacents.

Chapitre 2 : Activité antibactérienne et résistance aux antibiotiques

1. Généralités sur les infections bactériennes

Les infections bactériennes résultent de la colonisation de l'organisme par des bactéries pathogènes capables de perturber l'équilibre cellulaire et tissulaire. Les bactéries, micro-organismes procaryotes, présentent une grande diversité morphologique et métabolique, ce qui leur permet de s'adapter à divers environnements et de développer des mécanismes spécifiques de survie et de propagation (Hakansson et al. 2018).

Ces micro-organismes peuvent interagir avec les cellules de l'hôte par la production de molécules actives et de toxines, ou par la formation de biofilms, modulant ainsi la réponse immunitaire et favorisant leur persistance (Thakur et al. 2019).

1.1. Modes de transmission des agents infectieux

La survie et la dissémination d'un agent infectieux, qu'il s'agisse d'une bactérie, d'un virus, d'un parasite ou d'un champignon, reposent essentiellement sur sa capacité à passer d'un hôte à un autre, ou d'un réservoir environnemental à un organisme sensible. Ce processus fondamental, connu sous le terme de transmission, conditionne l'apparition, la persistance et l'ampleur des maladies infectieuses (Aleksun et Levy 2007a).

Les agents pathogènes peuvent se transmettre par de nombreuses voies, dépendant de leurs caractéristiques biologiques, de leur écologie et des conditions environnementales. La compréhension de ces modes de transmission constitue un élément essentiel pour l'élaboration de stratégies de prévention et de contrôle efficaces en santé publique (Antonovics et al. 2017).

1.1.1. Transmission par voie alimentaire

La contamination alimentaire résulte de la consommation d'aliments infectés ou altérés, pouvant contenir des bactéries pathogènes ou leurs toxines. Parmi les principaux agents impliqués figurent les bactéries des genres : *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Yersinia*, *Shigella* et *Vibrio* spp. Ces contaminations constituent une cause majeure d'intoxications alimentaires et de toxi-infections collectives (Bintsis 2017; Haziz Almutairi et Alghamdi 2024).

1.1.2. Transmission par voie hydrique

L'eau représente un vecteur majeur d'agents infectieux, transmis par ingestion, contact direct ou *via* des organismes aquatiques et des arthropodes (Hinz et Krüger 2019; Chua et al. 2023). Les maladies hydriques touchent principalement le système digestif et favorisent la prolifération de pathogènes tels que *Salmonella typhi* et *Vibrio cholerae* (Alcayna et al. 2022; Jung et al. 2023; Meena et Jha 2023).

1.1.3. Infections associées aux soins (infections nosocomiales)

Les infections nosocomiales sont souvent associées à des bactéries multirésistantes telles que *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Enterococcus* ou *Pseudomonas aeruginosa* (Johnson 2002; H. A. Khan et al. 2015). La prévention repose sur des mesures d'hygiène strictes, le respect rigoureux des protocoles d'asepsie, et une maîtrise optimale des procédures de soins, particulièrement en chirurgie (Jaichenco et Lima 2019; Fortunka et al. 2024)

1.1.4. Transmission par voie aérienne

Les infections aériennes se transmettent par des microorganismes présents dans les aérosols, poussières, gouttelettes respiratoires ou fluides projetés. L'air contaminé constitue un vecteur important, notamment lors de la manipulation ou du conditionnement des aliments, plus la charge microbienne présente dans l'air ambiant est élevée, plus le risque de contamination est important (Curiel et Van Eijk 1999; Ather et al. 2025).

1.1.5. Infections d'origine tellurique

Certaines infections d'origine tellurique sont causées par des bactéries ou champignons capables de persister sous forme sporulée dans le sol. Les espèces du genre *Clostridium* sont particulièrement impliquées dans le tétanos, l'anthrax ou la myonécrose (Baumgardner 2012; Shaw 2024). Le sol agit ainsi comme un réservoir environnemental résistant et durable.

1.1.6. Transmission vectorielle

Les infections vectorielles sont transmises par des insectes ou des animaux porteurs d'agents pathogènes. Elles affectent l'homme, les animaux et les plantes. Parmi les organismes responsables figurent *Xylella fastidiosa*, *Candidatus Liberibacter*, *Spiroplasma* et divers *Phytoplasma* (Mack 2016; Huang et al. 2020). Les vecteurs, souvent des arthropodes, jouent un rôle déterminant dans la dissémination et l'émergence de maladies.

2. Principes et mécanismes de la résistance aux antibiotiques

L'un des défis de santé publique les plus importants aujourd'hui est la résistance aux antibiotiques, qui se manifeste par l'apparition croissante de souches microbiennes multirésistantes menaçant l'efficacité des thérapies conventionnelles. L'emploi intensif et souvent irrationnel des agents antimicrobiens dans les domaines médical, vétérinaire et environnemental génère une sélection qui favorise l'apparition et la propagation de mécanismes de résistance complexes (Davies et Davies 2010; Folgori et al. 2014; Gajic et al. 2025).

2.1. Définition de la résistance

La résistance aux antibiotiques d'une bactérie est définie comme l'absence d'effet d'un antibiotique auquel l'espèce bactérienne est naturellement sensible, c'est-à-dire pour laquelle on attend un effet thérapeutique lors d'un traitement à dose habituelle par voie générale (Albrich et al. 2004; Van Boeckel et al. 2014).

On distingue deux types de résistance : la résistance naturelle (intrinsèque) et la résistance acquise. La première est programmée au niveau du pool génomique alors que la seconde est développée en fonction des conditions métaboliques (Julian Davies et Davies 2010).

2.1.1. Résistance naturelle

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait donc partie du patrimoine génétique normal du germe (YALA et al. 2001).

2.1.2. Résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome, qui est un phénomène rare, soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (YALA et al. 2001) (figure I.6).

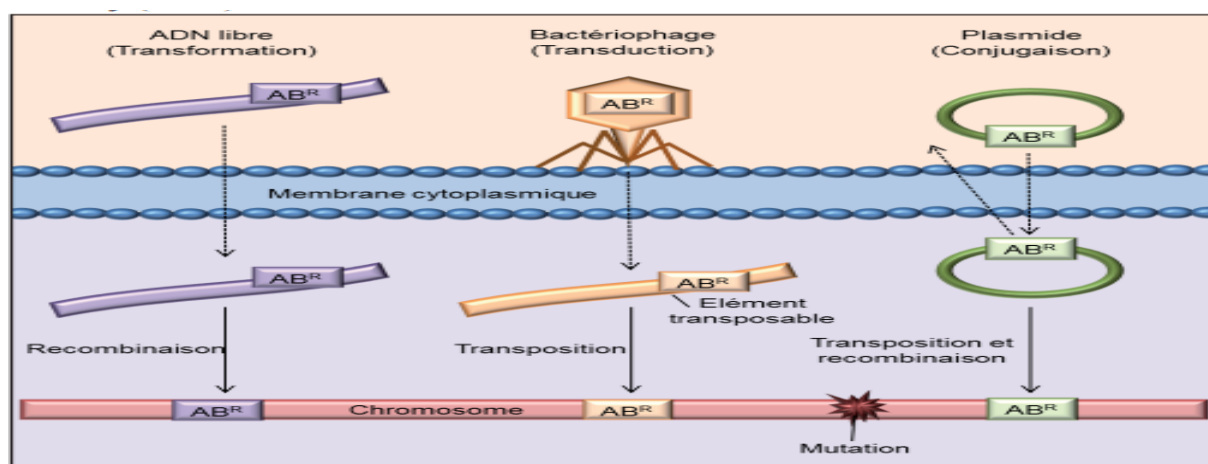


Figure I.6. Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques (Aleksun et Levy 2007a)

2.2.Mécanisme de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant : la production d'une enzyme capable d'inactiver l'antibiotique, la modification de la cible de l'antibiotique, ou la production de pompes à efflux qui larguent l'antibiotique hors de la bactérie, ou encore par l'altération des membranes bactériennes (Guardabassi et Courvalin 2019). Il en existe d'autres ; néanmoins, ils n'ont pas d'intérêt en pratique courante. Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance (Figure I.7).

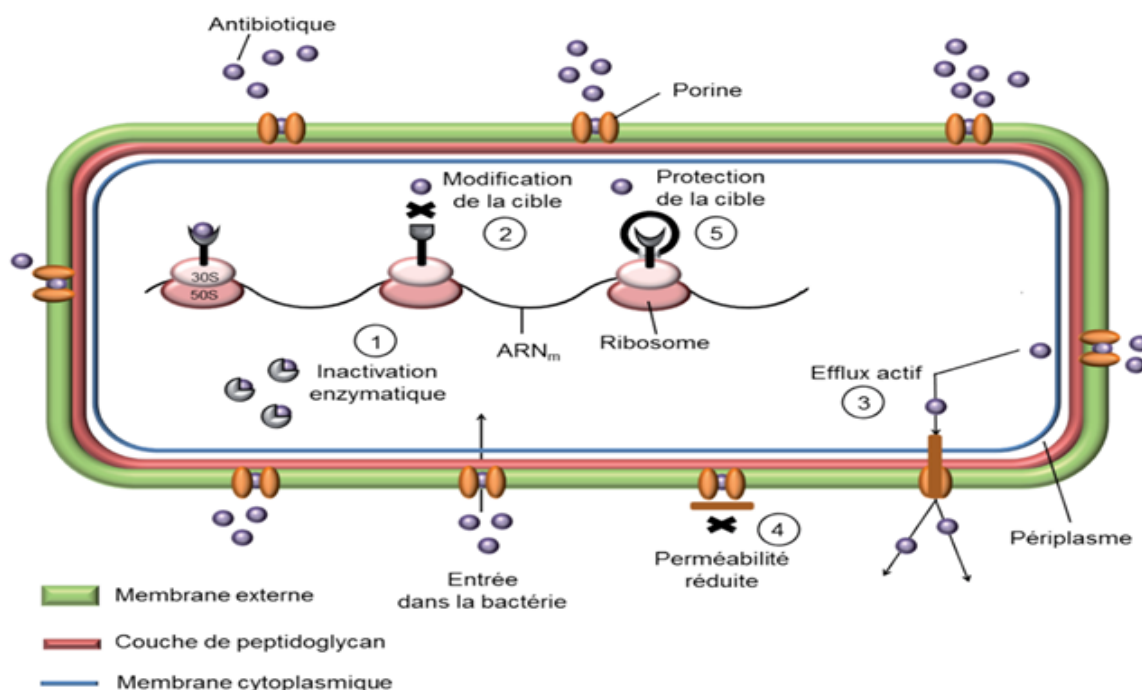


Figure I.7. Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez une bactérie Gram négative (Guardabassi et Courvalin 2019).

2.2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Certaines bactéries produisent des enzymes capables de neutraliser les antibiotiques en les dégradant ou en les modifiant chimiquement, notamment par acétylation, glycosylation, nucléotidylation, substitution, ribosylation ou phosphorylation (Džidić et al. 2008).

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des β -lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines) (Aleksun et Levy 2007b; Nikaido 2009; Guardabassi et Courvalin 2019).

2.2.2. Altération de la cible bactérienne

Certaines bactéries acquièrent une résistance en modifiant la structure ou en remplaçant la cible de l'antibiotique, empêchant ainsi sa liaison et son action. Ce mécanisme est fréquent, notamment pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux antibiotiques MLS chez les bactéries à Gram positif, ainsi qu'aux quinolones chez les bactéries à Gram positif et négatif. (Aleksun and Levy 2007; Nikaido 2009; Guardabassi et Courvalin 2019).

2.2.3. Pompes à efflux

Certaines bactéries possèdent des systèmes d'efflux actifs capables d'expulser les antibiotiques hors de la cellule. Ce mécanisme, nécessitant de l'énergie (ATP ou gradient électrochimique), repose sur des pompes membranaires (figure I.8) qui diminuent la concentration intracellulaire du médicament et limitent ainsi son accès à la cible bactérienne. (Cattoir 2004). Il existe deux systèmes de pompes à efflux :

- ✓ **Les pompes SDR (*Specific Drug Resistance*)**, responsables d'une résistance spécifique à certains antibiotiques comme les tétracyclines, les MLS ou les phénicolés, sont souvent codées par des gènes mobiles. (Muylaert et Mainil 2013).
- ✓ **Les pompes MDR (*Multiple Drug Resistance*)**, codées par le chromosome, confèrent une résistance faible mais multiple, comme MexAB-OprM (*P. aeruginosa*), AcrAB-TolC (*E. coli*) et QacA (*S. aureus*). (Muylaert et Mainil 2013).

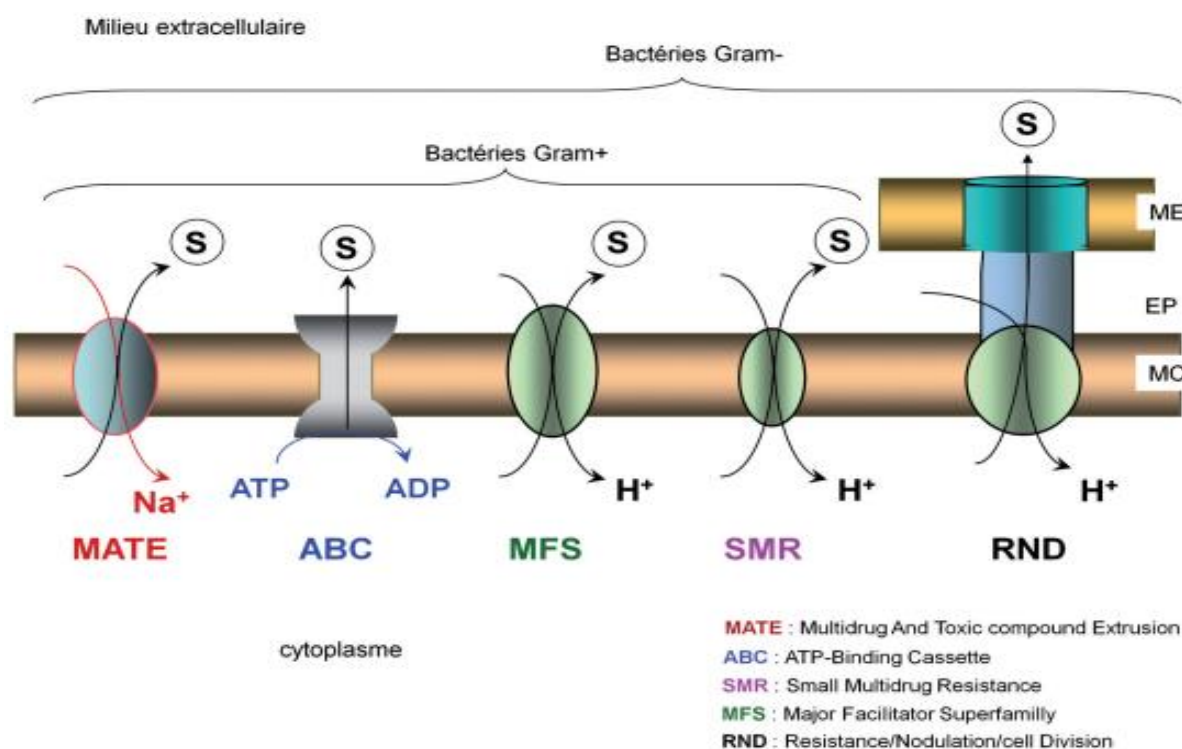


Figure I.8. Représentation schématique des cinq familles de pompes à efflux bactériennes (Philippon et al. 2022)

2.2.4. Protection de la cible

La protection de la cible est un mécanisme de résistance bactérienne reconnu, observé pour les tétracyclines et récemment pour les quinolones et fluoroquinolones. Pour les tétracyclines, huit protéines ribosomales de protection déplacent l'antibiotique de son site de liaison via un encombrement stérique (Allas 2018).

Pour les fluoroquinolones, une résistance de faible niveau a été associée aux gènes plasmidiques *qnr*, répartis en cinq groupes. Les protéines Qnr produites se lient aux topoisomérases, diminuant leur affinité pour l'antibiotique et réduisant ainsi l'efficacité des fluoroquinolones par protection indirecte de la cible enzymatique (Robicsek et al. 2006; Rodríguez-Martínez et al. 2008; Cavaco et al. 2009; M. Wang et al. 2009).

3. Caractéristiques des souches microbiennes étudiées

Dans le cadre de ce travail de thèse, l'évaluation de l'activité antimicrobienne des nanocomposites a porté sur un panel de souches microbiennes à Gram différents, représentées par *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Acinetobacter baumannii* et *Candida albicans*, dont l'écologie, la taxonomie et les caractéristiques : culturelles, morphologiques et biochimiques sont détaillées en Annexe 1.

Ces souches ont été sélectionnées en réponse à un problème de santé publique majeur, à savoir la résistance aux antibiotiques. En effet, la pression de sélection exercée par l'utilisation massive et parfois inappropriée des antibiotiques a conduit à l'émergence de bactéries multirésistantes, capables de développer des mécanismes de résistance complexes, tels que la formation de biofilms.

Les nanoparticules émergent comme une alternative prometteuse en tant qu'agents antimicrobiens grâce à des modes d'action différents de ceux des antibiotiques classiques, elles ouvrent la voie à des stratégies antibactériennes innovantes capables de contourner cette multirésistance. Cependant, l'utilisation de ces nouveaux agents nécessite de garantir leur innocuité vis-à-vis des cellules. C'est pourquoi, après avoir défini leur potentiel antibactérien, il est indispensable d'étudier leurs interactions avec les systèmes biologiques.

Chapitre 3 : Biocompatibilité et Cytotoxicité des nanomatériaux

Les nanomatériaux se distinguent par leur taille nanométrique et leur grande surface spécifique, leur conférant des propriétés physico-chimiques uniques. Ces caractéristiques leur permettent d'interagir efficacement avec de nombreuses molécules et différents types cellulaires, ouvrant des perspectives prometteuses pour les applications biomédicales.

Cependant, ces mêmes propriétés peuvent également induire des effets cytotoxiques ou immunogènes, rendant l'évaluation de leur biocompatibilité et de leur cytotoxicité essentielle. Parmi eux, les nanocomposites, grâce à leur structure modulable, offrent un potentiel thérapeutique amélioré, mais nécessitent une analyse rigoureuse de leur sécurité biologique afin de garantir leur utilisation sûre dans les applications médicales.

1. Interactions des nanoparticules avec les systèmes biologiques

1.1. Toxicocinétique et devenir intracellulaire chez les procaryotes

La cinétique des nanocomposites-cellules procaryotes se concentre sur l'adsorption des nanocomposites à la surface membranaire, suivie de leur éventuelle internalisation et de leur accumulation. Ces phénomènes dépendent également des caractéristiques du matériau, mais sont fortement influencés par la nature et la structure de la paroi bactérienne.

1.1.1. Adsorption

L'adsorption est la première étape de l'interaction nano-micro-organisme et repose sur des mécanismes physico-chimiques qui gouvernent l'adhérence des NPs à la surface cellulaire (Handy et al., 2013). Elle implique principalement les forces de van der Waals, les forces hydrophobes, l'attraction électrostatique et les interactions chimiques spécifiques, notamment les liaisons hydrogène et les interactions récepteur-ligand (Ma et Lin 2013).

Bien que l'attraction électrostatique entre NPs chargées positivement et surfaces microbiennes généralement négatives en raison de la dissociation des groupements carboxyliques, phosphates et autres groupements fonctionnels acides de la membrane favorise l'adsorption ; de nombreuses interactions nano-système biologique peuvent se produire indépendamment de la charge, indiquant l'intervention de mécanismes non électrostatiques dans l'adhérence aux membranes cellulaires (Neal 2008; Shang et al. 2025).

1.1.2. Internalisation des NPs

Chez les bactéries et les microalgues, l'internalisation des NPs peut se produire malgré la présence de parois cellulaires épaisses et rigides, qui constituent une barrière de premier niveau. Ces parois possèdent des pores de 5 à 20 nm, permettant le passage des NPs de petite taille, notamment lors de phases de forte perméabilité cellulaire comme la division (Bhatt et Tripathi 2011) (Zemke-White et al. 2000).

L'interaction des NPs peut également induire la formation de pores élargis, facilitant leur entrée. Une fois la paroi franchie, les NPs peuvent traverser la membrane plasmique par des mécanismes encore mal élucidés, incluant des perturbations membranaires, la formation de pores transitoires, ou une pénétration directe favorisée par leur petite taille et leurs propriétés de surface. Les mécanismes actifs de type endocytose sont considérés comme absents ou très limités chez les procaryotes, et les voies exactes d'internalisation demeurent largement inconnues (Navarro et al. 2008; Von Moos et al. 2014).

1.1.3. Devenir intracellulaire

Après leur internalisation, les nanoparticules (NPs) peuvent atteindre le cytoplasme, où elles sont susceptibles d'interagir avec différents constituants cellulaires. Leur devenir et leur distribution intracellulaires dépendent de plusieurs facteurs, notamment de leur taille, de leur morphologie, de leur composition chimique, de leurs propriétés de surface ainsi que de la nature et de la structure de la cellule microbienne (Perreault et al. 2012).

Dans le cytoplasme bactérien, les NPs peuvent interagir directement avec les protéines, les enzymes, les acides nucléiques et les différents constituants du cytoplasme. Ces interactions peuvent modifier la structure et la fonction de certaines macromolécules et perturber des processus cellulaires essentiels (Von Bonin et al. 2017).

. Les NPs peuvent également constituer une source d'ions métalliques libérés progressivement dans le milieu intracellulaire. Ces ions peuvent interagir avec des groupements fonctionnels présents dans les protéines et les enzymes, entraînant leur inhibition ou leur dénaturation et perturbant ainsi différentes voies métaboliques (S. Wahab et al. 2023).

Le devenir intracellulaire des NPs peut également être associé à une perturbation de l'homéostasie ionique. L'accumulation d'ions métalliques dans le cytoplasme peut modifier les concentrations intracellulaires de certains ions essentiels et perturber les systèmes de transport membranaire. Ces déséquilibres peuvent affecter le métabolisme énergétique, la synthèse des

protéines et le fonctionnement des systèmes enzymatiques nécessaires à la survie bactérienne.(Slavin et al. 2017).

Par ailleurs, certaines NPs métalliques ou à base d'oxydes métalliques peuvent favoriser la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans la cellule. Lorsque leur production dépasse les capacités des systèmes antioxydants bactériens, un stress oxydatif peut se développer. Celui-ci peut provoquer l'oxydation des protéines, la peroxydation des lipides membranaires et des altérations de l'ADN. Les dommages oxydatifs peuvent ainsi affecter simultanément plusieurs fonctions cellulaires et contribuer à la perte de viabilité bactérienne (Shkodenko et al. 2020).

1.2. Mécanismes d'adsorption et d'internalisation chez les eucaryotes

La cinétique des nanocomposites-cellules eucaryotes permet de décrire les étapes d'absorption, de distribution et d'élimination des nanocomposites. Ce processus dynamique est régi à la fois par les propriétés physico-chimiques des nanomatériaux (taille, charge, surface) et par les spécificités du type cellulaire ciblé.

1.1.1. Absorption et voies d'exposition

Les nanostructures administrées par voie orale traversent le tractus gastro-intestinal et sont partiellement absorbées au niveau de l'intestin grêle, notamment par endocytose *via* les cellules M des plaques de Peyer, ou directement par les cellules épithéliales. Leur absorption dépend de paramètres comme la taille, la charge, l'hydrophobicité, la composition chimique et la dose. Les nanostructures non absorbées atteignent le côlon, où elles interagissent avec le microbiote et les cellules épithéliales, modulant les réponses immunitaires inflammatoires (M. Zhang et Merlin 2018; Haripriya et Suthindhiran 2023).

1.2.1. Distribution systémique et cellulaire

Une fois absorbées, les NPs, notamment les nanocomposites de type HDL à base de zinc ou d'aluminium, sont distribuées dans l'organisme *via* la circulation sanguine. Elles atteignent divers tissus et organes, y compris le côlon (Kura et al. 2014). Le transport systémique des nanostructures leur permet de diffuser dans les fluides interstitiels et intracellulaires. Leur surface chargée positivement favorise l'adhésion à la membrane cellulaire négative, déclenchant l'endocytose médiée par la clathrine et la caveoline pour une internalisation efficace (Torres-Vanegas et al. 2021; Ying et al. 2021; Rathee et al. 2025).

1.2.2. Métabolisme

Une fois internalisées, les HDLs échappent aux endosomes ou aux lysosomes et libèrent leur charge active dans le cytoplasme. Dans le microenvironnement tumoral, caractérisé par une acidité et une hypoxie, elles exploitent le métabolisme spécifique des cellules cancéreuses, principalement la glycolyse produisant de l'acide pyruvique pour libérer des ions métalliques, assurant une action thérapeutique ciblée tout en restant inactives dans les tissus sains (Ying et al. 2021; Kiani et al. 2022; Y. Chen et al. 2024a).

1.2.3. Élimination

L'élimination des NPs se fait par trois voies principales : excrétion hépatobiliaire, fécale et urinaire. Ces processus permettent de purger les NPs non utilisées ou métabolisées de l'organisme, limitant ainsi leur accumulation à long terme (Yan et al. 2019; Yu et al. 2023; Haripriyaa et Suthindhiran 2023).

2. Mécanismes moléculaires de la cytotoxicité

Partant du principe que le stress oxydatif est le principal mécanisme de la nanotoxicité. Il résulte de l'internalisation des NPs, de la libération d'ions métalliques et du dysfonctionnement mitochondrial, et peut être renforcé *in vivo*, par des cytokines pro-inflammatoires. Mais toutes les NPs ne provoquent pas systématiquement ce type de stress (Horie et Tabei 2021) (Figure I.9).

2.1. Stress oxydant

2.1.1. Génération directe des espèces réactives de l'oxygène

La surface des NPs porte des groupes fonctionnels pro-oxydants et des sites redox actifs (donneurs ou accepteurs d'électrons) qui réagissent avec l'oxygène moléculaire (O_2) pour former des radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot-}$).

La taille réduite des NPs augmente les défauts de surface et l'activité électronique, ce qui favorise la génération d'ERO (Donaldson et Tran 2002; Oberdörster et al. 2005).

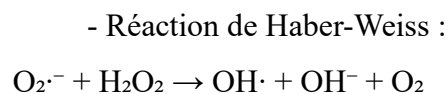
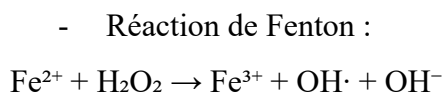
2.1.2. Induction indirecte des espèces réactives de l'oxygène

2.1.2.1. Dissolution des nanoparticules et libération ionique

Certaines NPs se dissolvent dans les milieux biologiques, libérant des ions métalliques (comme Zn^{2+} , Fe^{2+}) capables de catalyser des réactions redox, comme les suspensions aqueuses de quartz qui produisent : H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ et $^1O_2$ (Ševců et al. 2011).

2.1.2.2. Réactions catalytiques de type Fenton et Haber-Weiss

Les métaux de transition présents dans ou à la surface des NPs (Fe, Cu, Cr, V, Co) catalysent deux types de réactions importantes (Canaparo et al. 2020) :



Ces réactions produisent des radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) très réactifs et responsables de dommages cellulaires importants (Makhdoumi et al. 2020).

2.2. Dysfonctionnement mitochondrial

L'apoptose a été identifiée comme un mécanisme majeur de mort cellulaire induite par le stress oxydatif généré par les NPs. Parmi les différentes voies d'apoptose, la voie mitochondriale intrinsèque joue un rôle central dans la cytotoxicité induite notamment par les NPs à base d'oxydes métalliques. Ces NPs sont capables de pénétrer *via* les membranes mitochondriales et d'en perturber leur fonctionnement (Xia et al. 2006) entraînant :

- Une inhibition de la chaîne respiratoire ;
- L'activation d'enzymes de type NADPH-like ;
- Une surproduction des ERO.

Des niveaux élevés d'ERO mitochondriaux peuvent endommager les phospholipides membranaires, induisant une dépolarisation de la membrane mitochondriale, ce qui accroît encore la production d'ERO et active les cascades apoptotiques (Manke et al. 2013; Canaparo et al. 2020).

2.3. Réponses inflammatoires et immunotoxicité

L'exposition aux NPs induit une relation interdépendante entre le stress oxydatif et l'inflammation. L'internalisation des NPs par les macrophages et les neutrophiles active l'enzyme NADPH oxydase, entraînant une production massive d'ERO et de RNS.

Cette réponse oxydative constitue une stratégie de défense des cellules immunitaires visant à éliminer les NPs. En retour, les ERO générées participent à l'activation de voies de signalisation pro-inflammatoires telles que les RTK, les MAPK, Akt et NF- κ B, renforçant ainsi la cascade inflammatoire (Pacurari et al. 2011 ; Manke et al. 2013).

2.4. Génotoxicité et mutagenèse

2.4.1. Dommages à l'ADN

Les NPs peuvent provoquer des cassures simples et doubles brins de l'ADN par une interaction directe avec la molécule.

Indirectement, la production excessive d'ERO/RNS entraîne des altérations oxydatives de l'ADN (ex. : formation de 8-oxo-dGuo), des mutations ponctuelles et des aberrations chromosomiques (Huliganga 2023; Cavallo et al. 2023) :

✓ Altération des systèmes de réparation de l'ADN

Plusieurs NPs inhibent les voies de réparation de l'ADN, notamment la BER, la NER et l'HR. Elles peuvent aussi diminuer l'expression ou l'activité de protéines clés telles que p53 ou XRCC1, augmentant ainsi les risques de mutagenèse et de carcinogenèse (Singh et al. 2017).

✓ Libération d'ions métalliques

Les NPs de type métallique, peuvent libérer des ions métalliques toxiques, interférer avec les enzymes réparatrices ou générer un stress ionique. Les ions métalliques ainsi libérés, peuvent aussi perturber les structures de type "doigts de zinc", essentielles pour l'activité de certaines protéines de réparation (Shukla et al. 2021).

✓ Effets redox de surface

Les NPs catalysent la formation d'ERO *via* leur surface réactive, même en l'absence de dissolution, ce qui augmente les dommages oxydatifs sur l'ADN et l'interaction avec les protéines nucléaires (Kermanizadeh et al. 2015).

2.4.2. Perturbations épigénétiques et génotoxicité secondaire

Certaines nanoparticules peuvent provoquer des perturbations épigénétiques en modifiant la méthylation de l'ADN, en induisant des modifications post-traductionnelles des histones ou en altérant l'expression des miARN, contribuant ainsi à l'instabilité génomique (Kermanizadeh et al. 2015).

Parallèlement, une génotoxicité secondaire peut survenir à la suite d'une inflammation : les cellules immunitaires libèrent des médiateurs inflammatoires capables d'induire des lésions à l'ADN dans les cellules saines environnantes, même si celles-ci n'ont pas internalisé de NPs (Åkerlund et al. 2019) (Figure I.9).

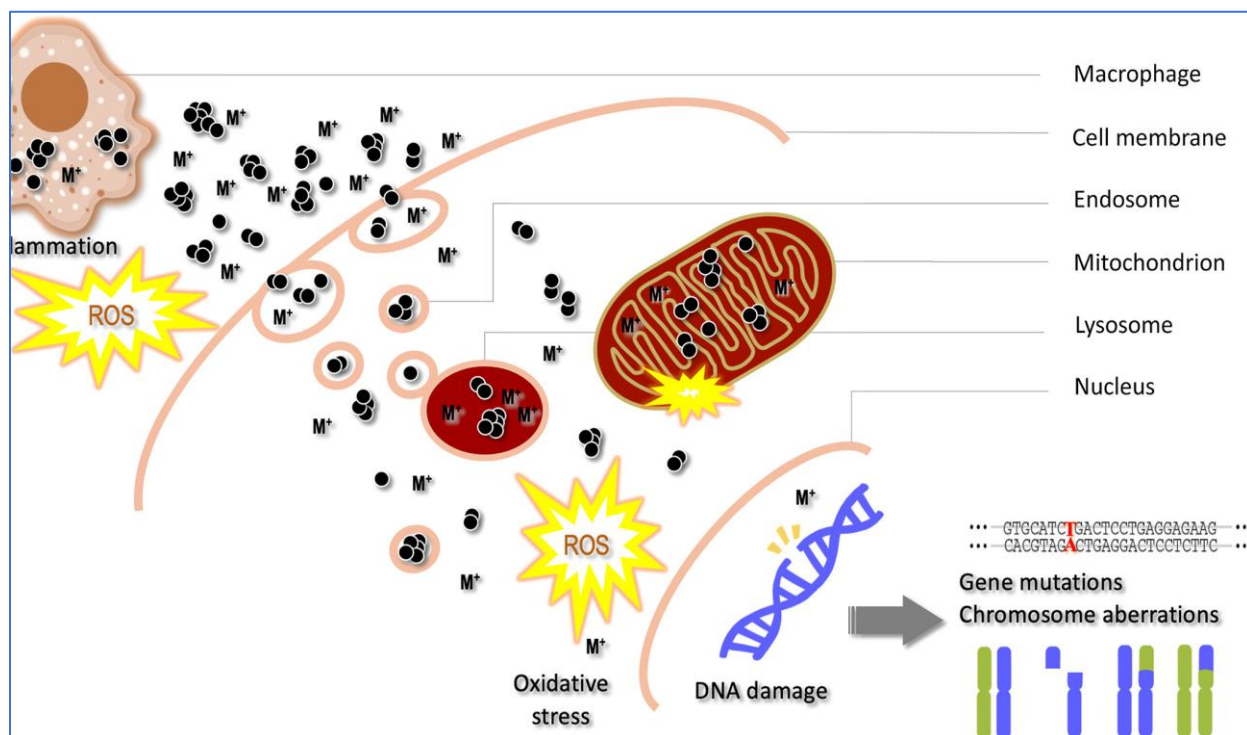


Figure I.9 Mécanismes moléculaires de la toxicité des nanocomposites (Landsiedel et al. 2022).

En conclusion, l'évaluation rigoureuse de la biocompatibilité et de la cytotoxicité conditionne le développement clinique des nanomatériaux. Leur profil toxicologique dépend étroitement de propriétés physico-chimiques telles que la taille, la charge et la composition, ainsi que de leur capacité à induire un stress oxydatif ou une réponse inflammatoire.

À cet égard, les nanocomposites, grâce à leur structure modulable, offrent une approche rationnelle pour optimiser ces paramètres, permettant un équilibre entre performance thérapeutique et sécurité biologique. Cette optimisation est particulièrement cruciale dans le contexte du cancer colorectal, une pathologie complexe où les limites des traitements actuels soulignent le besoin de vecteurs ciblés, efficaces et bien tolérés par l'organisme.

Ainsi, l'étude de la biocompatibilité et de la cytotoxicité ne constitue pas seulement un préalable à l'usage clinique des nanomatériaux, mais ouvre également la voie au développement de stratégies anticancéreuses innovantes, adaptées aux défis spécifiques du cancer colorectal.

Chapitre 4 : Cancer Colorectal et stratégies anticancéreuses

Le cancer est une pathologie multifactorielle résultant de l'accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques. Ces perturbations favorisent l'émergence de cellules malignes dotées de capacités pro-prolifératives, d'une résistance à l'apoptose et d'une aptitude à échapper à la surveillance du système immunitaire (Simon et Hammer 2012; Bisoyi 2022).

Les limites liées aux traitements conventionnels, telles que la chimiorésistance, la toxicité systémique et les taux élevés de récurrence, soulignent la nécessité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. Dans cette optique, les nanomatériaux, les thérapies ciblées et les approches combinées offrent des perspectives prometteuses pour améliorer la spécificité, l'efficacité et la sécurité des traitements. C'est précisément ce potentiel qui justifie l'intérêt central porté aux nanocomposites dans le cadre de ces travaux.

1. Généralités sur le Cancer Colorectal

1.1.Définition

Le cancer colorectal (CCR) est l'un des cancers les plus fréquents dans le monde, se classant au deuxième rang chez les femmes et au troisième chez les hommes en termes d'incidence. En 2022, plus de 1,9 million de nouveaux cas ont été enregistrés à l'échelle mondiale, représentant plus de 9 % de l'incidence et de la mortalité par cancer (Bray et al. 2024).

Le CCR évolue selon un processus multi-étapes impliquant des altérations histologiques, morphologiques et génétiques (Shivshankar et al. 2025)

Sur le plan moléculaire, le CCR résulte d'une accumulation progressive d'altérations génétiques et épigénétiques conduisant à une instabilité génomique marquée. Cette carcinogenèse est notamment associée à l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs tels que *TP53*, *APC* et *TGF- β* , ainsi qu'à l'activation de voies oncogéniques majeures, incluant *RAS*, *BRAF* et *PI3K* (Benarba et Pandiella 2018a).

1.2.Étiologie du cancer colorectal

Le CCR se répartit en trois grandes catégories génétiques :

- ✓ Sporadique (≈ 60 % des cas) : forme la plus fréquente, sans antécédents familiaux ;
- ✓ Familial (≈ 30 %) : concerne les patients ayant au moins un parent du premier degré atteint d'un CCR ou d'un adénome ;
- ✓ Héréditaire (≈ 10 %) : lié à des mutations germinales affectant des gènes régulateurs de la croissance cellulaire (Benarba et Pandiella 2018b).

1.3.Caractérisation histopathologique

Plus de 90 % des carcinomes colorectaux sont des adénocarcinomes issus de l'épithélium colique ; des formes plus rares incluent les carcinomes neuroendocriniens, épidermoïdes, adénosquameux, fusiformes et indifférenciés (Fleming et al. 2012). L'adénocarcinome (figure I.10) est classé en trois grades selon la proportion de structures glandulaires :

- **Grade 1 (bien différencié)** : > 95 % de formation glandulaire ;
- **Grade 2 (modérément différencié)** : 50–95 % ;
- **Grade 3 (faiblement différencié)** : < 50 %, aspect majoritairement solide (Dubansky et al. 2023; Arslan et al. 2025).

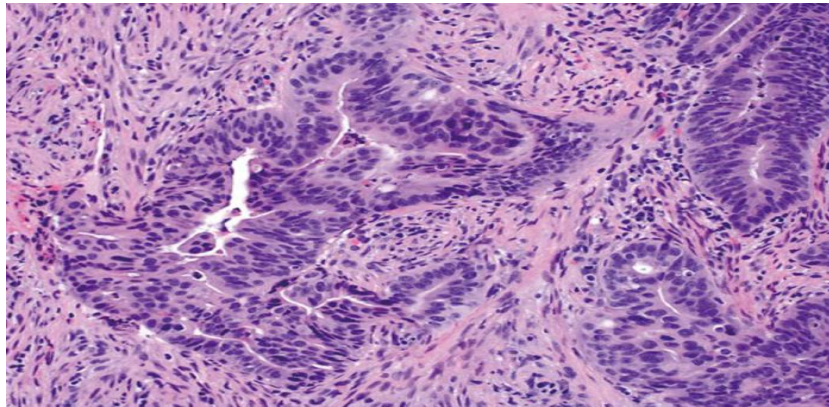


Figure I .10 Histologie d'un adénocarcinome modérément différencié (Grossissement × 200) (Fleming et al. 2012).

1.4.Classification histologique des carcinomes colorectaux

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), il existe plusieurs variantes histologiques des carcinomes colorectaux, telles que : le mucineux, à cellules en bague à chaton, médullaire, micropapillaire, dentelé, de type comédon criblé et adénosquameux à cellules fusiformes et indifférenciées.

1.4.1. Adénocarcinome colorectal mucineux

L'adénocarcinome mucineux (Figure I.11) se caractérise par la présence d'au moins 50 % de mucine extracellulaire. Il représente 10 à 20 % des CCR. Sur le plan épidémiologique, cette variante est plus fréquente chez les femmes et les patients jeunes, avec une localisation préférentielle au niveau du côlon proximal et un diagnostic souvent posé à un stade avancé (C. Luo et al. 2019).

Au niveau moléculaire, il se distingue par une surexpression des mucines MUC2 et MUC5AC (Hanski 1995; Imai 2013), une fréquence élevée de mutations affectant les voies RAS/MAPK et PI3K/Akt/mTOR, ainsi que des taux accrus d'instabilité microsatellitaire, souvent associés au syndrome de Lynch et au phénotype CpG méthylateur (Hugen et al. 2015).

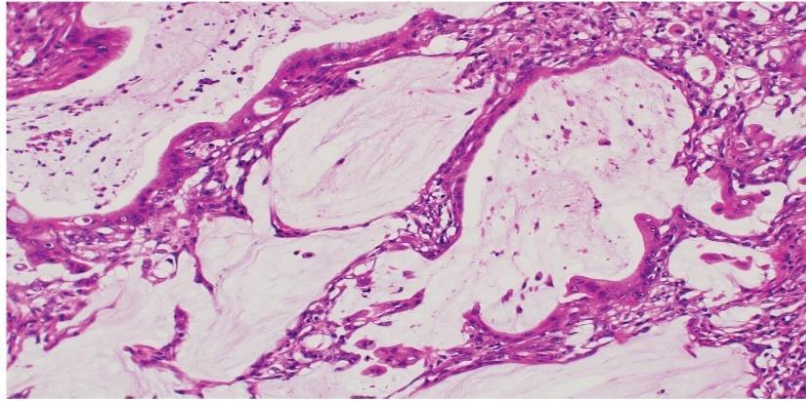


Figure I.11 Adénocarcinome mucineux (Grossissement $\times 400$) (L. Wang et al. 2020).

1.4.2. Adénocarcinome à cellules en bague à chaton

L'adénocarcinome à cellules en bague à chaton, ou SRCC (*Signet Ring Cell Carcinoma*), est un sous-type très rare d'adénocarcinome mucineux (moins de 1 % des cas). Il se définit histologiquement par la présence de plus de 50 % de cellules en bague à chaton, contenant de grandes vacuoles de mucine, décalant le noyau vers la périphérie (Figure I.12) (Gulinac et al. 2024).

Sur le plan moléculaire, il est associé à une instabilité microsatellitaire élevée ainsi qu'à des mutations du gène *BRAF*, mais les données sont limitées par la taille réduite des cohortes étudiées (Korphaisarn et al. 2019).

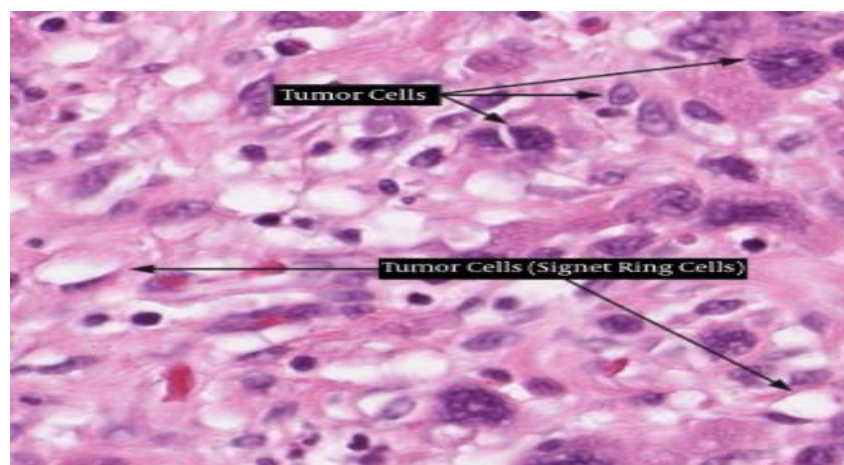


Figure I.12 Carcinome à cellules en bague à chaton (Mirmansouri et al. 2018).

1.4.3. Carcinome médullaire

Le carcinome médullaire (CM) (Figure I.13) est une variante rare du CCR. Il survient préférentiellement chez les femmes d'âge moyen et se distingue par un pronostic globalement favorable, lié notamment à une faible incidence de métastases ganglionnaires.

Sur le plan histologique, il se distingue par un aspect syncytial ou une organisation en nappes, sans formation glandulaire évidente, associée à une infiltration lymphocytaire intra-tumorale marquée.

Sur le plan moléculaire, cette tumeur présente de manière quasi-constante une instabilité microsatellitaire (Fatima et al. 2021; Maung et al. 2024).

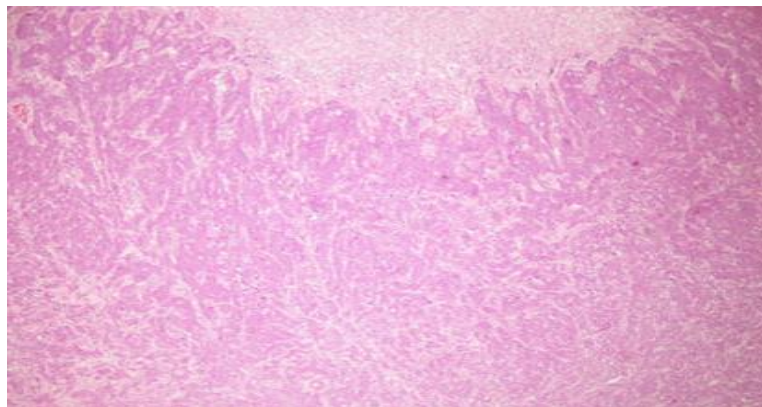


Figure I.13 Carcinome médullaire (grossissement $\times 40$) (Zenger et al. 2019)

3. Mécanismes moléculaires et voies de signalisation

Les voies de transduction du signal permettent à la cellule d'intégrer les modifications de son environnement, notamment celles induites par des signaux extracellulaires. Ces voies contribuent au maintien de l'équilibre entre la survie et la mort cellulaire. Dans la cellule cancéreuse, cet équilibre est rompu, souvent en raison d'altérations affectant une ou plusieurs de ces voies de signalisation (Brotelle et Bay 2016). Parmi celles-ci :

3.1.Wnt/ β -caténine

Cette voie est activée par les ligands Wnt, qui stabilisent la β -caténine, laquelle migre vers le noyau pour stimuler la transcription de gènes favorisant la prolifération et la survie cellulaires (J. Liu et al.,. Le gène APC régule le complexe de destruction de la β -caténine ; en cas de mutation de l'APC, ce complexe devient inactif et la β -caténine s'accumule, entraînant une prolifération cellulaire anarchique et la formation de polypes adénomateux (Steinhagen et al. 2010; Fernandez et Buscail 2025). Les mutations se concentrent souvent dans la *Mutation*

Cluster Region (MCR, codons 1286–1513), ce qui produit une protéine APC tronquée et une altération majeure du contrôle de la signalisation Wnt (S.-P. Chen et al. 2006).

3.2.PI3K/AKT/mTOR (PAM)

Elle régule la croissance, la survie et la prolifération cellulaire. Son activation par des ligands (IGF-1, PDGF, EGF) entraîne la conversion de PIP2 en PIP3, ce qui conduit au recrutement et à l'activation de l'AKT, qui stimule le complexe mTORC1 et, par conséquent, favorise la synthèse protéique et la prolifération cellulaire (Hawkins et al. 1992; Vahidnezhad et al. 2016). Dans le cancer, l'hyperactivation de PI3K, la perte de PTEN ou le gain de fonction d'AKT favorisent la progression tumorale et la résistance aux traitements. Ces altérations incluent notamment des mutations fréquentes du gène PIK3CA au niveau des exons 9 et 20 (Glaviano et al. 2023).

3.3.MAPK/ERK

La voie MAPK/ERK transmet les signaux émis par les récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK) *via* la cascade RAS-RAF-MEK jusqu'à ERK, qui phosphoryle des substrats cytoplasmiques et nucléaires, régulant ainsi la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire (Marshall 1995; Gagliardi et Pertz 2024).

Des mutations oncogéniques telles que *KRAS*, *NRAS* ou *BRAF* (notamment la mutation V600E dans le CCR), entraînent une hyperactivation constitutive de la voie MAPK/ERK, favorisant l'initiation et la progression tumorale. Ces mutations surviennent généralement de façon isolée, reflétant l'hétérogénéité moléculaire des cancers colorectaux (Roberts et Der 2007; Burotto et al. 2014).

3.4.TGF-β/SMAD

La voie de signalisation TGF-β régule la prolifération des cellules intestinales et la régénération de la muqueuse (Bertram et al. 2013). La fixation du ligand induit l'activation du complexe TGFβRI/II, qui phosphoryle les protéines SMAD2 et SMAD3. Ces R-SMADs forment alors, avec la SMAD4, un complexe qui transloque vers le noyau pour moduler l'expression des gènes cibles (Tzavlaki et Moustakas 2020; Deng et al. 2024).

Dans le CCR, la perte ou la mutation du gène *SMAD4* (locus 18q21) perturbe cette régulation, favorisant la progression tumorale en synergie avec d'autres altérations génétiques (Fang et al. 2021).

3.5.P 53

Le gène *TP53* code pour la protéine p53, « gardienne du génome », qui maintient l'intégrité de l'ADN en réponse à des stress tels que les dommages à l'ADN, l'activation oncogénique ou le stress réplicatif (Hernández Borrero et El-Deiry 2021).

La protéine p53 régule l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN, la sénescence et l'apoptose (Kasthuber et Lowe 2017). Elle intervient aussi dans l'autophagie, le métabolisme, la ferroptose et la régulation des ERO, parfois par interaction directe avec d'autres protéines mitochondriales anti-apoptotiques. L'activité de p53 est finement contrôlée par des modifications post-traductionnelles (phosphorylation, acétylation, ubiquitination, sumoylation, méthylation, neddylation, β -hydroxybutyrylation), qui régulent sa stabilité, sa localisation et sa fonction transcriptionnelle, déterminant ainsi la réponse cellulaire (Sullivan et al. 2018).

Dans le CCR, 34 à 45 % des tumeurs présentent des mutations de *TP53*, principalement dans les exons 5–8 (domaines de liaison à l'ADN), affectant les codons « points chauds » 175, 245, 248, 273 et 282. Ces mutations altèrent la capacité de p53 à reconnaître l'ADN et à activer la transcription, compromettant ses fonctions suppressives et favorisant la progression tumorale (X.-L. Li 2015).

3.6. Voie de signalisation Notch

La voie de signalisation Notch, hautement conservée, régule la réponse cellulaire, le développement embryonnaire et l'homéostasie tissulaire. Elle comprend quatre récepteurs (Notch1–4) et cinq ligands (*DLL-1*, *DLL-3*, *DLL-4*, *JAG-1*, *JAG-2*) (Oldershaw et Hardingham 2010).

L'activation de la voie résulte d'une interaction directe cellule-cellule, entraînant la libération du domaine intracellulaire de Notch (NICD), qui transloque vers le noyau pour activer la transcription des gènes cibles (*HES*, *HEY*, NF- κ B, *VEGF*, *mTOR*, *CCND1*, *c-MYC*, *p21*, *p27*, *AKT*) (Vychytilova-Faltejskova et Slaby 2022).

Dans le CCR, l'activation anormale de Notch1 agit en synergie avec la voie Wnt pour initier la formation d'adénomes. Elle induit l'expression de la MMP9, favorisant l'invasion tumorale et participe activement à la vasculogenèse et à l'angiogenèse tumorale. Par ailleurs, plus de 22 % des CCR présentent un gain de copies du gène *NOTCH1*, entraînant une activation autonome associée à un pronostic défavorable.

La surexpression de Notch1 et de sa cible HES1 est particulièrement marquée dans les stades avancés et est renforcée par l'activation de la voie AKT, ce qui augmente la prolifération cellulaire et la charge tumorale (Rodilla et al. 2009; Arcaroli et al. 2016; Tyagi et al. 2020; Yang et al. 2024).

3.7. Voie Hedgehog (SHH)

La voie canonique Hedgehog (Hh) est initiée par la liaison des ligands SHH et IHH au récepteur PTCH1, entraînant l'activation et la translocation nucléaire des facteurs de transcription GLI.

Dans le côlon sain, la signalisation Hh est principalement paracrine (de l'épithélium vers le stroma) et joue un rôle suppressif de tumeur. Dans le CCR, des mutations des gènes *PTCH1*, *SMO* ou *GLI*, ou une expression aberrante des ligands, peuvent activer la voie de façon autonome. Cette activation favorise la lymphangiogenèse, la régénération tumorale, la métastase et la chimiorésistance (Hong et al. 2013; Wu et al. 2017; Geyer et Gerling 2021).

3.8. Voie JAK/STAT

La liaison des cytokines à leurs récepteurs membranaires induit l'activation des kinases JAK (JAK1–3, TYK2). Cette activation entraîne la phosphorylation et la dimérisation des STAT. Les STAT dimérisés transloquent vers le noyau pour réguler la transcription des gènes impliqués dans la survie, la prolifération et l'inflammation (Slattery et al. 2013).

Dans le CCR, une activation constitutive de la voie JAK/STAT, souvent *via* STAT3, STAT5 ou des régulations par ARN circulaire (*circSPARC*), favorise la tumorigenèse et l'invasion cellulaire (Lai et al. 1995; Verbsky et al. 1996; X. Hu et al. 2021; Ghasemian et al. 2023).

3.9. Voie TNF α /NF- κ B

Le TNF α , cytokine pro-inflammatoire, peut induire deux réponses opposées : l'apoptose *via* FADD et l'activation de la caspase-8, ou la survie cellulaire *via* TRAF2, les kinases JNK/MEKK et le facteur de transcription NF- κ B. Dans le CCR, l'activation persistante de NF- κ B stimule la transcription de gènes pro-prolifératifs (*cyclines*, *Myc*, *IL-6*) et anti-apoptotiques (*Bcl-xL*, *cIAP*), favorisant ainsi la croissance tumorale, l'inflammation chronique et la résistance à la mort cellulaire (Karin and Lin 2002; Wu and Zhou 2010; Park et Hong 2016; Holbrook et al. 2019).

3.10. Signalisation Insulin / IGF-1

L'IGF-1, principalement lié à la protéine de transport IGFBP-3, active son récepteur IGF-1R, déclenchant des voies mitogènes et inhibant l'apoptose. Dans le CCR, une activation chronique de cette voie favorise la prolifération cellulaire, la survie, l'angiogenèse (notamment *via* l'induction du VEGF) augmentant ainsi le risque de transformation maligne. De plus, l'hyperinsulinémie, fréquemment associée à l'obésité ou au diabète de type 2, accroît ces effets et favorise la progression tumorale (Vogelstein et al. 1988; Aaronson 1991; Giovannucci 2001).

4. Stratégies anticancéreuses conventionnelles

Le traitement du cancer combine la chimiothérapie, la radiothérapie, la chirurgie, les thérapies ciblées et l'immunothérapie pour contrôler la croissance tumorale et prévenir les métastases. Les stratégies thérapeutiques sont rigoureusement adaptées au profil histologique et moléculaire, ainsi qu'au stade de la tumeur. L'objectif est d'optimiser le contrôle de la croissance tumorale et de prévenir la dissémination métastatique, tout en limitant la toxicité pour les tissus sains.

4.1. Chirurgie

Chez les patients atteints d'un CCR stade IV, la chirurgie est réservée aux cas symptomatiques à risque d'obstruction ou aux métastases résécables. Le pronostic post-opératoire reste néanmoins tributaire de facteurs clinico-pathologiques tels, que l'âge, les comorbidités, l'étendue tumorale et la différenciation cellulaire (Temple et al. 2004; Biondi et al. 2016).

4.2. Radiothérapie

La radiothérapie du cancer du côlon, bien que moins fréquemment utilisée, peut être indiquée dans certains cas avancés ou à visée palliative. Elle utilise des rayonnements à haute énergie pour détruire les cellules cancéreuses, soit par radiothérapie externe (ciblant la tumeur depuis l'extérieur), soit par radiothérapie interne appelée curiethérapie. Cette dernière consiste à placer des sources radioactives directement dans ou près de la tumeur, ce qui permet une irradiation précise et efficace tout en épargnant les tissus sains (Board 2002; Khairi et al. 2023).

4.3. Chimiothérapie

Les principaux agents chimiothérapeutiques sont le 5-fluorouracile (5-FU), l'oxaliplatine et l'irinotécan, souvent administrés en séquence pour améliorer la survie globale.

Le 5-FU, analogue de l'uracile, inhibe la synthèse d'ADN *via* FdUMP et perturbe l'ARN *via* FUTP (Longley et al. 2003; Aparicio et al. 2005; Murphy et Middleton 2012). Son effet est potentifié par l'acide folinique (leucovorine), qui stabilise le complexe FdUMP-thymidylate synthase.

Concernant les autres agents : l'oxaliplatine, un dérivé du platine, endommage l'ADN et bloque la prolifération cellulaire, alors que l'irinotécan, pro-médicament transformé en SN-38, inhibe la topoisomérase I, provoquant des cassures d'ADN et l'apoptose (Alcindor et Beauger 2011; Reyhanoglu et Smith 2025).

5. Limites des traitements conventionnels

Les traitements conventionnels du CCR présentent des limites importantes. Leur manque de spécificité entraîne une cytotoxicité sur les cellules saines, source de complications secondaires sévères. De plus, la variabilité génétique des CCR complique le développement d'une thérapie moléculaire universelle.

Concernant la chirurgie, bien qu'elle reste le traitement de première intention pour les cas précoces, son efficacité curative est limitée en cas de métastases (observées chez environ 25 % des patients au diagnostic). Chez ces patients, l'efficacité des chimiothérapies néoadjuvantes est souvent compromise par l'apparition rapide de résistances médicamenteuses et par un risque élevé de récurrence, même avec des thérapies combinées, ce qui conduit souvent à des cancers multirésistants (Schuell et al. 2005; Colussi et al. 2013; Rawla et al. 2019; J. Zhou et al. 2021).

6. Thérapies ciblées et nouvelles approches

Les stratégies thérapeutiques modernes visent à moduler de manière spécifique les voies moléculaires et les mécanismes cellulaires impliqués dans la tumorigenèse. Ces approches incluent les immunothérapies ciblées, les thérapies basées sur les ARN non codants, les virus oncolytiques, ainsi que l'utilisation de composés naturels, de probiotiques et de traitements guidés par des biomarqueurs. L'objectif est d'optimiser l'efficacité antitumorale tout en réduisant la cytotoxicité systémique. Ces stratégies ont démontré un potentiel significatif dans

des études précliniques et cliniques, offrant des perspectives pour des traitements personnalisés et mécanistiquement orientés contre le cancer (A. Kumar et al., 2023).

6.1. Immunothérapie

L'immunothérapie regroupe un ensemble de stratégies thérapeutiques visant à exploiter et moduler le système immunitaire afin de reconnaître et éliminer spécifiquement les cellules tumorales. Cette approche s'articule autour de quatre axes majeurs.

6.1.1. Inhibiteurs de points de contrôle immunitaires

Ces anticorps monoclonaux ciblent des molécules régulatrices telles que CTLA-4, PD-1 et son ligand PD-L1. Leur objectif est de lever l'inhibition exercée sur les lymphocytes T effecteurs et de restaurer une réponse immunitaire antitumorale efficace.

6.1.2. Thérapies cellulaires adoptives (CAR-T)

Elle repose sur l'utilisation de lymphocytes T génétiquement modifiés, exprimant des récepteurs antigéniques chimériques capables de reconnaître spécifiquement les cellules cancéreuses et d'induire leur destruction.

6.1.3. Virus oncolytiques

Il s'agit de virus natifs ou génétiquement modifiés capables d'infecter et de lyser sélectivement les cellules tumorales, tout en stimulant l'immunité antitumorale par la libération d'antigènes et de signaux de danger.

6.1.4. Vaccins anticancéreux

Ils visent à induire ou amplifier une réponse immunitaire spécifique contre les antigènes tumoraux. Ces vaccins utilisent des peptides synthétiques, des cellules dendritiques, ou des vecteurs viraux, bactériens et nucléiques (ADN/ARN) (Marin-Acevedo et al. 2018; Faghfuri 2024).

6.2. Thérapie ciblée par anticorps monoclonaux

Des anticorps monoclonaux ont été développés pour cibler de manière spécifique certaines protéines clés impliquées dans la croissance et la progression tumorales. Ces agents

thérapeutiques se distinguent par leur grande spécificité d'action et un profil de toxicité différent de la chimiothérapie cytotoxique classique. Leur efficacité a été particulièrement démontrée dans le CCR, où deux voies biologiques majeures de la cancérogenèse sont visées, à savoir : la voie de signalisation du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) et le processus d'angiogenèse, essentiel à l'apport sanguin de la tumeur (Veronese et O'Dwyer 2004).

Parallèlement, d'autres cibles ont été explorées, comme :

- HER2 : surexprimée dans une minorité de CCR, cette protéine est ciblée par des agents comme le trastuzumab dans certains essais ;
- PD-1 / PD-L1 : ciblés par des anticorps spécifiques (nivolumab, pembrolizumab), principalement dans les CCR caractérisés par une instabilité microsatellite élevée (MSI-H/dMMR) (Spitzer et al. 2023).

6.3. Nanomédecine

La nanomédecine repose sur l'utilisation de matériaux à l'échelle nanométrique, tels que les nanoparticules lipidiques, polymériques et inorganiques, pour la délivrance d'agents diagnostiques ou thérapeutiques. Elle s'applique au traitement de diverses pathologies, notamment le cancer, les maladies infectieuses et les troubles neurologiques (Chou et al. 2025).

Cette discipline a progressivement évolué vers des stratégies de ciblage spécifique des tissus et des cellules clés impliqués dans la tumorigenèse, en particulier les cellules immunitaires et stromales. L'objectif est d'améliorer l'efficacité thérapeutique tout en réduisant les effets indésirables liés à la toxicité hors cible (Gomerding et al. 2025).

6.3.1. Transport ciblé de médicaments (nanovecteurs)

Les nanovecteurs permettent de délivrer des agents anticancéreux directement au niveau du site tumoral, en concentrant la dose sur la tumeur tout en limitant la toxicité sur les tissus sains.

Différentes classes de nanovecteurs sont actuellement exploitées, telles que les liposomes, les nanoparticules métalliques, les polymères biocompatibles et les exosomes. Chaque classe exploite des propriétés physico-chimiques ou biologiques spécifiques pour optimiser la l'efficacité thérapeutique (Eftekhar et al. 2023; X. Huang et al. 2024).

Les exosomes constituent des nano-vecteurs naturels, médiateurs physiologiques de la communication intercellulaire *via* le transfert de protéines, d'acides nucléiques et d'autres biomolécules actives. Leur aptitude à reconnaître et à fusionner avec les membranes des cellules cibles leur confère une efficacité élevée pour la délivrance ciblée d'agents thérapeutiques. Cette spécificité favorise une modulation précise de la réponse immunitaire, tout en limitant les toxicités systémiques souvent associées aux systèmes de vectorisation synthétiques (Lahouty et al. 2025).

6.3.2. Induction de l'apoptose

Certaines nanoparticules possèdent une capacité intrinsèque à induire l'apoptose des cellules cancéreuses. Ce mécanisme repose sur l'activation de voies de signalisation intracellulaires pro-apoptotiques ou sur la génération des ERO. Cette approche permet de réduire la prolifération tumorale et de limiter la survie des cellules résistantes aux chimiothérapies conventionnelles (Luobin et al. 2024).

6.3.3. Nano-immunothérapie

Les nanoparticules représentent des plateformes de choix pour la modulation de la réponse immunitaire anticancéreuse. Elles agissent principalement comme des nanovecteurs capables d'encapsuler des agents immunostimulants ou des acides nucléiques thérapeutiques. Cette encapsulation assure la protection des biomolécules contre la dégradation enzymatique et permet une libération contrôlée (relargage) au sein du microenvironnement tumoral (Murugan et al. 2022).

Aussi, en fonction de leurs propriétés physico-chimiques et de la fonctionnalisation de leur surface, les nanoparticules peuvent interagir directement avec les cellules immunitaires, favoriser l'activation des cellules cytotoxiques (lymphocytes T, cellules NK), et atténuer les mécanismes d'immunosuppression induits par la tumeur. Elles peuvent également exercer un effet adjuvant, contribuant ainsi au renforcement et à la durabilité de la réponse immunitaire anticancéreuse (Murugan et al. 2022) (Kandasamy et al. 2023) .

6.3.4. Inhibition de la progression tumorale et des métastases

La chimio-immunothérapie constitue une approche prometteuse pour atténuer l'immunosuppression induite par le microenvironnement tumoral. L'ingénierie de

nanoparticules multifonctionnelles permet un contrôle ciblé de la délivrance chimiothérapeutique (inducteurs de mort cellulaire immunogènes) et d'immunomodulateurs (antigènes, adjuvants) grâce à leurs propriétés de surface, conduisant ainsi à une inhibition renforcée de la croissance tumorale et de la formation de métastases (M. Wu et al. 2019).

Synthèse bibliographique et objectifs de la thèse

L'analyse de la littérature met en évidence la complexité des défis thérapeutiques actuels, dominés par trois problématiques majeures de santé publique : l'émergence de la résistance aux antimicrobiens, l'impact délétère du stress oxydant et la progression du CCR. Face à ces enjeux, et aux limites des traitements conventionnels (toxicité systémique, chimiorésistance, faible biodisponibilité), la nanomédecine offre une alternative prometteuse *via* l'utilisation de vecteurs intelligents. Parmi eux, les Hydroxydes Doubles Lamellaires (HDLs) se distinguent par leurs propriétés physico-chimiques uniques : une structure lamellaire modulable composée de métaux divalents et trivalents, une grande capacité d'échange anionique et une biocompatibilité avérée.

Cette étude bibliographique a permis de souligner le potentiel polyvalent des HDLs en suivant une approche thérapeutique graduelle. En premier lieu, les HDLs démontrent une activité antimicrobienne notable grâce à leur capacité à libérer des agents antimicrobiens de manière prolongée, permettant ainsi de contourner les mécanismes de résistance microbienne classiques.

Parallèlement, ces matériaux peuvent exercer une activité antioxydante, soit par une propriété intrinsèque de leur composition métallique, soit par l'encapsulation d'agents spécifiques, protégeant ainsi les cellules contre les dommages des ERO, souvent précurseurs de la carcinogenèse.

Enfin, dans le cadre du CCR où l'inflammation et l'activation des voies de signalisation (MAPK, Notch, Wnt) favorisent la tumeur, les HDLs révèlent une activité anticancéreuse et cytotoxique majeure. En tant que nanovecteurs, ils permettent l'encapsulation de molécules chimiothérapeutiques, assurant leur protection et une libération contrôlée au site tumoral (pH-dépendante). Cette propriété, couplée à une internalisation cellulaire efficace par endocytose, favorise un ciblage spécifique des cellules cancéreuses tout en épargnant les tissus sains.

Ainsi, l'élaboration de systèmes hybrides à base de HDL apparaît comme une stratégie pertinente pour développer des thérapies multifonctionnelles. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail expérimental, visant à synthétiser et caractériser de nouveaux matériaux HDL afin d'évaluer leur efficacité biologique conjointe contre les infections microbiennes, le stress oxydant et la prolifération tumorale colorectale.

Partie B : Étude Expérimentale

Matériel et Méthodes

Partie B : Étude Expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

1. Les nanocomposites de ZnNiAl

1.1. Techniques de synthèse

La synthèse des matériaux repose sur diverses approches de préparation mises en œuvre dans le cadre de ce travail. Les protocoles adoptés, ainsi que les conditions expérimentales sélectionnées, sont décrits de manière détaillée pour garantir la reproductibilité et la fiabilité des résultats obtenus. Par ailleurs, des méthodes de caractérisation appropriées ont été appliquées afin de vérifier la composition, la structure et les propriétés des matériaux synthétisés, assurant ainsi la réussite et la qualité de la synthèse.

1.1.1. Synthèse des nanoparticules de ZnNiAl-HDL

Dans ce travail de thèse, la synthèse par coprécipitation chimique a été utilisée pour préparer des nanoparticules d'oxyde métallique mixte dérivées d'un hydroxyde double lamellaire (ZnNiAl-LDH). Les différents matériaux ont été obtenus en soumettant le matériau de départ à diverses températures de calcination, selon le protocole suivant :

- Les matériaux ont été synthétisés par la méthode de coprécipitation à un pH constant de 10 ;
- La méthode repose sur l'addition lente de solutions aqueuses de trois nitrates métalliques : le zinc ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) et le nickel ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) comme précurseurs d'ions M^{2+} , et l'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) comme précurseur d'ions M^{3+} ;
- Un rapport molaire de $r = [\text{M}^{2+}] / [\text{M}^{3+}] = 2$ a été choisi pour élaborer la structure ternaire De type HDL, en particulier le ZnNiAl-HDL ;
- Ce rapport molaire a été défini comme $r = [(\text{Zn}^{2+} + \text{Ni}^{2+}) / 2] / [\text{Al}^{3+}] = 2$, ce qui a permis de déterminer les quantités appropriées de cations métalliques divalents (Zn^{2+} et Ni^{2+}) et trivalentes (Al^{3+}) ;
- Une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 1 M a été ajoutée goutte à goutte, sous agitation continue, à la solution mixte de nitrates métalliques ;
- Le pH a été maintenu à 10 par l'addition simultanée de NaOH (2 M) ;
- La suspension obtenue a ensuite été vieillie à 70 °C pendant 24 heures dans un bain d'huile agité ;

- Le précipité a été récupéré puis lavé à plusieurs reprises à l'eau désionisée par centrifugation ;
- Il a finalement été séché dans une étuve à 80 °C pendant 20 heures. Le ZnNiAl-HDL ainsi obtenu a été finement broyé afin d'obtenir une poudre ;
- Une partie de ce matériau a ensuite été calcinée à 400, 600 et 800 °C pendant 6 heures.

1.2. Caractérisation des nanoparticules ZnNiAl-HDLs

Pour caractériser les échantillons préparés, différentes méthodes analytiques ont été mises en œuvre au sein du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) :

- L'analyse structurale a été réalisée par diffraction des rayons X à l'aide d'un diffractomètre Bruker D2 Phaser équipé d'une radiation Cu-K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), avec une plage angulaire 2θ comprise entre 5 et 90°.
- Les observations morphologiques ont été effectuées grâce à un microscope électronique à balayage à émission de champ (MEB-FEG) Thermo Fisher Scientific Apéreo 2C.
- Enfin, les spectres infrarouges (FTIR) ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} à l'aide d'un spectrophotomètre JASCO FTIR-4200.

1.2.1. Caractérisation par diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X DRX constitue une méthode d'analyse non destructive essentielle pour explorer la structure cristalline des matériaux. Elle repose sur l'interaction d'un faisceau de rayons X monochromatiques avec les plans atomiques périodiques d'un cristal : quand la longueur d'onde de ces rayons est comparable aux distances interatomiques, les ondes secondaires émises par ces plans interfèrent (Figure I.14) (Asif Ali et al. 2021).

Ces interférences deviennent constructives dans des directions précises, générant des pics d'intensité qui obéissent à la loi de Bragg ($n\lambda = 2d \sin \theta$), liant la longueur d'onde « λ », l'espacement réticulaire « d » et l'angle d'incidence « θ ». Ainsi, le cristal agit comme un réseau diffracteur tridimensionnel, où les contributions des plans s'additionnent de manière cohérente lorsque la différence de marche optique est un multiple entier de λ , produisant des faisceaux diffractés dont les positions et intensités révèlent l'organisation atomique unique du matériau, telle une empreinte digitale de l'organisation atomique (Krishnan 2021).

La DRX représente une méthode essentielle pour évaluer la dimension moyenne des grains dans les matériaux, un paramètre clé influençant leurs propriétés physiques telles que les caractéristiques électriques et optiques.

La taille cristallite moyenne D est obtenue *via* l'équation de Scherrer, qui relie cette grandeur à la largeur à mi-hauteur des pics diffractés :

$$D = 0,9 \lambda / \beta \cos \theta$$

Où $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ désigne la longueur d'onde du rayonnement Cu K α employé ici, θ est l'angle de Bragg correspondant au pic, et β (en radians) est la largeur à mi-hauteur normalisée. Des pics plus élargis signalent des grains de plus petite taille, et vice versa (Monshi et al. 2012).

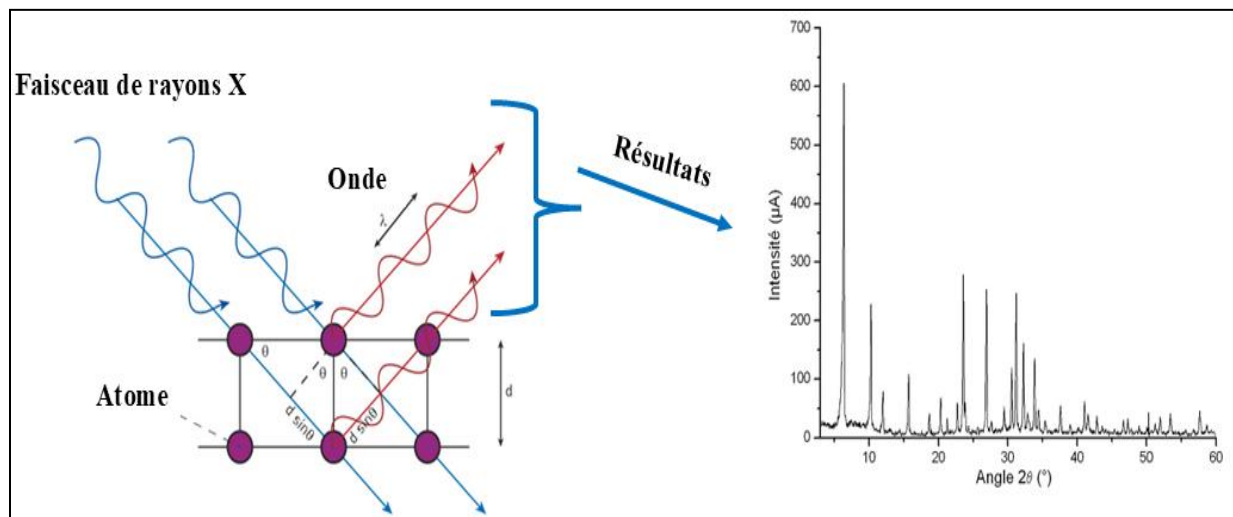


Figure I.14 Schéma de principe d'un diffractomètre à rayons X (Asif Ali et al. 2021).

1.2.2. Caractérisation par microscope électronique à balayage

Le microscope électronique à balayage (MEB) exploite un faisceau d'électrons plutôt que de la lumière pour produire des images haute résolution de la surface des échantillons, révélant leur topographie, leur morphologie et souvent leur composition chimique avec une précision bien supérieure à celle des microscopes optiques.

Un canon à électrons génère des particules accélérées, que des lentilles magnétiques concentrent en un faisceau fin balayant l'échantillon ligne après ligne, comme un scanner.

Ces électrons pénètrent les atomes du matériau, générant divers signaux tels que : les électrons secondaires pour le relief topographique, les électrons rétrodiffusés pour la densité

atomique moyenne, et les rayons X pour l'analyse élémentaire. Ces signaux sont captés par des détecteurs et transformés en image pixel par pixel (Figure I.15).

Ce principe de balayage et de détection des émissions de la matière fait du MEB un instrument incontournable en sciences des matériaux, en mesure 3D de surfaces, dans le secteur de la recherche scientifique ainsi que de l'industrie (Choudhary et Ka 2017; Arora et al. 2020).

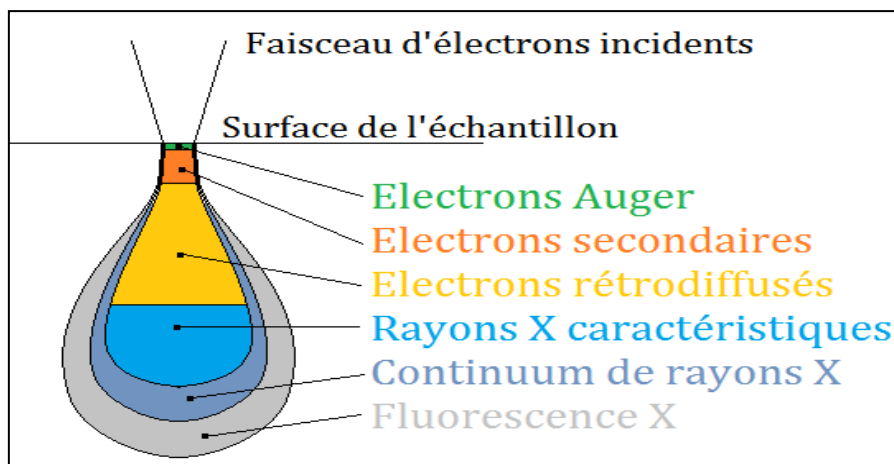


Figure I.15 Schéma de principe d'un microscope électronique à balayage (MEB)
(Choudhary et Ka 2017).

1.2.3. Caractérisation par spectrométrie de dispersion d'énergie des rayons X

La spectrométrie de dispersion d'énergie des rayons X (EDS ou EDX) est une méthode de microanalyse élémentaire souvent associée aux microscopes électroniques à balayage (MEB) ou en transmission (MET), afin d'évaluer la composition chimique locale des solides.

Elle exploite l'impact d'un faisceau d'électrons énergétiques sur l'échantillon, qui provoque l'ionisation des couches atomiques internes ; la désexcitation subséquente génère des rayons X caractéristiques, dont l'énergie spécifique permet d'identifier chaque élément (Figure I.16) (Angeles-Chavez et al. 2012).

Un détecteur à semi-conducteurs enregistre l'énergie des photons pour produire un spectre intensité-énergie, dont les pics révèlent les éléments présents et permettent leur quantification après correction des effets de matrice, d'absorption et de fluorescence (Newbury et Ritchie 2015).

Cette technique assure une analyse rapide, spatialement résolue (jusqu'à l'échelle nanométrique avec les équipements récents) et efficace. Ce qui en fait un outil incontournable pour l'étude des matériaux, tels que les alliages, les catalyseurs, les nanoparticules ou l'analyse de défauts, tant en recherche qu'en industrie.

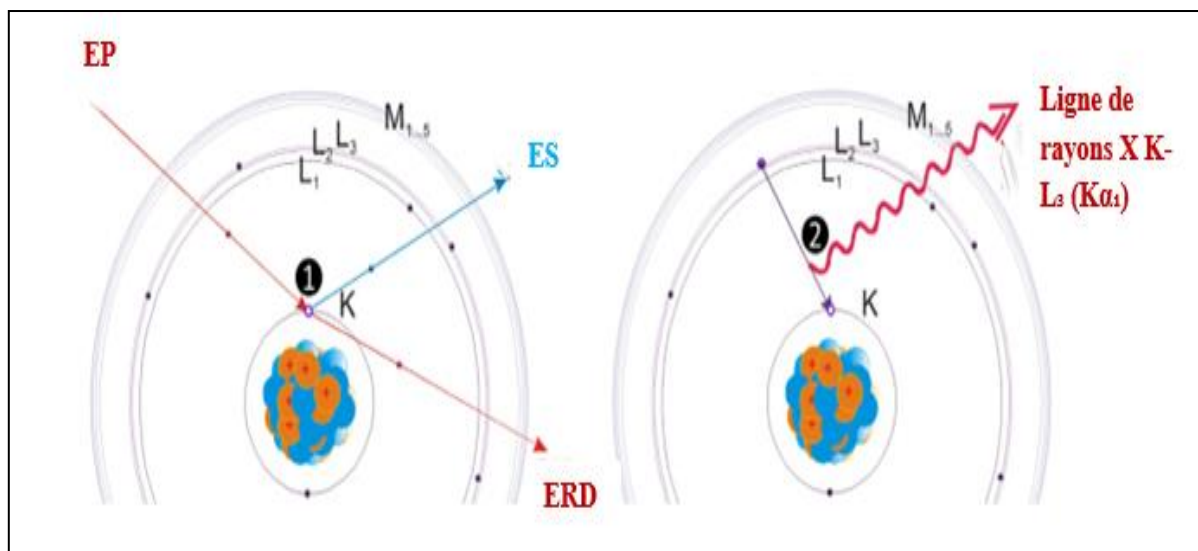


Figure I. 16. Mécanisme en deux étapes d'émission X caractéristique : (1) excitation électronique et (2) désexcitation radiative (Hodoroaba 2020).

1.2.4. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) constitue une méthode analytique puissante pour déterminer la composition chimique d'un matériau en examinant son interaction avec le rayonnement infrarouge. Quand une molécule est soumise à cette radiation, ses liaisons chimiques vibrent de manière spécifique (étirements, flexions ou torsions), chaque groupe fonctionnel résonnant à une fréquence caractéristique.

Le FTIR capture ces absorptions *via* un interféromètre, généralement de type Michelson, qui produit un interférogramme. Le traitement mathématique par la transformée de Fourier convertit ensuite ce signal en un spectre d'absorption lisible, où les pics révèlent les vibrations moléculaires comme une signature unique du matériau.

Ce profil spectral agit tel un “passeport moléculaire”, facilitant l'identification de composés organiques ou inorganiques, le monitoring de réactions, l'étude de la dégradation polymérique, ou l'examen de produits pharmaceutiques et d'échantillons biologiques (Figure I.17) (H. Zhang et al. 2024; Guerrero-Pérez et Patience 2020a).

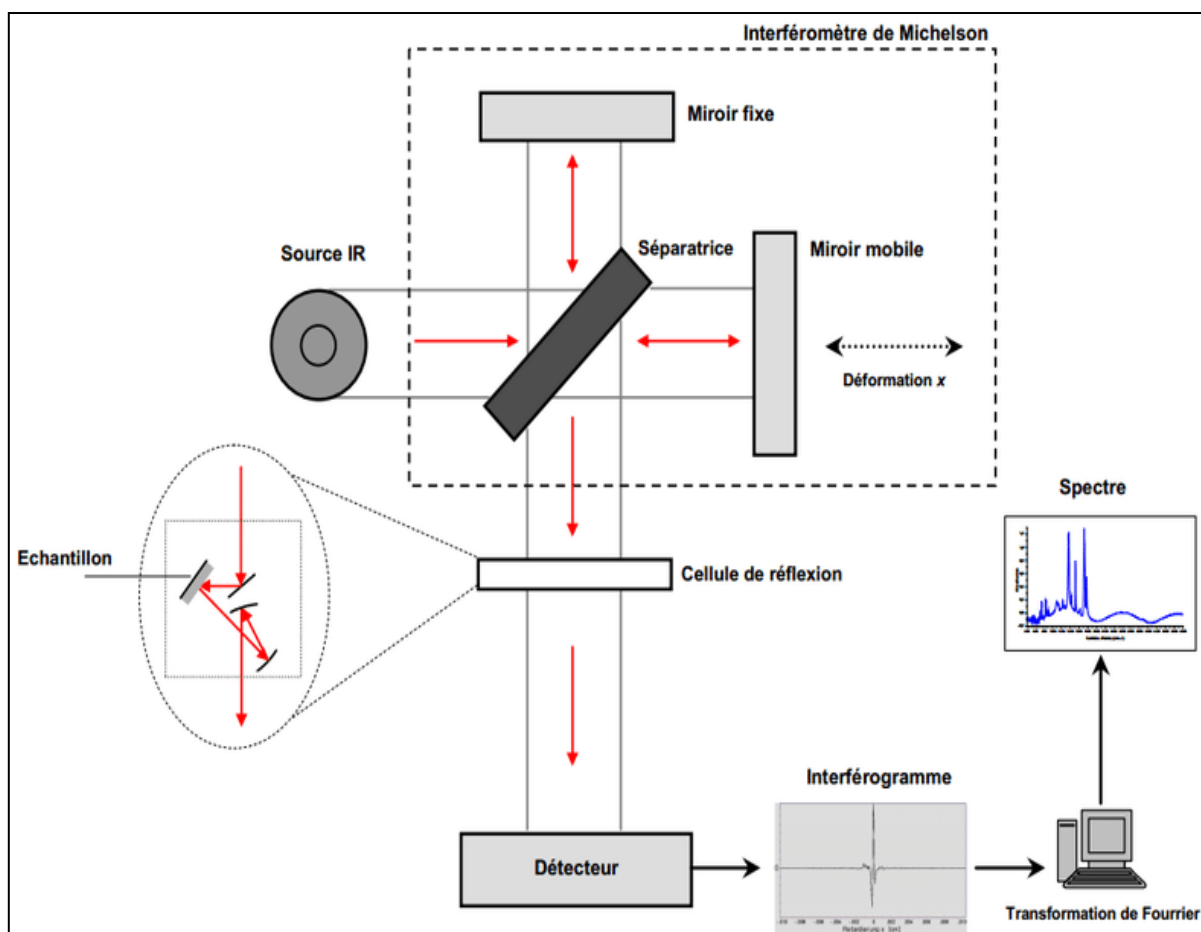


Figure I.17 Schéma de principe d'un spectromètre FTIR (Guerrero-Pérez et Patience 2020b).

2. Activité biologique des nanocomposites de ZnNiAl

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel chimique

Les nanocomposites testés dans notre étude correspondent à des hydroxydes doubles lamellaires (HDLs) de type ZnNiAl, synthétisés au sein du laboratoire du Centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC) par la méthode de coprécipitation chimique, puis calcinés aux températures de : 400, 600 et 800 °C.

- Dans les essais *in vitro*, les nanocomposites obtenus après calcination à 400, 600 et 800 °C ont été testés à des concentrations comprises entre 0,97 et 500 µg/mL ;
- Pour les expérimentations *in vivo*, seul le nanocomposite calciné à 800 °C a été retenu ;
- Dans l'étude de toxicité aiguë, différentes doses ont été administrées, allant de 500 à 3500 mg/kg de poids corporel, tandis qu'une dose unique de 6 mg/kg a été utilisée dans le modèle expérimental du cancer colorectal.

2.1.2. Matériel biologique

2.1.2.1. Souches microbiennes

L'étude de l'activité antimicrobienne des nanocomposites de ZnNiAl-HDL a porté sur 8 souches bactériennes gracieusement fournies par le Laboratoire de Microbiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Sétif, et sont représentées par :

Des souches de référence ATCC (A : Américain, T : Type, C : Culture, C : Collection) :

- *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883
- *Salmonella enterica* ATCC 14028

Des souches cliniques :

- *Acinetobacter baumannii*
- *Candida albicans*

2.1.2.2. Lignées cellulaires

La lignée cellulaire HT-29, modèle *in vitro*, de référence du cancer colorectal, a été fournie par le Laboratoire de Biologie Moléculaire du Département de Biologie Moléculaire et de Génétique, Faculté des Sciences, Université Technique de Karadeniz, Trabzon, Turquie. Elle est largement utilisée pour l'étude de la prolifération tumorale, de la cytotoxicité et de l'activité anticancéreuse de nouveaux composés.

2.1.2.3. Animaux et conditions d'élevage

Un total de soixante-dix souris mâles de souche NMRI (Naval Medical Research Institute), d'un poids compris entre 30 et 35 g, a été utilisé. Trente d'entre elles ont servi à l'évaluation du test de toxicité aiguë, tandis que les quarante restantes ont été incluses dans le protocole d'induction du cancer colorectal.

Les animaux, obtenus auprès de l'Institut Pasteur d'Alger, ont été logés individuellement dans des cages en polypropylène, alimentés avec un régime standard pour rongeurs de laboratoire, et maintenus dans des conditions environnementales contrôlées (température ambiante de 22 ± 2 °C, humidité relative de 60 %, cycle nyctéméral de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité).

2.2. Méthodes

2.2.1. Activité antimicrobienne

2.2.1.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice par méthode de microdilution en milieu liquide

➤ Principe

La concentration minimale inhibitrice (CMI) ou concentration minimale d'une substance est la plus faible concentration d'un antimicrobien capable d'empêcher le développement d'un microorganisme particulier. Donc la CMI permet de fournir une indication sur l'efficacité d'un antimicrobien vis-à-vis d'un micro-organisme particulier (Willey et al. 2018).

➤ Protocole expérimental (CASFM, 2024)

a. Préparation de l'inoculum bactérien

- À partir d'une culture pure de 18 à 24 h, racler à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Bien décharger la pipette dans un tube à essai contenant 2 ml d'eau physiologique stérile ;
- Homogénéiser la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex ;
- Mesurer la DO de la suspension par spectrophotométrie : la DO doit être ajustée entre 0,08 et 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm, ce qui correspond à 0,5 McFarland (10^8 UFC/ml en moyenne).

b. Préparation de la gamme de dilution des NPs

- Préparer les dilutions semi-logarithmiques (de demi en demi), de 500 $\mu\text{g/mL}$ jusqu'à la concentration finale de 0,97 $\mu\text{g/mL}$ dans 1% de DMSO ;
- Soumettre les tubes à un bain d'ultrasons à température ambiante pendant 45 minutes. Ce qui permet de rompre les interactions intermoléculaires et donc d'obtenir des HDLs moins agglomérées ;
- Autoclaver la préparation à 120 °C et à 2 bar de pression pendant 15 minutes.

c. Ensemencement

- Vortexer les tubes contenant les NPs ;

- Distribuer 100 μ L de la première concentration de NPs dans les huit puits de la première colonne d'une plaque de microtitration à 96 puits ;
- Répéter cette étape pour les 9 concentrations suivantes en utilisant un nouvel embout stérile à chaque fois ;
- Répartir 80 μ l de milieu MH dans tous les puits de microplaque ;
- Homogénéiser la suspension bactérienne afin d'obtenir une répartition uniforme des microorganismes ;
- Ajouter 20 μ l de la première suspension bactérienne dans les 10 premiers puits horizontalement ;
- Opérer de manière identique en utilisant un nouvel embout stérile pour les autres suspensions bactériennes ;
- Pour les contrôles négatifs, remplir la 11ème ligne avec les NPs uniquement et la 12ème ligne avec la suspension bactérienne seule (contrôle positif) ;
- Incuber les microplaques pendant 24 heures à une température de 37 °C.

d. Lecture de la CMI

- Après incubation, répartir 10 μ l de chlorure de triphényltétrazolium (TTC) à % dans chaque puits pour permettre la visualisation et la quantification des cellules viables ;
- Réincuber les boîtes pendant 2 h ;
- Observer les variations de couleur dans chaque puits par comparaison avec le témoin positif, en particulier la présence ou l'absence d'une coloration rouge, indicatrice de la réduction du TTC ;
- Noter la CMI correspondant à la plus faible concentration de NPs, qui inhibe la croissance bactérienne visible ou entraîne un changement marqué de la croissance.

2.2.1.2.Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

➤ Principe

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration d'agent antimicrobien capable d'empêcher la croissance d'un micro-organisme après culture sur un milieu dépourvu d'agent antimicrobien (Andrews 2001).

➤ **Protocole expérimental**

a. Ensemencement

- Les puits ne présentant aucune croissance bactérienne sont subcultivés sur gélose nutritive et incubés à 37 °C pendant 24 heures.

b. Lecture de la CMB

- Placer la boîte sur une surface sombre ;
- Observer et comparer tout changement de forme et de taille des colonies dans les boîtes de différentes concentrations ;
- Noter la CMB (choisir la plus faible concentration de NPs qui inhibe la croissance bactérienne ou qui entraîne un changement de croissance) ;
- Les xénobiotiques présentant un rapport CMB/CMI < 4 sont définis comme bactéricides, tandis qu'un rapport CMB/CMI > 4 indique une activité bactériostatique et tolérante lorsque le rapport est > 26 (O'Neill et Chopra 2004).

2.2.2. Activité antibiofilm

➤ **Principe**

Les NPs exercent une activité antibiofilm en inhibant l'adhésion initiale des micro-organismes, en perturbant la matrice extracellulaire (EPS) et en interférant avec la communication cellulaire de type *quorum sensing*, ce qui entraîne une désorganisation du biofilm et une réduction de la virulence microbienne (Kalishwaralal et al. 2010).

Les propriétés antiadhésives des HDLs de ZnNiAl ont été testées aux concentrations de 25, 50 et 100 µg/mL vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* à l'aide d'un test de biofilm en microplaque selon Saising et al. (.

➤ **Protocole expérimental**

- À partir d'une culture pure de 18 à 24 h, racler à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Bien décharger la pipette dans 4 ml de BHIB ;
- 100 µl de la suspension ajustée à 0,2 de DO à une longueur d'onde de 625 nm ont été transférés sur une plaque de microtitrage à 96 puits additionnés de 100 µl de la concentration de NPs de ZnNiAl-HDL correspondante ;
- Incuber la plaque à 37 °C pendant 24 heures.

➤ Lecture

- Après incubation, vider le contenu des plaques, rincer abondamment deux fois avec une solution salée tamponnée au phosphate (PBS) pour éliminer les cellules non adhérentes, et laisser sécher à l'air libre pendant 20 min ;
- Mettre 200 µl de cristal violet à 1% dans chaque puits et laisser agir pendant 45 min. Par la suite, le cristal violet a été retiré et la plaque lavée à l'eau doublement distillée 3 fois puis séchée à l'étuve ;
- Ajouter 200 µl d'une solution éthanol/acétone (75 % / 25 %) dans les puits, recouvrir les plaques et attendre 30 minutes avant la lecture ;
- Réaliser la lecture à une longueur d'onde de 595 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques ELIZA de type FilterMax F5 ;
- Le taux d'inhibition (TI) du biofilm a été calculé selon l'équation :

$$TI = \frac{ABS\ témoin\ positif - ABS\ test\ concentration}{ABS\ témoin\ positif} \times 100$$

2.2.3. Activité antioxydante

Dans notre étude, l'activité antioxydante des HDLs a été analysée en utilisant deux approches distinctes : le piégeage du radical libre DPPH et la méthode de réduction du fer.

2.2.3.1. Activité antioxydante des HDLs par la méthode DPPH

➤ Principe

Le diphenyl picryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre stable, de couleur violette en solution, qui présente une absorbance maximale à 517 nm. Lorsqu'il entre en contact avec un composé possédant une activité antioxydante, il est réduit en diphenyl picryl-hydrazine, entraînant une diminution progressive de la coloration violette. Cette perte de couleur est proportionnelle à la capacité du composé à céder des protons, reflétant ainsi son pouvoir antioxydant (Yingkun Qiu et al. 2002).

Le composé antioxydant capable de transférer un atome d'hydrogène au radical DPPH (de couleur violette), le réduisant ainsi en diphenyl picryl-hydrazine (de couleur jaune). Ce changement de couleur permet de suivre la cinétique de la réaction par mesure de l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type VWR.

➤ Mode opératoire

L'activité de piégeage du radical DPPH a été évaluée selon la méthode décrite par Brand-Williams et al. (1995), avec quelques modifications mineures, conformément aux protocoles rapportés par Kharat et Mendhulkar (2016) et Gonzales et al. (2021):

- Déposer 500 µL de chaque concentration de ZnNiAl-HDL (200, 100, 50, 25, 12,5 et 6,25 µg/mL) dans des tubes ;
- Ajouter 500 µL de la solution méthanolique de DPPH à 0,002 % à chaque tube ;
- Homogénéiser et incuber à l'obscurité, à température ambiante, pendant 30 minutes ;
- Le témoin négatif correspond à 500 µL de solution de DPPH mélangée à 500 µL de méthanol ;
- Le témoin positif est constitué d'une solution d'acide ascorbique (vitamine C), utilisée comme antioxydant de référence ;
- Lire l'absorbance à 517 nm.

➤ Lecture

L'activité antiradicalaire peut être exprimée en pourcentage d'inhibition des radicaux libres (% I) en suivant la formule :

$$\% d'inhibition = \frac{ABS\ controle\ négatif - ABS\ échantillon}{ABS\ control\ négatif} \times 100$$

➤ Détermination de la CI₅₀

La CI₅₀ (concentration inhibitrice à 50 %), également appelée CE₅₀ (concentration efficace à 50 %), correspond à la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux DPPH. Cette valeur est déterminée graphiquement à partir de la courbe de régression linéaire représentant le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations croissantes des extraits testés.

2.2.3.2. Activité antioxydante des HDLs par la FRAP

➤ Principe

La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) repose sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) du complexe ferrocyanure de potassium en fer ferreux (Fe²⁺). Ce processus de réduction s'accompagne d'un changement de couleur : la solution passe du jaune (Fe³⁺) à un bleu-vert caractéristique du Fe²⁺. L'intensité de cette

coloration, proportionnelle à l'activité antioxydante de l'échantillon, est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700 nm (Pan et al. 2008).

Dans notre étude, nous avons évalué le pouvoir réducteur des ZnNiAl-HDLs selon la méthode décrite par Pu et al. (2019).

➤ **Mode opératoire**

- Mélanger 1 ml de l'échantillon à différentes concentrations (0,1, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,25 µg/ml) avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1% ;
- Incuber les tubes à 50 °C pendant 20 min ;
- Refroidir à température ambiante ;
- Ajouter 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10% pour stopper la réaction ;
- Centrifuger les tubes à 3000 tours/min pendant 10 min ;
- Ajouter 2,5 ml d'eau distillée et 500 µL d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) à 1% au surnageant ;
- Lire l'absorbance contre le blanc à 700 nm ;
- L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience aux mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions expérimentales.

2.2.4. Activité cytotoxique

➤ **Principe**

Les cellules vivantes possèdent des enzymes mitochondriales actives (principalement les réductases comme la succinate déshydrogénase) capables de réduire le sel de tétrazolium MTT (de couleur jaune) en cristaux de formazane (de couleur violette, solubles dans l'eau). L'intensité de la couleur violette produite est proportionnelle au nombre de cellules viables. Après solubilisation des cristaux dans du DMSO, l'absorbance est mesurée à 570 nm. Une diminution de l'absorbance traduit une perte de viabilité cellulaire, donc une toxicité du traitement appliqué (Larramendy et Soloneski 2018).

L'évaluation de l'effet cytotoxique des ZnNiAl-HDLs a été réalisée selon la méthode décrite par Mosmann (1983).

➤ **Mode opératoire**

a. Préparation du milieu de culture cellulaire

Mélanger 89 mL du milieu de culture RPMI (Roswell Park Memorial Institute), 1 mL de pénicilline et 10 mL de sérum fœtal bovin (FBS).

b. Ensemencement des cellules

- Décongeler 1 mL de cellules HT29, conservées dans de l'azote liquide, puis ajouter 1 mL de milieu de culture cellulaire ;
- Après centrifugation à 230 rpm pendant 5 minutes, récupérer le culot cellulaire puis rajouter 1 mL de milieu frais et homogénéiser doucement.

c. Test de viabilité au Bleu de Trypan

- Mélanger 20 μ L de suspension cellulaire avec 20 μ L de la solution au bleu de trypan ;
- Déposer 10 μ L du mélange dans un hématimètre et compter les cellules vivantes et mortes.

d. Détachement et préparation des cellules avant le test MTT

- Éliminer le milieu de culture et laver les cellules avec du PBS pour retirer le sérum ;
- Ajouter une solution de trypsine pour recouvrir la monocouche cellulaire ;
- Incuber à 37 °C pendant 2 à 5 minutes jusqu'au détachement des cellules ;
- Ajouter du milieu frais contenant du sérum pour neutraliser la trypsine ;
- Pipeter doucement pour obtenir une suspension de cellules uniques.

e. Traitement des cellules avec les NPs

- Déposer les cellules dans des plaques à 96 puits à raison de 1×10^4 à 5×10^4 cellules/puits ;
- Après 7 jours d'incubation, traiter les cellules avec les différentes concentrations de NPs (de 3,6 à 500 μ g/mL) diluées dans le milieu, permettant d'évaluer la cytotoxicité en fonction de la dose et du temps d'incubation (24 et 48 h) ;
- Des témoins négatifs (contenant uniquement du DMSO à 1 %) ont été inclus ;
- Incuber les cellules avec les NPs pendant 24 et 48 h.

f. Test au MTT

- 10 μ L de solution de MTT sont ajoutés dans chaque puits et la plaque est incubée à 37 °C pendant 2 heures pour permettre aux cellules viables de réduire le MTT en cristaux de formazan ;

- Aspirer délicatement le milieu puis ajouter 100 µL de DMSO dans chaque puits pour dissoudre les cristaux formés ;
- Après une agitation douce de 1 heure pour assurer une dissolution complète, l'absorbance est mesurée à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques BioTek (Synergy™ HTX, USA);
- Calculer la viabilité cellulaire en comparant l'absorbance des puits traités à celle des puits témoins non traités, selon la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs contrôle positif} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle positif}} \times 100$$

2.2.5. Évaluation *in vivo* de la toxicité aiguë des ZnNiAl-HDL

➤ Principe

L'étude de la toxicité aiguë vise à évaluer les effets nocifs immédiats et à court terme résultant de l'administration d'une dose unique ou de doses multiples d'une substance sur une courte période. Elle permet d'identifier les signes cliniques de toxicité, la mortalité éventuelle et d'estimer la dose maximale tolérée. Cette évaluation a été réalisée selon la ligne directrice OCDE 423 (méthode de la classe de toxicité aiguë),

Dans notre étude, la toxicité aiguë du nanocomposite ZnNiAl-HDL a été évaluée sur des souris mâles de souche NMRI afin de vérifier son innocuité et de s'assurer que son utilisation potentielle ne provoque pas d'effets indésirables. Ce type d'investigation est essentiel pour déterminer les doses sûres d'administration et anticiper d'éventuels effets secondaires.

L'essai a été conduit conformément à la ligne directrice de l'OCDE (1994) relative aux tests de toxicité aiguë.

➤ Protocole expérimental

- Un total de 30 souris a été réparti aléatoirement en six groupes de cinq animaux chacun :
- Le groupe témoin (groupe 1) a reçu par voie orale une solution de NaCl à 0,9 %, tandis que les groupes 2 à 6 ont reçu respectivement des doses de 500, 1000, 1500, 2500 et 3500 mg/kg de ZnNiAl-HDL ;
- La période d'observation a débuté immédiatement après l'administration et s'est poursuivie sur 14 jours, durant lesquels les animaux ont été surveillés afin de détecter toute modification comportementale ou physiologique, y compris les signes de toxicité, de morbidité ou de mortalité ;

- À l'issue de cette période, les souris ont été pesées, euthanasiées, et des échantillons sanguins ont été prélevés pour obtenir le sérum destiné aux analyses biochimiques ;
- Des prélèvements de tissus rénaux ont également été effectués pour une étude histopathologique, visant à détecter d'éventuelles altérations morphologiques ou fonctionnelles ;
- Enfin, des marqueurs de stress oxydatif ont été mesurés afin d'évaluer les lésions tissulaires potentielles et les réponses cellulaires associées.

2.2.6. Modélisation *in vivo* du CCR et procédures de collecte des échantillons biologiques

2.2.6.1. Induction tumorale et répartition des groupes

La cancérogenèse colorectale a été induite par l'administration d'azoxyméthane (AOM, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO). Un effectif de 40 souris a été réparti aléatoirement en quatre groupes expérimentaux (n = 10) :

- **Groupe 1 (Témoin négatif)** : animaux sains ayant reçu une injection intrapéritonéale (I.P) de solution saline physiologique (NaCl 0,9 %) ;
- **Groupe 2 (Témoin positif - AOM)** : induction par injection unique I.P. d'AOM à la dose de 20 mg/kg, selon (Caderni et al. 1999; B. A. A. Wahab et al. 2023) ;
- **Groupe 3 (AOM + ZnNiAl-HDL)** : induction à l'AOM (20 mg/kg, I.P.) suivie, après une période de latence de 21 jours, d'un traitement par gavage oral quotidien de ZnNiAl-HDL (6 mg/kg) durant 12 semaines ;
- **Groupe 4 (ZnNiAl-HDL seul)** : administration orale quotidienne de ZnNiAl-HDL (6 mg/kg) pendant 12 semaines, sans induction préalable par l'AOM.

Durant toute la phase expérimentale, d'une durée totale de 12 semaines, les animaux ont fait l'objet d'un suivi rigoureux comprenant une pesée hebdomadaire systématique ainsi qu'une surveillance quotidienne visant à détecter tout signe clinique de toxicité et l'apparition de signes spécifiques associés à la pathologie colorectale.

2.2.6.2. Sacrifice des animaux et collecte des échantillons

À l'issue des 12 semaines d'expérimentation, les animaux ont été soumis à un jeûne de 16 heures afin de stabiliser les paramètres métaboliques. Le sacrifice a été réalisé par décapitation, sans administration préalable d'agents anesthésiques, afin de minimiser le stress et d'éviter toute interférence avec les paramètres biochimiques mesurés.

2.2.6.3.Récupération du sang

Le sang a été collecté simultanément dans des tubes secs et des tubes héparinés. Les échantillons ont été centrifugés à 3000 g pendant 15 minutes dans les 30 minutes suivant le prélèvement. Le sérum et le plasma ainsi obtenus ont été séparés, aliquotés et directement destinés aux analyses biochimiques.

2.2.6.4.Prélèvement des organes et préparation des homogénats de tissus

Immédiatement après le sacrifice, les reins et les échantillons du côlon ont été prélevés, pesés, puis rincés à l'aide d'un tampon phosphate salin (PBS) froid pour éliminer toute trace d'impuretés. Chaque organe a ensuite été ouvert longitudinalement et scindé en deux portions : la première a été immergée dans du formol tamponné à 10 % pour la fixation histologique et la caractérisation des lésions tumorales, tandis que la seconde portion a été homogénéisée dans du PBS (0,1:1 p/v, soit 0,1 g de tissu pour 1 ml de PBS, pH 7,4), puis centrifugée à 9 000 g pendant 15 min à 4 °C. Le surnageant ainsi collecté a été aliquoté et conservé à -20 °C pour la quantification des marqueurs du stress oxydatif.

2.2.7. Dosages des marqueurs biochimiques et inflammatoires

2.2.7.1. Étude de toxicité aiguë

Les échantillons sanguins ont été analysés afin d'évaluer la fonction rénale par la détermination des concentrations sériques d'urée, de créatinine, d'albumine, de magnésium, de calcium, de potassium et de sodium.

2.2.7.2.Modèle murin de cancer colorectal induit par l'AOM

Des numérations de formule sanguine (NFS) complètes et différentielles ont été réalisées à l'aide d'un analyseur automatique (COBAS INTEGRA 400) afin de dépister une éventuelle anémie et de déterminer plusieurs indices hématologiques, notamment le rapport neutrophiles/lymphocytes (RNL), le rapport plaquettes/lymphocytes (RPL) et le volume moyen plaquettaire (VMP).

Ces paramètres sont reconnus comme des outils d'aide au diagnostic préopératoire du cancer colorectal.

Par ailleurs, les échantillons sériques ont été utilisés pour le dosage de marqueurs inflammatoires associés au cancer colorectal, en particulier la protéine C-réactive (CRP), exprimée en mg/L.

2.2.8. Étude des paramètres du stress oxydatif

2.2.8.1. Dosage des protéines

La concentration en protéines a été quantifiée selon la méthode de Bradford (1976). Cette technique repose sur la propriété du bleu brillant de Coomassie G-250 à se lier aux protéines en milieu acide. Cette interaction, ciblant principalement les groupements amines, induit une modification de l'état ionique du colorant et un déplacement de son maximum d'absorption de 465 à 595 nm. La formation rapide et stable du complexe bleu permet une mesure spectrophotométrique fiable à 595 nm, dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration protéique de l'échantillon (Bradford 1976).

➤ Mode opératoire

Les extraits protéiques ont été mélangés au réactif de Bradford et incubés à température ambiante pour permettre le développement de la coloration. L'absorbance a ensuite été mesurée à 595 nm. Les concentrations ont été déterminées par interpolation à partir d'une courbe d'étalonnage d'albumine sérique bovine (BSA), préparée dans les mêmes conditions expérimentales (Annexes 2 et 3).

2.2.8.2. Détermination du taux de peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique tissulaire a été évaluée par la détermination du taux de malondialdéhyde (MDA), selon le protocole décrit par Buege et Aust (1978). Cette méthode repose sur la réaction du MDA, produit final de l'oxydation des lipides membranaires, avec l'acide thiobarbiturique (TBA). Cette interaction conduit à la formation d'un complexe chromogène (MDA-TBA) de couleur rose-rouge, désigné sous le terme de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS).

➤ Mode opératoire

Le mélange réactionnel a été incubé à 95 °C en milieu acide (pH 4) pendant 10 min. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 532 nm. L'intensité de la coloration étant proportionnelle à la concentration en complexe MDA-TBA formé, la teneur en MDA a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire (Annexe 4), selon l'équation suivante (Aguilar Díaz de León et Borges 2020) :

$$C \text{ (nmol/(mg protéine))} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot \chi \cdot Fd}$$

Où C est la concentration en nmol/mg de protéines ; DO : la densité optique à 530 nm ; ϵ : le coefficient d'extinction molaire ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ; L la longueur du trajet optique

(0,779 cm) ; ; χ : la concentration de l'extrait en protéines (mg/mL) et Fd : le facteur de dilution (0,2083).

2.2.8.3. Détermination des produits d'oxydation avancée des protéines (AOPP)

La quantification des produits d'oxydation avancée des protéines (AOPP) a été réalisée selon la méthode décrite par Kayali et al. (2006). Le principe repose sur une analyse spectrophotométrique impliquant la réaction des composés protéiques oxydés avec la chloramine-T. Cette réaction est suivie de l'ajout d'iodure de potassium et de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB), conduisant à la formation d'un produit coloré dont l'intensité est proportionnelle à la teneur en AOPP.

➤ Mode opératoire (Annexe 5)

- L'extrait tissulaire est mis en réaction avec les réactifs appropriés, puis le mélange a été acidifié afin de favoriser le développement du signal. L'absorbance a ensuite été mesurée à 340 nm ;
- La concentration des produits d'oxydation avancée des protéines est obtenue après application de la formule suivante :

$$AOPP(nmol / mg \text{ prot}) = \frac{DO}{\epsilon \times L \times X} \times Fd$$

Où DO est la Densité Optique $cm^{-1} Mm^{-1}$; Fd : le facteur de dilution de l'échantillon ; ϵ : le Coefficient d'extinction ($261 \text{ cm}^{-1} Mm^{-1}$) ; L : la largeur de la cuve et X : la concentration des protéines (mg/ml).

2.2.8.4. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé selon la méthode colorimétrique d'Ellman (1959), modifiée par Jollow *et al.* (1974). Le principe repose sur la réaction du GSH avec l'acide 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoïque) (DTNB), entraînant le clivage de la liaison disulfure du réactif et la libération d'acide 2-nitro-5-thiobenzoïque (TNB).

➤ Mode opératoire (Annexe 6)

- Après une incubation de 5 minutes à température ambiante, le produit réactionnel généré présente une absorption caractéristique mesurable par spectrophotométrie à 412 nm, permettant la quantification du GSH ;

- La concentration en GSH est déterminée et exprimée en micromoles par milligramme de protéines ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines), selon l'équation suivante :

$$GSH(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \frac{DO \times l \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \text{ mg}}$$

2.2.8.5.Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été évaluée selon la méthode de Flohé et Günzler (1984). Ce dosage repose sur la capacité de la GPx à catalyser la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme substrat. Au cours de cette réaction, le GSH est oxydé en glutathion disulfure (GSSG), ce qui permet d'estimer l'activité de la GPx par le suivi de cette conversion.

➤ Mode opératoire (Annexe 7)

- L'activité de la GPx a été mesurée sur des extraits tissulaires incubés avec du glutathion réduit (GSH) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ;
- La réaction est suivie par spectrophotométrie à 412 nm et l'activité est exprimée en nmol de GSH oxydé par mg de protéines, selon l'équation suivante :

$$GPx(\text{nmol}/\text{mg prot}) = \frac{(DO \text{ échantillon} - DO \text{ étalon}) \times 0,04}{DO \text{ étalon}} \times \frac{5}{\text{mg prot}}$$

Où **DO** est la densité optique lue à 412 nm et **0.04**: la concentration en substrat (GSH) en Mm.

2.2.8.6.Détermination de l'activité enzymatique de la catalase

➤ Principe

Le dosage de l'activité de la catalase (CAT) repose sur la capacité de l'enzyme à catalyser la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. La diminution de la concentration en H_2O_2 au cours du temps est suivie par spectrophotométrie, permettant d'estimer l'activité enzymatique selon le protocole d'Aebi (1984).

➤ Mode opératoire (Annexe 8)

- L'activité de la catalase a été déterminée en suivant la décomposition du H_2O_2 à 240 nm en présence d'extraits tissulaires ;
- La cinétique a été enregistrée à 25 °C et l'activité exprimée en μmol de H_2O_2 consommé/min/mg de protéines, selon la formule suivante :

$$CAT = \frac{\Delta DO * d}{\epsilon * L * X * 0,02}$$

2.2.9. Examen histopathologique

➤ Principe

L'examen histopathologique repose sur l'étude microscopique de coupes tissulaires fines afin d'analyser l'architecture cellulaire et de détecter d'éventuelles altérations pathologiques (inflammation, dégénérescence, nécrose, etc.) (Suvarna et al. 2019).

➤ Mode opératoire

- Les échantillons d'organes ont été immédiatement fixés dans une solution de formol tamponné à 10 % afin de préserver l'intégrité cellulaire et tissulaire en vue de l'évaluation des altérations histopathologiques ;
- Les fragments tissulaires ont été transférés dans des cassettes d'inclusion. Le processus de déshydratation a été réalisé de manière automatisée par des passages successifs dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70°, 90° et 100°) ;
- La clarification a été assurée par un bain de toluène, permettant ainsi une imprégnation optimale des tissus par de la paraffine liquide à 58 °C ;
- Les blocs de paraffine ainsi obtenus sont découpés en coupes séries de 5 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome ;
- Les coupes ont ensuite été étalées sur des lames porte-objets et soumises à une coloration à l'hématoxyline-éosine (Hould 1984). Cette coloration permet de différencier les structures nucléaires (en bleu-violet) des structures cytoplasmiques (en rose-orangé) ;
- L'observation a été réalisée au microscope optique (Leica DM 1000 LED), et les images ont été capturées à l'aide d'un système photographique intégré au microscope.

2.2.10. Analyse statistique

Les données obtenues lors des tests *in vitro*, sont exprimées sous forme de moyenne ± écart-type (ET) de quatre répétitions. Le logiciel SPSS (version 13.0) a été utilisé pour déterminer les valeurs de CI₅₀. Pour les expériences *in vivo*, les résultats sont présentés sous forme de moyenne de 10 répétitions ± erreur type de la moyenne (ETM) sur un échantillon de dix souris par groupe.

Les comparaisons statistiques entre les groupes ont été réalisées par une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur, à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 10 (GraphPad Software, San Diego, CA, États-Unis). Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour une valeur de $p \leq 0,05$ (* $p \leq 0,05$: Significatif, ** $p < 0,01$: Très significatif, *** $p < 0,001$: Hautement significatif).

Résultats & Discussion

Chapitre 2 : Résultats & Discussion

1. Techniques d'analyse et de caractérisation

La caractérisation des nanomatériaux à base d'oxydes métalliques mixtes, issus des hydroxydes doubles lamellaires ZnNiAl-LDH, repose sur l'utilisation de plusieurs techniques : la diffraction des rayons X (DRX), la microscopie électronique à balayage (MEB), la spectroscopie à dispersion d'énergie (EDX) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Ces techniques permettent de déterminer la structure cristalline, la morphologie, la composition élémentaire ainsi que les groupes fonctionnels des matériaux élaborés.

1.1. Caractérisation par DRX

La figure II.1 illustre les diagrammes de diffraction des rayons X (DRX) relatifs aux produits finaux obtenus par calcination des ZnNiAl-LDH à des températures de 400, 600 et 800 °C pendant une durée de 6 heures, offrant un aperçu précieux de l'évolution structurale au cours du processus thermique.

Pour les échantillons calcinés à 400 et 600 °C, les motifs de diffraction révèlent la présence identique de trois phases cristallines bien distinctes, témoignant d'une décomposition partielle du précurseur de départ sans formation de phases mixtes à ces stades modérés. La première phase identifiée est l'oxyde de zinc (ZnO), caractérisé par une structure hexagonale et un groupe d'espace P6₃mc (Zaidi et al. 2024; Bouarroudj et al. 2023, 2021), dont les pics principaux apparaissent aux angles 2θ de 31,77°, 34,42°, 36,26°, 47,54°, 56,61°, 67,96° et 69,10°, correspondant respectivement aux indices de Miller (100), (002), (101), (102), (110), (112) et (202), (référence PDF n° 70-2551) ; cette phase est typique des décompositions à basse température et confère des propriétés optiques et catalytiques intéressantes. La seconde phase correspond à l'oxyde de nickel (NiO), présentant une structure cubique avec groupe d'espace Fm-3m (Messai et al. 2023; Benzerouk et al. 2024), matérialisée par des pics nets à $2\theta = 37,09^\circ$, 43,09°, 62,59°, 75,04° et 79,01° associés aux plans (111), (200), (220), (311) et (222), ce qui indique une cristallisation stable et une contribution potentielle à la conductivité électrique du matériau (référence PDF n° 89-7130). Enfin, la troisième phase est l'alumine (Al₂O₃), adoptant une structure monoclinique et un groupe d'espace A2/m (Leonova et al. 2021; Y. Huang et al. 2021), détectée par des pics à $2\theta = 47,62^\circ$ et 56,74° relatifs aux indices (211) et (115), soulignant le rôle de l'aluminium dans la stabilité thermique du système (référence PDF n° 35-0121).

Concernant l'échantillon calciné à 800 °C, les phases ZnO (hexagonale) et NiO (cubique) se maintiennent fidèlement, comme en témoignent leurs signatures diffractométriques inchangées, mais un phénomène notable se produit : l'émergence d'une nouvelle phase spinelle, l'oxyde ternaire de zinc-nickel-aluminium ($\text{ZnNiAl}_2\text{O}_4$), à structure cubique et groupe d'espace Fd-3m. Cette phase, formée par interaction intime des cations à haute température, se manifeste par une série de pics à $2\theta = 31,30^\circ, 36,88^\circ, 44,86^\circ, 49,14^\circ, 55,72^\circ, 59,42^\circ, 65,31^\circ, 74,21^\circ$ et $77,44^\circ$, associés aux indices de Miller (220), (311), (400), (331), (422), (511), (440), (620) et (533), (référence PDF n° 80-1685) ; cette transformation spinelle est cruciale pour les applications en catalyse ou en stockage d'énergie, marquant une étape clé vers des matériaux mixtes à haute performance.

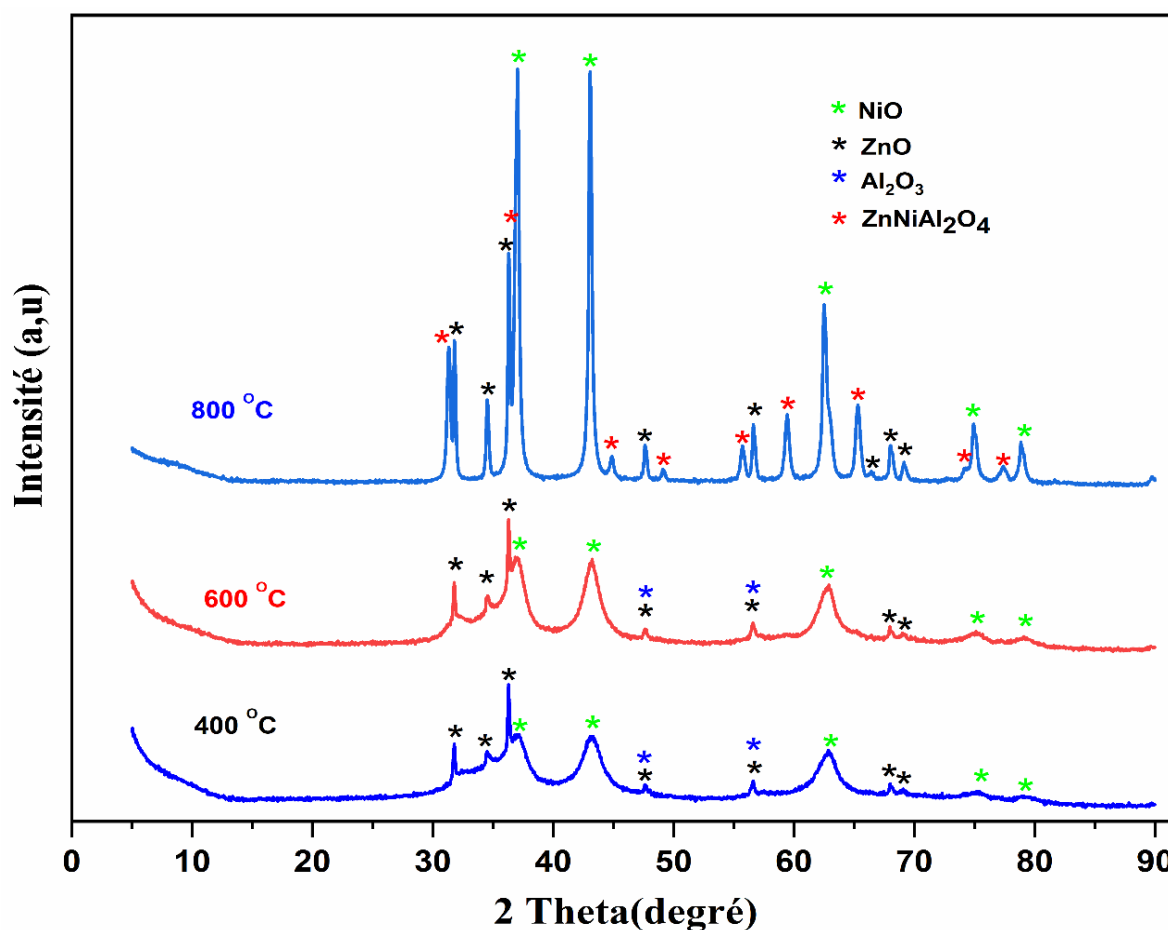


Figure II.1. Diagrammes de diffraction des rayons X (DRX) des nanoparticules de ZnNiAl-HDL calcinées à 400, 600 et 800 °C.

Les résultats de DRX ne déterminent pas uniquement la structure cristalline, mais également la taille des cristallites. Afin d'évaluer ce paramètre, la taille moyenne des grains a été calculée à partir des diffractogrammes DRX en utilisant la formule de Debye-Scherrer, sur la base de la largeur des pics. Les résultats sont présentés dans le tableau II.1.

Tableau II. 1. Taille moyenne des cristallites des nanoparticules ZnNiAl-HDL en fonction de la température de calcination, estimée par DRX.

Matériaux	ZnNiAl-HDL (400 °C)	ZnNiAl-HDL (600 °C)	ZnNiAl-HDL (800 °C)
Taille moyenne Des cristallites (nm)	48	45	43

1.2. Caractérisation par MEB

Les micrographies générées par microscopie électronique à balayage (MEB) des nanoparticules de ZnNiAl-HDL issues des calcinages à différentes températures (Figure II.2) font apparaître une évolution morphologique progressive fortement dépendante du traitement thermique appliqué.

À une température de 400 °C, la structure présente encore une morphologie relativement poreuse et peu compacte, présentant une texture lâche et un agencement encore imparfait des précurseurs lamellaires. Cette morphologie renvoie vers une déshydratation qui est restée incomplète pour les hydroxydes doubles lamellaires et une cristallisation encore insatisfaisante pour les oxydes mixtes qui caractériseraient l'échantillon.

En élevant la température de calcination à 600 °C, une autre transformation structurale est constatée. Les particules subissent une croissance granulaire plus importante avec une intéressante baisse de la porosité. Cela est dû à l'accélération des mécanismes de diffusion atomique et au commencement de la coalescence intergranulaire favorisant la recristallisation des oxydes et l'augmentation de la compacité du matériau. À 800 °C, la microstructure est nettement plus dense avec presque exclusivement mise en place de la phase spinelle $\text{ZnNiAl}_2\text{O}_4$. La microstructure se manifeste alors par le grossissement important des grains et la forte réduction des espaces intergranulaires, reflétant la thermodynamique stabilisée du système.

Ainsi, l'augmentation progressive de la température de calcination induit un processus de recristallisation, de croissance cristalline et de densification structurale, favorisant un état microstructural plus stable et énergétiquement favorable.

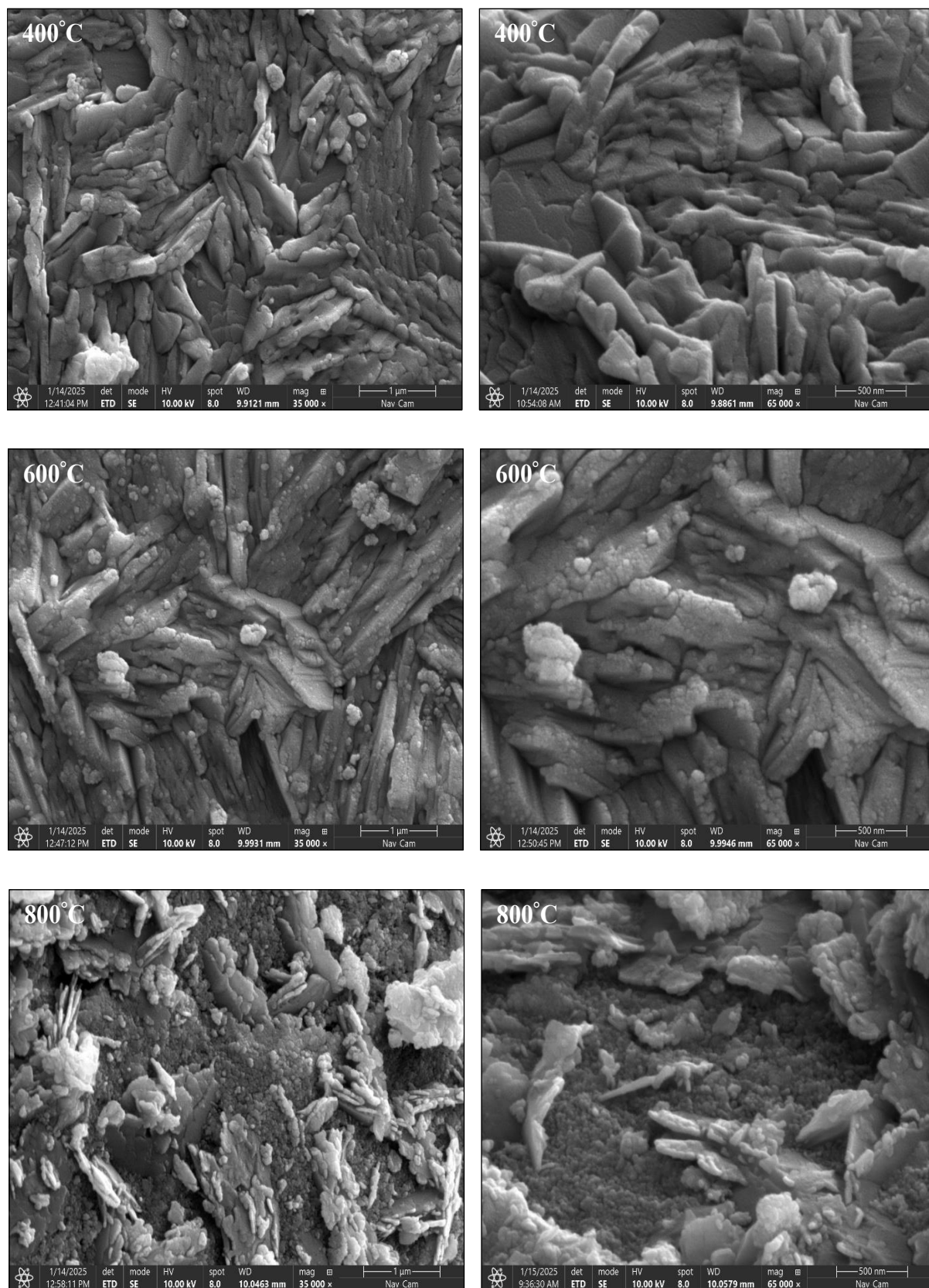


Figure II.2. Images MEB des nanoparticules de ZnNiAl-HDL calcinées à 400, 600 et 800 °C.

1.3. Caractérisation par spectroscopie à dispersion d'énergie des rayons X

La figure II.3 présente la composition élémentaire des nanoparticules ZnNiAl-HDL, déterminée par analyse EDX. Cette méthode analytique a permis de détecter et de confirmer clairement les signaux caractéristiques émis par les éléments métalliques constitutifs, à savoir l'aluminium, le zinc, le nickel et l'oxygène. Ces résultats spectraux soulignent ainsi la fidélité de la synthèse des nanoparticules et valident leur structure hybride, en mettant en lumière la distribution homogène de ces éléments au sein de la matrice nanométrique

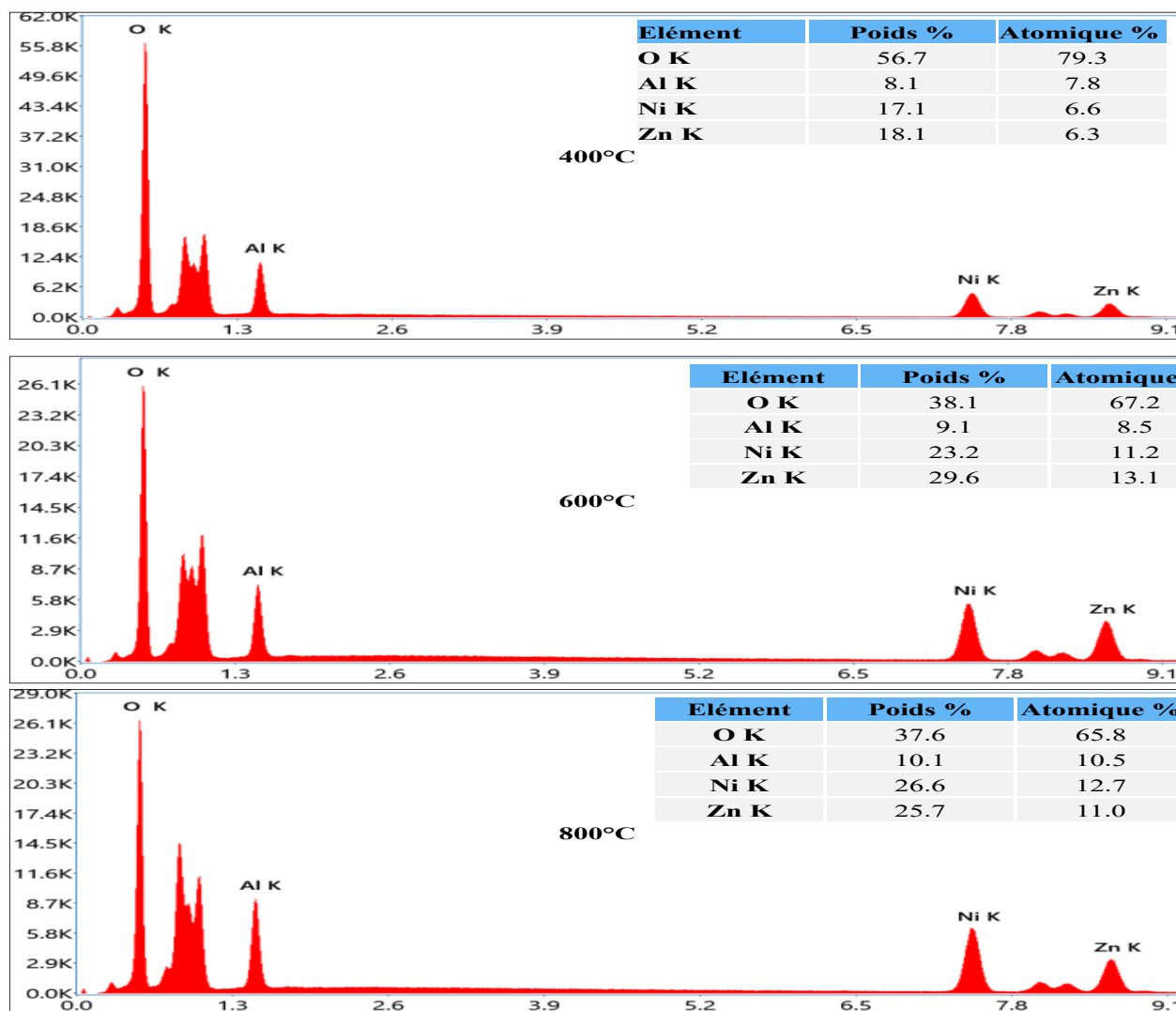


Figure II.3. Spectres EDS des nanoparticules de ZnNiAl-HDL calcinées à 400, 600 et 800 °C.

1.4. Caractérisation par FTIR

La Figure II.4 illustre les spectres de transmittance FT-IR typiques des nanoparticules de ZnNiAl-HDL synthétisées et calcinées à 400, 600 et 800 °C. Ces spectres mettent en évidence une succession de pics de transmission dans la plage spectrale de 400 à 4000 cm^{-1} .

Concernant les échantillons calcinés à 400 et 600 °C, une bande caractéristique des ions Al^{3+} dans l'alumine de transition, occupant des sites tétraédriques et octaédriques, apparaît à 808 cm^{-1} (Meza-Fuentes et al. 2023; Liu et al. 2012).

Pour l'échantillon traité à 800 °C, le pic situé à 490 cm^{-1} correspond aux modes de vibration d'étirement des liaisons Al-O et Ni-O dans des environnements tétraédriques et octaédriques impliquant les ions Ni^{2+} et Al^{3+} (Ragupathi et al. 2017; Elakkiya et al. 2018).

Par ailleurs, les bandes observées à 542 cm^{-1} sont rattachées aux vibrations des liaisons Zn-O, Al-O et Zn-O-Al au sein de tétraèdres ZnO_4 et d'octaèdres AlO_6 (Ge et al. 2013; Tangcharoen et al. 2019a), ce qui atteste de la formation de la phase spinelle $\text{ZnNiAl}_2\text{O}_4$, corroborée par l'analyse DRX. Les pics détectés à 435, 465, 584 et 680 cm^{-1} signalent la présence d'oxydes métalliques (Naz et al. 2025).

Dans la région de 1245 cm^{-1} , les signaux sont interprétés comme des vibrations de liaisons C-C, tandis que les bandes vers 1061 cm^{-1} sont principalement associées à des groupes oxygénés portant une liaison simple C-O (Buvaneswari et al. 2015; Mahmoud et al. 2022). Le pic à 1387 cm^{-1} est attribué aux groupes azotés résiduels issus des précurseurs (Tangcharoen et al. 2019b).

Enfin, l'absorption à 2348 cm^{-1} pourrait provenir de liaisons oxygène-oxygène dans le réseau cristallin cubique à faces centrées des atomes d'oxygène (Jamal et al. 2011), et les bandes à 2976 cm^{-1} ainsi qu'à 2899 cm^{-1} correspondent aux vibrations des liaisons C-H (Jamal et al. 2011; Yao et al. 2019).

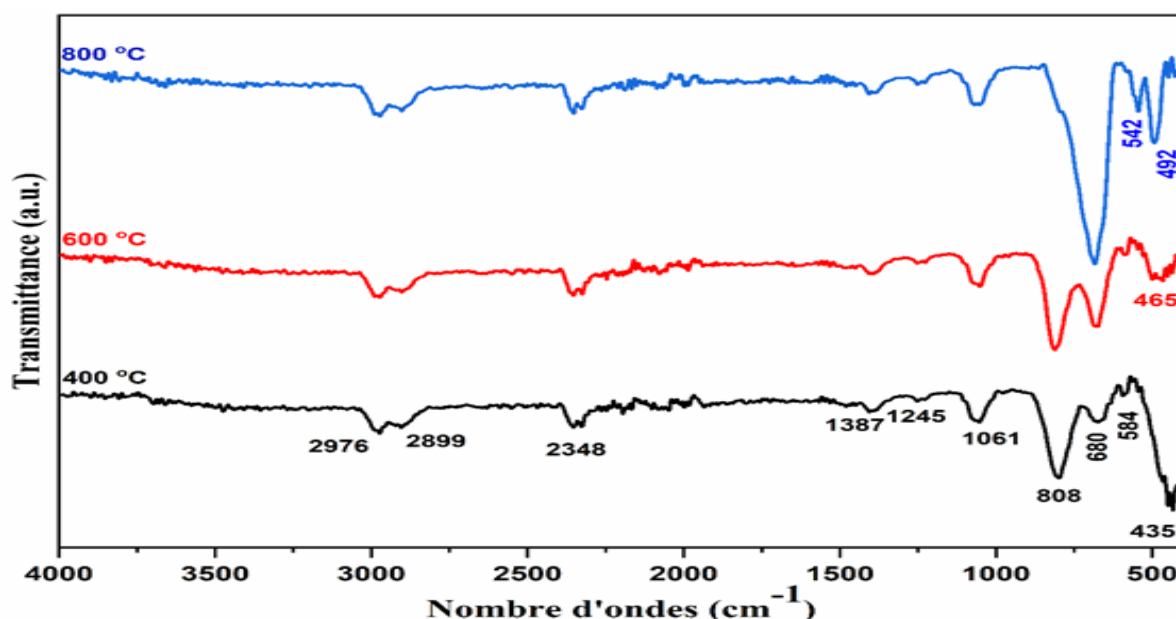


Figure II.4 Spectres FTIR des nanoparticules de ZnNiAl-HDL calcinées à 400, 600 et 800 °C.

2. Évaluation de l'activité antimicrobienne, antibiofilm, antioxydante, cytotoxique et toxicité aiguë des HDLs-ZnNiAl

2.1. Activité antimicrobienne

2.1.1. Effets des HDLs-ZnNiAl sur les bacilles à Gram positif

Le tableau II.2 regroupe les valeurs de la CMI, de la CMB, ainsi que le rapport (CMB/CMI) obtenus après traitement des bactéries à Gram positif aux différentes concentrations de ZnNiAl – HDL calciné aux trois températures (400 °C, 600 °C, 800 °C).

Tableau II.2. Valeurs des CMI, CMB et du rapport (CMB/CMI) des bactéries à Gram positif traitées aux HDLs de ZnNiAl calciné aux trois températures (400 °C, 600 °C, 800 °C).

Températures Souches	800°C			600°C			400°C		
	CMI	CMB	$\frac{CMB}{CMI}$	CMI	CMB	$\frac{CMB}{CMI}$	CMI	CMB	$\frac{CMB}{CMI}$
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	15,625	125	8	7,812	62,5	8	31,25	125	4
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	7,812	250	32	7,812	7,812	1	31,25	125	4

A partir des résultats du traitement des bactéries à Gram positif, nous remarquons que *Staphylococcus aureus* montre une activité bactériostatique vis-à-vis de toutes les températures, avec des CMI allant de 7,812 à 31,25 µg/mL et des CMB atteignant les 125 µg/mL. En revanche, *Bacillus subtilis* présente une réponse différente selon la température : à 800 °C, la souche est tolérante (CMI = 7,812 µg/mL ; CMB = 250 µg/mL), à 600 °C, l'activité devient bactéricide (CMI = CMB = 7,812 µg/mL), et à 400 °C, elle est bactériostatique (CMI = 31,25 µg/mL ; CMB = 125 µg/mL).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Rasouli et al. (2017). En effet, leur étude portée sur des oxydes métalliques mixtes, notamment des NPs de ZnO/NiAl₂O₄ calcinées à 500°C, présentant une activité antibactérienne marquée contre *Staphylococcus aureus* avec une CMI de 16 µg/mL.

2.1.2. Effet des HDLs de ZnAl_2O_4 sur les bactéries à Gram négatif

Le tableau II.3 rassemble les valeurs de la CMI, de la CMB, ainsi que le rapport (CMB/CMI) obtenues après traitement des bactéries à Gram négatif aux différentes concentrations de ZnNiAl calciné aux trois températures (400 °C, 600 °C, 800 °C).

Tableau II.3 Valeurs des CMI, CMB et du rapport (CMB/CMI) des bactéries à Gram négatif traitées aux HDLs de ZnNiAl calcinées aux trois températures (400 °C, 600 °C, 800 °C).

Températures Souches	800°C			600°C			400°C		
	CMI	CMB	$\frac{\text{CMB}}{\text{CMI}}$	CMI	CMB	$\frac{\text{CMB}}{\text{CMI}}$	CMI	CMB	$\frac{\text{CMB}}{\text{CMI}}$
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15,625	500	32	125	125	1	125	250	2
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028	15,625	500	32	62,5	62,5	1	62,5	500	8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	7,812	31,25	4	15,62	500	32	31,25	500	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	1,953	3,906	2	7,812	125	16	15,625	500	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	31,25	31,25	1	250	250	1	62,5	500	8

Nos résultats montrent une activité antibactérienne optimale du nanocomposite ZnNiAl et ce à 800 °C, température à laquelle le matériau présente les CMI les plus faibles, notamment vis-à-vis de *K. pneumoniae* (1,953 µg/mL) et *A. baumannii* (7,812 µg/mL). À la température intermédiaire de 600 °C, bien que les CMI soient supérieures, un effet bactéricide est observé pour les souches d'*E. coli* et *P. aeruginosa*. À l'inverse, le traitement à 400 °C limite l'efficacité du composé, induisant une activité majoritairement bactériostatique caractérisée par des rapports CMB/CMI élevés.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Basak et al. (2023), qui ont synthétisé des nanocomposites MZ à partir de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ et de sulfate de manganèse, en présence d'éthylène glycol et après ajustement du pH. Les matériaux obtenus ont été calcinés à différentes températures (300 °C, 450 °C, 600 °C et 750 °C), et les nanoparticules MZ4 calcinées à la température de 750 °C ont montré une activité antimicrobienne plus élevée contre des souches bactériennes à Gram positif et négatif et ce à la concentration de 300 µg/mL, confirmant le rôle déterminant de la température de calcination dans l'amélioration des propriétés antibactériennes des nanomatériaux.

2.1.3. Effets des HDLs de ZnNiAl sur les mycètes

Le tableau II.4 regroupe les valeurs de la CMI, de la CMB, ainsi que le rapport (CMB/CMI) obtenues après traitement des levures aux différentes concentrations de ZnNiAl calciné aux températures de 400 °C, 600 °C et 800 °C.

Tableau II.4. Valeurs des CMI, CMB et du rapport (CMB/CMI) des mycètes traités aux HDLs de ZnNiAl calciné aux températures de : 400 °C, 600 °C et 800 °C.

Températures Souches	400°C			600°C			800°C		
	CMI	CMB	$\frac{CMB}{CMI}$	CMI	CMB	$\frac{CMB}{CMI}$	CMI	CMB	$\frac{CMB}{CMI}$
<i>Candida albicans</i>	3,906	62,5	16	62,5	62,5	1	125	250	2

Nos résultats montrent que les NPs de ZnNiAl calcinés à 400 °C présentent la plus faible CMI (3,906 µg/mL), indiquant une forte activité antifongique, bien qu'elle soit prédominante fongistatique (CMB/CMI = 16). À 600 °C, l'effet devient fongicide (CMB/CMI = 1), tandis qu'à 800 °C, l'activité diminue légèrement, avec une CMI de 125 µg/mL et un rapport CMB/CMI de 2.

Les différences observées dans l'activité antimicrobienne entre les souches testées révèlent une sensibilité marquée de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*, lesquelles ont présenté des valeurs de CMI et de CMB très faibles. Ces résultats suggèrent une susceptibilité accrue de ces micro-organismes aux ions métalliques Zn²⁺ et Ni²⁺ libérés par le nanocomposite ZnNiAl. Ces observations corroborent les travaux de Paul et Neogi (2019), qui ont mis en évidence l'effet antibactérien sélectif des MMOs à base de CuO et CuO-NiO vis-à-vis de *S. aureus*, le NiO étant quant à lui plus efficace contre *E. coli*.

La sensibilité accrue des souches à Gram positif et des levures observée dans notre étude souligne l'importance de la composition de la paroi cellulaire dans l'efficacité des agents antimicrobiens à base d'oxydes métalliques. En effet, les bactéries Gram positives se caractérisent par une paroi épaisse riche en peptidoglycane, tandis que les Gram négatifs possèdent une membrane externe contenant des lipopolysaccharides (LPS) conférant une charge plus négative, susceptible de limiter la pénétration des ions métalliques.

L'efficacité antimicrobienne du ZnNiAl-MMO semble fortement dépendante du type de métal divalent, le Zn²⁺ apparaissant comme l'ion le plus actif. Ces résultats rejoignent ceux d'Awassa, qui ont démontré l'efficacité des HDLs à base de Zn²⁺ contre *E. coli* et *S. aureus*.

Plusieurs facteurs influencent cette activité, notamment la taille des particules, la surface spécifique, la morphologie, la concentration du matériau et surtout la température de calcination. (Somasundaram et al. 2018).

En effet, l'activité antibactérienne des nanomatériaux ZnNiAl-MMO repose également sur des mécanismes impliquant la formation d'hétérojonctions de type II entre les oxydes métalliques. En tant que semi-conducteurs à large bande interdite, ZnO et NiO peuvent être activés par l'énergie photonique, induisant la migration d'électrons de la bande de valence vers la bande de conduction. Ce processus génère des lacunes électroniques (h^+) et des électrons libres, lesquels réagissent avec les groupes hydroxyles pour produire des espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que H_2O_2 , O_2^- et OH^- , responsables de dommages cellulaires (Zhao et al. 2010; Zhang et al. 2013; Ghattavi and Nezamzadeh-Ejhieh 2019, 2020; Hutchings et al., 2021; Amin Rajizadeh and Pourbabaki 2024).

Par ailleurs, l'analyse de l'impact du traitement thermique indique que la calcination à 800 °C confère au nanocomposite une efficacité optimale, comme en témoignent les plus faibles CMI observées chez la majorité des souches testées. Cette amélioration peut être attribuée à la formation d'une phase spinelle cristalline plus stable et à une meilleure répartition des particules, favorisant ainsi l'exposition des ions métalliques actifs. Ces modifications améliorent globalement les propriétés de surface du nanomatériau, intensifiant ses interactions avec les cellules microbiennes (Lee et al. 2021; Asghar et al. 2024).

À l'inverse, les températures plus basses (600 °C et 400 °C) semblent moins efficaces, ce qui pourrait résulter de la formation de phases intermédiaires moins actives ou d'une diminution de la surface spécifique. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Cardinale et al. (2023), qui ont démontré une activité antimicrobienne accrue des HDLs ZnAl-SO après un traitement thermique à 450 °C, alors que les formes non traitées thermiquement montraient une efficacité limitée. Cela confirme l'importance de la libération des ions Zn^{2+} , favorisée par la calcination, dans le renforcement de l'activité antimicrobienne.

De plus, à des températures plus basses, le mécanisme d'action semble davantage fondé sur l'adsorption que sur la libération ionique. Cela pourrait expliquer l'inhibition accrue de *Pseudomonas aeruginosa* à 400 °C, malgré des résultats moins marqués sur d'autres souches. De manière intéressante, les bactéries Gram positif telles que *S. aureus* et *B. subtilis* conservent de faibles CMI (7,81 µg/mL) même à 600 °C, ce qui pourrait être lié à la perméabilité accrue de leur paroi peptidoglycanique (Kim et al. 2015).

En outre, la transition de phase induite par la température influence également l'effet bactéricide : une réduction marquée de la CMB pour *B. subtilis* à 600 °C (7,81 µg/mL contre 250 µg/mL à 800 °C) est en accord avec des études sur les HDLs dopés à l'argent, montrant un effet synergique entre libération ionique et perturbation physique de la membrane (Shahid et al. 2018).

Ainsi, la température de calcination constitue un facteur clé dans le contrôle des mécanismes antimicrobiens du ZnNiAl-MMO. Les hautes températures favorisent les effets liés à la libération d'ions et à la génération des ERO, tandis que les basses températures privilégient les interactions par adsorption, offrant une plateforme polyvalente pour un ciblage pathogène *via* un contrôle précis des conditions de synthèse.

Enfin, l'activité antimicrobienne des oxydes métalliques est aussi régie par les interactions électrostatiques avec les parois bactériennes. Les nanoparticules de ZnO et NiO, chargées positivement, interagissent avec les composants membranaires négativement chargés, provoquant des altérations membranaires, la fuite d'ions intracellulaires, et la perturbation des processus métaboliques. Les ions Zn^{2+} interfèrent avec le transport actif, inhibent le métabolisme des acides aminés, inactivent les enzymes essentielles, et se lient aux acides aminés soufrés, entraînant la dénaturation protéique et la mort cellulaire par apoptose (M. Li et al. 2011; Rasouli et al. 2017; Gharpure et al. 2022). De plus, les HDLs peuvent adsorber les nutriments essentiels à la croissance bactérienne, modifiant ainsi l'environnement physicochimique du milieu de culture et entravant le développement microbien (Izbudak et al. 2021).

La sensibilité élevée de *Candida albicans* au ZnNiAl-MMO peut également s'expliquer par les particularités structurales et physiologiques des cellules fongiques. Contrairement aux bactéries, *C. albicans* possède une paroi cellulaire composée principalement de β -glucanes, de mannoprotéines et de chitine, ainsi qu'une membrane plasmique riche en ergostérol (Lopes et Lionakis 2022).

Les nanoparticules d'oxydes métalliques peuvent interagir avec ces constituants, perturber l'intégrité de la paroi et de la membrane plasmique et favoriser la perte de l'homéostasie cellulaire. Par ailleurs, les ions Zn^{2+} et Ni^{2+} libérés à partir du ZnNiAl-MMO peuvent interférer avec des enzymes et des protéines essentielles au métabolisme cellulaire, tandis que la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) peut induire un stress oxydatif important. Celui-ci peut entraîner une peroxydation lipidique membranaire, des dommages

protéiques et mitochondriaux ainsi qu'une altération de l'intégrité cellulaire (Carmo et al. 2023; Slavin et Bach 2022).

Chez *C. albicans*, ces perturbations peuvent également affecter la morphogenèse levure-hyphae et la formation du biofilm, deux processus essentiels à sa virulence (Lara et al. 2015).

Ainsi, la sensibilité de *C. albicans* observée dans notre étude pourrait résulter de l'action combinée des interactions de surface du nanocomposite, de la libération d'ions métalliques et de la génération d'ERO, plutôt que d'un seul mécanisme.

2.2. Activité antibiofilm

La Figure II.5 illustre l'inhibition de la biomasse du biofilm formé par *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* au contact des nanocomposites ZnNiAl-MMO calcinés à 400, 600 et 800 °C.

Pour *S. aureus*, l'activité inhibitrice du biofilm augmente avec la température de calcination et atteint son maximum à 800 °C ($CI_{50} = 28,57 \mu\text{g/mL}$), contre $56,79 \mu\text{g/mL}$ à 600 °C et $72,27 \mu\text{g/mL}$ à 400 °C. Cette augmentation d'activité pourrait être associée aux modifications structurales et minéralogiques induites par la calcination, susceptibles d'influencer la surface des particules ainsi que la libération des ions Zn^{2+} et Ni^{2+} , qui peuvent contribuer à l'activité antimicrobienne.

De même, *P. aeruginosa* présente une activité inhibitrice plus importante à 800 °C ($CI_{50} = 54,53 \mu\text{g/mL}$), par rapport aux matériaux calcinés à 400 °C ($83,64 \mu\text{g/mL}$) et à 600 °C ($76,84 \mu\text{g/mL}$). Cette différence pourrait être liée aux modifications de la structure cristalline et des propriétés de surface des matériaux après calcination, pouvant favoriser leurs interactions avec la matrice extracellulaire polymérique (EPS) du biofilm. Toutefois, cette interprétation reste hypothétique en l'absence de mesures directes de la charge de surface, de la libération ionique ou des interactions avec la matrice EPS.

Concernant *C. albicans*, l'activité optimale est observée à 600 °C ($CI_{50} = 64,17 \mu\text{g/mL}$), suggérant un équilibre entre la libération ionique et l'agrégation des nanoparticules.

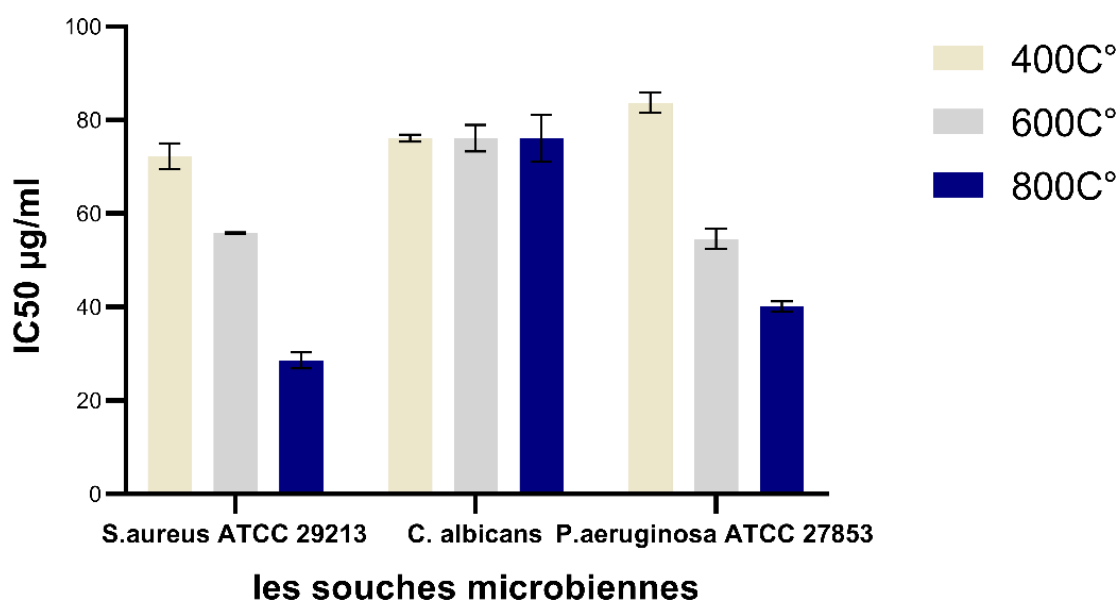


Figure II.5. Variation de l'activité antibiofilm du MMO-HDL calciné à 400, 600 et 800 °C.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Fulaz et al. (2019), qui montrent que les nanoparticules perturbent les biofilms en favorisant la dégradation de la matrice extracellulaire polymérique (EPS) et en adsorbant les molécules impliquées dans la communication intercellulaire par détection du quorum sensing (QS). À 800 °C, l'augmentation du caractère hydrophobe de la surface des ZnNiAl-MMO pourrait renforcer ces mécanismes en facilitant la dégradation de l'EPS et l'inhibition des voies du QS.

Globalement, la calcination à 800 °C confère aux ZnNiAl-MMO des propriétés de surface favorisant leur interaction avec la matrice EPS des pathogènes à Gram négatif, tels que *Pseudomonas aeruginosa*, conduisant à une perturbation efficace de leurs biofilms. En revanche, une calcination à 600 °C optimise la libération des ions Zn^{2+} et Ni^{2+} , permettant un ciblage plus efficace des bactéries à Gram positif, telles que *Staphylococcus aureus*, ainsi que des champignons comme *Candida albicans*, principalement via des altérations de l'intégrité membranaire.

Au-delà de ces effets directs, les nanoparticules inhibent également la formation et la stabilité des biofilms par des mécanismes indirects, notamment par des interactions avec différents composants structuraux de la matrice, tels que l'EPS, l'ADN extracellulaire (eADN), les protéines et les lipides, ou encore par la perturbation des voies de signalisation du QS. Par ailleurs, la formation d'une couronne protéique autour des nanoparticules au sein de la matrice EPS peut faciliter leur diffusion et accroître leur capacité à altérer l'intégrité structurale des biofilms (Al-Shabib et al. 2016; Fulaz et al. 2019; Das et al. 2021).

À notre connaissance, nous n'avons trouvé aucune publication sur les effets des HDLs de $\text{ZnNiAl}_2\text{O}_4$ que nous avons utilisés sur les microorganismes testés, donc nos résultats se révèlent encourageants et confirment l'efficacité antimicrobienne et anti biofilm des HDLs de ZnNiAl nouvellement synthétisés.

2.3. Activité antioxydante des nanocomposites ZnNiAl -MMO

Les figures II.6 et II.7 présentent les résultats de l'activité antioxydante des nanocomposites ZnNiAl -MMO par les tests DPPH et FRAP où l'acide ascorbique a été utilisé comme standard.

Les résultats du test DPPH révèlent une augmentation significative de l'activité antioxydante avec la température de calcination : la CI_{50} diminue, passant de 56,69 $\mu\text{g/mL}$ à 400 °C à 33,48 $\mu\text{g/mL}$ à 800 °C (Figure II.6). Cette valeur, inférieure à celle de l'acide ascorbique utilisé comme référence ($\text{CI}_{50} = 38,25 \mu\text{g/mL}$), indique que le nanocomposite calciné à 800 °C possède une capacité de piégeage des radicaux libres supérieure à celle de ce standard. La tendance est confirmée par le test FRAP, qui mesure un pouvoir réducteur nettement supérieur à 800 °C pour l'ensemble des concentrations étudiées (Figure II.7).

Ces performances accrues sont attribuées aux transformations structurales induites par la calcination, notamment l'augmentation de la cristallinité et l'optimisation de la charge de surface. Ces modifications favorisent le transfert d'électrons des espèces de zinc vers les radicaux libres (Inamuddin et al. 2020 ; Sharma et al. 2023).

Le mécanisme antioxydant des nanomatériaux de zinc (ZnNM) repose sur le transfert d'électrons vers l'électron non apparié de l'atome d'azote du radical DPPH, conduisant à sa neutralisation. L'efficacité de ce processus dépend fortement de la taille des nanoparticules : une dimension optimale maximise la neutralisation des radicaux hydroxyles, tandis qu'une réduction excessive de la taille n'entraîne pas nécessairement une amélioration significative de l'activité antioxydante. D'autres paramètres, tels que la concentration, la surface spécifique et

la cristallinité des ZnNM, influencent également leur interaction avec les radicaux DPPH (Kalia et al. 2021).

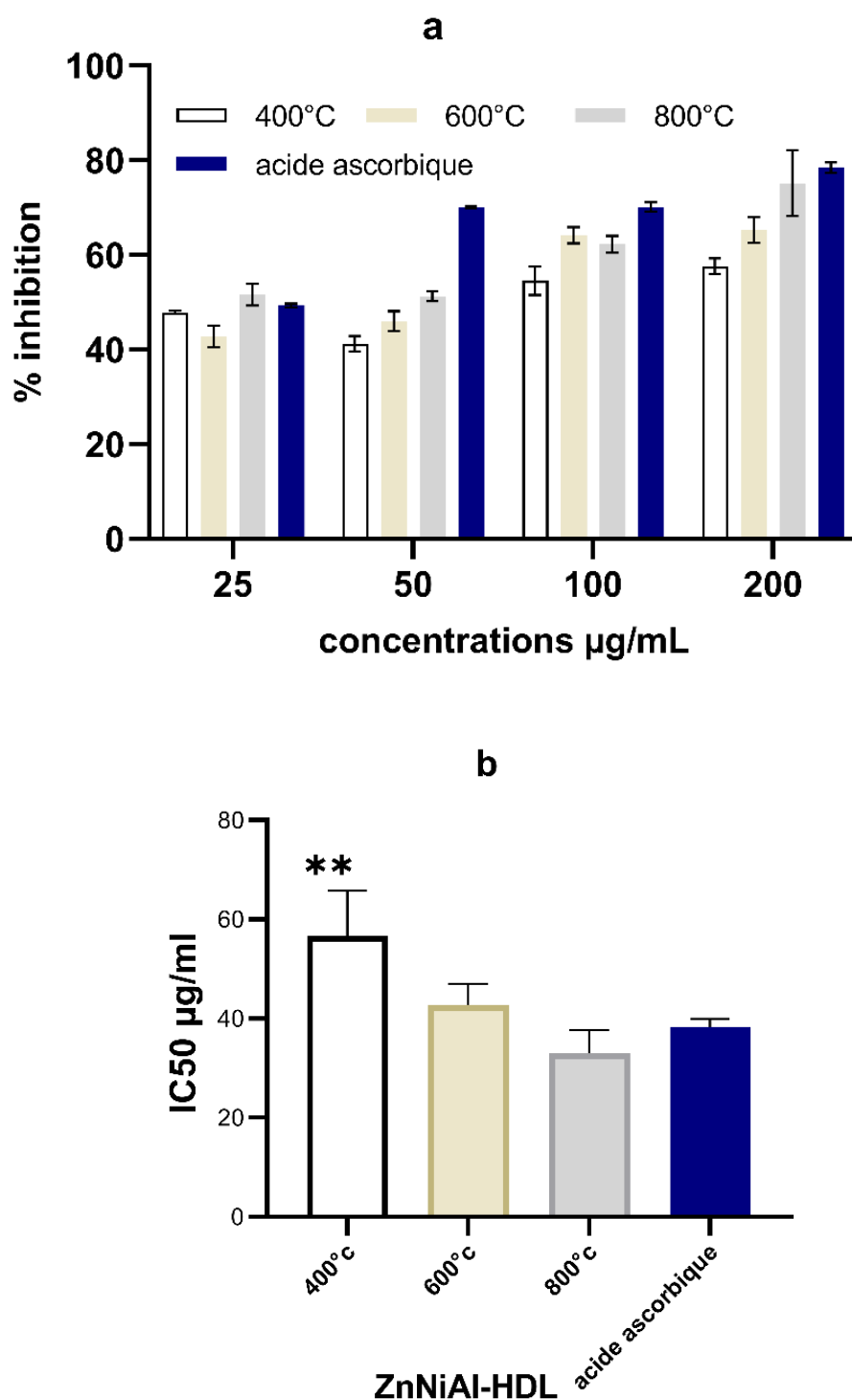


Figure II.6. Activité antioxydante (test DPPH) des nanocomposites ZnNiAl-HDLs calcinés à 400, 600 et 800 °C. (a) Pourcentage d'inhibition des radicaux libres ; (b) Valeurs de la CI_{50} .

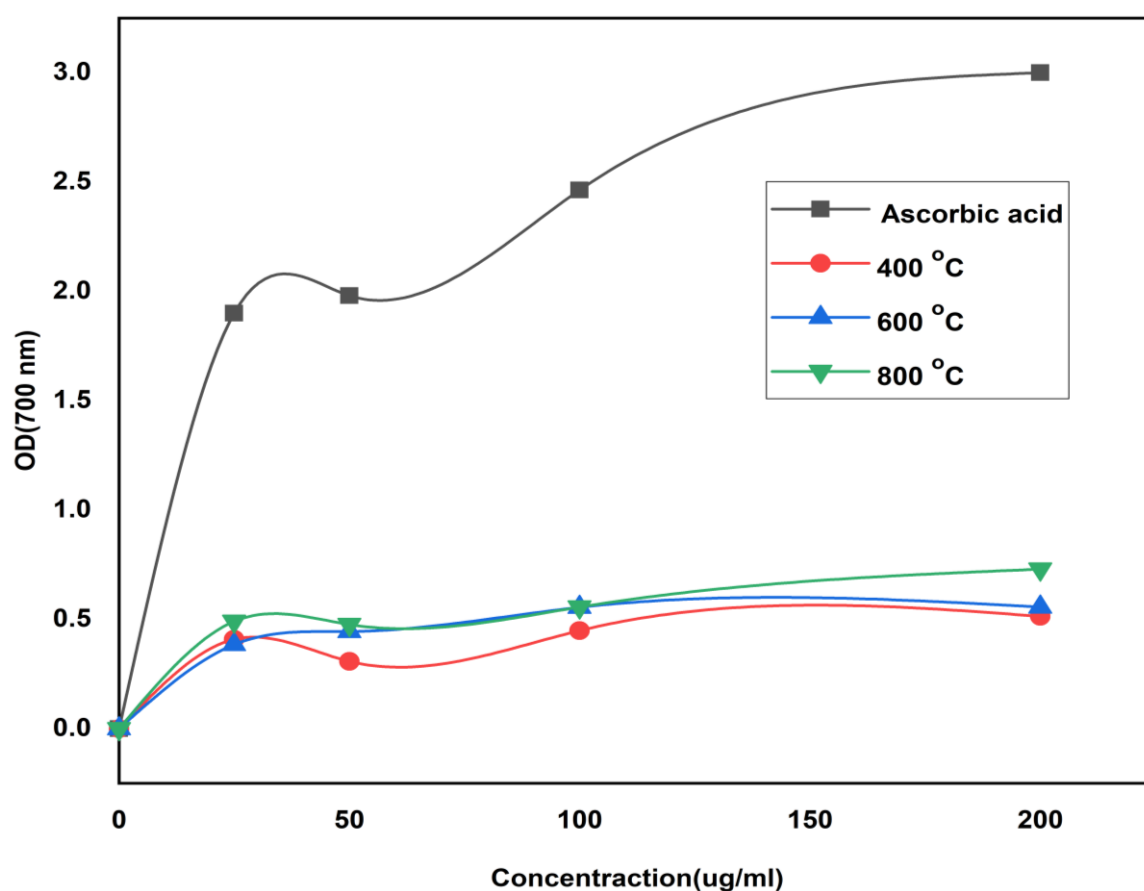


Figure II.7. Activité antioxydante (FRAP) du MMO-HDL calciné aux températures de 400, 600 et 800 °C

2.4. Activité cytotoxique

La figure II.8 illustre les résultats du test de cytotoxicité MTT réalisé sur des cellules cancéreuses HT-29, traitées pendant 24 et 48 h aux différentes concentrations de nanocomposites ZnNiAl-MMO calcinés à 400, 600 et 800 °C.

Nos résultats montrent qu'après 24 et 48 h d'exposition, les cellules témoins non traitées conservent une viabilité proche de 100 %, tandis que les cellules traitées par les HDLs présentent une réduction de viabilité qui dépend à la fois de la dose (3,9–500 µg/mL) et du temps d'incubation.

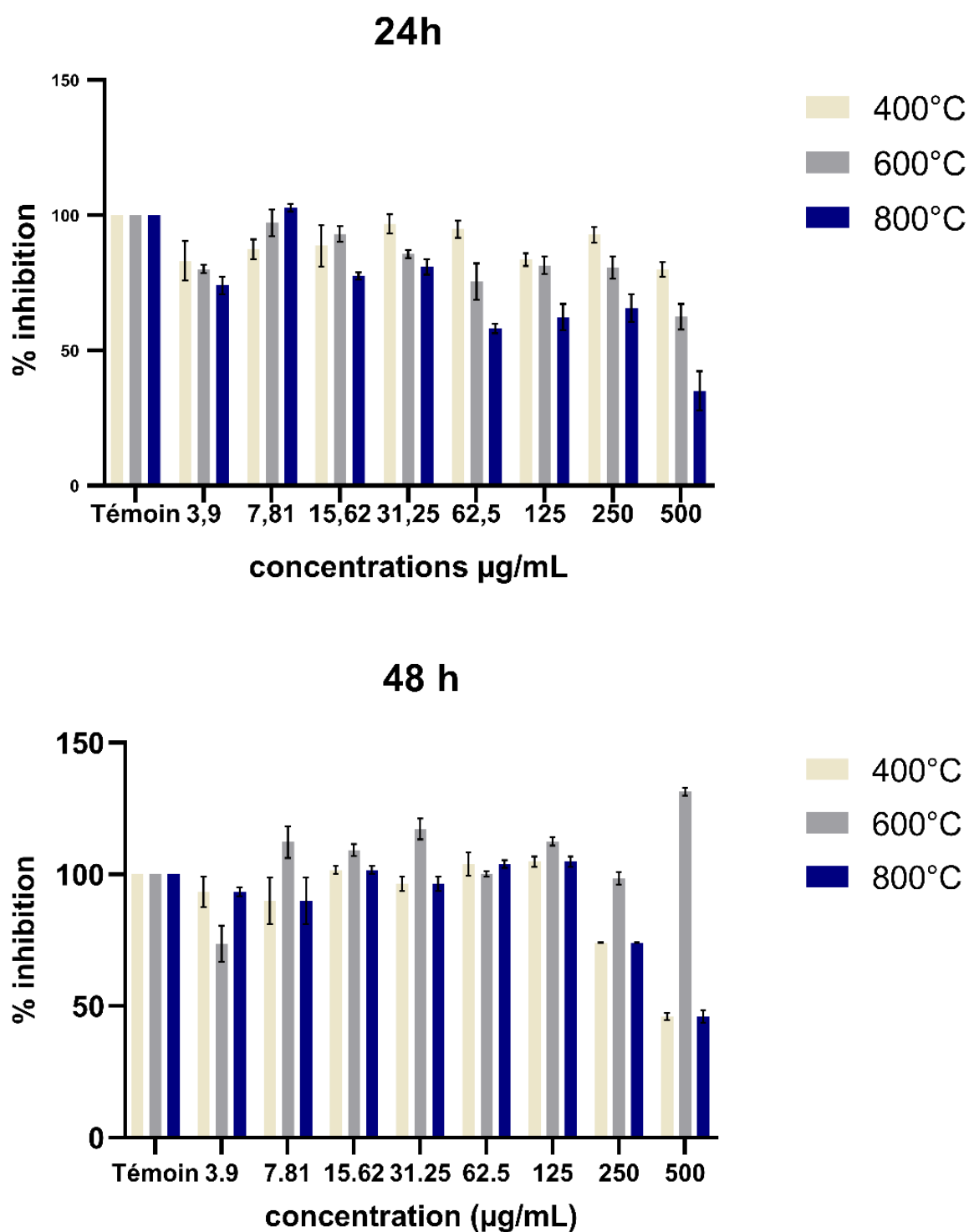


Figure II.8. Activité anticancéreuse du MMO-HDL calciné à 400, 600 et 800 °C après 24 et 48 h de traitement.

Après 24 h d'exposition, l'échantillon ZnNiAl calciné à 800 °C présente une cytotoxicité nettement plus élevée, avec un taux d'inhibition d'environ 35,04 % à 500 µg/mL,

et aussi une réduction significative de la viabilité cellulaire (**P < 0,01) aux concentrations intermédiaires (7,81–31,25 µg/mL), variant de 77 à 58 %.

En revanche, les échantillons ZnNiAl-400 °C et ZnNiAl-600 °C induisent des effets plus modérés, avec des taux d'inhibition compris entre 79 et 62,43 % aux fortes concentrations. Après 48 h, une augmentation de l'effet cytotoxique est observée pour l'ensemble des échantillons. Toutefois, le ZnNiAl-800 °C conserve l'activité la plus élevée (45,99 %), conduisant à une viabilité cellulaire minimale aux concentrations élevées (250–500 µg/mL). Aux mêmes concentrations, les nanocomposites calcinés à 400 °C et 600 °C présentent une inhibition nettement inférieure (74 %).

L'effet cytotoxique marqué du ZnNiAl-800 °C s'explique par une surface spécifique, une porosité et une stabilité optimisée, facilitant les interactions nanoparticules–cellules, par une libération d'ions Zn²⁺, la génération d'ERO et la perturbation du potentiel membranaire mitochondrial (MMP). Ce stress oxydatif entraîne une modulation du rapport Bax/Bcl-2, l'activation de la caspase-3, la fragmentation de l'ADN et enfin déclenche l'apoptose cellulaire (Azarshinfam et al. 2021; Rani et Saini 2022; Helalat et al. 2023; Dubey et al. 2024).

Ces résultats mettent en évidence le potentiel des ZnNiAl-MMO, en particulier des variantes calcinées à haute température, comme agents anticancéreux modulables, dont l'efficacité repose sur leurs propriétés physico-chimiques et sur des mécanismes d'action dépendants du temps.

2.5. Étude *in vivo* de la toxicité aiguë des HDLs-ZnNiAl

Grâce à leurs propriétés physico-chimiques uniques qui augmentent leur efficacité pour transporter des médicaments, lutter contre les microbes et traiter le cancer, les nanoparticules se sont imposées comme des vecteurs thérapeutiques de premier plan (Edis et al. 2021). Néanmoins, un examen approfondi de leur biosécurité et du profil de toxicité demeure indispensable avant toute application concrète.

L'étude a été réalisée sur six groupes de six animaux chacun, traités pendant deux semaines. Les groupes B, C, D, E, F ont reçu respectivement des doses de 500, 1000, 1500, 2500 et 3500 µg/kg de ZnNiAl, le groupe A servant de témoin.

2.5.1. Histologie rénale

La figure II.9 présente les coupes histologiques des tissus rénaux après 14 jours de traitement aux HDLs.

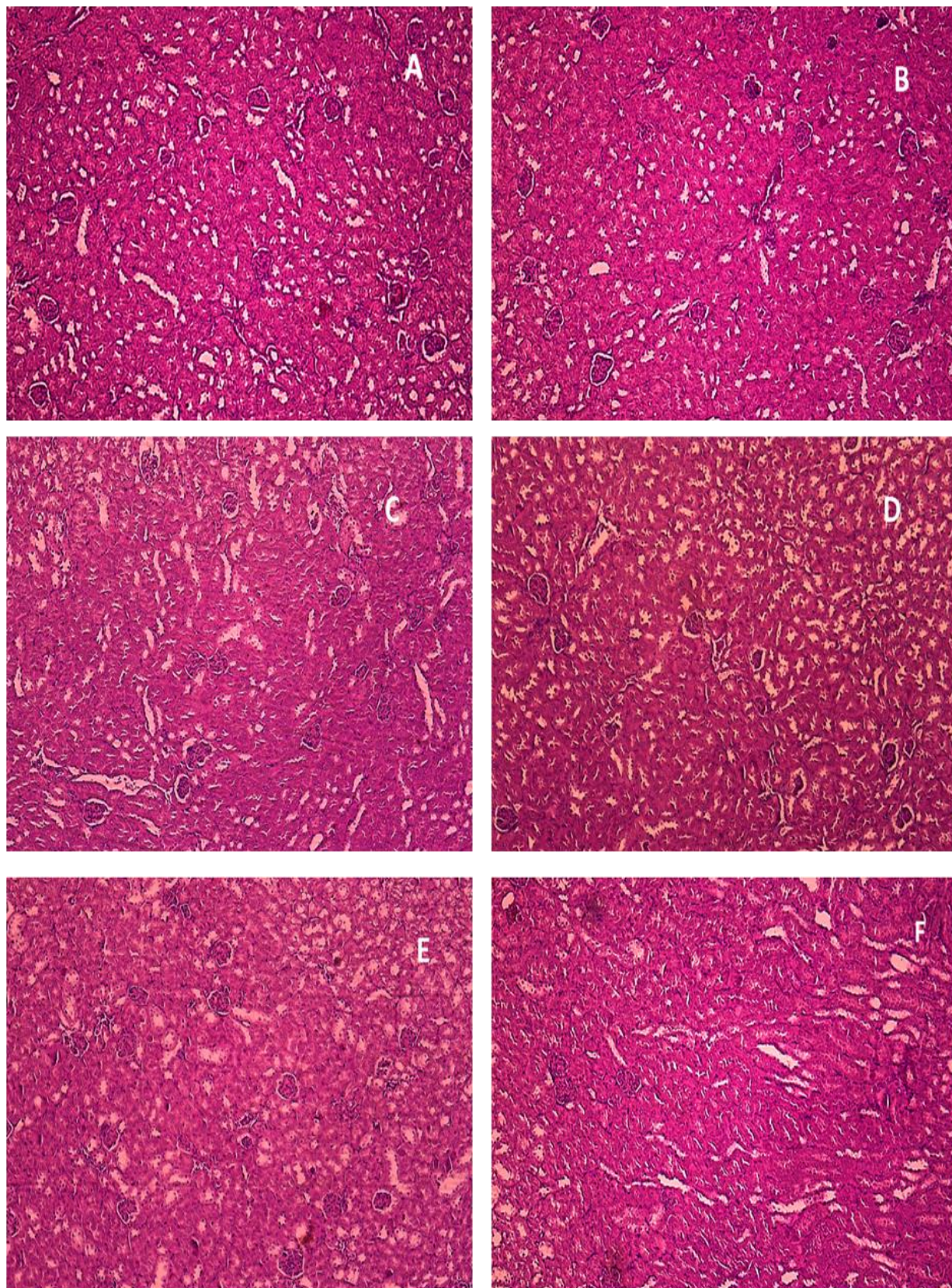


Figure II.9. Coupes histologiques des tissus rénaux de rats traités par les nanocomposites ZnNiAl-MMO à différentes doses pendant 14 jours, colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E) et observées au microscope optique au grossissement $\times 400$.

L'observation microscopique a révélé une architecture rénale normale, comparable à celle du groupe témoin. Aucun signe visible de lésion rénale, tel que la vacuolisation, l'infiltration inflammatoire, la rétraction glomérulaire, la fibrose ou la dégénérescence tubulaire, n'a été observé.

2.5.2. Effet des HDLs-ZnNiAl sur les paramètres biochimiques sériques

Les données relatives aux paramètres biochimiques sériques des souris adultes, obtenues après deux semaines de traitement par les HDLs-ZnNiAl, sont présentées dans le tableau II.5.

Tableau II.5. Effets des HDL-ZnNiAl sur les paramètres biochimiques sériques des souris adultes après 2 semaines de traitement.

	Témoin	500 µg/Kg	1000 µg/Kg	1500 µg/Kg	2500 µg/Kg	3500 µg/Kg
Urée mg/dL	22.405± 2.7	21.93± 3.18	21.79± 0.96	21.02± 3.55	26.36± 4.1	31.365± 0.94
Créatinine mg/dL	1.461± 0.2	2.378 ± 0.34	2.66± 0.53	2.63± 1.2	2.563± 1.65	2.353 ± 0.44
Albumine g/dL	2.89± 0.77	2.92± 0.53	1.445± 1	1.914± 0.46	1.8025± 0.32	1.74 ± 0.34
magnesium mg/dL	1.254± 0.34	1.433± 0.51	1.172± 0.49	1.0747± 0.38	1.4235± 0.46	1.265± 0.84
Calcium mg/dL	11.37± 1.71	11.71± 2.38	12.13± 2.34	12.247± 1.54	12.3± 1.59	11.963± 1.5
Potassium mmol/L	1.102± 0.051	1.092± 0.46	1.267± 1.18	3.005± 3.18	0.312± 0.16	1.536± 1.28
Sodium mmol/L	160.55± 39.25	162.32 ± 18.41	163.905± 13.43	175.93± 28.93	160.27± 39.7	153.2± 48.14

Après deux semaines de traitement par les HDL-ZnNiAl, les paramètres biochimiques sériques révèlent une réponse modérément dose-dépendante. Aux doses faibles et intermédiaires (500–1500 µg/kg), les concentrations d'urée et de créatinine demeurent comparables à celles du groupe témoin, indiquant l'absence d'altération rénale significative.

Aux doses élevées (≥ 2500 µg/kg), une augmentation progressive de ces paramètres est observée. La diminution de l'albuminémie aux doses ≥ 1000 µg/kg, les électrolytes (Ca^{2+} , Mg^{2+} ,

Na⁺) restent globalement stables ; toutefois, leurs valeurs restent globalement comprises dans les limites physiologiques.

2.5.3. Effets des HDLs-ZnNiAl sur les marqueurs de stress oxydatif et de l'inflammation

Nous avons regroupé dans le tableau II.6 les valeurs de MDA, GSH et AOPP mesurées chez les souris adultes après 2 semaines de traitement aux HDLs-ZnNiAl.

Tableau II.6. Effets du ZnNiAl HDLS sur le stress oxydatif et les marqueurs d'inflammation dans le tissu rénal de souris adultes après 2 semaines de traitement

		Témoin	500 µg/Kg	1000 µg/Kg	1500 µg/Kg	2500 µg/Kg	3500 µg/Kg
AOPP (nmol/mg prot.)		0.506±0.07	0.512± 0.07	0.356±0.04	0.417± 0.1	0.482± 0.03	0.448± 0.04
MDA (nmol/mg prot.)		0.3167± 21.24	0.309± 69.56	0.257± 27.20	0.216± 11.53	0.289± 52.03	0.217±7.36
GSH (nmol/mg prot.)		24.89± 0.92	22.465± 5.315	17.735± 6.81	19.6± 0.95	20.57± 2.98	23.17± 2.69

Nos résultats montrent que le traitement par le ZnNiAl-HDLs modifie de manière très significative ($p < 0,01$) les marqueurs du stress oxydatif et de l'inflammation dans le tissu rénal. Les niveaux d'AOPP diminuent principalement aux doses intermédiaires de 1000 et 1500 µg/kg, passant de $0,506 \pm 0,07$ nmol/mg de protéines oxydées chez le témoin à $0,356 \pm 0,04$ et $0,417 \pm 0,10$ nmol/mg de protéines oxydées, respectivement.

De même, une réduction marquée de la peroxydation lipidique est observée, avec des concentrations de MDA atteignant $0,257 \pm 27,20$ et $0,216 \pm 11,53$ nmol/mg de protéines aux mêmes doses, comparativement à la valeur témoin ($0,3167 \pm 21,24$ nmol/mg de protéines).

Parallèlement, le taux de glutathion réduit (GSH) diminue aux doses intermédiaires, passant de $24,89 \pm 0,92$ nmol/mg de protéines chez le témoin à $17,73 \pm 6,81$ et $19,6 \pm 0,95$ nmol/mg de protéines à 1000 et 1500 µg/kg, respectivement, suggérant une mobilisation du système antioxydant en réponse au stress oxydatif induit.

Aux doses élevées (2500 et 3500 µg/kg), les niveaux d'AOPP, de MDA et de GSH tendent à se rapprocher des valeurs témoins, traduisant l'instauration d'un équilibre redox partiel dépendant de la dose.

2.5.4. Effets des HDLs-ZnNiAl sur les enzymes antioxydantes

La figure II.10 illustre l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) et de la catalase (CAT) dans le tissu rénal, après traitement par les HDLs-ZnNiAl.

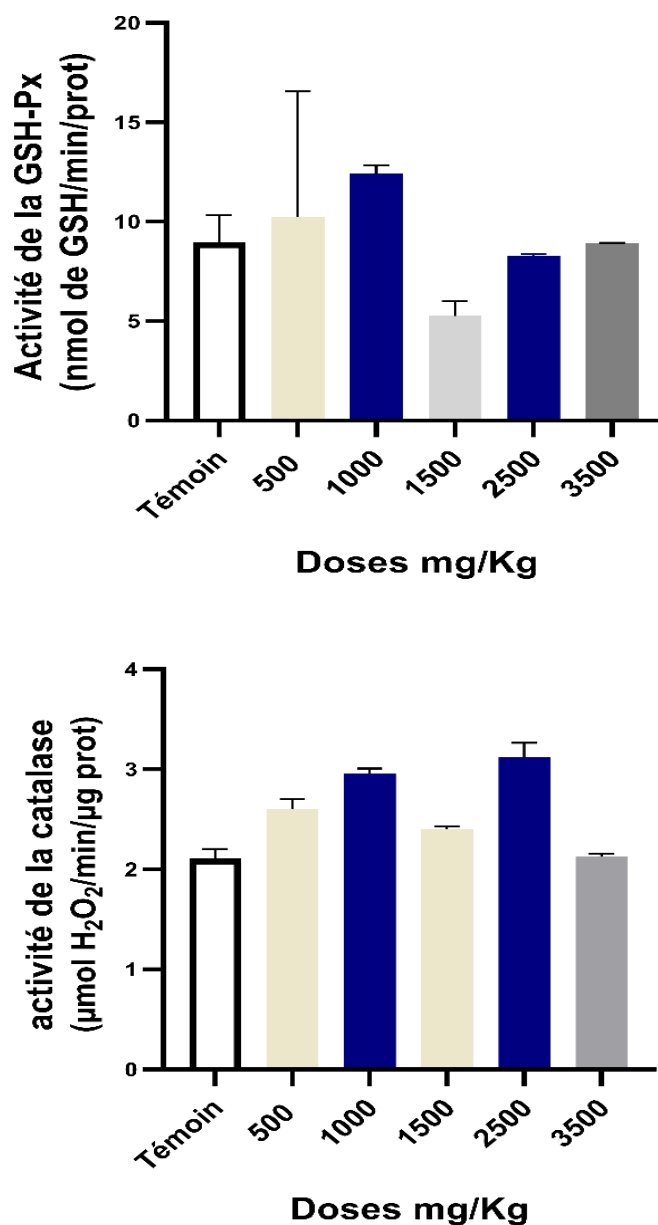


Figure II.10. Effets des HDL-ZnNiAl sur l'activité des enzymes antioxydantes glutathion peroxydase (GPx) et catalase (CAT) dans le tissu rénal de souris adultes après deux semaines de traitement.

Nos résultats révèlent une augmentation progressive de l'activité catalase aux doses intermédiaires, atteignant un maximum entre 1000 et 2500 µg/kg par rapport au groupe témoin. Cette induction suggère une réponse adaptative des cellules rénales face à une production modérée des ERO. En revanche, à la dose la plus élevée (3500 µg/kg), l'activité catalase tend

à diminuer et à se rapprocher des valeurs témoins, indiquant une possible saturation ou régulation négative du système enzymatique.

Parallèlement, l'activité de la GSH-Px varie de manière dose-dépendante, avec une augmentation très significative ($p < 0.01$) à 1000 $\mu\text{g/kg}$, traduisant une activation du système antioxydant et une consommation accrue du GSH (Tableau II.6). À 1500 $\mu\text{g/kg}$, une diminution transitoire de l'activité est observée, tandis qu'aux doses élevées (2500–3500 $\mu\text{g/kg}$), l'activité tend à se normaliser.

Ces résultats confirment les travaux antérieurs, indiquant que plusieurs nanocomposites ne présentent aucune toxicité notable, même à des doses relativement élevées. Kumar et al. (2017) ont rapporté que le nanocomposite zinc-aluminium n'avait aucun effet toxique chez les rats aux doses de 2000 $\mu\text{g/kg}$. Cela renforce le potentiel des HDLs comme candidat potentiellement efficace pour des applications thérapeutiques, ouvrant la voie à de nouvelles recherches sur sa pertinence clinique.

Aussi, nos résultats indiquent que les ZnNiAl-HDL n'ont eu aucun effet indésirable mesurable sur la fonction rénale, l'équilibre électrolytique ou le métabolisme des protéines. De plus, les glomérules et les tubules ne présentaient aucune altération pathologique, et aucun signe de stress oxydatif ou de dommage cellulaire n'a été détecté (Tableau II.6, Figure II.9).

2.6. Effets du nanocomposite ZnNiAl sur la carcinogenèse colorectale *in vivo*

L'AOM est un agent chimique bien connu pour induire des foyers de cryptes aberrantes (FCA) dans le côlon, leur développement étant efficacement déclenché après une administration unique de 20 mg/kg de poids corporel chez le rat. Il se révèle particulièrement efficace pour provoquer un cancer colorectal dans des modèles expérimentaux, le développement tumoral étant généralement observé huit semaines après l'injection (Caderni et al. 1999; B. A. A. Wahab et al. 2023).

Dans notre étude, le cancer colorectal a été induit par une dose de 20 mg/kg d'AOM, suivie d'une supplémentation en nanocomposite ZnNiAl pendant 12 semaines. Les effets de l'AOM et du ZnNiAl, administrés seuls ou en association, ont été évalués sur le côlon.

2.6.1. Résultats histopathologiques du tissu colorectal chez les souris adultes après 12 semaines de traitement

L'observation des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline-éosine ($\times 100$) met en évidence des altérations différentielles de l'architecture colique entre les groupes expérimentaux (Figure II.11).

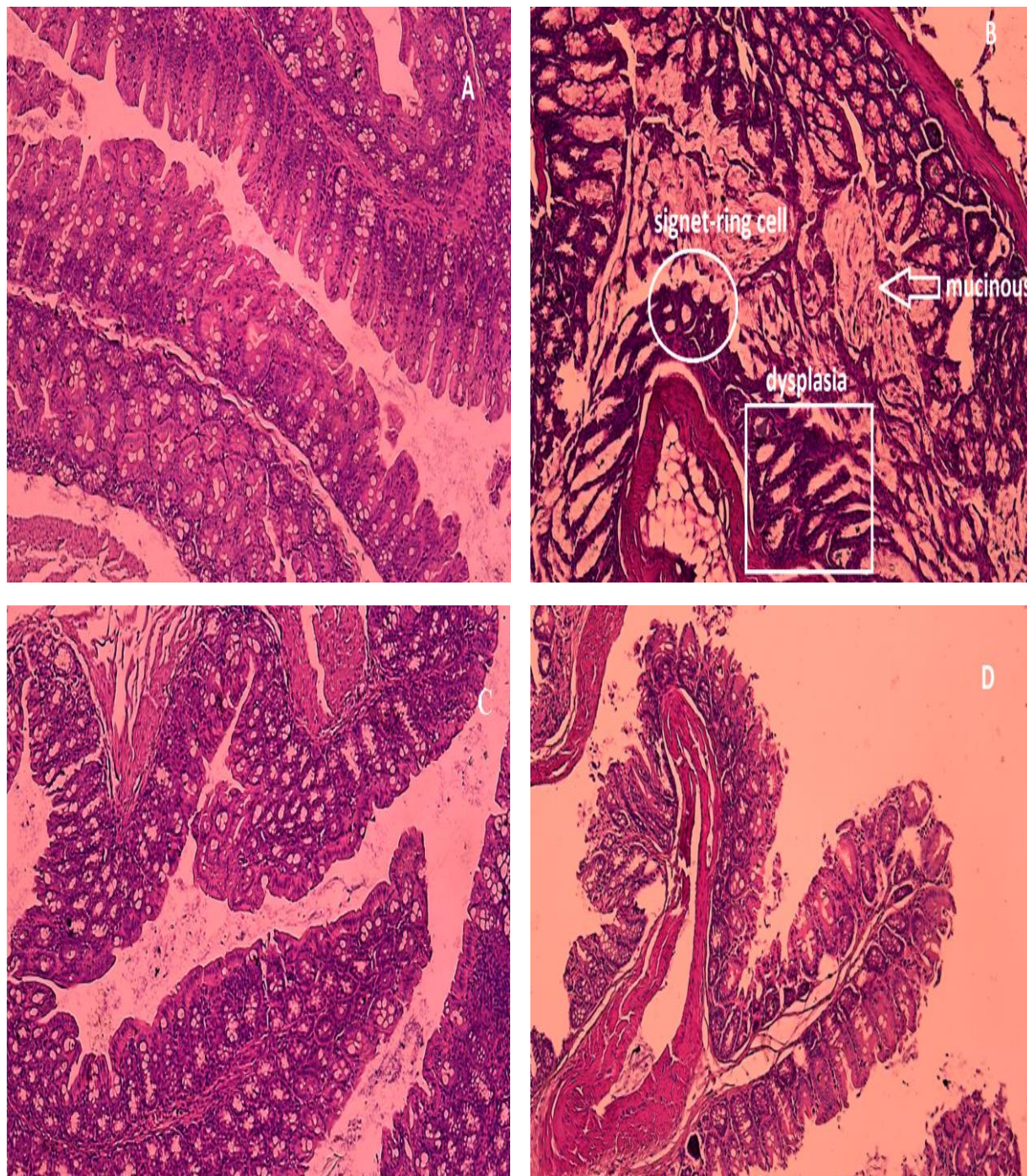


Figure II.11. Coupes histologiques représentatives des tissus coliques de souris traitées par l'AOM et/ou les nanocomposites ZnNiAl-MMO, colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E) et observées au microscope optique au grossissement $\times 100$.

Chez les souris témoins (Figure II.11 A), l'épithélium colorectal présente une architecture normale, caractérisée par des cryptes bien organisées, des noyaux intacts, un cytoplasme uniformément coloré et des bordures cellulaires bien définies. À l'inverse, les souris traitées par l'AOM (Figure II.11 B) développent des lésions tumorales importantes. L'histologie est compatible avec un carcinome mucineux et un carcinome à cellules en bague à chaton (SRCC). Des lésions précancéreuses, incluant une dysplasie de bas grade et de haut grade, ainsi que des adénocarcinomes, sont également observées. Le co-traitement par l'AOM et le ZnNiAl-HDLS (Figure II.11 C) entraîne une amélioration histologique marquée. L'architecture du côlon se rapproche de celle des témoins, avec une réorganisation des structures tissulaires. Néanmoins, une infiltration inflammatoire persistante, de type lymphoplasmocytaire, est notable.

Enfin, les souris traitées uniquement par le ZnNiAl-HDL (Figure II.11 D) montrent une architecture colique préservée, similaire à celle des témoins. Une réponse inflammatoire modérée et diffuse est détectée dans le tissu stromal.

Ces observations morphologiques mettent en évidence la présence de lésions précancéreuses et tumorales dans le côlon des souris traitées par l'AOM, ce qui justifie une analyse plus approfondie des altérations cellulaires et tissulaires associées au carcinome à cellules en bague à chaton et à la dysplasie de haut grade. Le carcinome à cellules en bague à chaton, un sous-type d'adénocarcinome caractérisé par une abondance de mucine intracellulaire entraînant le déplacement du noyau, partage des caractéristiques moléculaires avec l'adénocarcinome colorectal mucineux (C. Luo et al. 2019).

La dysplasie de haut grade se manifeste par des altérations marquées de la structure cellulaire et de l'organisation tissulaire. Les cellules cylindriques affectées présentent un cytoplasme basophile et des noyaux élargis, hyperchromatiques et irréguliers, avec des nucléoles proéminents, un rapport noyau/cytoplasme élevé, une activité mitotique fréquente, parfois anormale, une pseudo-stratification nucléaire prononcée et une polarité nucléaire perturbée (Coron et al. 2013).

L'inflammation se caractérise par l'infiltration de monocytes, macrophages et lymphocytes, accompagnée d'une prolifération des vaisseaux sanguins, assurant un apport nutritif suffisant pour la réparation tissulaire. De plus, la prolifération du tissu conjonctif contribue à la reconstruction du site lésé et à la restauration de l'intégrité tissulaire (Li et Zreiqat 2019).

Dans notre étude, des cellules en anneau à chaton apparaissent dans l'épithélium dysplasique de haut et de bas grade du côlon chez les souris traitées par l'AOM, tandis que les souris traitées par ZnNiAl-HDLs présentent uniquement une inflammation, suggérant que la ZnNiAl-HDLs exerce un effet protecteur contre la formation de foyers induits par l'AOM dans le côlon.

2.6.2. Évaluation des paramètres pondéraux et du poids relatif du côlon des souris adultes

Le tableau II.7 présente les effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDL, administrés seuls ou en combinaison, sur le poids corporel et le poids relatif du côlon chez les souris adultes après 12 semaines de traitement.

Tableau II.7. Effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDLs sur le poids corporel et le poids relatif du côlon chez les souris après 12 semaines

	Témoin	AOM	ZnNiAl	AOM+ZnNiAl
Poids corporel initial (g)	31.25± 2.18	31.625± 1.92	32.25± 1.38	32± 1.92
Poids corporel final (g)	40.67± 2.08	23.375± 3.11 ****	39.4± 3.04	34.8± 1.92* #####
Poids relatif du côlon (g/100 g p.c.)	9.33 ± 7.6	25.77 ± 7.45 **	8.59 ± 13.50**	16.49 ± 7.2 *

Nos résultats montrent que l'exposition à l'AOM induit des altérations significatives ($p < 0,05$) de la santé colique, caractérisées par une diminution du poids corporel, une augmentation significative du poids relatif du côlon. Ces modifications sont cohérentes avec l'apparition de signes de carcinogenèse colorectale, notamment le développement tumoral, l'inflammation et l'hypertrophie et la dysplasie tissulaire (figure II.11.B).

L'administration de ZnNiAl seule entraîne une augmentation modérée du poids colique, suggérant une activité métabolique ou un léger stress tissulaire, sans induction de processus cancéreux. En revanche, la combinaison ZnNiAl + AOM exerce un effet protecteur partiel, se traduisant par une réduction de la perte de poids corporel et une augmentation moins marquée du poids relatif du côlon comparativement au groupe AOM seul.

2.6.3. Effets des traitements sur les paramètres hématologiques et les marqueurs inflammatoires

Le tableau II.8 présente les valeurs des paramètres hématologiques et des marqueurs inflammatoires chez les souris adultes après 12 semaines de traitement par l'AOM et le ZnNiAl-HDL, administrés seuls ou en association.

Tableau II.8. Effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDL sur les marqueurs inflammatoires dans le tissu colorectal des souris adultes après 12 semaines de traitement

	Témoin	AOM	ZnNiAl	AOM+ ZnNiAl
HB (g/dL)	14.43 ± 0.55	9.521 ± 2.24***	14.275 ± 0.63	12.2 ± 0.86 [#]
GR x10 ¹² /L	8.84 ± 0.2	6.965 ± 0.89***	8.73 ± 0.26	7.708 ± 0.64*
GB x10 ⁹ /L	5.3 ± 0.42	10.78 ± 1.15***	8 ± 0.7**	12.575 ± 1.8***
Lymph x10 ⁹ /L	2.567 ± 0.6	7.196 ± 0.77***	5.95 ± 0.35***	10.025 ± 2.17****##
Mono x10 ⁹ /L	0.73 ± 0.25	1.857 ± 0.28**	1.3 ± 0.69	1.05 ± 0.55 [#]
Neutro x10 ⁹ /L	1.97 ± 0.89	5.77 ± 1.7 **	2.4 ± 0.42	2.2 ± 0.18###
PLT x10 ⁹ /L	368 ± 178.4	1440.33 ± 71.86***	1028 ± 129.57***	966.25 ± 120.25****##
MPV fL	6.46 ± 0.15	7.875 ± 0.18 ***	7.183 ± 0.24***	6.816 ± 0.27####
PCT mL/L	3.95 ± 1.91	8.814 ± 0.53 ***	7.88 ± 1.15 ***	5.47 ± 0.83####
PLR	101.18 ± 27.44	221.58 ± 11.05***	199.03 ± 27.27***	131.59 ± 20.09 ####
NLR	0.69 ± 0.09	0.947 ± 0.10	0.4427 ± 0.06	0.528 ± 0.446
C-RP mg/l	0.557 ± 0.11	2.275 ± 0.19***	2.014 ± 0.31***	1.728 ± 0.25****##

Nos résultats montrent que l'administration de l'AOM induit des altérations hématologiques hautement significatives ($p < 0,001$), marquées par une diminution de

l'hémoglobine et des globules rouges (HB $9,521 \pm 2,24$ g/dL, GR $6,965 \pm 0,89 \times 10^{12}/L$), traduisant une anémie associée au cancer colorectal. Cette anémie s'accompagne d'une leucocytose importante, caractérisée par une augmentation des lymphocytes, monocytes et neutrophiles respectivement : $7,196 \pm 0,77 \times 10^9/L$, $1,857 \pm 0,28 \times 10^9/L$, $5,77 \pm 1,7 \times 10^9/L$, indiquant une activation immunitaire et inflammatoire prononcée.

Par ailleurs, l'AOM provoque une thrombocytose sévère, illustrée par l'élévation significative ($p < 0,001$) des plaquettes $1440.33 \pm 71.86 \times 10^9/L$, du volume plaquettaire moyen 7.875 ± 0.18 FL, du plateletcrit 8.814 ± 0.53 mL/L et du ratio plaquettes/lymphocytes, ainsi qu'une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) de la CRP, par rapport au groupe témoin confirmant l'existence d'une inflammation systémique liée à la carcinogenèse colorectale.

Le traitement par ZnNiAl-HDL seul n'a pas induit d'hématotoxicité majeure, bien qu'une élévation modérée de certains marqueurs inflammatoires soit observée, suggérant un effet pro-inflammatoire léger sans caractère pathologique. En revanche, l'association ZnNiAl-HDL + AOM a significativement ($p < 0,001$) atténué les déséquilibres induits par l'AOM, avec une amélioration partielle des paramètres érythrocytaires et une réduction notable des marqueurs plaquettaires et inflammatoires. Ces résultats indiquent que le ZnNiAl-HDLs exerce un effet modérateur sur l'inflammation et les perturbations hématologiques associées au cancer colorectal.

L'inflammation associée au cancer est reconnue comme un facteur clé de la carcinogenèse, illustrant le lien étroit entre inflammation chronique et progression tumorale (Punt et al. 2016).

Chez les patients atteints de cancer colorectal, l'anémie est fréquemment liée à des pertes sanguines chroniques et à une inflammation systémique persistante. Les tumeurs colorectales saignent souvent dans la lumière intestinale, entraînant une carence martiale et le développement d'une anémie microcytaire. Par ailleurs, l'augmentation de la production d'hepcidine en contexte inflammatoire réduit l'absorption intestinale du fer et perturbe l'érythropoïèse. Les cytokines pro-inflammatoires inhibent également la prolifération des cellules progénitrices érythroïdes, contribuant à l'aggravation de l'anémie observée au cours du cancer colorectal (Tuomisto et al. 2019; Clara et al. 2022).

Les plaquettes jouent un rôle central dans la progression tumorale et le processus métastatique. Elles participent à la création d'un environnement pro-coagulant qui protège les cellules tumorales de la surveillance immunitaire, facilite leur mobilité et leur permet de surmonter les contraintes mécaniques limitant leur dissémination (Detopoulou et al. 2023). L'augmentation significative du nombre de plaquettes observée dans le groupe atteint de cancer du côlon est en accord avec les données rapportées par Li et al. (2014).

De plus, les animaux présentant un cancer colorectal montrent une élévation marquée de l'inflammation systémique et des taux de CRP, probablement liée à la réponse immunitaire induite par l'inflammation chronique ainsi qu'aux effets cancérogènes de l'azoxyméthane (AOM) (Lee et al., 2006).

Le microenvironnement tumoral module l'activité des cellules immunitaires, la sécrétion de cytokines et la dynamique de croissance tumorale, orchestrant des réponses à la fois pro- et antitumorales. Certaines cytokines, telles que l'IL-2, l'IL-12 et les interférons (IFN), exercent des effets inhibiteurs sur la croissance tumorale, tandis que d'autres, notamment l'IL-23, l'IL-17, le TGF- β et l'IL-6, favorisent la tumorigénèse, l'invasion et les métastases. Par ailleurs, les adipokines, en particulier dans un contexte d'obésité, amplifient l'inflammation et contribuent à la progression du cancer colorectal (S. Khan 2014; Habanjar et al. 2023). Les neutrophiles participent également à cette dynamique inflammatoire par la libération d'enzymes protéolytiques et d'ERO (Rosales 2018).

Les tumeurs colorectales altèrent l'intégrité de l'épithélium intestinal, facilitant la translocation bactérienne et l'activation des cellules immunitaires *via* les récepteurs de type Toll (TLR), ce qui induit une inflammation systémique et chronique susceptible de favoriser la progression du cancer colorectal (Abreu 2010; T.-T. Li et al. 2014).

L'incorporation du ZnNiAl-HDLs a entraîné une augmentation des cellules inflammatoires et des taux de CRP, suggérant que ce nanocomposite favorise la production de lymphocytes ou module la réponse immunitaire. En raison de leur taille nanométrique, les matériaux HDLs possèdent une grande surface spécifique conférant une forte réactivité à l'oxygène, favorisant la génération de ERO tels que le superoxyde et le peroxyde. Ces espèces réactives peuvent endommager les membranes cellulaires et déclencher une réponse inflammatoire (Choi et al. 2015; Izbudak et al. 2021; Guo et al. 2022; Summer et al. 2024).

Enfin, les nanocomposites intégrant du nickel (Ni) et du zinc (Zn) sont capables de moduler les réponses immunitaires *via* l'activation de la signalisation des récepteurs de type Toll. Le Ni²⁺ agit comme un activateur direct des TLR, tandis que les nanomatériaux à base de

ZnO modulent l'expression de plusieurs TLR (TLR2, TLR3, TLR4, TLR7 et TLR10), conduisant à la production de cytokines pro-inflammatoires et d'interférons de type I. Deux mécanismes d'interaction ont été proposés : les nanoparticules de petite taille pourraient stimuler les TLR par l'intermédiaire de protéines de liaison analogues au LPS, tandis que les nanoparticules de plus grande taille pourraient interagir directement avec les TLR (Luo et al. 2015; Choi et al. 2015 ; Kircheis and Planz 2023).

2.6.4. Effets des traitements sur les marqueurs enzymatiques et non enzymatiques du stress oxydatif

2.6.4.1. Marqueurs non enzymatiques du stress oxydatif après traitement

Le tableau II.9 illustre les effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDLs sur les paramètres du stress oxydatif dans le tissu colorectal des souris adultes après 12 semaines de traitement.

Tableau II.9. Effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDLS sur les paramètres du stress oxydatif dans le tissu colorectal des souris adultes après 12 semaines de traitement

		Témoin	AOM	ZnNiAl	AOM+ ZnNiAl
AOPP	(nmol/mg prot.)	0.389±0.01	0.898±0.07***	0.466±0.02	0.414±0.01 ####
MDA	(nmol/mg prot.)	0.3306 ±82.98	3.146±275.9***	0.945±218.64*	0.265±38.51####
GSH	(nmol/mg prot.)	10.09± 0.62	55.58± 0.07***	27.84± 0.03*	20.13± 10.44###

L'évaluation des indicateurs du stress oxydatif montre que le cancer colorectal est associé à une augmentation significative ($p < 0,001$) des niveaux d'AOPP à 0,898 nmol/mg prot et du MDA à 3,146 nmol/mg prot par rapport au témoin, indiquant des altérations importantes des biomolécules.

En parallèle, une élévation du taux de GSH (55,58 nmol/mg prot) est observée dans le groupe atteint de cancer colorectal, reflétant une réponse adaptative visant à neutraliser les radicaux libres. En revanche, dans les groupes traités par ZnNiAl-HDLs, les taux de GSH diminuent, suggérant une consommation accrue pour lutter contre le stress oxydatif induit.

2.6.4.2. Marqueurs enzymatiques du stress oxydatif après traitement

La figure II.12 présente l'évolution des activités des enzymes antioxydantes du tissu colorectal en réponse à l'induction du cancer colorectal et au traitement par le ZnNiAl-HDLs.

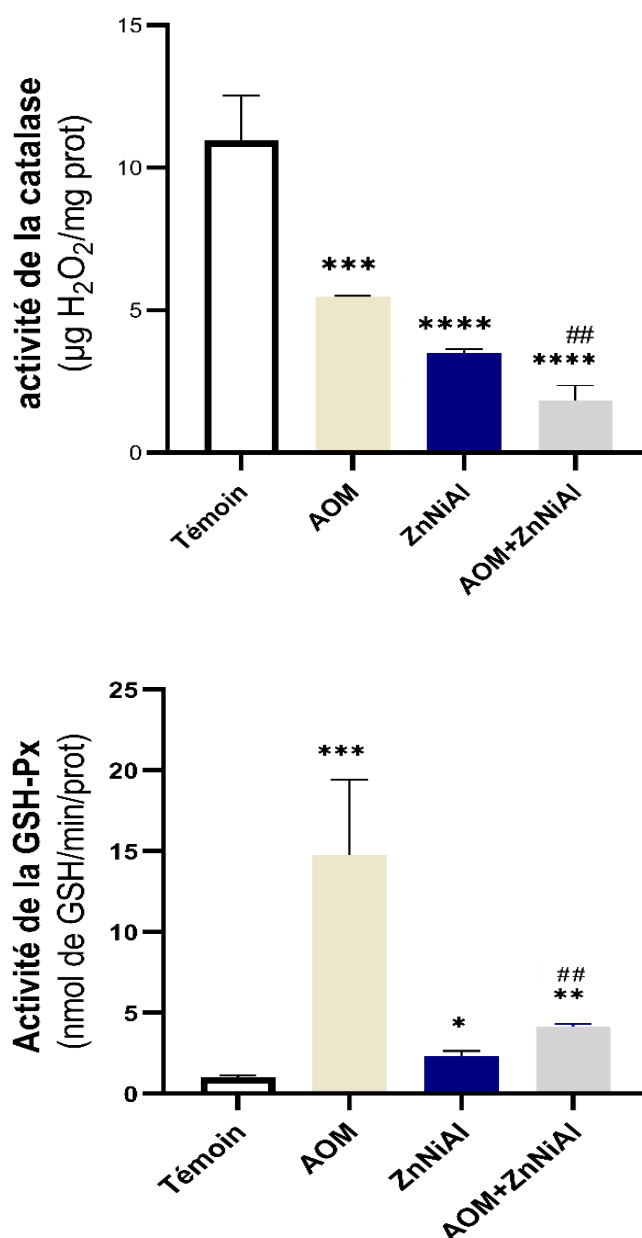


Figure II.12. Effets de l'AOM et du ZnNiAl-HDL sur les enzymes antioxydantes du tissu colorectal.

L'évaluation de l'activité des enzymes antioxydantes dans le tissu colorectal a révélé une altération du système de défense redox en condition de cancer colorectal. L'activité de la catalase est significativement ($p < 0,001$) réduite dans le groupe cancéreux ($5,463 \mu\text{g H}_2\text{O}_2/\text{mg}$

prot) et conserve de faibles niveaux après traitement (1,8275 $\mu\text{g H}_2\text{O}_2/\text{mg prot}$), ce qui pourrait suggérer une inhibition enzymatique persistante ou une compensation par l'effet antioxydant direct du ZnNiAl-HDL. À l'inverse, l'activité de la GPx est modérément augmentée dans le groupe cancéreux (14,78 nmol de GSH/min/prot) et fortement stimulée dans le groupe traité par l'AOM+ZnNiAl HDL (4,15 nmol de GSH/min/prot), indiquant une activation efficace des mécanismes enzymatiques de protection.

Dans le groupe traité par le ZnNiAl-HDL seul, l'activité de la GPx se rapproche de celle du groupe témoin, révélant un effet régulateur de ce composé contribuant au maintien de l'homéostasie redox.

Ces résultats mettent en évidence l'impact des cellules tumorales sur l'état redox et la modulation fournie par les HDLs ZnNiAl. Ces observations sont en accord avec celles rapportées par Zhou et al. (2021) qui ont montré que l'AOM induit un stress oxydatif par la génération accrue d'ERO, associée à une altération des activités des enzymes antioxydantes.

Par ailleurs, les nanoparticules de HDLs peuvent induire un stress oxydatif léger, capable de stimuler les mécanismes de défense antioxydante intracellulaire, contribuant ainsi à l'atténuation du stress oxydatif dans les cellules traitées par le ZnNiAl-HDLs. En effet, plusieurs études ont montré que les HDLs-NPs renforcent la capacité antioxydante cellulaire en régulant positivement l'expression et l'activité d'enzymes clés telles que la catalase (CAT), la glutathion réductase (GR), la superoxyde dismutase (SOD) et l'hème oxygénase-1 (HO-1), favorisant la neutralisation des ERO et la réduction du stress oxydatif (Choi et al. 2015 ; Muráth et al. 2020)

Les nanoparticules de HDLs, considérées comme des nanomatériaux redox-actifs, présentent aussi une double fonctionnalité, agissant à la fois comme pro-oxydants et comme antioxydants. Selon le contexte biologique et les conditions expérimentales, elles peuvent induire un stress oxydatif contrôlé, menant à une cytotoxicité exploitable dans des applications thérapeutiques telles que le traitement du cancer. À l'inverse, elles peuvent exercer un effet protecteur en piégeant les ERO et en préservant l'intégrité cellulaire face aux dommages oxydatifs. Cette dualité d'action dépend de plusieurs paramètres, notamment la taille des particules, leur chimie de surface, leur concentration et les conditions environnementales (Samrot et al. 2022; Patel et al. 2024).

2.6.5. Mécanismes d'action antitumorale des HDLs

Une fois internalisées, les HDLs échappent aux endosomes ou aux lysosomes et libèrent leur charge active dans le cytoplasme. Par ailleurs, le microenvironnement tumoral, caractérisé par une hypoxie et surtout par un pH acide lié à l'augmentation de la glycolyse et à la production d'acide pyruvique, constitue un milieu favorable à la dissolution des nanoparticules et, par conséquent, à la libération des ions Zn^{2+} Ni^{2+} .

Les mécanismes impliqués dans le ciblage des cellules tumorales et l'activation d'une réponse immunitaire antitumorale, notamment l'apoptose, sont principalement déclenchés par l'accumulation intracellulaire des ions Zn^{2+} , Ni^{2+} et des ERO (Y. Wang et al. 2024). L'augmentation des ERO entraîne des dommages mitochondriaux, induisant la libération du cytochrome c et l'activation de la cascade des caspases, impliquant successivement la caspase-9, la caspase-3 et la mort cellulaire par apoptose. Les nanomatériaux à base de zinc favorisent également la dégradation de protéines mutantes telles que Mut-p53, restaurent l'expression de gènes pro-apoptotiques comme *Bax* et inhibent des voies métaboliques clés, notamment la glycolyse, par interférence avec la chaîne de transport des électrons mitochondriale et par réduction de la synthèse du NAD^+ (Xuesong Zhao et al. 2016).

Par ailleurs, ces nanomatériaux induisent la pyroptose, une forme de mort cellulaire inflammatoire caractérisée par la rupture de la membrane plasmique et la libération du contenu intracellulaire. Ce processus débute par l'activation de l'inflammasome NLRP3, stimulée par une production excessive d'ERO, ce qui conduit à l'activation de la caspase-1. Cette dernière clive la gasdérine D (GSDMD), entraînant un gonflement cellulaire, une rupture membranaire et la libération de cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IL-1 β , ce qui amplifie la réponse immunitaire au sein du microenvironnement tumoral (Ahmad et al., 2015; Khan et al., 2023; Chen et al., 2024).

Aussi, le stress oxydatif mitochondrial induit par ces nanomatériaux provoque des dommages mitochondriaux et la libération de l'ADN mitochondrial (ADNmt), conduisant à l'activation de l'enzyme cGAS. Cette activation entraîne la production de cGAMP, un second messager qui se lie au récepteur STING, déclenchant une cascade de signalisation impliquant TBK1 et IRF3. Cette voie stimule la production d'interférons de type I et de cytokines pro-inflammatoires, renforçant ainsi l'immunité innée et adaptative, et augmentant l'efficacité des cellules dendritiques et des lymphocytes T CD8 $^+$ dans l'élimination des cellules tumorales. De plus, le Zn^{2+} améliore l'activité catalytique de cGAS, amplifiant l'activation de la voie cGAS–STING et renforçant l'efficacité de l'immunothérapie anticancéreuse (Y. Li et al. 2024).

Enfin, l'inflammation aiguë induite par des stimuli exogènes contribue au renforcement de l'immunité antitumorale en favorisant la maturation et l'activité fonctionnelle des cellules dendritiques, ainsi que l'initiation et l'activation des lymphocytes T effecteurs (H. Zhao et al. 2021).

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Les avancées récentes en nanotechnologie ont ouvert de nouvelles perspectives dans le domaine biomédical, notamment pour le développement de matériaux capables de pallier les limites des approches thérapeutiques conventionnelles, telles que l'inefficacité croissante de certains traitements, leurs effets secondaires, et la difficulté à cibler spécifiquement les cellules pathologiques tout en épargnant les tissus sains. Dans ce contexte, les nanomatériaux à base d'oxydes métalliques suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés physico-chimiques modulables et de leurs multiples activités biologiques.

L'objectif principal de ces travaux était d'élaborer et d'évaluer des nanoparticules de type hydroxydes doubles lamellaires ZnNiAl (ZnNiAl-LDH), en étudiant l'influence des conditions de synthèse, en particulier la température de calcination, sur leurs propriétés structurales, leurs activités biologiques (antimicrobiennes, antibiofilm, antioxydantes et anticancéreuses) et toxicologique, en vue d'applications biomédicales, notamment en oncologie.

Les nanocomposites ont été synthétisés par coprécipitation, puis calcinés à 400, 600 et 800 °C pour obtenir des oxydes métalliques mixtes. Leur caractérisation structurale, morphologique et optique (DRX, MEB, FTIR, EDX) a permis de confirmer la formation des LDH et de montrer que la calcination induit une transformation progressive des phases : d'une structure ZnO–NiO–Al₂O₃ à modérée température, jusqu'à la formation d'une phase mixte ZnO–NiO/ZnNiAl₂O₄ à 800 °C. Ces modifications s'accompagnent d'une diminution de la taille des cristallites, d'une évolution de la morphologie et de la porosité, ainsi que d'une augmentation du degré de cristallinité, facteurs qui influencent directement la surface spécifique, la libération ionique (Zn²⁺, Ni²⁺) et la réactivité globale des matériaux.

Les évaluations biologiques *in vitro* et *in vivo*, ont révélé une forte corrélation entre ces propriétés physico-chimiques et les activités biologiques. Les nanocomposites calcinés à haute température (notamment 800 °C) présentent des activités antimicrobiennes, antibiofilm, antioxydantes et anticancéreuses plus prononcées que ceux calcinés à basse température. Les études *in vivo*, ont en outre suggéré que ces nanocomposites sont capables de moduler l'environnement biologique, en particulier *via* des réponses immunitaires et du stress oxydatif, contribuant ainsi à une réponse antitumorale indirecte, complémentaire de leurs effets cytotoxiques directs. Par ailleurs, les études toxicologiques ont montré une bonne tolérance

générale aux doses testées, sans effets toxiques majeurs, suggérant un profil toxicologique favorable dans les conditions expérimentales utilisées.

Au terme de cette étude, les nanocomposites ZnNiAl-LDH se révèlent comme des matériaux multifonctionnels prometteurs pour des applications biomédicales avancées. Leur capacité à combiner des activités antimicrobiennes, antioxydantes et anticancéreuses, associée à un potentiel de vectorisation ciblée de molécules thérapeutiques, ouvre des perspectives intéressantes pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques innovantes.

En perspectives, il serait intéressant :

- D'approfondir l'étude des mécanismes moléculaires responsables des effets biologiques observés, notamment les voies de signalisation impliquées dans l'apoptose et la modulation immunitaire ;
- D'évaluer les effets à long terme des nanocomposites ZnNiAl sur différents modèles biologiques, notamment leur génotoxicité et reprotoxicité ;
- D'étendre les tests d'activité anticancéreuse à d'autres lignées cellulaires humaines (normales et tumorales) pour préciser le spectre d'action et la sélectivité ;
- D'explorer le potentiel de ces nanocomposites comme vecteurs de chimiothérapeutiques ou d'agents de contraste, en exploitant leur structure lamellaire modulable ;
- De transposer cette approche à d'autres systèmes nanocomposites à base d'oxydes métalliques, afin d'identifier des relations structure-activité plus générales.

Ces perspectives visent à consolider les connaissances actuelles et à favoriser la translation de ces nanomatériaux vers des applications biomédicales concrètes, sûres et innovantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aaronson, Stuart A. 1991. « Growth Factors and Cancer ». *Science* 254 (5035): 1146-53.
<https://doi.org/10.1126/science.1659742>.
- Abdelbary, M. M. H. 2017. « The Evolution and Dynamics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* ». In *Genetics and Evolution of Infectious Diseases*, par P. Basset, D. S. Blanc, et E. J. Feil. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-799942-5.00024-x>.
- Abreu, Maria T. 2010. « Toll-like Receptor Signalling in the Intestinal Epithelium: How Bacterial Recognition Shapes Intestinal Function ». *Nature Reviews Immunology* 10 (2): 131-44. <https://doi.org/10.1038/nri2707>.
- Aguilar Diaz De Leon, Jesús, et Chad R. Borges. 2020. « Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay ». *Journal of Visualized Experiments*, n° 159 (mai): 61122. <https://doi.org/10.3791/61122>.
- Ahmad, Javed, Hisham A. Alhadlaq, Maqsood A. Siddiqui, et al. 2015. « Concentration-dependent Induction of Reactive Oxygen Species, Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Liver Cells after Nickel Nanoparticles Exposure ». *Environmental Toxicology* 30 (2): 137-48. <https://doi.org/10.1002/tox.21879>.
- Åkerlund, Emma, Md Shafiqul Islam, Sarah McCarrick, Ernesto Alfaro-Moreno, et Hanna L. Karlsson. 2019. « Inflammation and (Secondary) Genotoxicity of Ni and NiO Nanoparticles ». *Nanotoxicology* 13 (8): 1060-72.
<https://doi.org/10.1080/17435390.2019.1640908>.
- Alara, John Adewole, et Oluwaseun Ruth Alara. 2024. « An Overview of the Global Alarming Increase of Multiple Drug Resistant: A Major Challenge in Clinical Diagnosis ». *Infectious Disorders - Drug Targets* 24 (3): e250723219043.
<https://doi.org/10.2174/1871526523666230725103902>.
- Albrich, Werner C., Dominique L. Monnet, et Stephan Harbarth. 2004. « Antibiotic Selection Pressure and Resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* ». *Emerging Infectious Diseases* 10 (3): 514-17.
<https://doi.org/10.3201/eid1003.030252>.
- Alcayna, Tilly, Isabel Fletcher, Rory Gibb, et al. 2022. « Climate-Sensitive Disease Outbreaks in the Aftermath of Extreme Climatic Events: A Scoping Review ». *One Earth* 5 (4): 336-50. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2022.03.011>.
- Alcindor, Thierry, et N. Beauger. 2011. « Oxaliplatin: A Review in the Era of Molecularly Targeted Therapy ». *Current Oncology* 18 (1): 18-25.
<https://doi.org/10.3747/co.v18i1.708>.
- Alekshun, Michael N., et Stuart B. Levy. 2007a. « Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance ». *Cell* 128 (6): 1037-50.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004>.

- Alekshun, Michael N., et Stuart B. Levy. 2007b. « Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance ». *Cell* 128 (6): 1037-50. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004>.
- Ali, Amjad, Noor Ul Huda Altaf, Muhammad Ismail, et al. 2025. « Nanomaterials in Chemistry Emerging Applications in Catalysis, Energy Storage (Including Lithium-Ion Batteries), and Biomedicine ». *Scholars Academic Journal of Biosciences* 13 (06): 751-63. <https://doi.org/10.36347/sajb.2025.v13i06.012>.
- Ali, Asif, Yi Wai Chiang, et Rafael M. Santos. 2021. « X-Ray Diffraction Techniques for Mineral Characterization: A Review for Engineers of the Fundamentals, Applications, and Research Directions ». Prépublication, MATERIALS SCIENCE, décembre 27. <https://doi.org/10.20944/preprints202112.0438.v1>.
- Allas, Ülar. 2018. *Ribosome-Targeting Antibiotics and Mechanisms of Antibiotic Resistance A Summary of Current Knowledge*. 1. Auflage. LAP LAMBERT Academic Publishing.
- Al-Shabib, Nasser A., Fohad Mabood Husain, Faheem Ahmed, et al. 2016. « Biogenic Synthesis of Zinc Oxide Nanostructures from Nigella Sativa Seed: Prospective Role as Food Packaging Material Inhibiting Broad-Spectrum Quorum Sensing and Biofilm ». *Scientific Reports* 6 (1): 36761. <https://doi.org/10.1038/srep36761>.
- Altammar, Khadijah A. 2023. « A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges ». *Frontiers in Microbiology* 14 (avril): 1155622. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>.
- Amin Rajizadeh, Mohammad, et Reza Pourbabaki. 2024. « Oxidative Stress and Exposure to Metals ». In *Biochemistry*, édité par Marika Cordaro, Rosanna Di Paola, et Roberta Fusco, vol. 61. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1006077>.
- Andrews, Jennifer M. 2001. « Determination of Minimum Inhibitory Concentrations ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48 (suppl_1): 5-16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5.
- Angeles-Chavez, Carlos, Jose Antonio, et Maria Antonia. 2012. « Chemical Quantification of Mo-S, W-Si and Ti-V by Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy ». In *X-Ray Spectroscopy*, édité par Shatendra K. Sharma. InTech. <https://doi.org/10.5772/28148>.
- Antonovics, Janis, Anthony J. Wilson, Mark R. Forbes, et al. 2017. « The Evolution of Transmission Mode ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372 (1719): 20160083. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0083>.
- Aparicio, Jorge, Carlos Fernández-Martos, Jose M. Vicent, et al. 2005. « FOLFOX Alternated with FOLFIRI as First-Line Chemotherapy for Metastatic Colorectal Cancer ». *Clinical Colorectal Cancer* 5 (4): 263-67. <https://doi.org/10.3816/CCC.2005.n.037>.
- Arcaroli, John J., W. M. Tai, Ryan McWilliams, et al. 2016. « A NOTCH1 Gene Copy Number Gain Is a Prognostic Indicator of Worse Survival and a Predictive Biomarker to a

- Notch1 Targeting Antibody in Colorectal Cancer: *NOTCH1* Gene Copy Number Gain ». *International Journal of Cancer* 138 (1): 195-205. <https://doi.org/10.1002/ijc.29676>.
- Arora, Charu, Sumantra Bhattacharya, Sanju Soni, et Pathik Maji. 2020. « Scanning Electron Microscopy: Theory and Applications ». In *Essential Techniques for Medical and Life Scientists: A Guide to Contemporary Methods and Current Applications- Part II*, édité par Yusuf Tutar. BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS. <https://doi.org/10.2174/9789811464867120010009>.
- Arslan, Duygu, Sina Sehlaver, Erce Guder, et al. 2025. « Colorectal Cancer Tumor Grade Segmentation: A New Dataset and Baseline Results ». *Heliyon* 11 (4): e42467. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42467>.
- Asghar, Humaira, Valter Maurino, et Muhammad Ahsan Iqbal. 2024. « Development of Highly Photoactive Mixed Metal Oxide (MMO) Based on the Thermal Decomposition of ZnAl-NO₃-LDH ». *Eng* 5 (2): 589-99. <https://doi.org/10.3390/eng5020033>.
- Ather, Binish, Taaha M. Mirza, et Peter F. Edemekong. 2025. « Airborne Precautions ». In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531468/>.
- Awassa, Jazia, Damien Cornu, Samantha Soulé, Cédric Carteret, Christian Ruby, et Sofiane El-Kirat-Chatel. 2022. « Divalent Metal Release and Antimicrobial Effects of Layered Double Hydroxides ». *Applied Clay Science* 216 (janvier): 106369. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2021.106369>.
- Ayub, Huma, Uzma Jabeen, Iqbal Ahmad, et al. 2024. « Enhanced Anticancer and Biological Activities of Environmentally Friendly Ni/Cu-ZnO Solid Solution Nanoparticles ». *Heliyon* 10 (23): e39912. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e39912>.
- Azarshinfam, Neda, Asghar Tanomand, Hossein Soltanzadeh, et Farzad Arjomandi Rad. 2021. « Evaluation of Anticancer Effects of Propolis Extract with or without Combination with Layered Double Hydroxide Nanoparticles on Bcl-2 and Bax Genes Expression in HT-29 Cell Lines ». *Gene Reports* 23 (juin): 101031. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101031>.
- Babu, H. V., C. Coluccini, et D. Y. Wang. 2017. « Functional Layered Double Hydroxides and Their Use in Fire-Retardant Polymeric Materials ». In *Novel Fire Retardant Polymers and Composite Materials*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100136-3.00008-X>.
- Bakhtiyari, Nasim, Safar Farajnia, Samaneh Ghasemali, Sahar Farajnia, Ali Pormohammad, et Shabnam Saeidvafa. 2024. « Strategies to Overcome Antimicrobial Resistance in Nosocomial Infections, A Review and Update ». *Infectious Disorders - Drug Targets* 24 (6): e260124226226. <https://doi.org/10.2174/0118715265276529231214105423>.
- Baltussen, Joosje C., Nienke A. De Glas, Yara Van Holstein, et al. 2023. « Chemotherapy-Related Toxic Effects and Quality of Life and Physical Functioning in Older Patients ». *JAMA Network Open* 6 (10): e2339116. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.39116>.

- Baraton, Marie-Isabelle, et Lhadi Merhari. 2004. « Surface Chemistry of TiO₂ Nanoparticles: Influence on Electrical and Gas Sensing Properties ». *Journal of the European Ceramic Society* 24 (6): 1399-404. [https://doi.org/10.1016/S0955-2219\(03\)00419-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2219(03)00419-9).
- Barhoum, Ahmed, María Luisa García-Betancourt, Jaison Jeevanandam, et al. 2022. « Review on Natural, Incidental, Bioinspired, and Engineered Nanomaterials: History, Definitions, Classifications, Synthesis, Properties, Market, Toxicities, Risks, and Regulations ». *Nanomaterials* 12 (2): 177. <https://doi.org/10.3390/nano12020177>.
- Basak, Shatarupa, Md Salman Haydar, Suranjan Sikdar, et al. 2023. « Phase Variation of Manganese Oxide in the MnO@ZnO Nanocomposite with Calcination Temperature and Its Effect on Structural and Biological Activities ». *Scientific Reports* 13 (1): 21542. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48695-0>.
- Baumgardner, D. J. 2012. « Soil-Related Bacterial and Fungal Infections ». *The Journal of the American Board of Family Medicine* 25 (5): 734-44. <https://doi.org/10.3122/jabfm.2012.05.110226>.
- Benarba, Bachir, et Atanasio Pandiella. 2018a. « Colorectal Cancer and Medicinal Plants: Principle Findings from Recent Studies ». *Biomedicine & Pharmacotherapy* 107 (novembre): 408-23. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.006>.
- Benarba, Bachir, et Atanasio Pandiella. 2018b. « Colorectal Cancer and Medicinal Plants: Principle Findings from Recent Studies ». *Biomedicine & Pharmacotherapy* 107 (novembre): 408-23. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.006>.
- Benzerouk, H., F. Chouit, M. Mekhnache, L. Saad Hamideche, et A. Drici. 2024. « An Experimental and Theoretical Study of Nickel Oxide (NiO) Using the Spraying Method (CSP) and DFT Calculations ». *Materials Science and Engineering: B* 303 (mai): 117323. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2024.117323>.
- Bergogne-Bérézin, E., et K. J. Towner. 1996. « Acinetobacter Spp. as Nosocomial Pathogens: Microbiological, Clinical, and Epidemiological Features ». *Clinical Microbiology Reviews* 9 (2): 148-65. <https://doi.org/10.1128/cmr.9.2.148>.
- Bertram, Timothy A., John W. Ludlow, Joydeep Basu, et Sureshkumar Muthupalani. 2013. « Digestive Tract ». In *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415759-0.00056-X>.
- Bhatt, Indu, et Bhumi Nath Tripathi. 2011. « Interaction of Engineered Nanoparticles with Various Components of the Environment and Possible Strategies for Their Risk Assessment ». *Chemosphere* 82 (3): 308-17. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.011>.
- Bintsis, Thomas. 2017. « Foodborne Pathogens ». *AIMS Microbiology* 3 (3): 529-63. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.529>.
- Biondi, Antonio, Marco Vacante, Immacolata Ambrosino, Erika Cristaldi, Giuseppe Pietrapertosa, et Francesco Basile. 2016. « Role of Surgery for Colorectal Cancer in

- the Elderly ». *World Journal of Gastrointestinal Surgery* 8 (9): 606.
<https://doi.org/10.4240/wjgs.v8.i9.606>.
- Bisoyi, Padmini. 2022. « A Brief Tour Guide to Cancer Disease ». In *Understanding Cancer*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99883-3.00006-8>.
- Board, P. A. T. E. 2002. « Colon Cancer Treatment (PDQ®): Patient Version. PDQ Cancer Information Summaries ». <https://www.cancer.gov/types/colorectal/patient/colon-treatment-pdq>.
- Bose, J. L., et K. W. Bayles. 2013. « Staphylococcus Aureus ». In *Brenner's Encyclopedia of Genetics*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374984-0.01473-x>.
- Bouarroudj, Tayeb, Lamine Aoudjit, Lerari Djahida, et al. 2021. « Photodegradation of Tartrazine Dye Favored by Natural Sunlight on Pure and (Ce, Ag) Co-Doped ZnO Catalysts ». *Water Science and Technology* 83 (9): 2118-34.
<https://doi.org/10.2166/wst.2021.106>.
- Bouarroudj, Tayeb, Lamine Aoudjit, Issam Nessaibia, et al. 2023. « Enhanced Photocatalytic Activity of Ce and Ag Co-Doped ZnO Nanorods of Paracetamol and Metronidazole Antibiotics Co-Degradation in Wastewater Promoted by Solar Light ». *Russian Journal of Physical Chemistry A* 97 (5): 1074-87.
<https://doi.org/10.1134/S0036024423050278>.
- Bradford, Marion M. 1976. « A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding ». *Analytical Biochemistry* 72 (1-2): 248-54. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Bray, Freddie, Mathieu Laversanne, Hyuna Sung, et al. 2024. « Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries ». *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 74 (3): 229-63.
<https://doi.org/10.3322/caac.21834>.
- Brisse, Sylvain, et Engeline Van Duijkeren. 2005. « Identification and Antimicrobial Susceptibility of 100 Klebsiella Animal Clinical Isolates ». *Veterinary Microbiology* 105 (3-4): 307-12. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.11.010>.
- Brotelle, Thibault, et Jacques-Olivier Bay. 2016. « La voie de signalisation PI3K-AKT-mTOR : description, développement thérapeutique, résistances, marqueurs prédictifs/pronostiques et applications thérapeutiques en cancérologie ». *Bulletin du Cancer* 103 (1): 18-29. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2015.09.011>.
- Buffo, Jeffrey, Michael A. Herman, et David R. Soll. 1984. « A Characterization of pH-Regulated Dimorphism in Candida Albicans ». *Mycopathologia* 85 (1-2): 21-30.
<https://doi.org/10.1007/bf00436698>.

- Burotto, Mauricio, Victoria L. Chiou, Jung-Min Lee, et Elise C. Kohn. 2014. « The MAPK Pathway across Different Malignancies: A New Perspective ». *Cancer* 120 (22): 3446-56. <https://doi.org/10.1002/cncr.28864>.
- Buvaneswari, G., V. Aswathy, et R. Rajakumari. 2015. « Comparison of Color and Optical Absorbance Properties of Divalent Ion Substituted Cu and Zn Aluminate Spinel Oxides Synthesized by Combustion Method towards Pigment Application ». *Dyes and Pigments* 123 (décembre): 413-19. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2015.08.024>.
- Byakodi, Manisha, Narlawar Sagar Shrikrishna, Riya Sharma, et al. 2022a. « Emerging 0D, 1D, 2D, and 3D Nanostructures for Efficient Point-of-Care Biosensing ». *Biosensors and Bioelectronics: X* 12 (décembre): 100284. <https://doi.org/10.1016/j.biosx.2022.100284>.
- Byakodi, Manisha, Narlawar Sagar Shrikrishna, Riya Sharma, et al. 2022b. « Emerging 0D, 1D, 2D, and 3D Nanostructures for Efficient Point-of-Care Biosensing ». *Biosensors and Bioelectronics: X* 12 (décembre): 100284. <https://doi.org/10.1016/j.biosx.2022.100284>.
- Caderni, Giovanna, Enrico Bollito, Robert M. Elashoff, et Luciana Tessitore. 1999. « Colon Cancer Is Induced by a Single Low Dose of Azoxymethane in Fasted-Refed Rats ». *Nutrition and Cancer* 35 (2): 137-42. https://doi.org/10.1207/s15327914nc352_7.
- Canaparo, Roberto, Federica Foglietta, Tania Limongi, et Loredana Serpe. 2020. « Biomedical Applications of Reactive Oxygen Species Generation by Metal Nanoparticles ». *Materials* 14 (1): 53. <https://doi.org/10.3390/ma14010053>.
- Cardinale, Anna Maria, Stefano Alberti, Andrea Pietro Reverberi, Michelina Catauro, Nicolò Ghibaud, et Marco Fortunato. 2023. « Antibacterial and Photocatalytic Activities of LDH-Based Sorbents of Different Compositions ». *Microorganisms* 11 (4): 1045. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041045>.
- Carmo, Paulo Henrique Fonseca Do, Maíra Terra Garcia, Lívia Mara Alves Figueiredo-Godoi, Anna Carolina Pinheiro Lage, Newton Soares Da Silva, et Juliana Campos Junqueira. 2023. « Metal Nanoparticles to Combat Candida Albicans Infections: An Update ». *Microorganisms* 11 (1): 138. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010138>.
- Cattoir, Vincent. 2004. « Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries ». *Pathologie Biologie* 52 (10): 607-16. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.09.001>.
- Cavaco, L. M., H. Hasman, S. Xia, et F. M. Aarestrup. 2009. « *qnrD*, a Novel Gene Conferring Transferable Quinolone Resistance in *Salmonella Enterica* Serovar Kentucky and Bovismorbificans Strains of Human Origin ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53 (2): 603-8. <https://doi.org/10.1128/aac.00997-08>.
- Cavallo, Delia, Pieranna Chiarella, Anna Maria Fresegha, Aureliano Ciervo, Valentina Del Frate, et Cinzia Lucia Ursini. 2023. « Metal Oxide Nanoparticles and Graphene-Based Nanomaterials: Genotoxic, Oxidative, and Epigenetic Effects ». In *Impact of*

- Engineered Nanomaterials in Genomics and Epigenomics*, 1^{re} éd., édité par Saura C. Sahu. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119896258.ch5>.
- Chaffin, W. Lajeau, José Luis López-Ribot, Manuel Casanova, Daniel Gozalbo, et José P. Martínez. 1998. « Cell Wall and Secreted Proteins of *Candida Albicans*: Identification, Function, and Expression ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62 (1): 130-80. <https://doi.org/10.1128/mmmbr.62.1.130-180.1998>.
- Chaillot, Dylan, Simona Bennici, et Jocelyne Brendlé. 2021. « Layered Double Hydroxides and LDH-Derived Materials in Chosen Environmental Applications: A Review ». *Environmental Science and Pollution Research* 28 (19): 24375-405. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08498-6>.
- Chen, Shee-Ping, Shih-Tzu Tsai, Shu-Wen Jao, et al. 2006. « Single Nucleotide Polymorphisms of the APC Gene and Colorectal Cancer Risk: A Case-Control Study in Taiwan ». *BMC Cancer* 6 (1): 83. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-6-83>.
- Chen, Youdong, Yujie Lu, Huali Lei, et al. 2024a. « Zinc–Nickel Bimetallic Hydroxide Nanosheets Activate the Paraptosis–Pyroptosis Positive Feedback Cycle for Enhanced Tumor Immunotherapy ». *ACS Nano* 18 (43): 29913-29. <https://doi.org/10.1021/acsnano.4c10378>.
- Chen, Youdong, Yujie Lu, Huali Lei, et al. 2024b. « Zinc–Nickel Bimetallic Hydroxide Nanosheets Activate the Paraptosis–Pyroptosis Positive Feedback Cycle for Enhanced Tumor Immunotherapy ». *ACS Nano* 18 (43): 29913-29. <https://doi.org/10.1021/acsnano.4c10378>.
- Choi, Soo-Jin, Hee-Jeong Paek, et Jin Yu. 2015. « Oxidative Stress by Layered Double Hydroxide Nanoparticles via an SFK-JNK and P38-NF- κ B Signaling Pathway Mediates Induction of Interleukin-6 and Interleukin-8 in Human Lung Epithelial Cells ». *International Journal of Nanomedicine*, avril, 3217. <https://doi.org/10.2147/ijn.s82061>.
- Chou, Wei-Chun, Alexa Canchola, Fan Zhang, et Zhoumeng Lin. 2025. « Machine Learning and Artificial Intelligence in Nanomedicine ». *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* 17 (4): e70027. <https://doi.org/10.1002/wnan.70027>.
- Choudhary, Om Prakash, et Priyan Ka. 2017. « Scanning Electron Microscope: Advantages and Disadvantages in Imaging Components ». *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6 (5): 1877-82. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.207>.
- Chua, Paul L. C., Xerxes T. Seposo, et Masahiro Hashizume. 2023. « Heat Exposure and the Transmission of Infectious Diseases ». In *Heat Exposure and Human Health in the Context of Climate Change*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819080-7.00003-3>.
- Clara, N. Soronnadi, E. Finbarrs-Bello, F. O. Ugwuene, et al. 2022. « The Use of Complete Blood Count as Inflammatory Biomarkers in Patients with Colorectal Cancers in Enugu

- State University of Science and Technology Teaching Hospital, Parklane Enugu ». *Asian Journal of Medicine and Health*, décembre 9, 88-117.
<https://doi.org/10.9734/ajmah/2022/v20i12773>.
- Colussi, Dora, Giovanni Brandi, Franco Bazzoli, et Luigi Ricciardiello. 2013. « Molecular Pathways Involved in Colorectal Cancer: Implications for Disease Behavior and Prevention ». *International Journal of Molecular Sciences* 14 (8): 16365-85.
<https://doi.org/10.3390/ijms140816365>.
- Coron, Emmanuel, Michel Robaszkiewicz, Denis Chatelain, Magali Svrcek, et Jean-François Fléjou. 2013. « Advanced Precancerous Lesions in the Lower Oesophageal Mucosa: High-Grade Dysplasia and Intramucosal Carcinoma in Barrett's Oesophagus ». *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 27 (2): 187-204.
<https://doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.011>.
- Curiel, G. J., et H. M. J. Van Eijk. 1999. « PROCESS HYGIENE | Risk and Control of Airborne Contamination ». In *Encyclopedia of Food Microbiology*, par H. L. M. Lelieveld. Elsevier. <https://doi.org/10.1006/rwfm.1999.3025>.
- Das, Puja, Sayantan Ghosh, et Bismita Nayak. 2021. « Phyto-fabricated Nanoparticles and Their Anti-biofilm Activity: Progress and Current Status ». *Frontiers in Nanotechnology* 3 (octobre): 739286. <https://doi.org/10.3389/fnano.2021.739286>.
- Davies, Julian, et Dorothy Davies. 2010. « Origins and Evolution of Antibiotic Resistance ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 74 (3): 417-33.
<https://doi.org/10.1128/mmbr.00016-10>.
- Demay, F. 2009. « Bacilles Gram (+) Aérobie stricts ou aéro-anaérobies Genre Bacillus – BTS BioAnalyses & Contrôles ». (fdanieau.free.fr/cours/bts/A1/microbiologie/TP/Gram+GenreBacillus.pdf).
- Deng, Ziqin, Tao Fan, Chu Xiao, et al. 2024. « TGF- β Signaling in Health, Disease and Therapeutics ». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 9 (1): 61.
<https://doi.org/10.1038/s41392-024-01764-w>.
- Denis, François, Edouard Bingen, Christian Martin, Marie-Cécile Ploy, et Roland QUENTIN. 2012. *Bactériologie médicale*. 2nd ed. Elsevier Health Sciences France.
- Detopoulou, Paraskevi, George I. Panoutsopoulos, Marina Mantoglou, et al. 2023. « Relation of Mean Platelet Volume (MPV) with Cancer: A Systematic Review with a Focus on Disease Outcome on Twelve Types of Cancer ». *Current Oncology* 30 (3): 3391-420.
<https://doi.org/10.3390/curroncol30030258>.
- Dhakal, Kedar Nath, Girja Mani Aryal, Hari Sharan Adhikari, et Rameshwar Adhikari. 2021. « Facile Synthesis of Nanosized Magnesium-Aluminium Layered Double Hydroxides ». *Journal of Nepal Chemical Society* 42 (1): 39-44.
<https://doi.org/10.3126/jncs.v42i1.35327>.

- Donaldson, Ken, et C. Lang Tran. 2002. « INFLAMMATION CAUSED BY PARTICLES AND FIBERS ». *Inhalation Toxicology* 14 (1): 5-27. <https://doi.org/10.1080/089583701753338613>.
- Doughari, Hamuel James, Patrick Alois Ndakidemi, Izanne Susan Human, et Spinney Benade. 2011. « The Ecology, Biology and Pathogenesis of Acinetobacter Spp.: An Overview ». *Microbes and Environments* 26 (2): 101-12. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me10179>.
- Dromigny, E. 2008. *Bacillus cereus*. Edition Lavoisier.
- Dubansky, Brooke, Sally Lewis, et Dale Telgenhoff. 2023. « Classification and Histological Characteristics of Colorectal Cancer ». *American Society for Clinical Laboratory Science* 36 (2): 50-54. <https://doi.org/10.29074/ascls.2022003206>.
- Dubey, Swati, Tarun Virmani, Shiv Kumar Yadav, Ashwani Sharma, Girish Kumar, et Abdulsalam Alhalmi. 2024. « Breaking Barriers in Eco-Friendly Synthesis of Plant-Mediated Metal/Metal Oxide/Bimetallic Nanoparticles: Antibacterial, Anticancer, Mechanism Elucidation, and Versatile Utilizations ». *Journal of Nanomaterials* 2024 (avril): 1-48. <https://doi.org/10.1155/2024/9914079>.
- Džidić, Senka, Jagoda Šušković, et Blaženka Kos. 2008. « Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects ». *Food Technology & Biotechnology* 46 (1): 11.
- Edis, Zehra, Junli Wang, Muhammad Khurram Waqas, Muhammad Ijaz, et Munazza Ijaz. 2021. « Nanocarriers-Mediated Drug Delivery Systems for Anticancer Agents: An Overview and Perspectives ». *International Journal of Nanomedicine* Volume 16 (février): 1313-30. <https://doi.org/10.2147/ijn.s289443>.
- Eftekhari, Aziz, Carola Krysch, David Pamies, et al. 2023. « Natural and Synthetic Nanovectors for Cancer Therapy ». *Nanotheranostics* 7 (3): 236-57. <https://doi.org/10.7150/ntno.77564>.
- El Fertas-Aissani, R., Y. Messai, S. Alouache, et R. Bakour. 2013. « Virulence Profiles and Antibiotic Susceptibility Patterns of Klebsiella Pneumoniae Strains Isolated from Different Clinical Specimens ». *Pathologie Biologie* 61 (5): 209-16. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2012.10.004>.
- Elakkiya, V., Yash Agarwal, et Shanmugam Sumathi. 2018. « Photocatalytic Activity of Divalent Ion (Copper, Zinc and Magnesium) Doped NiAl₂O₄ ». *Solid State Sciences* 82 (août): 92-98. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2018.06.008>.
- El-Gilany, Abdel-Hady, et Hala Abou-ElWafa. 2023. « Acute Diseases: An Epidemiologic Perspective ». *Journal of Acute Disease* 12 (1): 1-9. <https://doi.org/10.4103/2221-6189.369072>.
- Engelkirk, Paul G., Janet L. Duben-Engelkirk, et Robert C. Fader. 2020. *Burton's Microbiology for the Health Sciences*. Enhanced eleventh edition. 40th anniversary edition. Jones & Bartlett Learning.

- Erkmen, Osman. 2022. « Isolation and Counting of Staphylococcus Aureus ». In *Microbiological Analysis of Foods and Food Processing Environments*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91651-6.00044-6>.
- Faghfuri, Elnaz. 2024. « Recent Advances in Personalized Cancer Immunotherapy with Immune Checkpoint Inhibitors, T Cells and Vaccines ». *Personalized Medicine* 21 (1): 45-57. <https://doi.org/10.2217/pme-2023-0054>.
- Fang, Tian, Tingting Liang, Yizhuo Wang, et al. 2021. « Prognostic Role and Clinicopathological Features of SMAD4 Gene Mutation in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *BMC Gastroenterology* 21 (1): 297. <https://doi.org/10.1186/s12876-021-01864-9>.
- Farhan, Ahmad, Aman Khalid, Nimra Maqsood, et al. 2024a. « Progress in Layered Double Hydroxides (LDHs): Synthesis and Application in Adsorption, Catalysis and Photoreduction ». *Science of The Total Environment* 912 (février): 169160. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169160>.
- Farhan, Ahmad, Aman Khalid, Nimra Maqsood, et al. 2024b. « Progress in Layered Double Hydroxides (LDHs): Synthesis and Application in Adsorption, Catalysis and Photoreduction ». *Science of The Total Environment* 912 (février): 169160. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169160>.
- Fathi, Farzaneh, Mohammad-Reza Rashidi, Parvin Samadi Pakchin, Sohrab Ahmadi-Kandjani, et Arash Nikniazi. 2021. « Photonic Crystal Based Biosensors: Emerging Inverse Opals for Biomarker Detection ». *Talanta* 221 (janvier): 121615. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121615>.
- Fatima, Zainab, Purva Sharma, Bahaaeldin Youssef, et Koyamangalath Krishnan. 2021. « Medullary Carcinoma of the Colon: A Histopathologic Challenge ». *Cureus*, publication en ligne anticipée, juin 22. <https://doi.org/10.7759/cureus.15831>.
- Fernandez, Benjamin, et Étienne Buscail. 2025. « Coloproctectomie pour polypose adénomateuse familiale et autres polyposes ». *Bulletin du Cancer* 112 (3): 253-58. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2024.12.014>.
- Fleming, Matthew, Sreelakshmi Ravula, Sergei F. Tatishchev, et Hanlin L. Wang. 2012. « Colorectal Carcinoma: Pathologic Aspects ». *Journal of Gastrointestinal Oncology* 3 (3): 153-73. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2078-6891.2012.030>.
- Folgori, Laura, Susanna Livadiotti, Michaela Carletti, et al. 2014. « Epidemiology and Clinical Outcomes of Multidrug-Resistant, Gram-Negative Bloodstream Infections in a European Tertiary Pediatric Hospital During a 12-Month Period ». *Pediatric Infectious Disease Journal* 33 (9): 929-32. <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000000339>.
- Fortunka, Kamila, Agnieszka Strzelecka, Grzegorz Król, et al. 2024. « Knowledge and Training Needs in Nosocomial Infection among Hospital Staff in the City of Kielce, Poland: A Cross-Sectional Study ». *Journal of Nursing Management* 2024 (avril): 1-19. <https://doi.org/10.1155/2024/9243232>.

- Fulaz, Stephanie, Stefania Vitale, Laura Quinn, et Eoin Casey. 2019. « Nanoparticle–Biofilm Interactions: The Role of the EPS Matrix ». *Trends in Microbiology* 27 (11): 915-26. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.07.004>.
- Gagliardi, Paolo Armando, et Olivier Pertz. 2024. « The Mitogen-Activated Protein Kinase Network, Wired to Dynamically Function at Multiple Scales ». *Current Opinion in Cell Biology* 88 (juin): 102368. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2024.102368>.
- Gajic, Ina, Nina Tomic, Bojana Lukovic, et al. 2025. « A Comprehensive Overview of Antibacterial Agents for Combating Multidrug-Resistant Bacteria: The Current Landscape, Development, Future Opportunities, and Challenges ». *Antibiotics* 14 (3): 221. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030221>.
- Gandomani, Hamidreza Sadeghi, Seyed Majid Yousefi, Mohammad Aghajani, et al. 2017. « Colorectal cancer in the world: incidence, mortality and risk factors ». *Biomedical Research and Therapy* 4 (10): 1656. <https://doi.org/10.15419/bmrat.v4i10.372>.
- Garg, Pankaj, Jyoti Malhotra, Prakash Kulkarni, David Horne, Ravi Salgia, et Sharad S. Singhal. 2024. « Emerging Therapeutic Strategies to Overcome Drug Resistance in Cancer Cells ». *Cancers* 16 (13): 2478. <https://doi.org/10.3390/cancers16132478>.
- Ge, Dong-Lai, Ying-Ju Fan, Chang-Lin Qi, et Zhong-Xi Sun. 2013. « Facile Synthesis of Highly Thermostable Mesoporous ZnAl₂ O₄ with Adjustable Pore Size ». *J. Mater. Chem. A* 1 (5): 1651-58. <https://doi.org/10.1039/C2TA00903J>.
- Gevers, Bianca R., Sajid Naseem, Andreas Leuteritz, et Frederick J. W. J. Labuschagné. 2019. « Comparison of Nano-Structured Transition Metal Modified Tri-Metal MgMAI–LDHs (M = Fe, Zn, Cu, Ni, Co) Prepared Using Co-Precipitation ». *RSC Advances* 9 (48): 28262-75. <https://doi.org/10.1039/C9RA05452A>.
- Geyer, Natalie, et Marco Gerling. 2021. « Hedgehog Signaling in Colorectal Cancer: All in the Stroma? ». *International Journal of Molecular Sciences* 22 (3): 1025. <https://doi.org/10.3390/ijms22031025>.
- Gharpure, Saeed, Rachana Yadwade, et Balaprasad Ankamwar. 2022. « Non-Antimicrobial and Non-Anticancer Properties of ZnO Nanoparticles Biosynthesized Using Different Plant Parts of *Bixa Orellana* ». *ACS Omega* 7 (2): 1914-33. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05324>.
- Ghasemian, Abdolmajid, Hadeel A. Omeir, Yaser Mansoori, et al. 2023. « Long non-coding RNAs and JAK/STAT signaling pathway regulation in colorectal cancer development ». *Frontiers in Genetics* 14 (novembre): 1297093. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1297093>.
- Ghattavi, Shirin, et Alireza Nezamzadeh-Ejhieh. 2019. « A Brief Study on the Boosted Photocatalytic Activity of AgI/WO₃/ZnO in the Degradation of Methylene Blue under Visible Light Irradiation ». *Desalination and Water Treatment* 166 (octobre): 92-104. <https://doi.org/10.5004/dwt.2019.24638>.

- Ghattavi, Shirin, et Alireza Nezamzadeh-Ejhieh. 2020. « A Visible Light Driven AgBr/g-C₃N₄ Photocatalyst Composite in Methyl Orange Photodegradation: Focus on Photoluminescence, Mole Ratio, Synthesis Method of g-C₃N₄ and Scavengers ». *Composites Part B: Engineering* 183 (février): 107712. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107712>.
- Giovannucci, Edward. 2001. « Insulin, Insulin-Like Growth Factors and Colon Cancer: A Review of the Evidence ». *The Journal of Nutrition* 131 (11): 3109S-3120S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.11.3109S>.
- Glaviano, Antonino, Aaron S. C. Foo, Hiu Y. Lam, et al. 2023. « PI3K/AKT/mTOR Signaling Transduction Pathway and Targeted Therapies in Cancer ». *Molecular Cancer* 22 (1): 138. <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01827-6>.
- Gomerdinger, Victoria F., Namita Nabar, et Paula T. Hammond. 2025. « Advancing Engineering Design Strategies for Targeted Cancer Nanomedicine ». *Nature Reviews Cancer* 25 (9): 657-83. <https://doi.org/10.1038/s41568-025-00847-2>.
- Gonzales, Miki, Gretty K. Villena, et Ana A. Kitazono. 2021. « Evaluation of the Antioxidant Activities of Aqueous Extracts from Seven Wild Plants from the Andes Using an in Vivo Yeast Assay ». *Results in Chemistry* 3 (janvier): 100098. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2021.100098>.
- Gordon, David M., et Ann Cowling. 2003. « The Distribution and Genetic Structure of Escherichia Coli in Australian Vertebrates: Host and Geographic Effects ». *Microbiology* 149 (12): 3575-86. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26486-0>.
- Guardabassi, Luca, et Patrice Courvalin. 2019. « Modes of Antimicrobial Action and Mechanisms of Bacterial Resistance ». In *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817534.ch1>.
- Guerrero-Pérez, M. Olga, et Gregory S. Patience. 2020a. « Experimental Methods in Chemical Engineering: Fourier Transform Infrared Spectroscopy—FTIR ». *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 98 (1): 25-33. <https://doi.org/10.1002/cjce.23664>.
- Guerrero-Pérez, M. Olga, et Gregory S. Patience. 2020b. « Experimental Methods in Chemical Engineering: Fourier Transform Infrared Spectroscopy—FTIR ». *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 98 (1): 25-33. <https://doi.org/10.1002/cjce.23664>.
- Gueye, O. 2007. « Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles Gram négative ». Thèse pharmacie, Dakar.
- Gulinac, Milena, Niya Mileva, Dimitrina Miteva, Tsvetelina Velikova, et Dorian Dikov. 2024. « Primary Signet-Ring-Cell Carcinoma in the Colorectum: A Case-Based Literature Review ». *Gastroenterology Insights* 15 (3): 632-46. <https://doi.org/10.3390/gastroent15030046>.

- Guo, Tingyue, Xin Fang, Yiting Liu, et al. 2022. « Acute Lung Inflammation Induced by Zinc Oxide Nanoparticles: Evolution and Intervention via NRF2 Activator ». *Food and Chemical Toxicology* 162 (avril): 112898. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112898>.
- Habanjar, Ola, Rea Bingula, Caroline Decombat, Mona Diab-Assaf, Florence Caldefie-Chezet, et Laetitia Delort. 2023. « Crosstalk of Inflammatory Cytokines within the Breast Tumor Microenvironment ». *International Journal of Molecular Sciences* 24 (4): 4002. <https://doi.org/10.3390/ijms24044002>.
- Hahm, Jong-in. 2016. « Fundamental Properties of One-Dimensional Zinc Oxide Nanomaterials and Implementations in Various Detection Modes of Enhanced Biosensing ». *Annual Review of Physical Chemistry* 67 (1): 691-717. <https://doi.org/10.1146/annurev-physchem-031215-010949>.
- Hakansson, A. P., C. J. Orihuela, et D. Bogaert. 2018. « Bacterial-Host Interactions: Physiology and Pathophysiology of Respiratory Infection ». *Physiological Reviews* 98 (2): 781-811. <https://doi.org/10.1152/physrev.00040.2016>.
- Hanski, C. 1995. « Is Mucinous Carcinoma of the Colorectum a Distinct Genetic Entity? ». *British Journal of Cancer* 72 (6): 1350-56. <https://doi.org/10.1038/bjc.1995.514>.
- Haripriyaa, Muthukrishnan, et Krishnamurthy Suthindhiran. 2023. « Pharmacokinetics of Nanoparticles: Current Knowledge, Future Directions and Its Implications in Drug Delivery ». *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 9 (1). <https://doi.org/10.1186/s43094-023-00569-y>.
- Harish, Vancha, Md Mustafiz Ansari, Devesh Tewari, et al. 2022. « Nanoparticle and Nanostructure Synthesis and Controlled Growth Methods ». *Nanomaterials* 12 (18): 3226. <https://doi.org/10.3390/nano12183226>.
- Hawkins, P. T., T. R. Jackson, et L. R. Stephens. 1992. « Platelet-Derived Growth Factor Stimulates Synthesis of PtdIns(3,4,5)P3 by Activating a PtdIns(4,5)P2 3-OH Kinase ». *Nature* 358 (6382): 157-59. <https://doi.org/10.1038/358157a0>.
- Haziz Almutairi, Yasse Matar, et Rashed Mohammed Alghamdi. 2024. « Statistical Analysis of Foodborne Pathogens in Jeddah Region. ». *Multi-Knowledge Electronic Comprehensive Journal For Education & Science Publications (MECSJ)* 70 (70): 1.
- Helalat, Rayehe, Mahdavi-Ourtakand Masoumeh, Niloufar Rezaei, et Fahimeh Baghbani-Arani. 2023. « Evaluation of the Cytotoxic Effects of Silver-Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized by Green Method on Sw480 Cell Line ». *Emergent Materials* 6 (1): 291-98. <https://doi.org/10.1007/s42247-022-00413-8>.
- Hernández Borrero, Liz J., et Wafik S. El-Deiry. 2021. « Tumor Suppressor P53: Biology, Signaling Pathways, and Therapeutic Targeting ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1876 (1): 188556. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188556>.

- Hinz, Rebecca, et Andreas Krüger. 2019. « Climate Change and Infectious Diseases ». In *International Climate Protection*, par Hagen Frickmann. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03816-8_34.
- Hodoroaba, Vasile-Dan. 2020. « Energy-Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS) ». In *Characterization of Nanoparticles*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814182-3.00021-3>.
- Holbrook, Jonathan, Samuel Lara-Reyna, Heledd Jarosz-Griffiths, et Michael McDermott. 2019. « Tumour Necrosis Factor Signalling in Health and Disease ». *F1000Research* 8: F1000 Faculty Rev-111. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17023.1>.
- Hong, Kwang Dae, Youngseok Lee, Baek-Hui Kim, Sun Il Lee, et Hong Young Moon. 2013. « Expression of GLI1 Correlates with Expression of Lymphangiogenesis Proteins, Vascular Endothelial Growth Factor C and Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 3, in Colorectal Cancer ». *The American SurgeonTM* 79 (2): 198-204. <https://doi.org/10.1177/000313481307900232>.
- Horie, Masanori, et Yosuke Tabei. 2021. « Role of Oxidative Stress in Nanoparticles Toxicity ». *Free Radical Research* 55 (4): 331-42. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1859108>.
- Hould, René. 1984. *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Décarie ; Maloine.
- Hu, Tingting, Zi Gu, Gareth R. Williams, et al. 2022. « Layered Double Hydroxide-Based Nanomaterials for Biomedical Applications ». *Chemical Society Reviews* 51 (14): 6126-76. <https://doi.org/10.1039/D2CS00236A>.
- Hu, Xiaoyi, Jing Li, Maorong Fu, Xia Zhao, et Wei Wang. 2021. « The JAK/STAT Signaling Pathway: From Bench to Clinic ». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 6 (1): 402. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00791-1>.
- Huang, Xianzhou, Tao He, Xiuqi Liang, et al. 2024. « Advances and Applications of Nanoparticles in Cancer Therapy ». *MedComm – Oncology* 3 (1): e67. <https://doi.org/10.1002/mog2.67>.
- Huang, Yuanchao, Xiao Peng, et Xing-Qiu Chen. 2021. « The Mechanism of θ - to α -Al₂O₃ Phase Transformation ». *Journal of Alloys and Compounds* 863 (mai): 158666. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2021.158666>.
- Hugen, Niek, Michiel Simons, Altuna Halilović, et al. 2015. « The Molecular Background of Mucinous Carcinoma beyond MUC2 ». *The Journal of Pathology: Clinical Research* 1 (1): 3-17. <https://doi.org/10.1002/cjp2.1>.
- Huliganga, E. 2023. « Quantitative Support for the Adverse Outcome Pathway “Oxidative DNA Damage Leading to Chromosomal Aberrations and Mutations” ». University of Ottawa.

- Hutchings, Carmel, Zafnat Prokocimer Yair, Ram Reifen, et Moshe Shemesh. 2021. « Antimicrobial Effect of Zn²⁺ Ions Governs the Microbial Quality of Donor Human Milk ». *Foods* 10 (3): 637. <https://doi.org/10.3390/foods10030637>.
- Imai, Yasuo. 2013. « Differential Mucin Phenotypes and Their Significance in a Variation of Colorectal Carcinoma ». *World Journal of Gastroenterology* 19 (25): 3957. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i25.3957>.
- Inamuddin, Rajender Boddula, Mohd Imran Ahamed, et Abdullah M. Asiri, éd. 2020. *Layered 2D Advanced Materials and Their Allied Applications*. 1^{re} éd. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119655190>.
- Iqbal, Kanwal, Anam Iqbal, Sara Benabid, et Zeeshan Ajmal. 2025. « Cutting-Edge Advances in Two-Dimensional Layered Double Hydroxides: Structure, Synthesis, Functionalization, Characterization, and Advanced Sensor Applications ». *Microchimica Acta* 192 (8): 535. <https://doi.org/10.1007/s00604-025-07357-w>.
- Izbudak, Burcin, Berivan Cecen, Ingrid Anaya, Amir K. Miri, Ayca Bal-Ozturk, et Erdal Karaoz. 2021. « Layered Double Hydroxide-Based Nanocomposite Scaffolds in Tissue Engineering Applications ». *RSC Advances* 11 (48): 30237-52. <https://doi.org/10.1039/d1ra03978d>.
- Jaichenco, Andre L., et Luciana Cavalcanti Lima. 2019. « Infectious Disease Considerations for the Operating Room ». In *A Practice of Anesthesia for Infants and Children*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-42974-0.00050-1>.
- Jamal, E. Muhammad Abdul, D. Sakthi Kumar, et M. R. Anantharaman. 2011. « On Structural, Optical and Dielectric Properties of Zinc Aluminate Nanoparticles ». *Bulletin of Materials Science* 34 (2): 251-59. <https://doi.org/10.1007/s12034-011-0071-y>.
- Jfoster, T. 2002. « Staphylococcus Aureus ». In *Molecular Medical Microbiology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-012677530-3/50258-0>.
- Johnson, Justine A. 2002. « Nosocomial Infections ». *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 32 (5): 1101-26. [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(02\)00038-4](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(02)00038-4).
- Joudeh, Nadeem, et Dirk Linke. 2022. « Nanoparticle Classification, Physicochemical Properties, Characterization, and Applications: A Comprehensive Review for Biologists ». *Journal of Nanobiotechnology* 20 (1): 262. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>.
- Julian Davies, et Dorothy Davies. 2010. « Origins and Evolution of Antibiotic Resistance ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 74 (3): 417-33. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>.
- Jung, Yong-Ju, Naing Aung Khant, Heejung Kim, et Sim Namkoong. 2023. « Impact of Climate Change on Waterborne Diseases: Directions towards Sustainability ». *Water* 15 (7): 1298. <https://doi.org/10.3390/w15071298>.

- Kalia, Anu, Jashanpreet Kaur, Manisha Tondey, et al. 2021. « Differential Antimycotic and Antioxidant Potentials of Chemically Synthesized Zinc-Based Nanoparticles Derived from Different Reducing/Complexing Agents against Pathogenic Fungi of Maize Crop ». *Journal of Fungi* 7 (3): 223. <https://doi.org/10.3390/jof7030223>.
- Kalishwaralal, Kalimuthu, Selvaraj BarathManiKanth, Sureshbabu Ram Kumar Pandian, Venkataraman Deepak, et Sangiliyandi Gurunathan. 2010. « Silver Nanoparticles Impede the Biofilm Formation by *Pseudomonas Aeruginosa* and *Staphylococcus Epidermidis* ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 79 (2): 340-44. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.04.014>.
- Kandasamy, Gayathri, Yugeswaran Karuppasamy, et Uma Maheswari Krishnan. 2023. « Emerging Trends in Nano-Driven Immunotherapy for Treatment of Cancer ». *Vaccines* 11 (2): 458. <https://doi.org/10.3390/vaccines11020458>.
- Karin, Michael, et Anning Lin. 2002. « NF- κ B at the Crossroads of Life and Death ». *Nature Immunology* 3 (3): 221-27. <https://doi.org/10.1038/ni0302-221>.
- Kastenhuber, Edward R., et Scott W. Lowe. 2017. « Putting P53 in Context ». *Cell* 170 (6): 1062-78. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.028>.
- Kermanizadeh, Ali, Caroline Chauché, David M. Brown, Steffen Loft, et Peter Møller. 2015. « The Role of Intracellular Redox Imbalance in Nanomaterial Induced Cellular Damage and Genotoxicity: A Review ». *Environmental and Molecular Mutagenesis* 56 (2): 111-24. <https://doi.org/10.1002/em.21926>.
- Khairi, Nur Fatimah Zahra Mohd, Nurul Farhana Roszaini, et Siti Amira Othman. 2023. « Principles and Techniques in Handling Brachytherapy - A Short Review ». *Journal of Advanced Industrial Technology and Application* 4 (1). <https://doi.org/10.30880/jaita.2023.04.01.009>.
- Khan, Hassan Ahmed, Aftab Ahmad, et Riffat Mehboob. 2015. « Nosocomial Infections and Their Control Strategies ». *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5 (7): 509-14. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.001>.
- Khan, Idrees, Ibrahim Khan, Khalid Saeed, Nisar Ali, et Noor Zada. 2023. « Polymer Nanocomposites: An Overview ». In *Smart Polymer Nanocomposites*, par Adnan Khan, Farman Ali, Muhammad Bilal, et Mohammed Salim Akhter. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91611-0.00017-7>.
- Khan, Sajjad. 2014. « Differential Gene Expression of Chemokines in *KRAS* and *BRAF* Mutated Colorectal Cell Lines: Role of Cytokines ». *World Journal of Gastroenterology* 20 (11): 2979. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i11.2979>.
- Kharat, Sopan N., et Vijay D. Mendhulkar. 2016. « "Synthesis, Characterization and Studies on Antioxidant Activity of Silver Nanoparticles Using Elephantopus Scaber Leaf Extract" ». *Materials Science and Engineering: C* 62 (mai): 719-24. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.02.024>.

- Kiani, Mahsa, Mojtaba Bagherzadeh, Amir Mohammad Ghadiri, Pooyan Makvandi, et Navid Rabiee. 2022. « Multifunctional Green Synthesized Cu–Al Layered Double Hydroxide (LDH) Nanoparticles: Anti-Cancer and Antibacterial Activities ». *Scientific Reports* 12 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13431-7>.
- Kim, Sung Joon, James Chang, et Manmilen Singh. 2015. « Peptidoglycan Architecture of Gram-Positive Bacteria by Solid-State NMR ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1848 (1): 350-62. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.05.031>.
- Kircheis, Ralf, et Oliver Planz. 2023. « The Role of Toll-like Receptors (TLRs) and Their Related Signaling Pathways in Viral Infection and Inflammation ». *International Journal of Molecular Sciences* 24 (7): 6701. <https://doi.org/10.3390/ijms24076701>.
- Kloprogge, J. Theo. 2025. « X-Ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) Study of Layered Double Hydroxides with Different Exchangeable Anions ». *Applied Sciences* 15 (3): 1318. <https://doi.org/10.3390/app15031318>.
- Korphaissarn, Krittiya, Van Morris, Jenifer S. Davis, et al. 2019. « Signet Ring Cell Colorectal Cancer: Genomic Insights into a Rare Subpopulation of Colorectal Adenocarcinoma ». *British Journal of Cancer* 121 (6): 505-10. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0548-9>.
- Korsak, N., A. Clinquart, et G. Daube. 2004. « Salmonella spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique ? » *Ann. Méd. Vét* 148: 174-93.
- Krishnan, Kannan M. 2021. « X-Ray Diffraction ». In *Principles of Materials Characterization and Metrology*, 1^{re} éd., par Kannan M. Krishnan. Oxford University PressOxford. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198830252.003.0007>.
- Kroschinsky, Frank, Frank Kroschinsky, Friedrich Stölzel, et al. 2017. « New Drugs, New Toxicities: Severe Side Effects of Modern Targeted and Immunotherapy of Cancer and Their Management ». *Critical Care* 21 (1): 89. <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1678-1>.
- Kumar, Anil, Vipasha Gautam, Arushi Sandhu, Kajal Rawat, Antika Sharma, et Lekha Saha. 2023. « Current and emerging therapeutic approaches for colorectal cancer: A comprehensive review ». *World Journal of Gastrointestinal Surgery* 15 (4): 495-519. <https://doi.org/10.4240/wjgs.v15.i4.495>.
- Kumar, Vinay, Neha Sharma, et S. S. Maitra. 2017. « In Vitro and in Vivo Toxicity Assessment of Nanoparticles ». *International Nano Letters* 7 (4): 243-56. <https://doi.org/10.1007/s40089-017-0221-3>.
- Kumari, Savita, et Leena Sarkar. 2021. « A Review on Nanoparticles: Structure, Classification, Synthesis & Applications ». *JOURNAL OF SCIENTIFIC RESEARCH* 65 (08): 42-46. <https://doi.org/10.37398/JSR.2021.650809>.

- Kura, Aminu Umar, Mohd Zobir Hussein, Sharida Fakurazi, et Palanisamy Arulselvan. 2014. « Layered Double Hydroxide Nanocomposite for Drug Delivery Systems; Bio-Distribution, Toxicity and Drug Activity Enhancement ». *Chemistry Central Journal* 8 (1). <https://doi.org/10.1186/s13065-014-0047-2>.
- Lahouty, Masoud, Manouchehr Fadaee, Dariush Shanehbandi, et Tohid Kazemi. 2025. « Exosome-Driven Nano-Immunotherapy: Revolutionizing Colorectal Cancer Treatment ». *Molecular Biology Reports* 52 (1): 83. <https://doi.org/10.1007/s11033-024-10157-9>.
- Lai, Koon Siew, Yan Jin, Douglas K. Graham, Bruce A. Witthuhn, James N. Ihle, et Edison T. Liu. 1995. « A Kinase-Deficient Splice Variant of the Human JAK3 Is Expressed in Hematopoietic and Epithelial Cancer Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 270 (42): 25028-36. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.42.25028>.
- Landsiedel, Robert, Naveed Honarvar, Svenja Berit Seiffert, Barbara Oesch, et Franz Oesch. 2022. « Genotoxicity Testing of Nanomaterials ». *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* 14 (6): e1833. <https://doi.org/10.1002/wnan.1833>.
- Lara, Humberto H., Dulce G. Romero-Urbina, Christopher Pierce, Jose L. Lopez-Ribot, M. Josefina Arellano-Jiménez, et Miguel Jose-Yacamán. 2015. « Effect of Silver Nanoparticles on Candida Albicans Biofilms: An Ultrastructural Study ». *Journal of Nanobiotechnology* 13 (1): 91. <https://doi.org/10.1186/s12951-015-0147-8>.
- Larramendy, Marcelo L., et Sonia Soloneski, éd. 2018. *Genotoxicity: A Predictable Risk to Our Actual World*. IntechOpen.
- Le Minor, L., et M. Y. Popoff. 1987. « Designation of Salmonella Enterica Sp. Nov., Nom. Rev., as the Type and Only Species of the Genus Salmonella: Request for an Opinion ». *International Journal of Systematic Bacteriology* 37 (4): 465-68. <https://doi.org/10.1099/00207713-37-4-465>.
- Le Minor, L., et M. Véron. 1989. *Bactériologie médicale*. 2^{ème} édition. Flammarion Médecine-Sciences.
- Lebaka, Veeranjanya Reddy, Perugu Ravi, Madhava C. Reddy, Chandrasekhar Thummala, et Tapas Kumar Mandal. 2025. « Zinc Oxide Nanoparticles in Modern Science and Technology: Multifunctional Roles in Healthcare, Environmental Remediation, and Industry ». *Nanomaterials* 15 (10): 754. <https://doi.org/10.3390/nano15100754>.
- Lee, Su-Bin, Eun-Hye Ko, Joo Y. Park, et Jae-Min Oh. 2021. « Mixed Metal Oxide by Calcination of Layered Double Hydroxide: Parameters Affecting Specific Surface Area ». *Nanomaterials* 11 (5): 1153. <https://doi.org/10.3390/nano11051153>.
- Leonova, Yu O., M. A. Sevostyanov, D. O. Mezentshev, D. R. Khayrutdinova, et A. S. Lysenkov. 2021. « Effect of the synthesis temperature on the phase composition of Al₂O₃ ». *Journal of Physics: Conference Series* 1942 (1): 012052. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1942/1/012052>.

- Li, Jiao Jiao, et Hala Zreiqat. 2019. « Tissue Response to Biomaterials ». In *Encyclopedia of Biomedical Engineering*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.99880-5>.
- Li, Lei, Irem Soyhan, Eliza Warszawik, et Patrick Van Rijn. 2024. « Layered Double Hydroxides: Recent Progress and Promising Perspectives Toward Biomedical Applications ». *Advanced Science* 11 (20): 2306035. <https://doi.org/10.1002/advs.202306035>.
- Li, Mei, Lihong Zhu, et Daohui Lin. 2011. « Toxicity of ZnO Nanoparticles to *Escherichia Coli* : Mechanism and the Influence of Medium Components ». *Environmental Science & Technology* 45 (5): 1977-83. <https://doi.org/10.1021/es102624t>.
- Li, Ting-Ting, Shuji Ogino, et Zhi Rong Qian. 2014. « Toll-like receptor signaling in colorectal cancer: Carcinogenesis to cancer therapy ». *World Journal of Gastroenterology* 20 (47): 17699-708. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i47.17699>.
- Li, Xiao-Lan. 2015. « P53 Mutations in Colorectal Cancer- Molecular Pathogenesis and Pharmacological Reactivation ». *World Journal of Gastroenterology* 21 (1): 84. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i1.84>.
- Li, Yue, Zirui Zhu, Shiyuan Hua, et al. 2024. « Metal-Based Nanoparticles Promote the Activation of cGAS-STING Pathway for Enhanced Cancer Immunotherapy ». *Nano Today* 58 (octobre): 102445. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2024.102445>.
- Liu, Chengshuai, Kaimin Shih, Yuanxue Gao, Fangbai Li, et Lan Wei. 2012. « Dechlorinating Transformation of Propachlor through Nucleophilic Substitution by Dithionite on the Surface of Alumina ». *Journal of Soils and Sediments* 12 (5): 724-33. <https://doi.org/10.1007/s11368-012-0506-0>.
- Longley, Daniel B., D. Paul Harkin, et Patrick G. Johnston. 2003. « 5-Fluorouracil: Mechanisms of Action and Clinical Strategies ». *Nature Reviews Cancer* 3 (5): 330-38. <https://doi.org/10.1038/nrc1074>.
- Lopes, José Pedro, et Michail S. Lionakis. 2022. « Pathogenesis and Virulence of *Candida Albicans* ». *Virulence* 13 (1): 89-121. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2019950>.
- Luo, Cong, Shuyi Cen, Guojun Ding, et Wei Wu. 2019. « Mucinous Colorectal Adenocarcinoma: Clinical Pathology and Treatment Options ». *Cancer Communications* 39 (1): 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40880-019-0361-0>.
- Luo, Yueh-Hsia, Louis W. Chang, et Pinpin Lin. 2015. « Metal-Based Nanoparticles and the Immune System: Activation, Inflammation, and Potential Applications ». *BioMed Research International* 2015: 1-12. <https://doi.org/10.1155/2015/143720>.
- Luobin, Lin, He Wanxin, Guo Yingxin, et al. 2024. « Nanomedicine-Induced Programmed Cell Death in Cancer Therapy: Mechanisms and Perspectives ». *Cell Death Discovery* 10 (1): 386. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02121-0>.

- Lyczak, Jeffrey B., Carolyn L. Cannon, et Gerald B. Pier. 2000. « Establishment of Infection: Lessons from a Versatile Opportunist ». *Microbes and Infection* 2 (9): 1051-60. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(00\)01259-4](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)01259-4).
- Ma, Si, et Daohui Lin. 2013. « The Biophysicochemical Interactions at the Interfaces between Nanoparticles and Aquatic Organisms: Adsorption and Internalization ». *Environ. Sci.: Processes Impacts* 15 (1): 145-60. <https://doi.org/10.1039/C2EM30637A>.
- Mahgoub, Samar M., Abdullah S. Alawam, Hassan A. Rudayni, et al. 2025. « Lysozyme-Dequalinium Encapsulation in a Zn–Fe LDH–Chia Seed Matrix for Enhanced Antimicrobial Dental Therapeutics ». *RSC Advances* 15 (37): 30872-99. <https://doi.org/10.1039/D5RA04212G>.
- Mahmoud, Sawsan A., Moustafa E. Elsis, et Asmaa F. Mansour. 2022. « Synthesis and Electrochemical Performance of α -Al₂O₃ and M-Al₂O₄ Spinel Nanocomposites in Hybrid Quantum Dot-Sensitized Solar Cells ». *Scientific Reports* 12 (1): 17009. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21186-4>.
- Makhdoumi, Pouran, Hazhir Karimi, et Mozafar Khazaei. 2020. « Review on Metal-Based Nanoparticles: Role of Reactive Oxygen Species in Renal Toxicity ». *Chemical Research in Toxicology* 33 (10): 2503-14. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00438>.
- Manke, Amruta, Liying Wang, et Yon Rojanasakul. 2013. « Mechanisms of Nanoparticle-Induced Oxidative Stress and Toxicity ». *BioMed Research International* 2013: 1-15. <https://doi.org/10.1155/2013/942916>.
- Marcellinaro, Rosa, Domenico Spoleitini, Michele Grieco, et al. 2023. « Colorectal Cancer: Current Updates and Future Perspectives ». *Journal of Clinical Medicine* 13 (1): 40. <https://doi.org/10.3390/jcm13010040>.
- Marin-Acevedo, Julian A., Aixa E. Soyano, Bhagirathbhai Dholaria, Keith L. Knutson, et Yanyan Lou. 2018. « Cancer Immunotherapy beyond Immune Checkpoint Inhibitors ». *Journal of Hematology & Oncology* 11 (1): 8. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0552-6>.
- Marshall, C. J. 1995. « Specificity of Receptor Tyrosine Kinase Signaling: Transient versus Sustained Extracellular Signal-Regulated Kinase Activation ». *Cell* 80 (2): 179-85. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90401-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90401-8).
- Maung, Hein, Oliver Gregory, Thomas De Hoog, et al. 2024. « Primary Medullary Adenocarcinoma of the Colon: Literature Review and Case Series ». *Surgery in Practice and Science* 19 (décembre): 100254. <https://doi.org/10.1016/j.sipas.2024.100254>.
- Meena, Priti, et Vivekanand Jha. 2023. « Environmental Change, Changing Biodiversity, and Infections—Lessons for Kidney Health Community ». *Kidney International Reports* 8 (9): 1714-29. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2023.07.002>.
- Messai, Youcef, Tayeb Bouarroudj, Abdelmounaim Chetoui, et al. 2023. « Correlating pH-Controlled Green Synthesis of NiO Nanoparticles with Their Magnetic Properties and

- Catalytic Performance ». *Materials Today Communications* 37 (décembre): 107530. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.107530>.
- Meza-Fuentes, Edgardo, Johana Rodríguez Ruíz, Edinson Castellar Arroyo, Maria Rangel, et Eduardo Espinosa Fuentes. 2023. « Study of NiO/Al₂O₃ and NiO/Zn-Al₂O₃ catalysts for water gas shift reaction ». *Universitas Scientiarum* 28 (3): 316-35. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC283.sona>.
- Mirmansouri, Ali, Farnoush Farzi, Abbas Sedighinejad, Bahram Naderi Nabi, et Gelareh Biazar. 2018. « Don't Give Up! Gastric Cancer; Poorly Differentiated Diffuse Type Carcinoma is Curable: A Case Report ». *Iranian Red Crescent Medical Journal* In Press (In Press). <https://doi.org/10.5812/ircmj.59270>.
- Mohammed, Aeshah M., Mohammed Mohammed, Jawad K. Oleiwi, et al. 2025. « The Anticancer, Antioxidant, and Antimicrobial Properties of Zinc Oxide Nanoparticles: A Comprehensive Review ». *Nano TransMed* 4 (décembre): 100097. <https://doi.org/10.1016/j.ntm.2025.100097>.
- Monshi, Ahmad, Mohammad Reza Foroughi, et Mohammad Reza Monshi. 2012. « Modified Scherrer Equation to Estimate More Accurately Nano-Crystallite Size Using XRD ». *World Journal of Nano Science and Engineering* 02 (03): 154-60. <https://doi.org/10.4236/wjnse.2012.23020>.
- Muráth, Szabolcs, Nizar Alsharif, Szilárd Sáringer, Bojana Katana, Zoltán Somosi, et Istvan Szilagyi. 2020. « Antioxidant Materials Based on 2D Nanostructures: A Review on Recent Progresses ». *Crystals* 10 (3): 148. <https://doi.org/10.3390/cryst10030148>.
- Murphy, Felicity, et Mark Middleton. 2012. « Cytostatic and Cytotoxic Drugs ». In *Side Effects of Drugs Annual*, vol. 34. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59499-0.00045-3>.
- Murugan, Dhanashree, Vasanth Murugesan, Balaji Panchapakesan, et Loganathan Rangasamy. 2022. « Nanoparticle Enhancement of Natural Killer (NK) Cell-Based Immunotherapy ». *Cancers* 14 (21): 5438. <https://doi.org/10.3390/cancers14215438>.
- Muylaert, A., et J. G. Mainil. 2013. *Résistances aux fluoroquinolones : la situation actuelle*. 157: 15-26. <https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/168956/1/R%C3%A9sistances%20fluoroquinolo>.
- Navarro, Enrique, Anders Baun, Renata Behra, et al. 2008. « Environmental Behavior and Ecotoxicity of Engineered Nanoparticles to Algae, Plants, and Fungi ». *Ecotoxicology* 17 (5): 372-86. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0214-0>.
- Naz, Irum, Aneela Tahira, Arfana Begum Mallah, et al. 2025. « Detection of Dopamine Using Hybrid Materials Based on NiO/ZnO for Electrochemical Sensor Applications ». *Catalysts* 15 (2): 116. <https://doi.org/10.3390/catal15020116>.

- Neal, Andrew L. 2008. « What Can Be Inferred from Bacterium–Nanoparticle Interactions about the Potential Consequences of Environmental Exposure to Nanoparticles? » *Ecotoxicology* 17 (5): 362-71. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0217-x>.
- Nemec, Alexandr, Lenka Krizova, Martina Maixnerova, et al. 2011. « Genotypic and Phenotypic Characterization of the Acinetobacter Calcoaceticus–Acinetobacter Baumannii Complex with the Proposal of Acinetobacter Pittii Sp. Nov. (Formerly Acinetobacter Genomic Species 3) and Acinetobacter Nosocomialis Sp. Nov. (Formerly Acinetobacter Genomic Species 13TU) ». *Research in Microbiology* 162 (4): 393-404. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.02.006>.
- Newbury, Dale E., et Nicholas W. M. Ritchie. 2015. « Performing Elemental Microanalysis with High Accuracy and High Precision by Scanning Electron Microscopy/Silicon Drift Detector Energy-Dispersive X-Ray Spectrometry (SEM/SDD-EDS) ». *Journal of Materials Science* 50 (2): 493-518. <https://doi.org/10.1007/s10853-014-8685-2>.
- Nikaido, Hiroshi. 2009. « Multidrug Resistance in Bacteria ». *Annual Review of Biochemistry* 78 (1): 119-46. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923>.
- Oberdörster, Günter, Andrew Maynard, Ken Donaldson, et al. 2005. « Principles for Characterizing the Potential Human Health Effects from Exposure to Nanomaterials: Elements of a Screening Strategy ». *Particle and Fibre Toxicology* 2 (1): 8. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-2-8>.
- Oldershaw, Rachel A., et Tim E. Hardingham. 2010. « Notch Signaling during Chondrogenesis of Human Bone Marrow Stem Cells ». *Bone* 46 (2): 286-93. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2009.04.242>.
- O'Neill, Alex J., et Ian Chopra. 2004. « Preclinical Evaluation of Novel Antibacterial Agents by Microbiological and Molecular Techniques ». *Expert Opinion on Investigational Drugs* 13 (8): 1045-63. <https://doi.org/10.1517/13543784.13.8.1045>.
- Pan, Yingming, Kai Wang, Siqin Huang, et al. 2008. « Antioxidant Activity of Microwave-Assisted Extract of Longan (Dimocarpus Longan Lour.) Peel ». *Food Chemistry* 106 (3): 1264-70. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.033>.
- Park, Mi, et Jin Hong. 2016. « Roles of NF-κB in Cancer and Inflammatory Diseases and Their Therapeutic Approaches ». *Cells* 5 (2): 15. <https://doi.org/10.3390/cells5020015>.
- Patel, Kapil D., Zalike Keskin-Erdogan, Prasad Sawadkar, et al. 2024. « Oxidative Stress Modulating Nanomaterials and Their Biochemical Roles in Nanomedicine ». *Nanoscale Horizons* 9 (10): 1630-82. <https://doi.org/10.1039/d4nh00171k>.
- Paul, Debashri, et Sudarsan Neogi. 2019. « Synthesis, characterization and a comparative antibacterial study of CuO, NiO and CuO–NiO mixed metal oxide ». *Materials Research Express* 6 (5): 055004. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab003c>.
- Perreault, François, Abdallah Oukarroum, Silvia Pedroso Melegari, William Gerson Matias, et Radovan Popovic. 2012. « Polymer Coating of Copper Oxide Nanoparticles Increases

- Nanoparticles Uptake and Toxicity in the Green Alga *Chlamydomonas Reinhardtii* ». *Chemosphere* 87 (11): 1388-94. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.046>.
- Pfaller, M. A., et D. J. Diekema. 2007. « Epidemiology of Invasive Candidiasis: A Persistent Public Health Problem ». *Clinical Microbiology Reviews* 20 (1): 133-63. <https://doi.org/10.1128/cmr.00029-06>.
- Philippon, Alain, Guillaume Arlet, et Bogdan I. Iorga. 2022. « Bêta-lactamases BLSE de type CTX-M ». *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* 175: 256-65. <https://doi.org/10.3406/bavf.2022.71009>.
- Pidgeon, N., J. Porritt, et J. Ryan. 2004. *Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties*. The Royal Society&The Royal Academy of Engineering Édition. (Londres (Royaume-Uni)), The Royal Society&The Royal Academy of Engineering Édition. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://royalsociety.org/-/media/policy/publications/2004/9693.pdf>.
- Pietrzak, Tomasz K., Marek Wasiucioneck, et Jerzy E. Garbarczyk. 2021. « Towards Higher Electric Conductivity and Wider Phase Stability Range via Nanostructured Glass-Ceramics Processing ». *Nanomaterials* 11 (5): 1321. <https://doi.org/10.3390/nano11051321>.
- Pilet, Charles. 1975. *Bactériologie médicale et vétérinaire: systématique bactérienne*. Biologie appliquée. Doin.
- Poh, Tuang Yeow, Nur A'tikah Binte Mohamed Ali, Micheál Mac Aogáin, et al. 2018. « Inhaled Nanomaterials and the Respiratory Microbiome: Clinical, Immunological and Toxicological Perspectives ». *Particle and Fibre Toxicology* 15 (1): 46. <https://doi.org/10.1186/s12989-018-0282-0>.
- Punt, Simone, Emilie A. C. Dronkers, Marij J. P. Welters, et al. 2016. « A Beneficial Tumor Microenvironment in Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma Is Characterized by a High T Cell and Low IL-17+ Cell Frequency ». *Cancer Immunology, Immunotherapy* 65 (4): 393-403. <https://doi.org/10.1007/s00262-016-1805-x>.
- Ragupathi, C., J. Judith Vijaya, et L. John Kennedy. 2017. « Preparation, Characterization and Catalytic Properties of Nickel Aluminate Nanoparticles: A Comparison between Conventional and Microwave Method ». *Journal of Saudi Chemical Society* 21 (janvier): S231-39. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2014.01.006>.
- Rani, N., et K. Saini. 2022. « Biogenic Metal and Metal Oxides Nanoparticles as Anticancer Agent: A Review ». *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 1225 (1): 012043. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1225/1/012043>.
- Rasouli, Nahid, Maryam Movahedi, et Monir Doudi. 2017. « Synthesis and Characterization of Inorganic Mixed Metal Oxide Nanoparticles Derived from Zn–Al Layered Double Hydroxide and Their Antibacterial Activity ». *Surfaces and Interfaces* 6 (mars): 110-15. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2016.11.007>.

- Rathee, Garima, Antonio Puertas-Segura, Jeniffer Blair, Jyotsna Rathee, et Tzanko Tzanov. 2025. « Quantum Dots@layered Double Hydroxides: Emerging Nanocomposites for Multifaceted Applications ». *Progress in Materials Science* 150 (avril): 101403. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2024.101403>.
- Rawla, Prashanth, Tagore Sunkara, et Adam Barsouk. 2019. « Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors ». *Gastroenterology Review* 14 (2): 89-103. <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>.
- Reyhanoglu, Gizem, et Travis Smith. 2025. « Irinotecan ». In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554441/>.
- Rizwan, M., Aleena Shoukat, Asma Ayub, Bakhtawar Razzaq, et Muhammad Bilal Tahir. 2021. « Types and Classification of Nanomaterials ». In *Nanomaterials: Synthesis, Characterization, Hazards and Safety*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823823-3.00001-X>.
- Roberts, P. J., et C. J. Der. 2007. « Targeting the Raf-MEK-ERK Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade for the Treatment of Cancer ». *Oncogene* 26 (22): 3291-310. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210422>.
- Robicsek, Ari, Jacob Strahilevitz, George A. Jacoby, et al. 2006. « Fluoroquinolone-Modifying Enzyme: A New Adaptation of a Common Aminoglycoside Acetyltransferase ». *Nature Medicine* 12 (1): 83-88. <https://doi.org/10.1038/nm1347>.
- Rodilla, Verónica, Alberto Villanueva, Antonia Obrador-Hevia, et al. 2009. « Jagged1 Is the Pathological Link between Wnt and Notch Pathways in Colorectal Cancer ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (15): 6315-20. <https://doi.org/10.1073/pnas.0813221106>.
- Rodríguez-Martínez, J. M., C. Velasco, A. Briaes, I. García, M. C. Conejo, et A. Pascual. 2008. « Qnr-like Pentapeptide Repeat Proteins in Gram-Positive Bacteria ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61 (6): 1240-43. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn115>.
- Rosales, Carlos. 2018. « Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? ». *Frontiers in Physiology* 9 (février). <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>.
- Rozhdestvenskiy, Oleg Igorevich, Yaragudipati Sri Lalitha, Mohsin Ikram, et al. 2024. « Advances in Nanomaterials: Types, Synthesis, and Manufacturing Methods ». *E3S Web of Conferences* 588: 02005. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202458802005>.
- Samrot, Antony V., Sanjay Preeth Ram Singh, Rajalakshmi Deenadhayalan, Vinod Vincent Rajesh, Sathiyamoorthy Padmanaban, et Kamalakannan Radhakrishnan. 2022. « Nanoparticles, a Double-Edged Sword with Oxidant as Well as Antioxidant Properties—A Review ». *Oxygen* 2 (4): 591-604. <https://doi.org/10.3390/oxygen2040039>.

- Scaria, Joy, Raghavan U. M. Palaniappan, David Chiu, et al. 2008. « Microarray for Molecular Typing of Salmonella Enterica Serovars ». *Molecular and Cellular Probes* 22 (4): 238-43. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2008.04.002>.
- Schuell, B., T. Gruenberger, G. V. Kornek, et al. 2005. « Side Effects during Chemotherapy Predict Tumour Response in Advanced Colorectal Cancer ». *British Journal of Cancer* 93 (7): 744-48. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602783>.
- Schultz, M., J. P. Burton, et R. M. Chanyi. 2017. « Use of Bacillus in Human Intestinal Probiotic Applications ». In *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804024-9.00011-2>.
- Ševců, Alena, Yehia S. El-Temsah, Erik J. Joner, et Miroslav Černík. 2011. « Oxidative Stress Induced in Microorganisms by Zero-Valent Iron Nanoparticles ». *Microbes and Environments* 26 (4): 271-81. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME11126>.
- Shahid, S., S. A. Khan, W. Ahmad, U. Fatima, et S. Knawal. 2018. « Size-dependent Bacterial Growth Inhibition and Antibacterial Activity of Ag-doped ZnO Nanoparticles under Different Atmospheric Conditions ». *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 80 (01). <https://doi.org/10.4172/pharmaceutical-sciences.1000342>.
- Shang, Ziming, Qingke Yuan, Yanfeng Liu, Fubo Luan, Xiaoqiang An, et Ying Meng. 2025. « Positively Charged 3-D Interface Mediated Electrostatic Adsorption of Microorganisms for Enhanced Photocatalytic Disinfection ». *Separation and Purification Technology* 354 (février): 129419. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2024.129419>.
- Sharma, Ritika, Bhawna, Sanjeev Kumar, Poonam Singh, Akanksha Gupta, et Vinod Kumar. 2021. « Layered Double Hydroxide Nanomaterials: Biomedical Applications, Current Status and Challenges ». *Nano LIFE* 11 (03): 2130008. <https://doi.org/10.1142/S1793984421300089>.
- Sharma, Vandana, J. K. Sharma, Vishal Kansay, et al. 2023. « The Effect of Calcination Temperatures on the Structural and Optical Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Influence on the Photocatalytic Degradation of Leather Dye ». *Chemical Physics Impact* 6 (juin): 100196. <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2023.100196>.
- Shaw, James A. 2024. *Historical Diseases from a Modern Perspective: The American Experience*. 1st ed. 2024. Springer Nature Switzerland. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-52346-5>.
- Shekhawat, Deepshikha, Maximilian Vauth, et Jörg Pezoldt. 2022. « Size Dependent Properties of Reactive Materials ». *Inorganics* 10 (4): 56. <https://doi.org/10.3390/inorganics10040056>.
- Sherryna, Areen, et Muhammad Tahir. 2022. « Recent Developments in Layered Double Hydroxide Structures with Their Role in Promoting Photocatalytic Hydrogen Production: A Comprehensive Review ». *International Journal of Energy Research* 46 (3): 2093-140. <https://doi.org/10.1002/er.7335>.

- Shivshankar, Samyukta, Prachi S. Patil, Kedar Deodhar, et Atul M. Budukh. 2025. « Epidemiology of Colorectal Cancer: A Review with Special Emphasis on India ». *Indian Journal of Gastroenterology*, publication en ligne anticipée, février 10. <https://doi.org/10.1007/s12664-024-01726-8>.
- Shkodenko, Liubov, Ilia Kassirov, et Elena Koshel. 2020. « Metal Oxide Nanoparticles Against Bacterial Biofilms: Perspectives and Limitations ». *Microorganisms* 8 (10): 1545. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101545>.
- Shukla, Ritesh K., Ashish Badiye, Kamayani Vajpayee, et Neeti Kapoor. 2021. « Genotoxic Potential of Nanoparticles: Structural and Functional Modifications in DNA ». *Frontiers in Genetics* 12 (septembre): 728250. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.728250>.
- Simon, Derek P., et Gary D. Hammer. 2012. « Adrenocortical Stem and Progenitor Cells: Implications for Adrenocortical Carcinoma ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 351 (1): 2-11. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.12.006>.
- Singh, Neenu, Bryant Nelson, Leona Scanlan, Erdem Coskun, Pawel Jaruga, et Shareen Doak. 2017. « Exposure to Engineered Nanomaterials: Impact on DNA Repair Pathways ». *International Journal of Molecular Sciences* 18 (7): 1515. <https://doi.org/10.3390/ijms18071515>.
- Sirelkhatim, Amna, Shahrom Mahmud, Azman Seenii, et al. 2015. « Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism ». *Nano-Micro Letters* 7 (3): 219-42. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>.
- Slattery, Martha L., Abbie Lundgreen, Susan A. Kadlubar, Kristina L. Bondurant, et Roger K. Wolff. 2013. « JAK/STAT/SOCS-signaling Pathway and Colon and Rectal Cancer ». *Molecular Carcinogenesis* 52 (2): 155-66. <https://doi.org/10.1002/mc.21841>.
- Slavin, Yael N., Jason Asnis, Urs O. Häfeli, et Horacio Bach. 2017. « Metal Nanoparticles: Understanding the Mechanisms behind Antibacterial Activity ». *Journal of Nanobiotechnology* 15 (1): 65. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0308-z>.
- Slavin, Yael N., et Horacio Bach. 2022. « Mechanisms of Antifungal Properties of Metal Nanoparticles ». *Nanomaterials* 12 (24): 4470. <https://doi.org/10.3390/nano12244470>.
- Smati, Mounira, Olivier Clermont, Alexandre Bleibtreu, et al. 2015. « Quantitative Analysis of Commensal *Escherichia Coli* Populations Reveals Host-specific Enterotypes at the Intra-species Level ». *MicrobiologyOpen* 4 (4): 604-15. <https://doi.org/10.1002/mbo3.266>.
- Somasundaram, Gopi, Jayaprakash Rajan, et Justin Paul. 2018. « Effect of the Calcination Process on CdO–ZnO Nanocomposites by a Honey-Assisted Combustion Method for Antimicrobial Performance ». *Toxicology Research* 7 (5): 779-91. <https://doi.org/10.1039/C8TX00059J>.

- Sousa, Sílvia A., Joana R. Feliciano, Tiago Pita, et al. 2021. « Bacterial Nosocomial Infections: Multidrug Resistance as a Trigger for the Development of Novel Antimicrobials ». *Antibiotics* 10 (8): 942. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080942>.
- Spitzer, Eléonore, Pascale Cervera, Thierry André, et Romain Cohen. 2023. « Cibler HER2 dans le cancer colorectal ». *Bulletin du Cancer* 110 (4): 402-11. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2023.01.013>.
- Steinhagen, Emily, Arnold J. Markowitz, et José G. Guillem. 2010. « How to Manage a Patient with Multiple Adenomatous Polyps ». *Surgical Oncology Clinics of North America* 19 (4): 711-23. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2010.08.004>.
- Sullivan, Kelly D., Matthew D. Galbraith, Zdenek Andrysik, et Joaquin M. Espinosa. 2018. « Mechanisms of Transcriptional Regulation by P53 ». *Cell Death & Differentiation* 25 (1): 133-43. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.174>.
- Summer, Muhammad, Rimsha Ashraf, Shaukat Ali, et al. 2024. « Inflammatory Response of Nanoparticles: Mechanisms, Consequences, and Strategies for Mitigation ». *Chemosphere* 363 (septembre): 142826. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142826>.
- Suvarna, Kim S., Christopher Layton, et John D. Bancroft. 2019. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Eighth edition. Elsevier.
- Tangcharoen, Thanit, Jiraroj T-Thienprasert, et Chanapa Kongmark. 2019a. « Effect of Calcination Temperature on Structural and Optical Properties of MAI₂O₄ (M = Ni, Cu, Zn) Aluminate Spinel Nanoparticles ». *Journal of Advanced Ceramics* 8 (3): 352-66. <https://doi.org/10.1007/s40145-019-0317-5>.
- Tangcharoen, Thanit, Jiraroj T-Thienprasert, et Chanapa Kongmark. 2019b. « Effect of Calcination Temperature on Structural and Optical Properties of MAI₂O₄ (M = Ni, Cu, Zn) Aluminate Spinel Nanoparticles ». *Journal of Advanced Ceramics* 8 (3): 352-66. <https://doi.org/10.1007/s40145-019-0317-5>.
- Temple, Larissa K. F., Lillian Hsieh, W. Douglas Wong, Leonard Saltz, et Deborah Schrag. 2004. « Use of Surgery Among Elderly Patients With Stage IV Colorectal Cancer ». *Journal of Clinical Oncology* 22 (17): 3475-84. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.10.218>.
- Thakur, Aneesh, Heidi Mikkelsen, et Gregers Jungersen. 2019. « Intracellular Pathogens: Host Immunity and Microbial Persistence Strategies ». *Journal of Immunology Research* 2019 (avril): 1-24. <https://doi.org/10.1155/2019/1356540>.
- Tonelli, Domenica, Isacco Gualandi, Elisa Musella, et Erika Scavetta. 2021. « Synthesis and Characterization of Layered Double Hydroxides as Materials for Electrocatalytic Applications ». *Nanomaterials* 11 (3): 725. <https://doi.org/10.3390/nano11030725>.
- Torres-Vanegas, Julian D., Juan C. Cruz, et Luis H. Reyes. 2021. « Delivery Systems for Nucleic Acids and Proteins: Barriers, Cell Capture Pathways and Nanocarriers ». *Pharmaceutics* 13 (3): 428. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030428>.

- Tuomisto, Anne E., Markus J. Mäkinen, et Juha P. Väyrynen. 2019. « Systemic inflammation in colorectal cancer: Underlying factors, effects, and prognostic significance ». *World Journal of Gastroenterology* 25 (31): 4383-404. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i31.4383>.
- Turnbull. 1996. *Bacillus*. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology*. 4th ed. University of Texas Medical Branch.
- Tyagi, Ashish, Arun K. Sharma, et Chendil Damodaran. 2020. « A Review on Notch Signaling and Colorectal Cancer ». *Cells* 9 (6): 1549. <https://doi.org/10.3390/cells9061549>.
- Tzavlaki, Kalliopi, et Aristidis Moustakas. 2020. « TGF- β Signaling ». *Biomolecules* 10 (3): 487. <https://doi.org/10.3390/biom10030487>.
- Vahidnezhad, Hassan, Leila Youssefian, et Jouni Uitto. 2016. « Molecular Genetics of the PI3K-AKT-mTOR Pathway in Genodermatoses: Diagnostic Implications and Treatment Opportunities ». *Journal of Investigative Dermatology* 136 (1): 15-23. <https://doi.org/10.1038/JID.2015.331>.
- Van Boeckel, Thomas P., Sumanth Gandra, Ashvin Ashok, et al. 2014. « Global Antibiotic Consumption 2000 to 2010: An Analysis of National Pharmaceutical Sales Data ». *The Lancet Infectious Diseases* 14 (8): 742-50. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(14\)70780-7](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(14)70780-7).
- Verbsky, James W., Erika A. Bach, Yi-Fu Fang, Liping Yang, David A. Randolph, et Larry E. Fields. 1996. « Expression of Janus Kinase 3 in Human Endothelial and Other Non-Lymphoid and Non-Myeloid Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 271 (24): 13976-80. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.24.13976>.
- Veronese, Maria Luisa, et Peter J. O'Dwyer. 2004. « Monoclonal Antibodies in the Treatment of Colorectal Cancer ». *European Journal of Cancer* 40 (9): 1292-301. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2004.02.014>.
- Vogelstein, Bert, Eric R. Fearon, Stanley R. Hamilton, et al. 1988. « Genetic Alterations during Colorectal-Tumor Development ». *New England Journal of Medicine* 319 (9): 525-32. <https://doi.org/10.1056/NEJM198809013190901>.
- Von Bonin, Simone, Kroschinsky, Kroschinsky Kroschinsky, et al. 2017. « New Drugs, New Toxicities: Severe Side Effects of Modern Targeted and Immunotherapy of Cancer and Their Management ». *Critical Care* 21 (1): 89. <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1678-1>.
- Von Moos, Nadia, Paul Bowen, et Vera I. Slaveykova. 2014. « Bioavailability of Inorganic Nanoparticles to Planktonic Bacteria and Aquatic Microalgae in Freshwater ». *Environmental Science: Nano* 1 (3): 214. <https://doi.org/10.1039/c3en00054k>.
- Vychytilova-Faltejskova, Petra, et Ondrej Slaby. 2022. « Pathophysiology Roles and Translational Opportunities of miRNAs in Colorectal Cancer ». In *MicroRNA in Human Malignancies*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822287-4.00007-4>.

- Wahab, Bassam Ali Abed, Nur Ain Salehen, Mahmood Ameen Abdulla, et al. 2023. « Pinostrobin Attenuates Azoxymethane-Induced Colorectal Cytotoxicity in Rats through Augmentation of Apoptotic Bax/Bcl-2 Proteins and Antioxidants ». *SAGE Open Medicine* 11 (janvier): 20503121231216585. <https://doi.org/10.1177/20503121231216585>.
- Wahab, Shahid, Alishba Salman, Zaryab Khan, Sadia Khan, Chandran Krishnaraj, et Soon-Il Yun. 2023. « Metallic Nanoparticles: A Promising Arsenal against Antimicrobial Resistance—Unraveling Mechanisms and Enhancing Medication Efficacy ». *International Journal of Molecular Sciences* 24 (19): 14897. <https://doi.org/10.3390/ijms241914897>.
- Wang, Liming, Yasumitsu Hirano, Gregory Heng, et al. 2020. « Mucinous Adenocarcinoma as a High-Risk Factor in Stage II Colorectal Cancer: A Propensity Score-Matched Study from Japan ». *Anticancer Research* 40 (3): 1651-59. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14115>.
- Wang, Minghua, Qinglan Guo, Xiaogang Xu, et al. 2009. « New Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Gene, *qnrC*, Found in a Clinical Isolate of *Proteus Mirabilis* ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53 (5): 1892-97. <https://doi.org/10.1128/aac.01400-08>.
- Wang, Qiang, et Dermot O'Hare. 2012. « Recent Advances in the Synthesis and Application of Layered Double Hydroxide (LDH) Nanosheets ». *Chemical Reviews* 112 (7): 4124-55. <https://doi.org/10.1021/cr200434v>.
- Wang, Yandong, Fucheng Gao, Li Zhao, et al. 2024. « Enhancing Cancer Treatment via “Zn²⁺ Interference” with Zn-Based Nanomaterials ». *Coordination Chemistry Reviews* 500 (février): 215535. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215535>.
- Wang, Zhengdi, Tingting Hu, Ruizheng Liang, et Min Wei. 2020. « Application of Zero-Dimensional Nanomaterials in Biosensing ». *Frontiers in Chemistry* 8 (avril): 320. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00320>.
- Willey, Joanne M., Linda M. Sherwood, Christopher J. Woolverton, Jacques Coyette, Jean-Paul Joseleau, et Robert Perraud. 2018. *Microbiologie de Prescott*. 5e éd. De Boeck supérieur.
- Wu, Chuanqing, Xiaojie Zhu, Weizhen Liu, Tuo Ruan, et Kaixiong Tao. 2017. « Hedgehog Signaling Pathway in Colorectal Cancer: Function, Mechanism, and Therapy ». *OncoTargets and Therapy* Volume 10 (juin): 3249-59. <https://doi.org/10.2147/OTT.S139639>.
- Wu, Min, Xingang Liu, Hongzhen Bai, et al. 2019. « Surface-Layer Protein-Enhanced Immunotherapy Based on Cell Membrane-Coated Nanoparticles for the Effective Inhibition of Tumor Growth and Metastasis ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 11 (10): 9850-59. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b00294>.

- Wu, Y., et B. P. Zhou. 2010. « TNF- α /NF- κ B/Snail Pathway in Cancer Cell Migration and Invasion ». *British Journal of Cancer* 102 (4): 639-44.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605530>.
- Xia, Tian, Michael Kovochich, Jonathan Brant, et al. 2006. « Comparison of the Abilities of Ambient and Manufactured Nanoparticles To Induce Cellular Toxicity According to an Oxidative Stress Paradigm ». *Nano Letters* 6 (8): 1794-807.
<https://doi.org/10.1021/nl061025k>.
- YALA, D., A. S. MERAD, D. MOHAMEDI, et M. N. OUAR KORICH. 2001. « RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES ». *Médecine du Maghreb* n°91.
<https://www.santetropicale.com/Resume/9102.pdf>.
- Yan, Li, Sevil Gonca, Guangyu Zhu, Wenjun Zhang, et Xianfeng Chen. 2019. « Layered Double Hydroxide Nanostructures and Nanocomposites for Biomedical Applications ». *Journal of Materials Chemistry B* 7 (37): 5583-601.
<https://doi.org/10.1039/c9tb01312a>.
- Yang, Yiren, Pengyu Liu, Mingyang Zhou, et al. 2024. « Small-Molecule Drugs of Colorectal Cancer: Current Status and Future Directions ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1870 (1): 166880.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2023.166880>.
- Yao, Ayan, Hao Yang, Jun-Qiang Wang, et al. 2019. « Flexible Supercapacitor Electrodes Fabricated by Dealloying Nanocrystallized Al-Ni-Co-Y-Cu Metallic Glasses ». *Journal of Alloys and Compounds* 772 (janvier): 164-72.
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.09.090>.
- Yazbeck, Victor, , Jennifer Myers a, et al. 2022. « An Overview of Chemotoxicity and Radiation Toxicity in Cancer Therapy ». In *Advances in Cancer Research*, vol. 155. Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/bs.acr.2022.03.007>.
- Ying, Kangkang, Bingjun Bai, Xing Gao, Yuzi Xu, Hangxiang Wang, et Binbin Xie. 2021. « Orally Administrable Therapeutic Nanoparticles for the Treatment of Colorectal Cancer ». *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9 (juillet).
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.670124>.
- Yingkun Qiu, Yingjie Chen, Yupin Pei, Hisashi Matsuda, et Masayuki Yoshikawa. 2002. « Constituents with Radical Scavenging Effect from *Opuntia Dillenii*: Structures of New .ALPHA.-Pyrones and Flavonol Glycoside. » *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 50 (11): 1507-10. <https://doi.org/10.1248/cpb.50.1507>.
- Yu, Seungjin, Goeun Choi, et Jin-Ho Choy. 2023. « Multifunctional Layered Double Hydroxides for Drug Delivery and Imaging ». *Nanomaterials* 13 (6): 1102.
<https://doi.org/10.3390/nano13061102>.
- Zahed, Md Abu, Md Sharifuzzaman, Hyosang Yoon, et al. 2022. « A Nanoporous Carbon-MXene Heterostructured Nanocomposite-Based Epidermal Patch for Real-Time

- Biopotentials and Sweat Glucose Monitoring ». *Advanced Functional Materials* 32 (49): 2208344. <https://doi.org/10.1002/adfm.202208344>.
- Zaidi, Beddiaf, Moez Hajji, Tayeb Bouarroudj, et al. 2024. « Synthesis, Characterization, and Photocatalytic Performance of (Eu, Ni) Co-Doped ZnO Thin Films for Environmental Applications ». *Journal of Nano Research* 86 (décembre): 77-88. <https://doi.org/10.4028/p-Rbu5WL>.
- Zeggout, Yafa Nour El Imene, et Amina Berrached. 2025. *Heavy pathologies: A reflection on models of care and efficient management*. juin 1. file:///C:/Users/Sc/Desktop/correction%20de%20these/heavy-pathologies_-a-reflection-on-models-of-care-and-efficient-management.pdf.
- Zemke-White, W. L., K. D. Clements, et P. J. Harris. 2000. « Acid Lysis of Macroalgae by Marine Herbivorous Fishes: Effects of Acid pH on Cell Wall Porosity ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 245 (1): 57-68. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(99\)00151-3](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(99)00151-3).
- Zenger, Serkan, Bulent Gurbuz, Ugur Can, et al. 2019. « Clinicopathological Importance of Colorectal Medullary Carcinoma ». *European Surgery* 51 (6): 308-14. <https://doi.org/10.1007/s10353-019-00613-3>.
- Zhang, Hongfei, Fusen Zheng, Jiupeng Zhang, et al. 2024. « Contributions of Fourier-Transform Infrared Spectroscopy Technologies to the Research of Asphalt Materials: A Comprehensive Review ». *Fuel* 371 (septembre): 132078. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2024.132078>.
- Zhang, Mingzhen, et Didier Merlin. 2018. « Nanoparticle-Based Oral Drug Delivery Systems Targeting the Colon for Treatment of Ulcerative Colitis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 24 (7): 1401-15. <https://doi.org/10.1093/ibd/izy123>.
- Zhang, Wei-De, Yun-Min Zheng, Yang-Sen Xu, et al. 2013. « Preparation and Antibacterial Property of Waterborne Polyurethane/Zn–Al Layered Double Hydroxides/ZnO Nanocomposites ». *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 13 (1): 409-16. <https://doi.org/10.1166/jnn.2013.6912>.
- Zhang, Yaping, Huifang Xu, et Song Lu. 2021. « Preparation and Application of Layered Double Hydroxide Nanosheets ». *RSC Advances* 11 (39): 24254-81. <https://doi.org/10.1039/D1RA03289E>.
- Zhang, Zeying, Maoxiong Zhao, Meng Su, et al. 2022. « Self-Assembled 1D Nanostructures for Direct Nanoscale Detection and Biosensing ». *Matter* 5 (6): 1865-76. <https://doi.org/10.1016/j.matt.2022.03.013>.
- Zhao, Huakan, Lei Wu, Guifang Yan, et al. 2021. « Inflammation and Tumor Progression: Signaling Pathways and Targeted Intervention ». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 6 (1). <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00658-5>.

- Zhao, Xiaofei, Fazhi Zhang, Sailong Xu, David G. Evans, et Xue Duan. 2010. « From Layered Double Hydroxides to ZnO-Based Mixed Metal Oxides by Thermal Decomposition: Transformation Mechanism and UV-Blocking Properties of the Product ». *Chemistry of Materials* 22 (13): 3933-42. <https://doi.org/10.1021/cm100383d>.
- Zhao, Xuesong, Xin Ren, Rong Zhu, Zhouying Luo, et Baixiang Ren. 2016. « Zinc Oxide Nanoparticles Induce Oxidative DNA Damage and ROS-Triggered Mitochondria-Mediated Apoptosis in Zebrafish Embryos ». *Aquatic Toxicology* 180 (novembre): 56-70. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.09.013>.
- Zhor, Chouari, Lounis Wafaa, Imen Ghzaïel, et al. 2023. « Effects of Polyphenols and Their Metabolites on Age-Related Diseases ». *Biochemical Pharmacology* 214 (août): 115674. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115674>.
- Zhou, Jing, Qing Ji, et Qi Li. 2021. « Resistance to Anti-EGFR Therapies in Metastatic Colorectal Cancer: Underlying Mechanisms and Reversal Strategies ». *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 40 (1): 328. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02130-2>.
- Zhou, Ruize, Jia Lei, Yubo Wei, et Hongbin Zhang. 2021. « Chemoprotective Effects of Geraniin against Azoxymethane Induced Colorectal Cancer by Reduction of Inflammatory Reaction ». *Journal of Oleo Science* 70 (6): 817-25. <https://doi.org/10.5650/jos.ess21034>.
- Zhu, Zheng-Jiang, Vincent M. Rotello, et Richard W. Vachet. 2009. « Engineered Nanoparticle Surfaces for Improved Mass Spectrometric Analyses ». *The Analyst* 134 (11): 2183. <https://doi.org/10.1039/b910428c>.

Annexes

Annex 1 Caractéristiques des souches bactériennes et mycètes étudiées

Microorganisme	Habitat	Taxonomie	Caractères morphologiques	Caractères cultureux	Caractères biochimiques	Références
<i>Staphylococcus aureus</i>	Peau, nasopharynx, air, poussière, eaux usées, surfaces et aliments contaminés	Règne : <i>Bacteria</i> ; Phylum : <i>Firmicutes</i> ; Classe : <i>Bacilli</i> ; Ordre : <i>Bacillales</i> ; Famille : <i>Staphylococcaceae</i> ; Genre : <i>Staphylococcus</i>	Cocci à Gram positif en grappes, non sporulés, non mobiles	Croissance 7–48 °C (opt. 37 °C), pH 6–7, colonies dorées sur gélose, aéro-anaérobie facultative	Catalase +, coagulase +, oxydase –, mannitol +, indole –, uréase +	(Jfoster 2002; Bose et Bayles 2013; Abdelbary 2017; Engelkirk et al. 2020; Erkmen 2022)
<i>Bacillus</i> spp.	Sol, eau, produits végétaux	<i>Bacteria</i> → <i>Firmicutes</i> → <i>Bacilli</i> → <i>Bacillales</i> → <i>Bacillaceae</i>	Bacilles droits, sporulés, mobiles (périthriche), parfois capsulés	Temp. 28–40 °C (opt. 30–37 °C), spores très résistantes	VP +, glucose +, uréase –, citrate –, production d'enzymes et d'antibiotiques	(Turnbull 1996; Dromigny 2008; Demay 2009; Schultz et al. 2017)
<i>Escherichia coli</i>	Tube digestif des animaux à sang chaud, eaux usées, sol	<i>Bacteria</i> → <i>Proteobacteria</i> → <i>Gammaproteobacteria</i> → <i>Enterobacteriales</i> → <i>Enterobacteriaceae</i>	Bacille à Gram –, mobile (périthriche), non sporulé	Colonies rondes, lisses (2–3 mm), 37 °C, 24 h	Catalase +, oxydase –, glucose +, lactose +, indole +, uréase –, citrate –	(Gordon et Cowling 2003; Gueye 2007; Smati et al. 2015)

Annexes

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	tube digestif, voies respiratoires, sol, eau, végétaux	<i>Bacteria</i> → <i>Proteobacteria</i> → <i>Gammaproteobacteria</i> → <i>Enterobacteriales</i> → <i>Enterobacteriaceae</i>	Bacilles Gram –, immobiles, capsulés, non sporulés	Colonies muqueuses, lactose +, 30–37°C	Glucose + (gaz), oxydase –, catalase +, uréase +, citrate +	(Le Minor et Véron 1989; Brisse et Duijkeren 2005; El Fertas-Aissani et al. 2013)
<i>Salmonella</i> spp	Sol, eau, aliments secs, matières fécales, surfaces agricoles	<i>Bacteria</i> → <i>Proteobacteria</i> → <i>Gammaproteobacteria</i> → <i>Enterobacteriales</i> → <i>Enterobacteriaceae</i>	Bacilles droits, Gram –, mobiles (périthriche)	Croissance 5–47°C (opt. 35–37°C), pH 4.5–9	Nitrate réductase +, oxydase –, glucose +/-gaz, aéro-anaérobie facultative	(Le Minor et Popoff 1987; Korsak et al. 2004; Scaria et al. 2008)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Eau, sol, plantes, surfaces hospitalières, antiseptiques, tube digestif	<i>Bacteria</i> → <i>Proteobacteria</i> → <i>Gammaproteobacteria</i> → <i>Pseudomonadales</i> → <i>Pseudomonadaceae</i>	Bacille Gram –, flagelle polaire, non sporulé	5–42°C (opt. 30–37°C), pH 6.5–7.5, odeur florale, colonies pigmentées (pyocyanine, pyoverdine)	Oxydase +, nitrate réductase +, non fermentaire	(Pilet 1975; Lyczak et al. 2000; Denis et al. 2012)

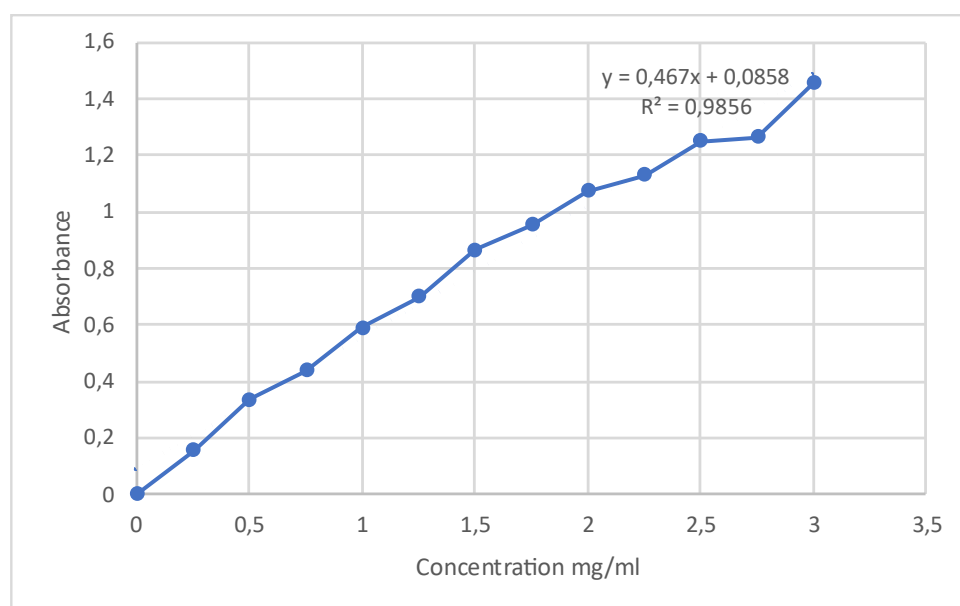
Annexes

<i>Acinetobacter baumannii</i>	Sol, eau, boues, surfaces hospitalières	<i>Bacteria</i> → <i>Proteobacteria</i> → <i>Gammaproteobacteria</i> → <i>Pseudomonadales</i> → <i>Moraxellaceae</i>	Coccobacilles Gram –, immobiles, non sporulés, parfois capsulés	Aérobie stricte, croissance 20–30°C	Oxydase –, catalase +, non fermentaire	(Bergogne-Bérézin et Towner 1996; Doughari et al. 2011; Nemec et al. 2011)
<i>Candida albicans</i>	Tube digestif de l'homme et des animaux, muqueuses, rarement environnement	<i>Fungi</i> → <i>Ascomycota</i> → <i>Hemiascomycètes</i> → <i>Saccharomycétales</i> → <i>Candidaceae</i>	Levure ovoïde (3,5–10 µm), bourgeonnement multilatéral, pseudo-hyphes, chlamydospores	Colonies blanches crémeuses à 37°C, pH 2.5–7.5, odeur de levure	Paroi riche en glucanes, mannoprotéines et chitine	(Buffo et al. 1984; Chaffin et al. 1998; Pfaller et Diekema 2007)

Annexe 2 : Dosage des protéines par la méthode de Bradford

Élément	Volume ajouté	Description
Blanc (contrôle)	50 µL de TBS	Mélangé avec le réactif de Bradford
Échantillon	50 µL de surnageant	Mélangé avec le réactif de Bradford
Réactif de Bradford	2,5 mL	Agitation au vortex, incubation 5 minutes à température ambiante, lecture à 595 nm

Annexe 3 : courbe d'étalonnage BSA



Annexe 4 : Dosage du MDA

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	375 µl
TBS	200 µl	150 µl
TCA-BHT	375 µl	375 µl
Agiter au vortex, puis centrifuger à 1000 tr/min pendant 10 minutes.		
Surnageant	400 µl	400 µl
HCl (0,6 M)	80 µl	80 µl
Tris-TBA	320 µl	320 µl
Agiter au vortex, incuber à 80 °C pendant 10 minutes, puis lire l'absorbance à 530 nm.		

Annexe 5 : Dosage des AOPP

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	200 µl
PBS (0,1 M, pH 7,4)	700 µl	500 µl
Incuber pendant 2 minutes		
KI (1,16 M)	100 µl	100 µl
Acide acétique glaciale	200 µl	200 µl
Agiter au vortex, puis lire l'absorbance à 340 nm		

Annexe 6 : Dosage du glutathion réduit (GSH)

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	200 µl
TBS	1000 µl	800 µl
Acide sulfosalicylique	200 µl	200 µl
Incuber 15 minutes dans un bain de glace, puis centrifuger à 1500 tr/min pendant 5 minutes		
Surnageant	500 µl	500 µl
Tris-EDTA (pH 8,6)	2000 µl	2000 µl
DTNB (0,01 M)	25 µl	25 µl
Agiter au vortex, puis lire l'absorbance à 412 nm.		

Annexe 7 : Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	200 µl
TBS	400 µl	200 µl
GSH (0,1 mM)	400 µl	400 µl
Incubation au bain-marie à 25 °C pendant 5 minutes		
H ₂ O ₂ (1,3 mM)	200 µl	200 µl
Repos pendant 10 minutes		
TCA (1 %)	1 ml	1 ml
Mettre le mélange 30 minutes dans la glace, puis centrifuger à 3000 tr/min pendant 10 minutes.		
Surnageant	480 µl	480 µl

Na₂HPO₄ (0,32 M)	2,2 ml	2,2 ml
DTNB (1 mM)	320 µl	320 µl
Agiter au vortex, incuber 5 minutes, puis mesurer l'absorbance à 412 nm.		

Annexe 8 : Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0 µl	20 µl
PBS (0,1 M, pH 7,4)	800 µl	780 µl
H₂O₂ (500 mM)	200 µl	200 µl
Lecture à 240 nm toutes les 15 secondes pendant 60 secondes		