

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB, BLIDA -1-
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

En Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Option : Parasitologie

Thème

**Contribution à l'étude de l'effet de *Lepidium sativum* traité
par les rayonnements gamma sur les protoscolex de
*Echinococcus granulosus***

Présenté par :

* HAMDI KHAOULA

*MOGHRANI LATIFA

Date de la soutenance :

15 /07/2021

Devant le jury :

*Nom	Grade	/Lieu	Qualité
Mme Makhlouf.C	MAA	USDB1	Présidente
Mr Bendjoudi Djamel	professeur	USDB1	Examineur
Mme Hadj Rabia Samia	Maitre de recherche	CRND	Promotrice
Mme Eddaikra Atika	MCB	USDB1	Co-promotrice
Mme Dabib Aicha	MCA	USDB1	Invité

2020-2021

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB, BLIDA -1-
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

En Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Option : Parasitologie

Thème

**Contribution à l'étude de l'effet de *Lepidium sativum* traité
par les rayonnements gamma sur les protoscolex de
*Echinococcus granulosus***

Présenté par :

* HAMDI KHAOULA

*MOGHRANI LATIFA

Date de la soutenance :

15 /07/2021

Devant le jury :

*Nom	Grade	/Lieu	Qualité
Mme Makhlouf.C	MAA	USDB1	Présidente
Mr Bendjoudi Djamel	professeur	USDB1	Examineur
Mme Hadj Rabia Samia	Maitre de recherche	CRND	Promotrice
Mme Eddaikra Atika	MCB	USDB1	Co-promotrice
Mme Dabib Aicha	MCA	USDB1	Invité

2020-2021

REMERCIEMENT

Avant tout propos, nous remercions "ALLAH" le tout puissant pour nous avoir donné de la force et de la volonté pour mettre au point et acheminer cette recherche.

Nous tiendrons tous d'abord à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères

Remerciements :

*A notre promotrice **Mme Hadj Rabia Samia**. Vous nous avez fait le grand honneur de nous encadrer. Votre gentillesse, votre modestie et vos qualités humaines n'ont rien d'égales que votre compétence qui mérite toute admiration.*

Vous nous avez toujours reçues avec une immense sympathie. Vous nous avez guidées avec vos conseils éclairés et vos précieuses remarques dans l'élaboration de ce sujet à chacune de ses étapes.

*A notre Co-promotrice **Mme Eddaikhra Atika** a codirigé, ce travail. Qu'elle soit assurée de notre gratitude pour avoir entrepris de nous transmettre son expérience et ses talents de rédaction. Nous sommes heureux d'avoir pu bénéficier de ses points de vue critiques, de son enthousiasme et de sa générosité. Sa participation a été essentielle à l'élaboration de ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de nos sincères remerciements.*

Merci à tous les membres du jury qui nous fait l'honneur de juger ce travail :

*A madame **Makhlouf.C** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, sincères remerciements.*

*A monsieur **Bendjoudi Djamel** qui a accepté de juger et d'examiner ce travail, sincères remerciements.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à notre invitée **Mme Dabib Aicha**, enseignante au niveau du département des sciences de la nature et de vie du centre universitaire Morsli Abdellah-Tipaza, pour nous avoir aidées à réaliser l'étude de l'activité antibactérienne, et pour son soutien, sa disponibilité, et sa gentillesse.*

Nous tenons aussi à remercier tout le personnel du Centre de Recherche Nucléaire de Draria, qui nous a aidées tout au long de notre travail et qui a contribué activement à la réussite de celui-ci.

Enfin, nous remercions tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

C'est avec immense fierté et respect que je dédie ce modeste travail :

*A ceux qui donnent un sens à mon existence, à la lumière de mes yeux en témoignage de votre affection et de votre amour, pour votre patience et votre soutien pendant tous les moments que j'ai traversé, A ma très chère **mère Zahia** et Mon très cher **père Youssef**.*

*Que **DIEU** vous protège et vous garde*

*A mon fiancé **Mohamed** qui m'a beaucoup encouragée et m'a soutenue tout le long de ce travail jusqu'au dernier point. Merci de m'avoir montré beaucoup de patience durant les moments les plus stressants.*

*A mes chères frères : **Ibrahim, Abdellah, Maamoun, et Abdessamed**.*

*A mes chères sœurs : **Leila, Alia, et Fatima Zahra**.*

*A ma chère amie et mon binôme : **Latifa***

*A mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de L'espoir : **Meriem, Nihad**.*

A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Khaoula

Dédicace

C'est avec immense fierté et respect que je dédie ce modeste travail :

*A ceux qui donnent un sens à mon existence, à la lumière de mes yeux en témoignage de votre affection et de votre amour, pour votre patience et votre soutien pendant tous les moments que j'ai traversé, A ma très chère **mère Karima** et Mon très cher **père Mohamed**.*

*Que **DIEU** vous protège et vous garde.*

*A mon fiancé **Emrah** qui m'a beaucoup encouragée et m'a soutenue tout le long de ce travail jusqu'au dernier point. Merci de m'avoir montré beaucoup de patience durant les moments les plus stressants.*

*A mon cher frère : **Othmen***

*A mes chères sœurs : **Ibtihel, et Ikram**.*

*A ma chère amie et mon binôme : **Khaoula***

*A mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de L'espoir : **Meriem, Nihad, Amel, Youssef et Ayoub***

A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Latifa

TABLE DE MATIERE

RESUMES
LISTE DES ABREVIATIONS
LISTE DES FIGURES
LISTE DES TABLEAUX
GLOSSAIRE

Introduction	1
Partie A : Étude bibliographique	
I- Généralités sur la plante <i>Lepidium sativum</i>	5
I-1- Noms communs du <i>Lepidium sativum</i>	5
I-2- Origine et répartition géographique du <i>Lepidium sativum</i>	5
I-3- Classification taxonomique de <i>Lepidium sativum</i>	6
I-3-1- La famille Brassicaceae	7
I-3-2- Le genre <i>Lepidium</i>	7
I-3-3- L'espèce <i>Lepidium sativum</i>	7
I-4- Description de la plante <i>Lepidium sativum</i>	7
I-4-1- Les feuilles	8
I-4-2- Les fleurs	8
I-4-3- Le fruit	9
I-4-4- Tige	9
I-5- Description des graines de <i>Lepidium sativum</i>	10
II- Métabolites secondaires	11
II-1- Définition	11
II-2- Classification des métabolites secondaires	11
II-2-1- Les composés phénoliques	12
II-2-2- Les composés Terpénoides.....	15
II-2-3- Les alcaloïdes	16
II-3- Amélioration de production de métabolites secondaires	16
II-3-1- Rayonnements gamma	17
III- Les activités biologiques de <i>Lepidium sativum</i>	19

III-1- Activité antimicrobienne	19
III-2- Activité antioxydante.....	19
III-3- Activité antiparasitaire	19
Étude sur la maladie Echinococcose kystique	19
1-1- Définition.....	19
1-2- La répartition géographique	19
1-3- Signes cliniques	20
1-4- Diagnostic.....	21
1-4-1 Imagerie médicale	21
1-4-2- Diagnostic biologique	21
1-5- Traitement.....	21
1-5-1- Traitement médical	21
1-5-2- Traitement chirurgical.....	21
1-6- Prophylaxie.....	22
Étude sur le parasite	22
2-1- Définition.....	22
2-2- Systématique.....	22
L'adulte	24
La larve.....	24
L'œuf (embryophores)	27
2-3- Nutrition du parasite.....	27
2-4- Le cycle.....	28

Partie B : Étude expérimentale

Matériels et méthodes.....	31
1- Matériels.....	31
1-1- Matériels végétaux.....	31
1-2- Matériel biologique	31
1-3- Les souches microbiennes	32
1-4- Matériels de laboratoire.....	33
2- Méthode	34
2-1- Préparation des graines de <i>Lepiduum sativum</i> pour l'irradiation.....	34
2-2- L'irradiation les graines de <i>Lepiduum sativum</i>	34

2-3- Plantation.....	36
2-4- Préparation des extraits méthanoliques des graines de <i>Lepidium sativum</i> ...	36
2-5- Le test phytochimique	38
Flavonoïde.....	38
Alcaloïde	38
Tanins.....	38
Quinones libres	38
Coumarins	38
Saponines	38
2-6- Analyse quantitative des composés phénoliques	39
2-6-1- Dosage des polyphénols totaux.....	39
2-6-2- Dosage de Flavonoïdes totaux	39
2-7- Évaluation de l'Activité antioxydante.....	40
2-8- Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait.....	41
2-8-1- Préparation des milieux de culture.....	41
2-8-2- Test de l'activité antibactérienne	42
2-9- Evaluation de l'activité antiparasitaire de l'extrait.....	43
Résultat et Discussion	45
1- Plantation des graines irradiées.....	45
2- Rendement de l'extrait méthanolique	46
3- Tests phytochimique	47
4- Analyse quantitative des composés phénoliques.....	49
5- Évaluation de l'Activité antioxydante	51
6- Évaluation de l'activité antibactérienne.....	53
7- Évaluation de l'activité antiparasitaire	55
Conclusion.....	58

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RESUME

L'objectif principal de cette étude porte sur l'évaluation des activités biologiques à savoir l'effet antioxydant et anti-infectieux (particulièrement l'effet antiparasitaire) de l'extrait des graines de *Lepidium sativum* préalablement irradiées par les rayonnements gamma. L'extrait des graines soumises à différentes doses d'irradiation (0.4, 0.8, 1.2, 1.4 kGy) a été caractérisé par une analyse phytochimique et un dosage colorimétrique des composés phénoliques. Le potentiel antioxydant de cet extrait a été évalué par le test de piégeage du radical libre DPPH. Quant à l'activité antibactérienne et antiparasitaire, cette étude s'est limitée uniquement à l'effet de l'extrait contre 5 souches bactériennes pour des raisons d'indisponibilité des protoscolex à un niveau de viabilité requis pour la réalisation du test.

Le résultat de l'effet des rayonnements gamma sur les graines a révélé une augmentation du rendement d'extraction en fonction de la dose appliquée. L'analyse qualitative de l'extrait a permis d'identifier certain nombre de constituants chimiques à savoir les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, ...

En outre, l'analyse quantitative a mis en évidence une augmentation dans la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes sous l'effet des radiations.

Comme le taux de viabilité des parasites (protoscolex) était inférieur à 90% (26.3%) et insuffisant pour pouvoir étudier l'activité antiparasitaire, l'étude s'est limitée seulement à l'évaluation de l'activité antimicrobienne. Cette dernière a été améliorée par les rayonnements gamma en révélant des zones d'inhibition augmentées pour toutes les souches à l'exception d'*E coli*.

Mots clés : *Lepidium sativum* ; Activité antioxydante ; activité antibactérienne ; rayonnement gamma ; protoscolex.

SUMMARY

The main purpose of the following research is to evaluate the biological activities, namely the antioxidant and anti-infective effect (particularly the antiparasitic effect) of the extract of *Lepidium sativum* seeds previously irradiated with gamma radiation. The seed extract submitted to different portions of irradiation (0.4, 0.8, 1.2, 1.4 kGy) was characterized by phytochemical analysis and colorimetric determination of phenolic compounds. The antioxidant potential of this extract was evaluated by the DPPH free radical scavenging test. As for the antibacterial and antiparasitic activity, this study was restrained to the effect of the extract against 5 bacterial strains for reasons of unavailability of the protoscolex at a level of viability required for the performance of the test.

The result of the effect of gamma radiation on the seeds showed an increase in extraction yield depending on the dose applied. The qualitative analysis of the extract made it possible to identify a number of chemical constituents, namely flavonoids, alkaloids, tannins, etc.

Moreover, quantitative analysis revealed an increase in the content of total polyphenols and flavonoids under the influence of radiation.

Because the rate of the parasites (protoscolex) was less than 90% (26.3%) and insufficient to analyse the antiparasitic activity, the study was only limited to the evaluation of the antimicrobial activity. The last-mentioned was improved by gamma radiation revealing zones where all strains were blocked except "coli".

Keywords: *Lepidium sativum*; Antioxidant activity; antibacterial activity; gamma radiation; protoscolex.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة البيولوجية، وهي تأثير مضادات الأكسدة ومضادات العدوى (خاصة تأثير مضادات الطفيليات) لمستخلص بذور الرشاد "*Lepidium sativum*" التي سبق أن تعرضت لأشعة جاما. تميز مستخلص البذور المعرض لجرعات مختلفة من الإشعاع (0.4، 0.8، 1.2، 1.4 كيلو غري) بالتحليل الكيميائي النباتي والتحديد اللوني للمركبات الفينولية. تم تقييم إمكانات مضادات الأكسدة لهذا المستخلص من خلال اختبار إزالة الجذور الحرة DPPH. أما بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا والطفيليات، فقد اقتصر هذا البحث على تأثير المستخلص ضد 5 سلالات بكتيرية فقط وهذا يعود لأسباب عدم توفر البروتوسكولاكس بالمستوى المرغوب للقيام بالاختبار.

أظهرت نتيجة تأثير أشعة جاما على البذور زيادة في كمية الاستخلاص اعتماداً على الجرعة المطبقة. سمح التحليل النوعي للمستخلص بتحديد مجموعة من المكونات الكيميائية مثل مركبات الفلافونويد، والقلويدات، والعفص، إلخ.

بالإضافة إلى أن التحليل الكمي أظهر زيادة في محتوى إجمالي البولي فينول والفلافونويد تحت تأثير الإشعاع. وبما أن معدل بقاء الطفيليات (protoscolex) كان أقل من 90% (26.3%) وغير كافٍ لدراسة النشاط المضاد للطفيليات، فقد اقتصرَت الدراسة على تقييم النشاط المضاد للميكروبات. كما أنه تم تحسين هذا الأخير عن طريق أشعة جاما التي كشفت عن مناطق زيادة التنشيط لجميع السلالات باستثناء الإشريكية القولونية.

الكلمات الرئيسية: *Lepidium sativum*؛ نشاط مضاد للأكسدة؛ نشاط مضاد للبكتيريا؛ أشعة جاما؛ البروتوسكولاكس.

LISTE D'ABREVIATION

ATCC: American Type Culture Collection

CO: Cobalt

DMSO: diméthyl-sulfoxyde

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl

EAG/g : Equivalent d'acide gallique par gramme

EQ/g : Equivalent de quercétine par gramme de matière sèche

FeCl₃ : Chlorure ferrique

GAE : équivalents d'acide gallique

HCl : Acide chlorhydrique

KOH : Hydroxyde de Potassium

Na₂CO₃ : Carbone de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

QE : Equivalents de Quercétine

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : L'agriculture pratiquée par les anciens Perses	5
Figure 2 : Carte géographique d'emplacements <i>L.sativum</i> dans le monde	6
Figure 3 : la plante <i>Lepidium sativum</i>	8
Figure 4 : Les feuilles de <i>Lepidium sativum</i>	8
Figure 5 : Les fleurs de <i>Lepidium sativum</i>	9
Figure 6 : Les fruits de <i>lepidium sativum</i>	9
Figure 7 : La tige de <i>Lepidium sativum</i>	10
Figure 8 : Les graines de <i>Lepidium sativum</i>	10
Figure 9 : Voies du métabolisme secondaire des plantes	11
Figure 10 : Représentation schématique de la classification des composés phénoliques	12
Figure 11 : Unité de base de polyphénole « phynole »	12
Figure 12 : La structure de flavonoïdes	13
Figure 13 : La structure des tannins	14
Figure 14 : La structure de quinones	14
Figure 15 : La structure de coumarines	15
Figure 16 : Structure de base de l'isoprène	15
Figure 17 : Distribution géographique de l'Échinococcose kystique dans le monde	21
Figure 18 : Ver adulte d' <i>Echinococcus granulosus</i>	26
Figure 19 : Forme larvaire d' <i>Echinococcus granulosus</i>	27
Figure 20 : Les protoscolex.....	29
Figure 21 : L'œuf d' <i>Echinococcus granulosus</i>	30
Figure 22 : contamination de l'homme par <i>Echinococcus granulosus</i>	31
Figure 23 : Cycle de vie de l' <i>Echinococcus granulosus</i>	31
Figure 24 : graines de <i>L. sativum</i> (a) poudre des graines de <i>L. sativum</i> (b).....	31
Figure 25 : kyste hydatique de foie animal(a) et de poumon humain(b)	31
Figure 26 : graines de <i>Lepidium sativum</i> conditionnées dans des sachets	34
Figure 27 : Schéma de l'irradiation pilote de CRNA	35
Figure 28 : plantation des graines de <i>Lepidium sativum</i>	36
Figure 29 : Protocole de préparation de l'extrait méthanolique des graines de <i>lepidium sativum</i>	37
Figure 30 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH•entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)	40

Figure 31: Préparation des précultures	41
Figure 32 : Préparation des suspensions bactériennes.....	41
Figure 33 : Étaler les suspension à deux reprises	42
Figure 34 : Disposition des disques.....	42
Figure 35 : Ponction du kyste hydatique de foie animal(a) et de poumon humain(b)	43
Figure 36 : Résultats de <i>Lepidium sativum</i> cultivé après 4 jours (a) après 7 jours (b) après 10 jours de plantation	45
Figure 37 : L'extrait lyophilisé des graines de <i>Lepidium sativum</i>	40
Figure 38 : Dosage des polyphénols (a) et de flavonoïde(b).....	43
Figure 39 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique(a) et de quercétine (b).....	43
Figure 40: Activité antioxydante	46
Figure 41 : Activité de piégeage des extraits des graines irradiées et non irradiées sur le radical DPPH.....	46
Figure 42 : observation microscopique. (a) absence de protoscolex (b) protoscolex dans des vésicules proligères.	50
Figure 43 : Observation microscopique des protoscolex colorés à l'éosine après	50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Comparaison de l'amélioration des métabolites secondaires par différents stimulateurs	17
Tableau II : Augmentation de la production de métabolites secondaires (composés phénoliques, terpénoïdes et alcaloïdes) par irradiation γ dans différentes matières végétales, semis, fruits, cultures de cals, racines velues et cultures en suspension.....	18
Tableau III : Les symptômes et les signes de l'Echinococcus granulosus	22
Tableau IV : Caractéristiques parasitologique et épidémiologique de différentes sous-espèces d'Echinococcus granulosus	25
Tableau V : souches microbiennes utilisé.....	32
Tableau VI : différents appareillages utilisés.	33
Tableau VII : Irradiation des graines Lepidium sativum.....	35
Tableau VIII : Rendement de l'extraction méthanolique	41
Tableau IX : Analyse phytochimique des extraits méthanoliques de lepidium sativum	42
Tableau X : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques desgraines de Lepidium sativuma exposées aux rayonnements gamma.....	44
Tableau XI : Etude de l'activité inhibitrice d'extraits des graines de Lepidium sativum	47

GLOSSAIRE

Rayonnement : Emission par une substance nucléaire, production lors de l'utilisation d'une substance nucléaire ou d'un dispositif électronique, d'une particule atomique ou subatomique ou d'une onde électromagnétique possédant suffisamment d'énergie pour produire une ionisation.

Dose de l'irradiation : est la quantité d'énergie transmise par les rayonnements dans l'organe ou tissu touché.

Curie (Ci) : Ancienne unité servant à définir l'intensité de la radioactivité dans un échantillon de matière. La curie correspond à 37 milliards ($3,7 \times 10^{10}$) désintégrations par seconde, ce qui représente approximativement à l'activité d'un gramme de radium.

Désintégration : Diminution dans le temps de la quantité de matière radioactive, par suite de l'émission spontanée par les noyaux atomiques de particules alpha ou bêta; cette émission s'accompagne souvent d'un rayonnement gamma.

ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) : Désigne les méthodes immunologiques d'analyse faisant appel à des antigènes ou à des anticorps, marqués par une enzyme dont l'activité permet d'obtenir une réaction colorée, mesurable quantitativement.

Hemagglutination passive (HAP) : C'est une technique de diagnostic indirecte permettant une réaction séroimmunologique entre les hématies formolées et sensibilisées à l'Ag hydatique et des dilutions croissantes des sérums à tester.

Hermaphrodite : Une espèce dans lequel un organisme contient deux séries d'organes sexuels.

Immunodiffusion : Techniques basées sur la précipitation d'antigène et d'anticorps après diffusion dans un milieu semi-solide.

Immunoélectrophorese : Technique combinant une électrophorèse suivie d'une immunodiffusion.

Immunofluorescence : Technique utilisant un anticorps couplé à un fluorochrome (habituellement l'isothiocyanate de fluorescéine). L'émission de fluorescence permet de détecter l'anticorps fixé sur l'antigène.

Isotopes : atomes d'un même élément chimique dont les noyaux ne contiennent pas le même nombre de neutrons.

Période radioactive (T) : La période physique ou radioactive est le temps nécessaire à une réduction de moitié de l'activité d'un radio-isotope donné par rapport à sa valeur initiale.

Radioactivité : Nombre de désintégrations (transformations) ou dégradations d'une matière radioactive par unité de temps. Les unités d'activité sont le Becquerel (Bq) et la Curie (Ci).

Radioisotope : Élément, naturel ou artificiel, possédant une radioactivité; c'est-à-dire la propriété de se transformer en un autre élément en émettant par modification du noyau de son atome des

rayonnements corpusculaires (particules X ou β , ou électrons) ou électromagnétiques. Voir aussi radio-isotope.

Rayonnement bêta (β) : Il s'agit d'électrons se déplaçant à haute vitesse. Ce rayonnement est arrêté par une plaque de plexiglas de 1 cm d'épaisseur. Dans les fabriques de papier, on mesure souvent l'épaisseur des feuilles à l'aide de sources de rayonnement β .

Rayonnement gamma (γ) : Il s'agit d'ondes électromagnétiques, comme la lumière, mais possédant une très grande énergie. Les rayons γ sont émis par le noyau de l'atome. Le rayonnement γ est en général très pénétrant. A titre d'exemple d'utilisation du rayonnement γ , citons la radiographie de soudures et la radiothérapie médicale.

Rayonnement ionisant : caractérise les particules alpha, bêta, les rayons gamma, les rayons x, les neutrons, les électrons à haute vitesse, les protons à haute énergie et autres particules susceptibles de générer des paires d'ions.

INTRODUCTION

Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps.

La richesse de l'Algérie en plantes aromatiques et médicinales fait que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique « appliqué » dans le domaine de la valorisation des substances naturelles (Graham et al., 2000; Bnouham et al., 2002; Gonzalez-Tejero et al., 2008; Lekouaghet et al., 2020). Elles sont utilisées dans un large champ d'application notamment dans le domaine cosmétiques, pharmaceutiques, nutritionnels....

Parmi les nombreuses plantes médicinales, nous avons sélectionné l'espèce végétale *Lepidium sativum*. Cette dernière est considérée une plante de choix vue sa valeur nutritionnelle et médicinale prouvée par des études approfondies (Falana et al., 2014). Cette plante est connu sous le nom de cresson de jardin, ou Hab Rched, appartenant à la famille des Brassicacées (Gokavi et al., 2004).

Plusieurs travaux ont été consacrés pour étudier les bienfaits de *Lepidium sativum* et ont pu mettre en valeur ses effets biologiques notamment l'effet antioxydant et l'effet anti-infectieux (antibactérien et antiparasitaire).

Les métabolites secondaires représentent l'un des composants essentiels de cette plante, jouant un rôle très important dans ces actions biologiques. Ils représentent aussi des adaptations chimiques à un large éventail de conditions de stress environnemental où ils peuvent servir comme agents chimiques défensifs contre les facteurs externes (stress biotique et abiotique). Parmi les facteurs abiotiques, le traitement par les rayonnements gamma s'avère important dans l'amélioration du rendement des métabolites secondaires des plantes (El-Beltagi et al., 2011; Jan et al., 2011; Fulzele et al., 2015; Khalil et al., 2015; Said-Al Ahl et al., 2015; Ashouri et al., 2016; Vardhan & Shukla, 2017).

L'objectif principal de cette étude consiste à explorer l'effet de diverses doses d'irradiation gamma sur la composition chimique de l'extrait méthanolique des graines de *lepidium sativum* et sur son activité antioxydante et anti-infectieuse à savoir l'effet antibactérien et antiparasitaire. Pour ce dernier, notre choix s'est porté sur un parasite d'un ténia du *Echinococcus granulosus* (Ripoche, 2009) qui est responsable d'une maladie kystique Echinococcose hydatique est une anthroponose qui survient dans le monde entier et entraîne de pertes économiques considérables et des problèmes de santé publique dans de nombreux pays (Getachew et al., 2012).

Pour ce faire, nous avons été menés à :

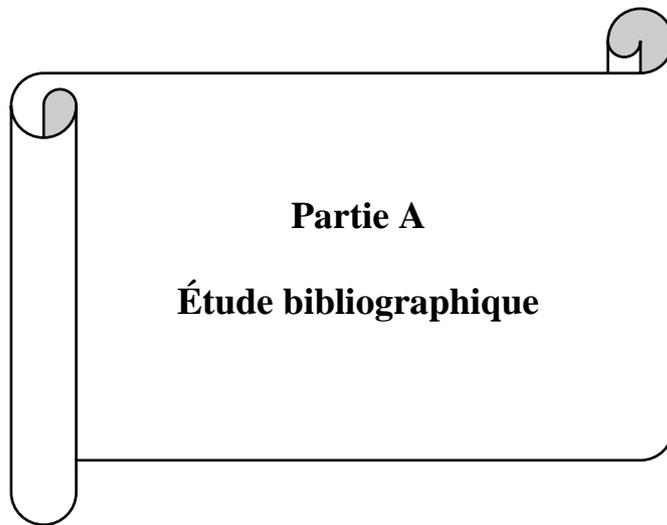
- L'irradiation des graines de *Lepidium sativum*
- Préparation des extraits méthanoliques à partir de ces graines
- Etude des effets biologiques notamment l'effet antiparasitaire (effet sur les protoscolex)

Pour cela, un plan de travail a été suivi comme suit :

Une étude bibliographique, basée sur une description botanique générale de l'espèce *Lepidium sativum*, l'effet des rayonnements gamma sur l'amélioration de la production de métabolites secondaires et quelques généralités sur le parasite *Echinococcus granulosus*.

Une partie expérimentale a été consacrée à la description du matériel utilisé, à la méthodologie suivie et à la présentation et discussion des résultats

Enfin, une conclusion où les principaux résultats ont été ressortis.



Chapitre I :

Généralités sur la plante « *Lepidium sativum* »

I- Généralités sur la plante *Lepidium sativum*

I-1- Noms communs du *Lepidium sativum*

Le nom des espèces végétales est différencié d'une région à l'autre. Le type botanique de *Lepidium sativum* a plusieurs noms qui sont représentés comme suit :

Nom scientifique : *Lepidium sativum* (Prajapati et al., 2014)

Nom commun :

En arabe : حب الرشاد ou Hab Rchad (Chatoui et al., 2016)

En français : Cresson Alénois (Girmay et al., 2014)

En anglais : Garden Cress (Behrouzian et al., 2014)

En Inde : Asaliyo ou Chandrasoor (Prajapati et al., 2014)

Nom local : حب الرشاد

I-2- Origine et répartition géographique du *Lepidium sativum*

La plante *Lepidium sativum* était connue depuis l'Antiquité en Grèce et en Italie, peut-être aussi en Egypte (Behrouzian et al., 2014) (Figure1). Certains scientifiques disent que son origine a commencé en Éthiopie et ensuite distribuée dans diverses parties du monde. D'autres disent qu'elle a commencé à partir de l'Asie du sud-ouest et s'est ensuite répandue en Europe occidentale (Xénophon 400 avant JC). *Lepidium sativum* était célébré à l'époque romaine et grecque dans leurs banquets (Falana et al., 2014).

Les musulmans l'utilisaient également pour tuer le réchauffement de l'estomac, et la méditerranée l'utilisait pour protéger les des insectes et de ravageurs (Falana et al., 2014).



Figure 1 : L'agriculture pratiquée par les anciens Perses (Girmay et al., 2014)

À l'heure actuelle, il est cultivé partout dans le monde (Figure 2), y compris la plupart des pays africains, principalement à petite échelle comme en Asie occidentale (Kadam et al., 2012). Il pousse au Moyen-Orient, en Europe, aux États-Unis (Karazhiyan et al., 2011), région méditerranéenne, en Asie occidentale et centrale et dans certaines parties de l'Amérique du Nord (Prajapati et al., 2014).



Figure 2 : Carte géographique d'emplacement de *L. sativum* dans le monde (Gregory, 2007)

Lepidium sativum peut être cultivé à toutes les latitudes, tout au long de l'année, mais la meilleure récolte est obtenue en hiver (Prajapati et al., 2014). Il pousse bien dans les régions semi-arides et ne nécessite pas beaucoup d'engrais, ses graines peuvent être récoltées en 70 - 90 jours pour donner 800 - 1000 kg/ha (Diwakar et al., 2008).

I-3- Classification taxonomique de *Lepidium sativum*

Taxonomique du *Lepidium sativum* (Raval, 2016) :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Super-phylum	Spermatophyta
Phylum	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Brassicaceae
Genre	<i>Lepidium</i>
Espèce	<i>Lepidium Sativum</i>

I-3-1- La famille Brassicaceae

Lepidium sativum (Cresson de jardin) est une plante herbacée annuelle, appartient aux crucifères (Brassica) famille (Diwakar et al., 2008).

Les Brassicaceae sont l'une des plus grandes familles de plantes composées d'environ 300 génériques et 1500 espèces, qui sont des plantes à usage alimentaire et médicinales. La famille des Brassicaceae était représentée en Egypte par 53 genres et 103 espèces, les plus courantes sont Anstatica, Arabis, Diplotaxis, Zilla et Lépidium (Prajapati et al., 2014).

I-3-2- Le genre *Lepidium*

C'est l'un des genres les plus représentés de la famille des Brassicacées. Le genre *Lepidium* comprend plusieurs espèces d'environ 175 espèces poussant principalement dans des climats chauds (Prajapati et al., 2014).

Il semble que celui-ci soit originaire du bassin méditerranéen, où la plupart des espèces diploïdes ont été trouvées (Dupont, 2004).

Lepidium est la transcription du grec lepidion qui signifie petite coquille. Ce sont des plantes annuelles, vivaces ou sous-ligneuse, à fleurs petites, blanches, rose ou violacées, caractérisées par la silicule déhiscente, à loge renfermant une ou rarement deux graines (Bassaid Oulhadj & Zermane, 2020).

I-3-3- L'espèce *Lepidium sativum*

Lepidium sativum est le nom botanique du cresson alénois (ou passerage cultivée), une plante médicinale bien connue (Dupont, 2004).

Il a un goût caractéristique, piquant (piquant) et un arôme proche du poivre noir. Ses précieuses propriétés nutritionnelles ne sont conservées que pendant une courte période dans la phase de jeunes pousses (Michalczyk et al., 2011).

Il est utilisé comme plante ornementale et ses plantes comme source de salade (Girmay et al., 2014).

I-4- Description de la plante *Lepidium sativum*

Lepidium sativum est une plante comestible à croissance rapide. C'est une plante herbacée annuelle érigée, glabre, atteignant 15–45 cm de hauteur. Il a de nombreuses branches sur la partie supérieure (Prajapati et al., 2014) (Figure 3).



Figure 3 : la plante *Lepidium sativum* (Hassan & Umar, 2012)

I-4-1- Les feuilles

Les Feuilles de *Lepidium sativum* alternes, irrégulièrement pennées, jusqu'à 12 cm × 9 cm; pétiole jusqu'à 4 cm de long; folioles 5–11, à contour ovale ou obovale, pennatisée, les derniers lobes généralement irrégulièrement dentés, légèrement poilus dessus, glabres dessous, folioles des feuilles supérieures devenant progressivement linéaires, feuilles supérieures généralement simples et linéaires, parfois lobées ou avec des dents (Kadam et al., 2012) (Figure 4).



Figure 4: Les feuilles de *Lepidium sativum* (Fohama & Bouregaa, 2020)

I-4-2- Les fleurs

Les fleurs de *Lepidium sativum* sont bisexuées, régulières, 4 mères, pédicelles de 1,5–4,5 mm de long, ascendantes ; les sépales sont ovales, de 1–2 mm de long ; les pétales sont spatulés à griffe courte, jusqu'à 3 mm de long, blancs ou rose pâle ; les anthères sont généralement violacées (Falana et al., 2014) (Figure 5).



Figure 5 : Les fleurs de *Lepidium sativum* (Prajapati et al., 2014)

I-4-3- Le fruit

Les fruits de *Lepidium sativum* silique ronde ou ovale, aplatie de 4–6 mm × 3–5,5 mm, vert pâle à jaunâtre, bords ailés, apex émarginé, déhiscent par 2 valves, contenant généralement 2 graines (Kadam et al., 2012) (Figure 6).



Figure 6 : Les fruits de *lepidium sativum* (Prajapati et al., 2014)

I-4-4- Tige

La tige de *Lepidium sativum* finement striée, ramifiée et glabre (sans poils, lisse) (Falana et al., 2014) (Figure 7).



Figure 7: La tige de *Lepidium sativum* (Fohama & Bouregaa, 2020)

I-5- Description des graines de *Lepidium sativum*

Les graines de *Lepidium sativum* sont petites, de forme ovale, pointues et triangulaires à une extrémité, lisses, environ 3-4 mm de long, 1-2 mm de large, de couleur brun rougeâtre. Un sillon présent sur les deux faces s'étendant jusqu'aux deux tiers vers le bas, une légère extension en forme d'aile présente sur les deux bords de la graine. Lors du trempage dans l'eau, le tégument gonfle et se couvre de mucilage transparent, incolore, au goût mucilagineux. La longueur et la largeur des graines sont de $298 \pm 3.2\mu\text{m}$ et $100 \pm 1.9 \mu\text{m}$ respectivement (Doke et al., 2016) (Figure 8).



Figure 8: Les graines de *Lepidium sativum* (Sharma & Agarwal, 2011)

II- Métabolites secondaires

II-1- Définition

Les métabolites secondaires sont le groupe diversifié de composés organiques des plantes. Ils aident les plantes à interagir avec l'environnement en établissant des mécanismes de défense (Murthy et al., 2014).

Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultant de réactions chimiques ultérieures (Abderrezak & AIB., 2019) Les diverses activités biologiques des plantes reviennent aux métabolites secondaires (Figure 9).

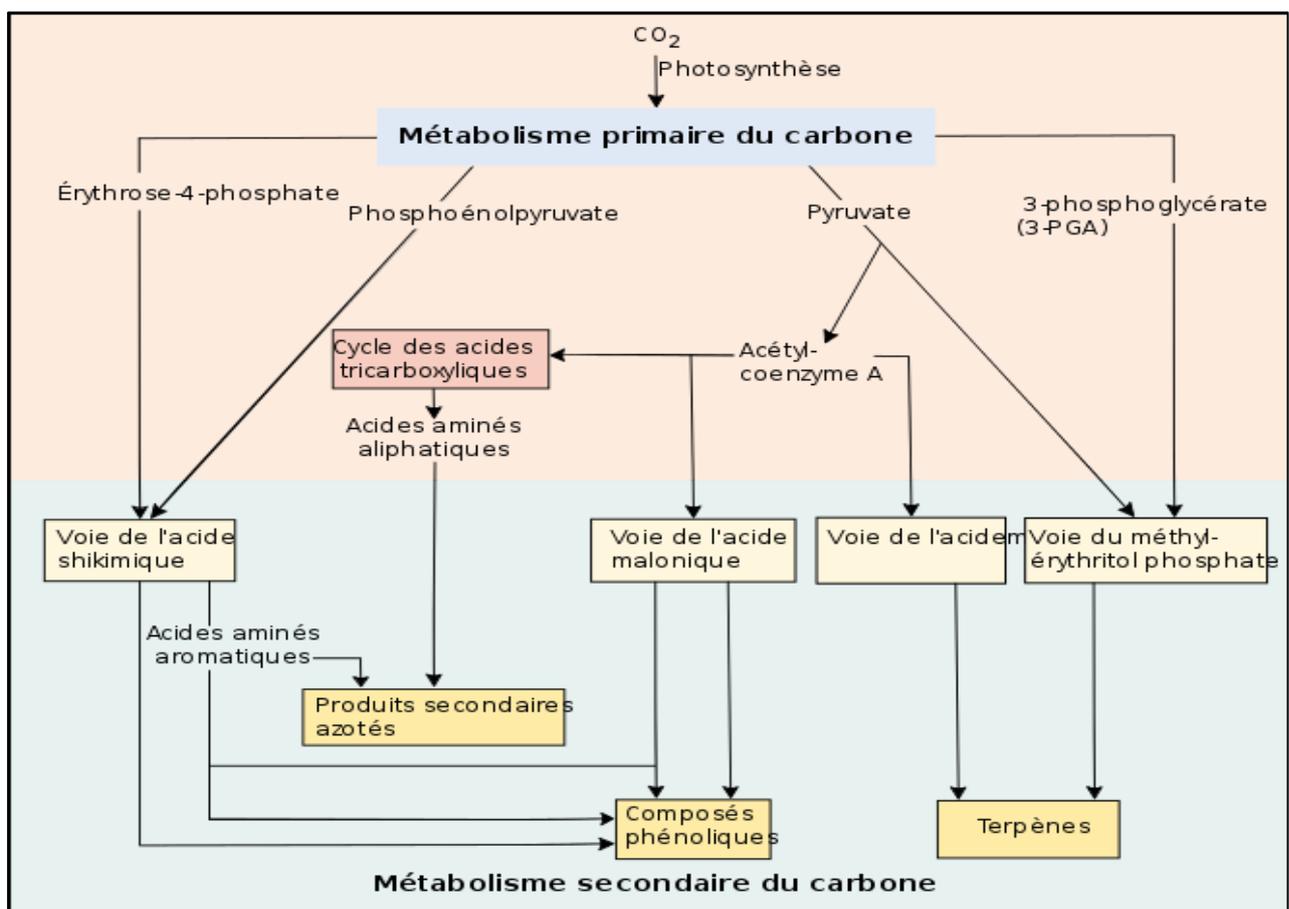


Figure 9: Voies du métabolisme secondaire des plantes (Taiz et al., 2006)

II-2- Classification des métabolites secondaires

Le métabolite secondaire peut être classé en trois grands groupes (Vardhan & Shukla, 2017a) :

Les composés phénoliques ou les polyphénols.

Les composés Terpénoides.

Les alcaloïdes.

II-2-1- Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont l'un des plus grands groupes de métabolites secondaires produits par les plantes qui ont un large éventail d'applications (Kabera et al., 2014) (Figure 10).

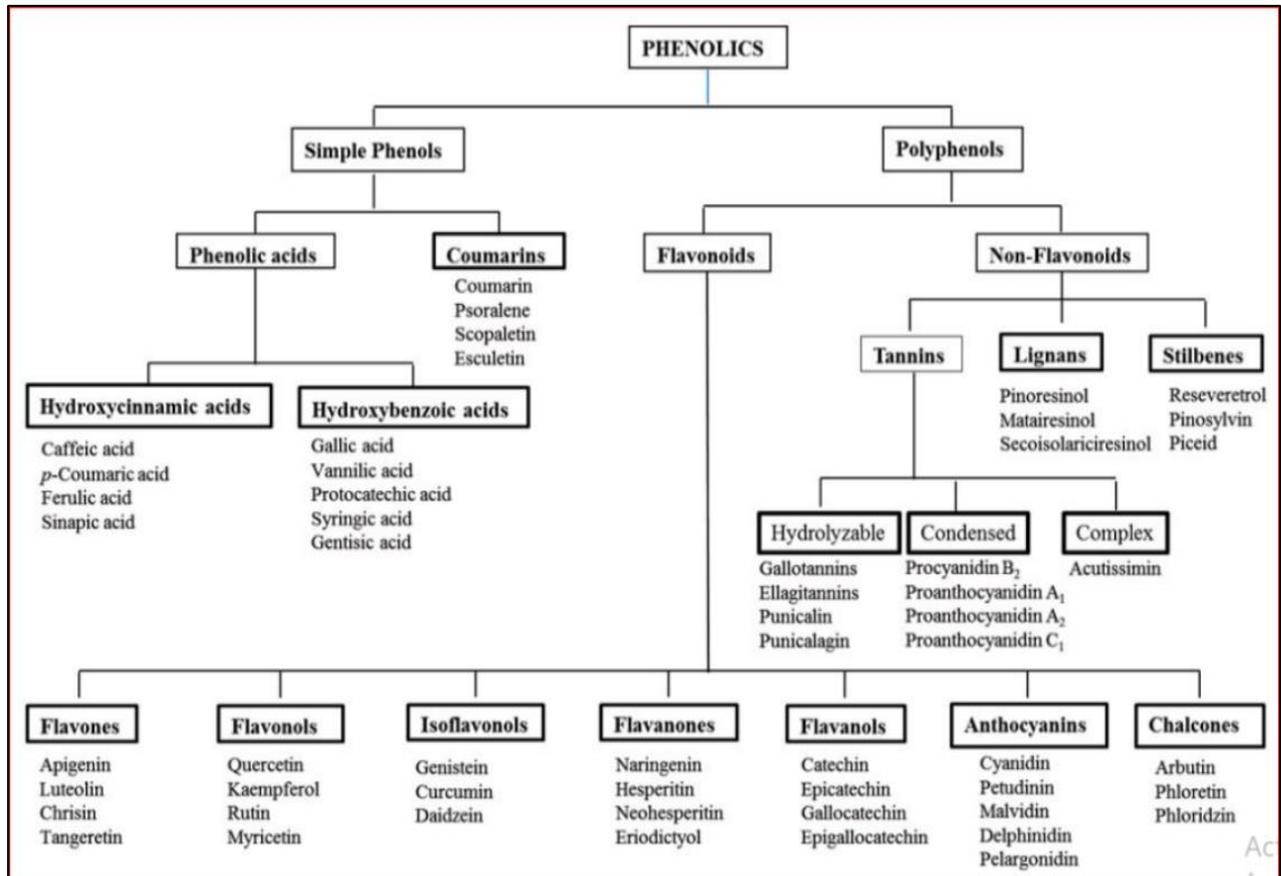


Figure 10 : Représentation schématique de la classification des composés phénoliques (Vardhan & Shukla, 2017a)

Leur structure chimique est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Le groupement hydroxyle peut être libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside (Manallah, 2012) (Figure 11).

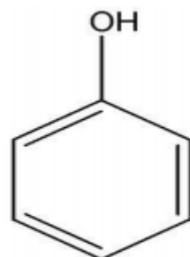


Figure 11: Unité de base de polyphénole « phynole » (Herzi, 2013)

Les polyphénols sont classés en tannins, flavonoïdes, coumarines et les quinones.

Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes comportent les pigments végétaux simples ou glycosylés, responsables de la couleur variée des différents organes végétaux (Krief, 2004). Ils sont divisés en trois groupes : Anthocyanes, flavones et flavonols (He et al., 2010; Aza-Gonzalez et al., 2012; Zhu et al., 2012). Ils favorisent la santé cardiovasculaire, une activité antioxydante et des propriétés anti-inflammatoires (Hui et al., 2010; Kruger et al., 2014; Wallace et al., 2016). Les flavonoïdes sont structurés comme un squelette de base formé par deux cycles phényles, les cycles A et B, relié par un pont à trois carbones. Ce dernier est le cycle central C (Vigor, 2011) (figure 12).

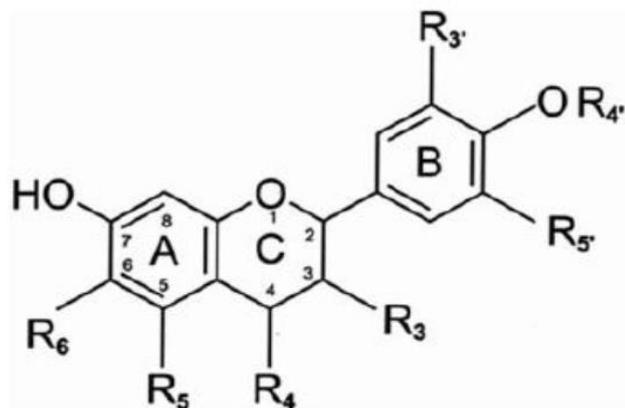


Figure 12 : La structure de flavonoïdes (Lovegrove et al., 2017)

Les Tannins

Les tanins sont le groupe prédominant et diversifié qui confèrent aux aliments l'astringence spécifique. Ils comprennent les esters d'acide gallique et les proanthocyanidines (Vardhan & Shukla, 2017a).

Les tanins peuvent être composés en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Khanbabaee & van Ree, 2001), qui jouent un rôle important dans les plantes, en les protégeant des herbivores (Forkner et al., 2004) (Figure 13).

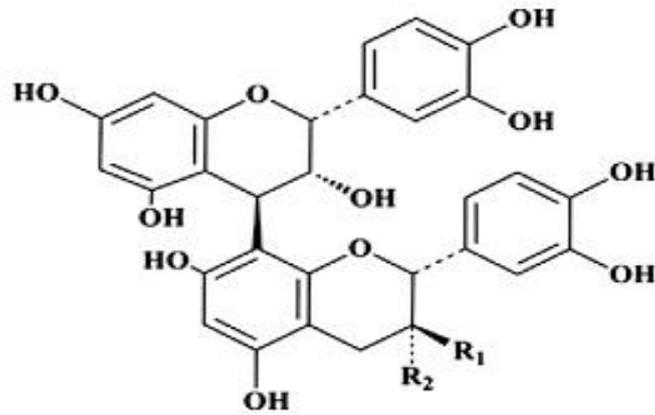


Figure 13: La structure des tannins (Vigor, 2011)

Les quinones

Les quinones sont des composés résultant de l'oxydation de dérivés aromatiques (Lalaina, 2017) (figure 14).

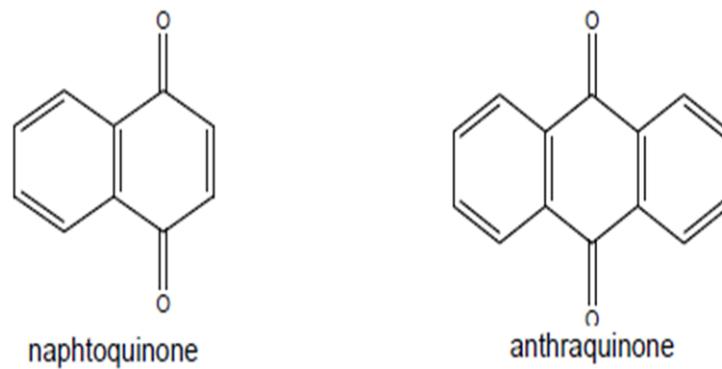


Figure 14: La structure de quinones (Vigor, 2011)

Les coumarines

Les coumarines (2H-1-benzopyran-2-ones) sont des molécules répandues dans tout le règne végétal, elles sont considérées comme étant les lactones des acides 2- hydroxy-7-cinnamiques (Mekkiou, 2005) (figure 15).

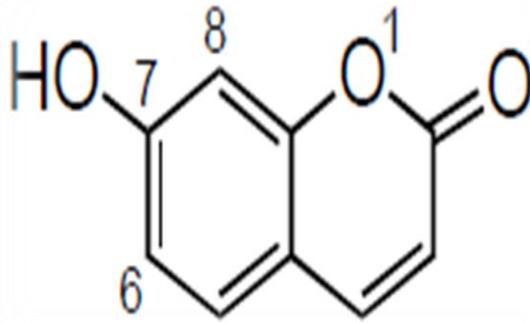


Figure 15 : La structure de coumarines (Vigor, 2011)

II-2-2- Les composés Terpénoides

Les terpénoïdes constituent le groupe de métabolites secondaires le plus important et le plus diversifié qui comprend plus de 25 000 composés actifs (Gershenson & Dudareva, 2007).

Les terpénoïdes sont des dérivés polymériques d'isoprène biosynthétisés à partir d'acétate par la voie de l'acide mévalonique (Cheng et al., 2007). Ils sont formés par polymérisation d'unités isoprène liées tête-bêche (Maffei, 2010) (figure 16). Leur classification est principalement basée sur le nombre d'unités isoprène qu'elles contiennent.

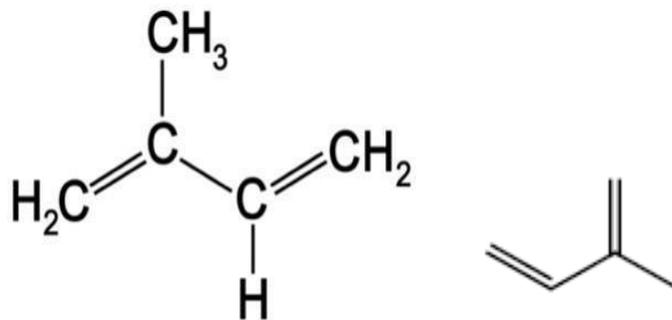


Figure 16 : Structure de base de l'isoprène (Khenaka, 2011)

Les saponines

Les saponines comportent un large groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Les saponines possèdent des propriétés biologiques importantes : antioxydant, anti-inflammatoire, antifongique, antimicrobienne, antiparasitaire, anti-tumorale (Lalaina, 2017).

II-2-3- Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont la plus grande classe de métabolite secondaire contenant de l'azote. Ils se présentent à environ de 20% des plantes vasculaires (Lu et al., 2012; Ashok et al., 2015).

Les alcaloïdes sont subdivisés en trois sous-groupes : protoalcaloïdes, vrais alcaloïdes et pseudo-alcaloïdes.

II-3- Amélioration de production de métabolites secondaires

Les métabolites secondaires représentent des adaptations chimiques à un large éventail de conditions de stress environnemental ou ils peuvent servir d'agents chimiques défensifs, protecteurs ou offensifs contre les agressions externes.

Le stress biotique (microorganisme, les insectes et les prédateurs herbivores Supérieurs) (Namdeo, 2007) et abiotique (rayonnements, lumière intense, les carences en nutriments, la température et le traitement herbicide) induisent souvent la production de métabolites secondaires dans les systèmes de culture de tissus végétaux (Akula & Ravishankar, 2011). L'effet de différents stimulateurs biotiques et abiotiques et leur rôle dans la production de métabolites secondaires ont été rapportés et récemment passés en revue (Naik & Al-Khayri, 2016).

Une production accrue de métabolites secondaires peut être induite dans des cultures cellulaires en utilisant ces stimulateurs dans le milieu de culture (Ahlawat et al., 2014; Srivastava & Srivastava, 2014 ; Shakeran et al., 2015; Hashemi et Naghavi, 2016). Certains d'entre eux sont des extraits d'*Aspergillus niger* (Ahmed & Baig, 2014), extraits de levure (Deepthi & Satheeshkumar, 2016), jasmoné et salicylée (Siva et al., 2014) et l'agaropectine (Vardhan & Shukla, 2017b). La comparaison de l'amélioration des différents métabolites secondaires par les différents stimulateurs est illustrée dans (Tableau I).

Tableau I : Comparaison de l'amélioration des métabolites secondaires par différents stimulateurs (Vardhan & Shukla, 2017b)

Plant name	Secondary metabolite	Plant material	Magnitude of increase (fold)		
			Gamma irradiation	Biotic stress	Abiotic stress
<i>Psoralea corylifolia</i> (babchi)	Phenolic compounds Psoralen	Seeds	32	-	-
		Cells	-	9	-
		Root	-	-	6.6
<i>Capsicum annuum</i> (chili)	Capsaicinoids	Pods	0.1	-	-
		Calli	-	2.9	-
		Cells	-	-	2
<i>Rosmarinus officinalis</i> (rosemary)	Total phenols	Calli	5	-	-
<i>Brassica oleraceae</i> (broccoli)	"	Planlets	-	2.2	-
<i>Arachis hypogea</i> (peanut)	"	Seeds	-	-	0
<i>Panax ginseng</i> (ginseng)	Terpenoids Saponins	Hairy root	1.4	-	-
		Cells	-	0.7	0.8
<i>Nothapodytes foetida</i> (ghanera)	Alkaloids Camptothecin	Calli	20	-	-
<i>Ophiorrhiza mungos</i>	"	Cells	-	13	-
<i>Camptotheca acuminata</i>	"	Cells	-	-	11
<i>Lithospermum erythrorhizon</i> (purple gromwel)	Shikonins	Cells	4	-	2

II-3-1- Rayonnements gamma

II-3-1-1- Définition :

Les rayons gamma sont produits généralement par les radio-isotopes cobalt-60 et césium-137 (Diwakar et al., 2008). Ils sont constitués par des ondes électromagnétiques d'énergie très variable de 2Kev à 2076Mev et ils sont très pénétrants et pouvant traverser des épaisseurs importantes de matière (Hadj Rabia, 2019).

II-3-1-2- Effet des rayonnements gamma sur la production des métabolites

Les rayonnements gamma ont été largement appliqués en médecine et en biologie (Vardhan & Shukla, 2017b). Des doses relativement faibles provoquent une augmentation dans la prolifération cellulaire, le taux de germination, la croissance cellulaire, l'activité enzymatique, la résistance au stress et le rendement des cultures. Des études antérieures ont montré presque des effets similaires sur des cultures cellulaires in vitro. D'autres investigations ont prouvé le traitement des cultures

cellulaires à des faibles doses d'irradiation gamma augmente de façon significative le rendement des métabolites secondaires (Tableau II).

Tableau II : Augmentation de la production de métabolites secondaires (composés phénoliques, terpénoïdes et alcaloïdes) par irradiation γ dans différentes matières végétales, semis, fruits, cultures de cals, racines velues et cultures en suspension (Vardhan & Shukla, 2017b).

Plant name	Secondary metabolite	Plant material	Dose (Gy)	Magnitude of increase (fold)
Phenolic compounds				
<i>Eryngium foetidum</i> (culantro)	Total phenols & flavonoids	Plantlet	40	1.7, 1.2
<i>Curcuma alismatifolia</i> (summer tulip)	Total phenols & flavonoids	Roots	20	1.5, 1.8
<i>Centella asiatica</i> (centella)	Total flavonoids	Roots	20, 30	minor
<i>Anethum graveolens</i> (dill)	Total flavonoids	Flower	640	4
<i>Capsicum annum</i> (chili)	Capsaicinoids	Fruits	10000	0.1
<i>Psoralea corylifolia</i> (babchi)	Psoralen	Seeds	20000	32
<i>Phyllanthu odontadenius</i>	Total phenols & flavonoids	Seedlings	100	-
<i>Terminalia arjuna</i> (arjuna)	Total phenols	Seedlings	25, 150	2
<i>Rosmarinus officinalis</i> (rosemary)	Total phenols & flavonoids	Calli	20	5, 5.6
<i>Stevia rebaudiana</i> (stevia)	Total phenols & flavonoids	Calli	15	minor
<i>Ferula gummosa</i>	Total phenols	Calli	20	1.6
Terpenoids				
<i>Panax ginseng</i> (ginseng)	Saponins, Ginsenosides	Hairy root	100	1.4, 1.8
-	Ginsenoside Rg3	Std. Rb1	30	25
<i>Panax ginseng</i> (ginseng)	Ginsenosides	Hairy root	50	1.7
<i>Eryngium foetidum</i> (culantro)	Saponins	Plantlet	40	1.4
<i>Phyllanthu odontadenius</i>	Saponins	Seedlings	100	-
Alkaloids				
<i>Nothapodytes foetida</i> (ghanera)	Camptothecin	Calli	20	20
<i>Lithospermum erythrorhizon</i> (purple gromwel)	Shikonins	Cells	16	4

Des preuves récentes suggèrent que les espèces réactives de l'oxygène jouent un rôle important dans l'action des rayonnements ionisants. L'irradiation γ améliore la production de ROS dans une variété de cellules entraînant un stress oxydatif (Azzam et al., 2012 ; Kebeish et al., 2015). ROS sont les sous-produits de nombreuses dégénérescences réactions, qui affecteront le métabolisme régulier en endommageant les composants cellulaires (Noctor et al., 2002). Une étude approfondie sur le stress oxydatif a démontré que l'exposition de plantes ou de cultures cellulaires à des conditions environnementales défavorables induit une surproduction de ROS, tels que le superoxyde radical (O_2), H_2O_2 et le radical hydroxyle dans les cellules végétales. En conséquence, les plantes ont développé des réponses adaptatives cellulaires telles que régulation des protecteurs du stress oxydatif et accumulation de solutés protecteurs (Horling et al., 2003). Les plantes exposées à des radiations γ produisent diverses enzymes de défense et antioxydantes, dont

beaucoup d'elles produisent des métabolites secondaires qui, à leur tour, atténuent les conditions de stress oxydatif induites (Kim et al., 2004 ; Aly & El-Beltagi, 2010 ; Zahran & Eliwa, 2015).

III- Les activités biologiques de *Lepidium sativum*

Les composés phénoliques sont souvent des molécules de défense contre les organismes pathogènes, il n'est donc pas surprenant que certains de ces composés possèdent un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes (bactéries, virus, champignons et parasites) (Crozier et al., 2009).

III-1- Activité antimicrobienne

Consiste à inhiber la croissance des bactéries par des substances. Ces substances produites par les plantes qui sont actives contre les micro-organismes pathogènes à l'être humain et aux végétaux (Akrayi & Tawfeeq2012).

III-2- Activité antioxydante

Le stress oxydatif est défini en général comme la formation en excès et/ ou l'élimination incomplète de molécules hautement réactives telles que les espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species : ROS). ROS inclus gratuitement les radicaux tels que le super oxyde réO_2 E, radical hydroxyle (OH), radical peroxyde réRO_2 E ainsi que des espèces non radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Ardestani & Yazdanparast, 2007).

III-3- Activité antiparasitaire

De nombreux composés phénoliques en particulier les flavonoïdes possèdent des propriétés antiparasitaires. Plusieurs travaux ont bien confirmé cette propriété. (Tasdemir et al., 2006) ont montré que toutes les flavones et les flavon-3-ols sous forme aglycone sont actifs contre *Leishmania donovani* (Tasdemir et al., 2006).

Dans une autre étude, Ils ont trouvé aussi que les roténoïdes contenant une unité prényle ou 2,2-diméthylpyrano sont plus actifs que les roténoïdes non prénylés. De plus, la présence du carbonyle en 5 semble indispensable cette activité (Botta et al., 2009). Les biflavonoïdes sont également connus comme de bons antiplasmodiaux (Batista et al., 2009).

Chapitre II :
Généralités sur l'Echinococcus granulosus

Étude sur la maladie hydatique (Echinococcose kystique)

1-1- Définition

L'Echinococcose kystique encore appelé maladie du kyste hydatique, est une zoonose parasitaire réponde sous forme endémique dans différentes régions du monde (Bakkali et al., 2017) sévissant en zone d'élevage (ovin, bovin, caprin, porcine, camelins, et équins) (Yennek, 2017). Elle est due à la présence et au développement dans l'organisme des larves d'un Ténia du genre *Echinococcus granulosus*.

1-2- La répartition géographique

L'Echinococcose kystique est largement répandue dans le monde (figure 17) avec une haute endémicité dans des régions d'Argentine, du Brésil, Chili Béro, Bulgarie, Espagne, Grèce, Italie, Portugal, Roumanie, Yougoslavie, dans le Sud de l'ex URSS, au Moyen-Orient, en Afrique (Kenya ,Ouganda ...), surtout en Afrique du Nord (Algérie , Maroc , Tunisie), en Australie et en Nouvelle – Zélande. Le bassin méditerranéen reste la zone la plus touchée au monde avec les plus forts taux d'incidence de la maladie dans la Turquie (Kayoueche, 2009 ; Kohil, 2015 ; Ripoche, 2009).

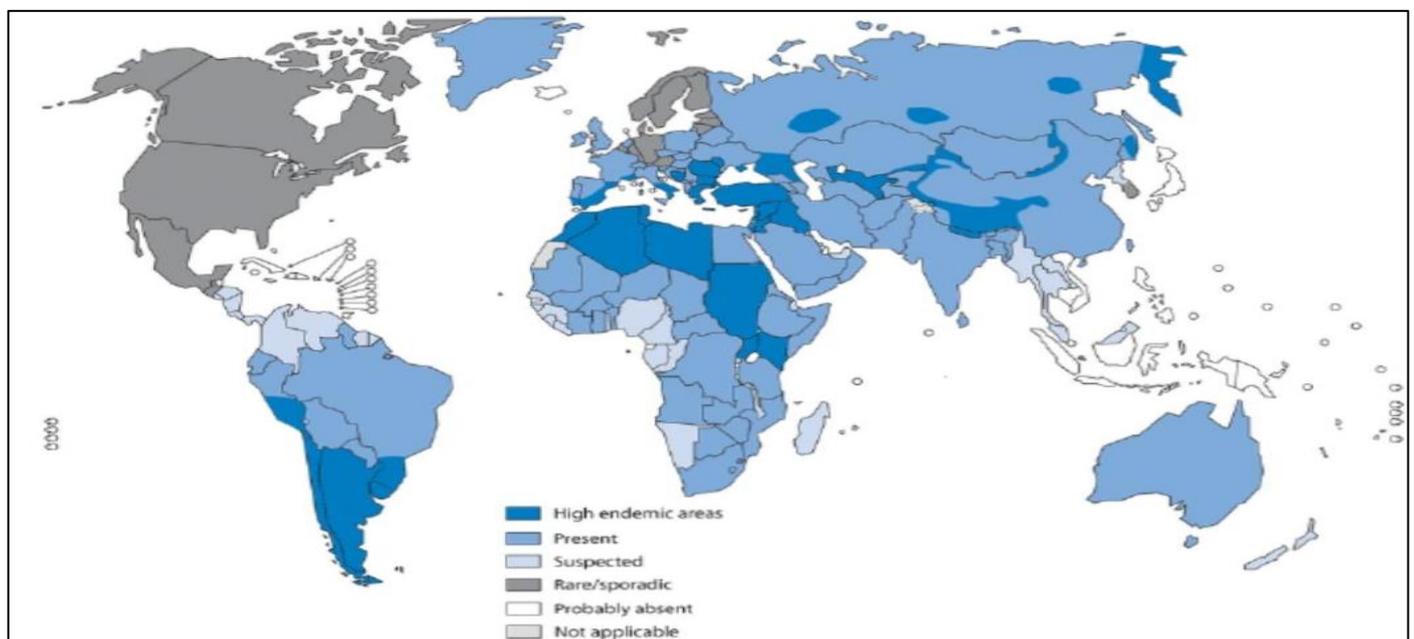


Figure 17: Distribution géographique de l'Échinococcose kystique dans le monde (Saadi, 2021)

En Algérie, le taux d'infection humaine est de 2,06 cas pour 100.000 habitants. En 2002, les chiffres rapportés par l'INSP (Institut national de sante publique) montrent que l'incidence la plus élevée de l'Echinococcose kystique humaine est enregistrée dans les régions avec grand élevage d'ovins (M'sila : 44 cas, Médéa : 63 cas, Tiaret : 38 cas) (Kohil, 2008). L'évaluation de la

prévalence chez l'hôte définitif est très importante. En effet, (Bentounsi et al., 2009) ont montré que la prévalence de l'infestation canine par *Echinococcus granulosus* atteint 16 et 42% dans deux villes du Nord-Est d'Algérie, Batna et Constantine, respectivement (Zait et al., 2016; Benchikh et al., 2017). De même, chez les animaux d'élevage, des taux élevés de kyste hydatique ont été observés chez les animaux de production (Zait et al, 2016).

1-3- Signes cliniques

En raison du caractère silencieux et une évolution lente du kyste hydatique, le diagnostic est établi plusieurs années après l'infestation. En l'absence de signes spécifiques de l'Echinococcose kystique, les symptômes apparaissent à la suite d'une compression exercée sur les organes hébergeant le kyste hydatique. Tous les organes peuvent être atteints, essentiellement le foie et le poumon (Bourée & Bisaro, 2007). La diversité des manifestations cliniques (**Tableau III**) du kyste hydatique est liée à :

- ✓ Localisation, et à la taille du kyste.
- ✓ L'état du kyste hydatique.
- ✓ Sa rupture spontanée ou traumatique.
- ✓ Son extension secondaire.

Tableau III : Les symptômes et les signes de l'*Echinococcus granulosus* (Bellili & Bendou, 2018)

Organes atteints	Signes prédominants
Foie	Hépatomégalie, cholestase, hypertension portale, ascite, cirrhose biliaire secondaire
Poumons	Expectoration, dyspnée, hémoptysie, Pneumothorax, Pleurésie, douleur thoracique
Cœur	Douleur, insuffisance cardiaque, embolisme, épanchement péricardique
Os et muscles	Douleur, sortie de l'os, fragilité osseuse, troubles de motilité
Yeux	Douleur, ptosis, trouble Visual

1-4- Diagnostic

La découverte des kystes hydatiques peut être accidentelle ou due à une pression qu'ils exercent sur les tissus ou les organes qui les entourent. Les méthodes de diagnostic utilisées chez l'homme sont l'imagerie médicale et le diagnostic biologique.

1-4-1 Imagerie médicale

C'est l'une des techniques essentielles utilisées dans le diagnostic de l'Echinococcose kystique, quelle que soit la localisation du kyste. Elle consiste en la réalisation de radiographie, d'échographie, de scanner et d'IRM ou imagerie résonnance magnétique. Ces examens peuvent tout de même s'avérer difficiles dans certains cas surtout en l'absence de sérologie positive (Craig et al., 2006 ; Achat & Szyfres, 2005).

1-4-2- Diagnostic biologique

Les examens biologiques comprennent l'hématologie, la sérologie et la biochimie sanguine. Le diagnostic consiste en la détection des anticorps sériques spécifiques par des méthodes immunologiques qualitatives, tel que l'immunoélectrophorèse, ou par des méthodes quantitatives a savoir l'immunofluorescence indirecte, l'ELISA, Western blot et l'hémagglutination indirecte (Wen et al., 1993).

1-5- Traitement

1-5-1- Traitement médical

L'albendazole et le mébendazole sont les deux benzimidazolés carbamates qui ont été bien étudiés chez l'homme. Leur capacité d'entraver l'absorption du glucose par le parasite représente leur mécanisme d'action commun (Brunetti et al., 2010 ; Benmoussa,2019).

1-5-2- Traitement chirurgical

Largement employée dans les pays d'endémie, la chirurgie représente trois options pour le traitement de l'hydatidose (Alam-Eldin & Badawy, 2015). Cependant, les médicaments disponibles ne sont pas aussi efficaces (McManus et al., 2012) et jusqu'à présent, aucun agent protoscolicidal idéal n'a été développé (Zhang et al., 2013). De plus, les interventions chirurgicales sont invasives et causent des complications post-opératoires et des risques de récurrence suite à la rupture des kystes et la dissémination de leur contenus (Buttenschoen & Carli, 2003; Dziri et al., 2004; Skuhala et al., 2014), sans exclure le problème des kystes, situés au niveau des organes à risque (Neumayr et al., 2013).

1-6- Prophylaxie

La prévention consiste à interrompre le cycle du parasite, en empêchant la dissémination des œufs par le chien. Cela signifie d'éviter le contact étroit avec les chiens, de ne pas accepter le léchage, d'éviter de caresser l'animal en zone de forte transmission, limiter des populations de chiens errants et le dépistage et le traitement des chiens parasités (Bronstein & Klotz, 2005).

La lutte contre l'Echinococcose kystique est inconcevable sans la mise en place de mesures de contrôle et de prévention adaptées au contexte local ou régional concerné. Elle doit associer des programmes d'éducation sanitaire des populations exposées notamment quant au respect des règles d'hygiène alimentaire et la gestion des viscères parasités, une législation rigoureuse contre l'abattage non contrôlé (Dougaz et al., 2017).

La maladie hydatique ne disparaît que grâce à des mesures prophylactiques strictes qui ne peuvent se mettre en place sans l'amélioration du niveau de vie des populations :

- ✓ Les chiens errants doivent être abattus et les chiens domestiques recensés et vermifugés.
- ✓ L'abattage du bétail doit subir un contrôle vétérinaire et les abats porteurs d'hydatides doivent être incinérés.

Étude sur le parasite

2-1- Définition

Echinococcus granulosus, ver plat « plathelminthe ». Il parasite l'intestin grêle des carnivores « hôtes finaux ». La partie « proglottis » qui contient les œufs est éliminée avec les fèces et se désintègre dans l'environnement. Ceux-ci seront ingérés par les espèces sensibles « hôtes intermédiaires », et parfois par l'être humain « hôte occasionnel » (Dougaz et al., 2017).

2-2- Systématique

Le genre *Echinococcus* dispose de différentes espèces (tableau IV). La classification de ceux-ci se base sur la morphologie des parasites adultes et des formes larvaires, en combinaison avec des paramètres biologiques et épidémiologiques (Hazhazi Hassina, 2017). La plupart des variantes sont classés principalement selon la spécificité hôte-parasite (Bellili & Bendou, 2018).

Règne	Metazoa
Phylum	Platyhelminthe
Classe	Cestoda
Sous-classe	Eucestoda
Ordre	Cyclophyllidea
Famille	Taeniidae
Genre	<i>Échinococcus</i>
Espèce	<i>Échinococcus granulosus</i>

Tableau IV : Caractéristiques parasitologique et épidémiologique de différentes sous-espèces d'*Echinococcus granulosus*

<i>Echinococcus</i> sous-espèces	Hôte	Hôte	Localisation		Géographie
	définitif	intermédiaire	chez l'homme	Maladie	
<i>E. granulosus granulosus</i>	Canidés domestiques et sauvages	Moutons, chèvres, porcs, homme	Foie Poumons et autres	Echinococcose kystique	Cosmopolite
<i>E. granulosus equinus</i>	Chien Renard	Cheval Homme	Foie exclusif	Echinococcose kystique	Angleterre
<i>E. granulosus borealis</i>	Carnivores sauvages (loup) et domestiques	Cervidés, rennes, caribou	Poumons	Echinococcose kystique	Région de grande Amérique nord
<i>E. granulosus canadiensis</i>	Carnivores sauvages (loup) et domestiques	Cervidés, rennes, caribou	Poumons	Echinococcose kystique	Cosmopolite

2-3- Morphologie de parasite

Le Ténia *Echinococcus granulosus* se présente sous trois formes : l'adulte qui vit fixé entre les villosités de l'intestin grêle de l'hôte définitif, l'œuf qui contient un embryon hexacanthé à six crochets et la larve ou kyste hydatique (Kayoueche, 2009).

2-3-1- L'adulte

Mesure de 2 à 7 mm. Il est formé d'une tête ou scolex et d'un corps ou strobile (Kohil, 2015) (Figure 18).

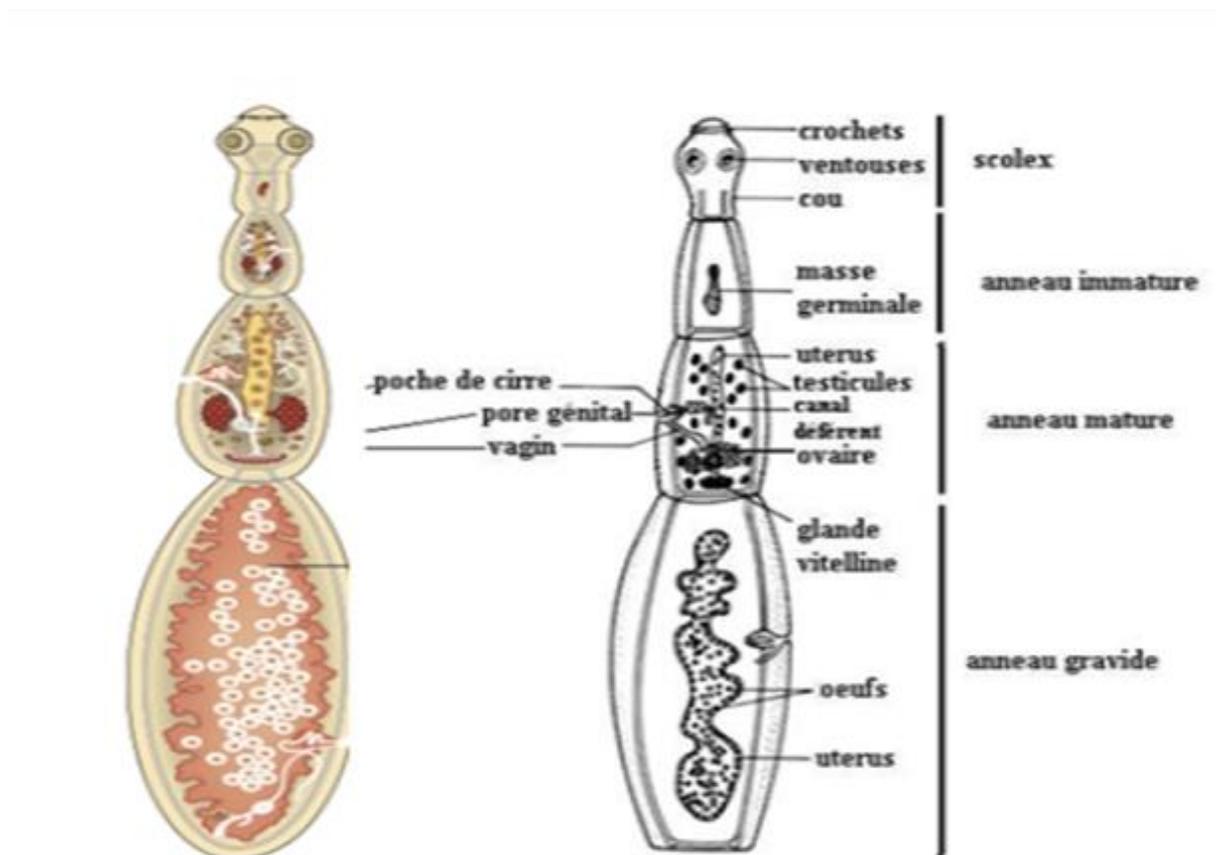


Figure 18 : Ver adulte d'*Echinococcus granulosus* (Thompson, 2017)

Le scolex

La partie antérieure ou scolex est munie d'un rostre armé de 30 à 42 crochets de taille variable et disposé de 2 couronnes et 4 ventouses (Figure 18) (Ripoche, 2009 ; Kohil, 2015).

Le strobile

Le corps ou strobile comprend en moyenne 3 segments (Kayoueche, 2009 ; Kohil, 2015) dont le dernier "proglottis" a la taille importante « environ le tiers du parasite adulte » et occupé par un utérus ramifié rempli d'œufs (Kohil, 2015). Les segments ovigères se détachent tous les 7 à 14

jours. Chaque segment contient 500 à 600 œufs. Le parasite adulte est hermaphrodite (Kayoueche, 2009).

2-3-2- La larve

La larve d'*Echinococcus granulosus*, parfois appelée *Echinococcus polymorphus*, hydatide ou métacestode (kohil, 2015) est une vésicule sphérique contenant du liquide sous pression et mesurant de quelques millimètres à plusieurs centimètres de diamètre (Ripoche, 2009). Elle se forme dans différents organes par une croissance progressive d'un embryon. Le liquide hydatique contient de nombreuses formes, appelées protoscolex de 150 à 200µm, futures têtes de tænia, invaginées portant quatre ventouses et une couronne centrale de crochets. Ces protoscolex sont contenus dans le liquide directement ou dans des vésicules filles flottant dans ce liquide (Acosta-Jamett et al., 2010).

Le kyste hydatique (figure 19) est constitué de plusieurs éléments de l'extérieur l'intérieur :

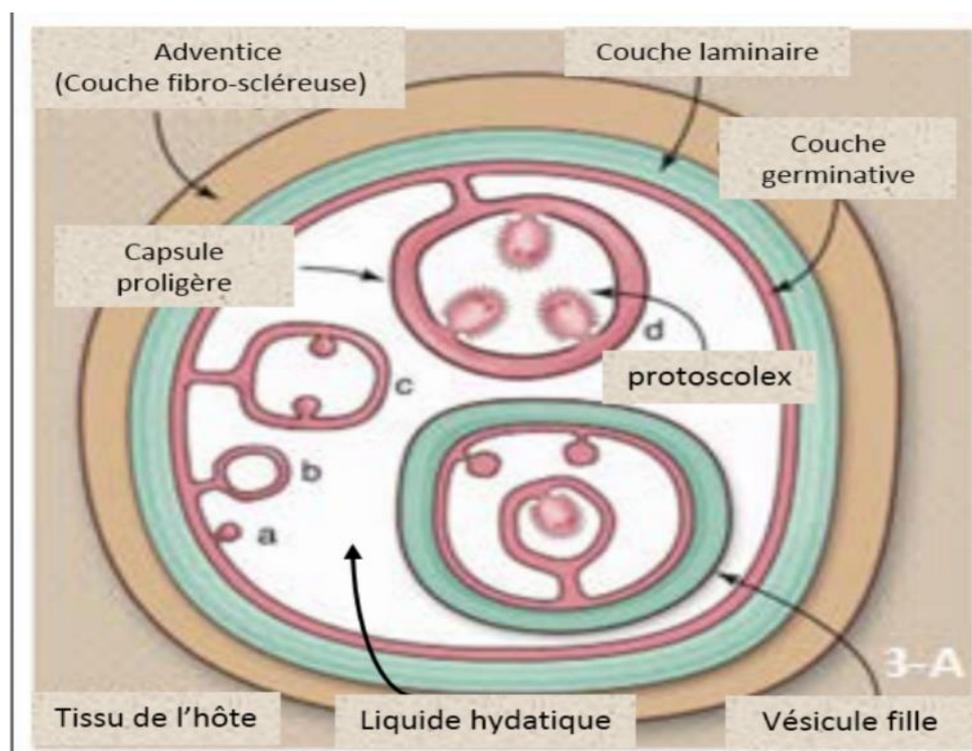


Figure 19 : Forme larvaire d'*Echinococcus granulosus* (Thompson, 2017)

Une couche fibreuse autour du kyste : adventice ou péri-kyste, qui correspond à la réaction inflammatoire de l'hôte en réponse aux premiers stades de développement de l'oncosphère. L'intensité de la réaction dépend de l'hôte : une réaction trop intense entraîne la dégénérescence du parasite par contre, la résolution de la réponse inflammatoire chez un hôte adapté permet le développement du parasite en équilibre avec son hôte (Ripoche, 2009 ; Aubry, 2013).

Une membrane externe cuticulaire (couche laminaire) : membrane hyaline, dure, élastique, acellulaire, d'épaisseur variable (200 µm à 1 mm), enveloppant complètement les autres structures plus internes. Elle est formée de strates concentriques renouvelées en continu par la membrane interne (Ripoche, 2009). C'est une couche protectrice vis-à-vis des bactéries et des grosses molécules mais laissant passer les éléments nutritifs. Immersée dans l'eau, elle se rétracte et s'enroule sur elle-même en cornet (caractère de diagnose) (Kohil, 2015).

Une couche germinale interne (ou membrane prolifère) : une mince pellicule richement nucléée, et correspond à la partie fertile de l'enveloppe du parasite (Kohil, 2015). Intimement collée à la face interne de la couche laminaire et mesurant de 10 à 25 µm d'épaisseur. A partir de cette membrane se forment la couche laminaire vers l'extérieur, et les vésicules ou capsules prolifères vers l'intérieur de la cavité (Ripoche, 2009).

Le liquide hydatique : sous-tension dans les kystes, a un aspect aqueux. Il est composé de chlorure de sodium, de glucose, de protides, et d'enzymes glycolytiques et protéolytiques (Ripoche, 2009). Il est aussi riche en histamines, en sels minéraux, en albumine, en acides aminés, en lécithine, en choline et en diverses enzymes (Kohil, 2015).

Des éléments germinatifs : appelés capsules ou vésicules prolifères, d'un diamètre de 300 à 500 µm. Elles apparaissent d'abord à la surface de la membrane prolifère comme de petits bourgeons qui, peu à peu, se développent et se creusent d'une cavité qui s'emplit de liquide. Quand elles atteignent leur développement complet, elles ne sont liées à la membrane germinative que par un court pédicule, lui donnant un aspect irrégulier. Elles sont libérées dans la lumière du kyste et s'accumulent au fond en formant le sable hydatique (Ripoche, 2009 ; Kohil, 2015). Par une reproduction asexuée très active et potentiellement illimitée et asynchrone, que les scolex vont apparaître à l'intérieur de ces capsules sous forme de petits bourgeons pariétaux, puis acquièrent leur structure céphalique typique et restent fixés à la face interne de la capsule prolifère par un court pédicule (Ripoche, 2009 ; Kohil, 2015). Ces protoscolex (Figure 20) sont des futurs parasites adultes chez l'hôte définitif, et leur développement complet est caractérisé par la présence de crochets sur le rostellum invaginé (Ripoche, 2009).

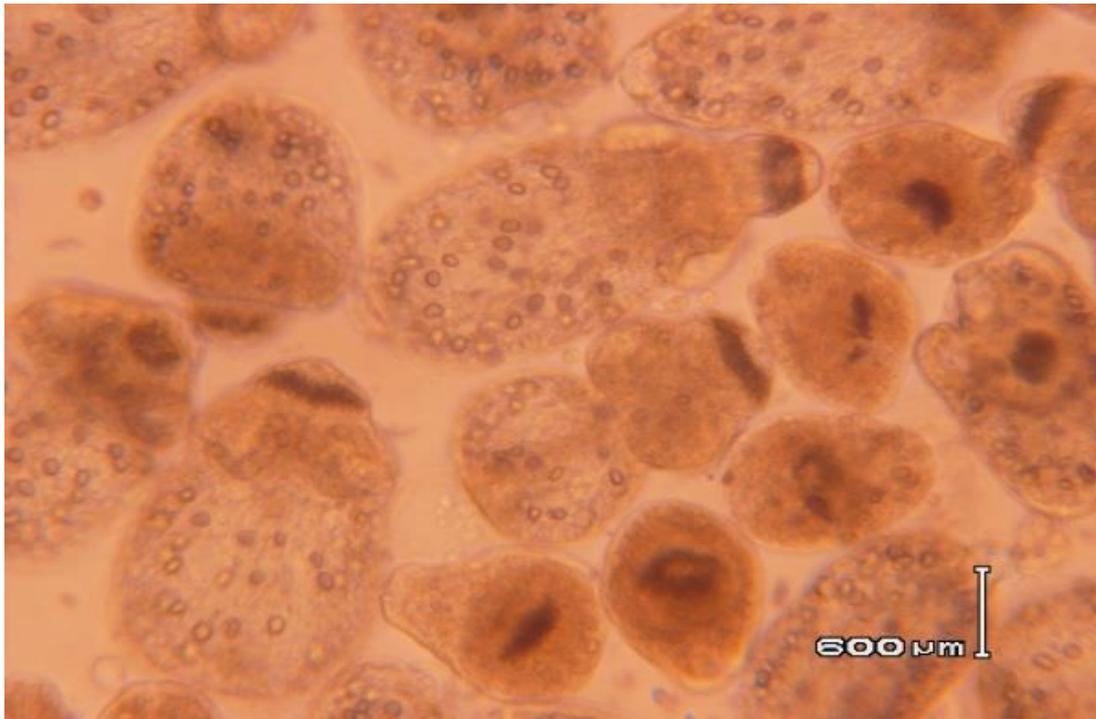


Figure 20 : Les protoscolex (Hadj Rabia, 2019)

De même, lors d'une rupture d'un kyste les protoscolex exportés à travers l'organisme, peuvent à leur tour former chacun un nouveau kyste grâce à leur pool de cellules non différenciées, et donc initier un nouveau cycle de production. A partir d'un protoscolex on peut donc obtenir un parasite adulte (ténia) s'il est ingéré par un hôte définitif, ou une forme larvaire chez le mammifère (Ripoche, 2009).

2-3-3- L'œuf (embryophores)

Des éléments microscopiques légèrement ovalaires et morphologiquement semblables aux œufs de *Tænia hydatigena* et *Tænia pisiformes* et donc ne peuvent pas être différenciés entre eux. De forme sphérique à ellipsoïde, de 30-50 μm sur 22-24 μm de diamètre. Ils sont entourés d'une coque épaisse, dure, formé de plaques polygonales à base d'une protéine similaire à la kératine rendant l'œuf imperméable et résistant dans le milieu extérieur et lui donnant ces striations sombres visibles au microscope. Il contient à l'intérieur un embryon hexacanthé à six crochets disposés par paires. La maturation des œufs se réalise dans le milieu extérieur où ils deviennent infectieux, ils devront être ingérés par l'hôte intermédiaire réceptif pour poursuivre leur évolution (Figure 21) (Ripoche, 2009 ; Kohil, 2015).

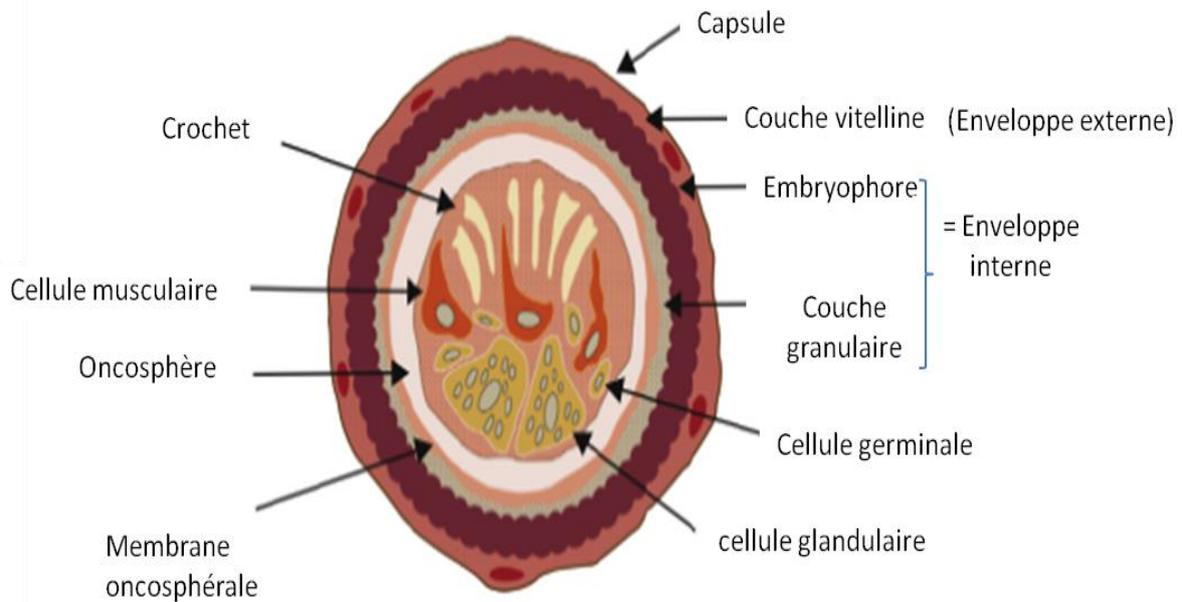


Figure 21 : L'œuf d'*Echinococcus granulosus* (Thompson, 2017)

2-4- Nutrition du parasite

La larve hydatique peut se nourrir par l'absorption des éléments à travers la paroi vésiculaire par l'intermédiaire du tissu ambiant, elle est assurée par l'action enzymatique de la membrane prolifère, et n'est pas assurée par une irrigation des kystes par le sang de l'hôte (Bellili & Bendou, 2018)

2-5- Le cycle

Le cycle d'*Echinococcus granulosus* comprend deux hôtes : un hôte définitif (HD) représenté par des carnivores, principalement le chien, et un hôte intermédiaire (HI) correspondant à un herbivore le plus souvent le mouton (Figure 22).

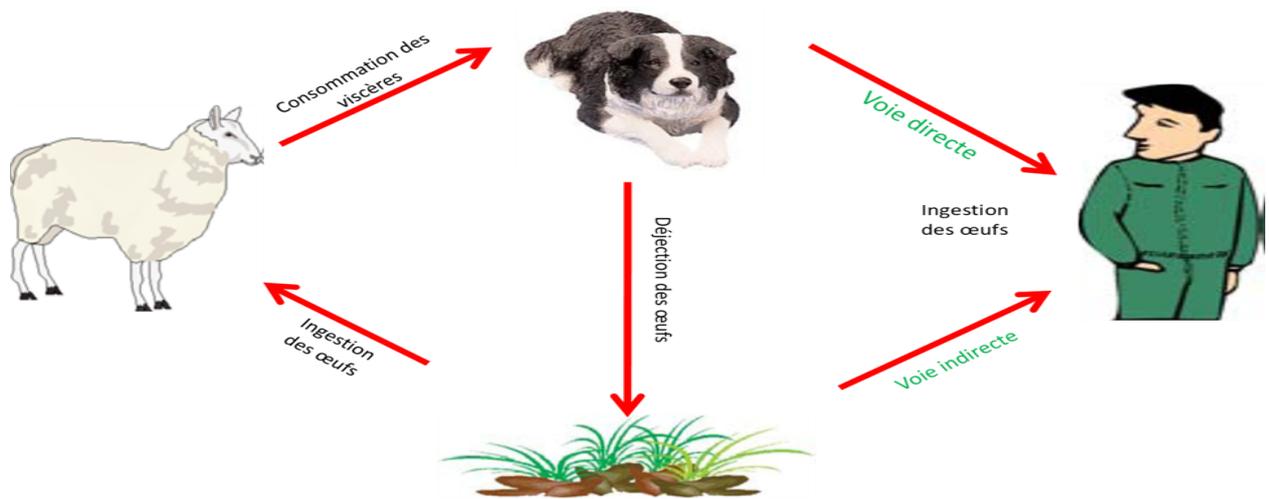


Figure 22 : La contamination de l'homme par *Echinococcus granulosus* (Hadj Rabia, 2019)

Les embryophores éliminés dans le milieu extérieur avec les selles du chien vont souiller le pâturage et seront par la suite ingérés par les moutons. Ils pénètrent la paroi du tube digestif et atteignent les viscères, principalement le foie et les poumons par la circulation sanguine, où ils se transforment en larve hydatique. Le cycle sera fermé lorsque le chien dévore les viscères des moutons parasités. L'homme se contamine souvent en ingérant des aliments ou de l'eau contaminée par les embryophores ou après contact avec des chiens parasités. C'est un hôte dit «

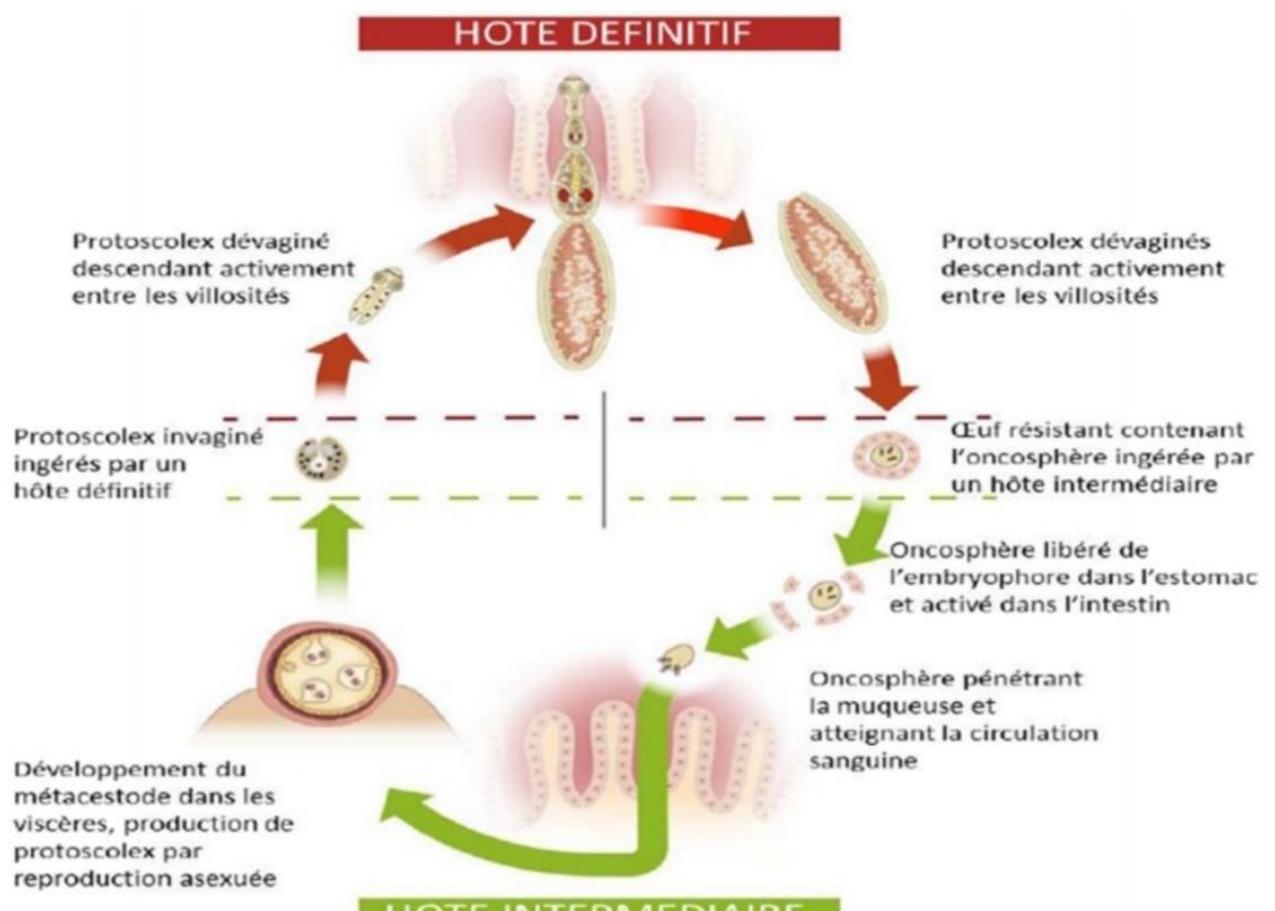
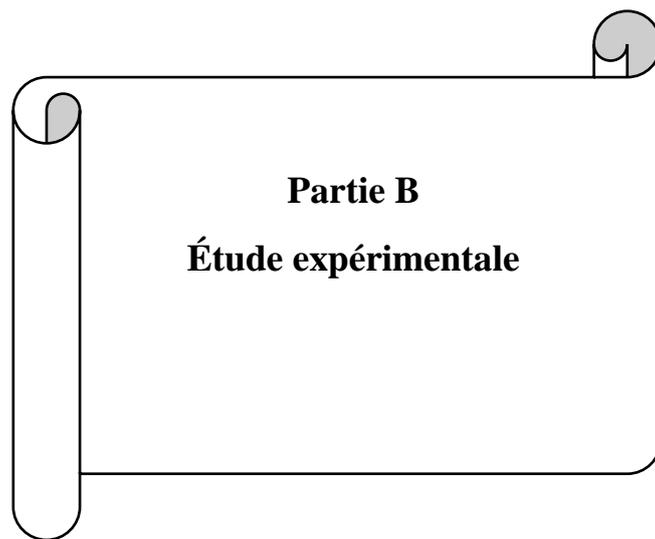
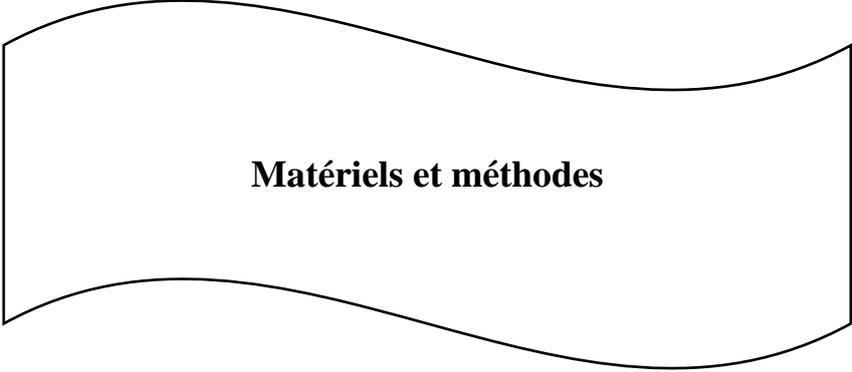


Figure 23 : Cycle de vie de l'*Echinococcus granulosus* (Thompson, 2017)

accidentel » engendrant une impasse parasitaire (viscères n'étant pas accessible aux chiens) ([wejih et al., 2017](#)) (Figure 23).



Partie B
Étude expérimentale



Matériels et méthodes

MATERIEL ET METHODES

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de biologie du Centre de Recherche nucléaire de Draria d'Alger. Les analyses antibactériennes ont été effectuées au niveau du laboratoire microbiologique de la faculté des sciences de la nature et de la vie du centre universitaire Morsli Abdellah - Tipaza.

1- Matériel

1-1- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à des graines de l'espèce *Lepidium sativum* (Figure 24). Les graines ont été achetées d'un herboriste le 20-03-2021 de la région de wilaya d'Alger.

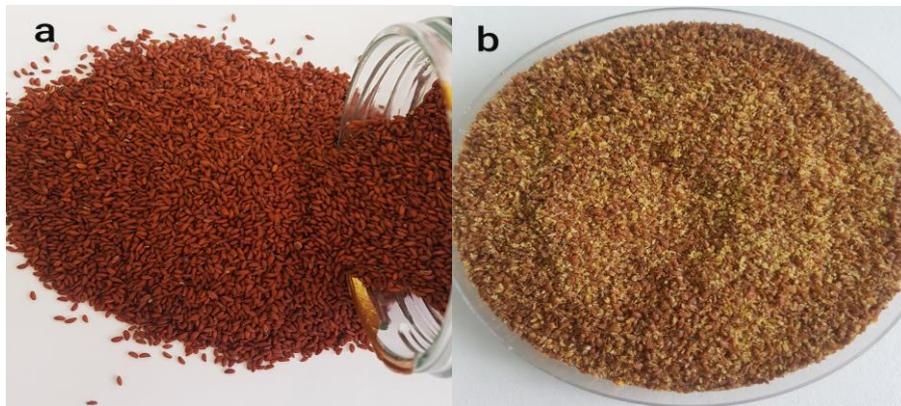


Figure 24 : Graines (a) Poudre (b) de *Lepidium sativum* (Original 2021)

1-2- Matériel biologique

Nous avons utilisé comme matériel biologique le kyste hydatique de foie animal (mouton) récupéré au niveau de l'abattoir de Hadjout (figure 25 (a)) et un deuxième de poumon humain au niveau du service cardiovasculaire-thoracique de l'hôpital Mustapha Bacha (Figure 25 (b)). Ces kystes servent comme source de parasite « les protoscolex » pour analyser l'activité antiparasitaire

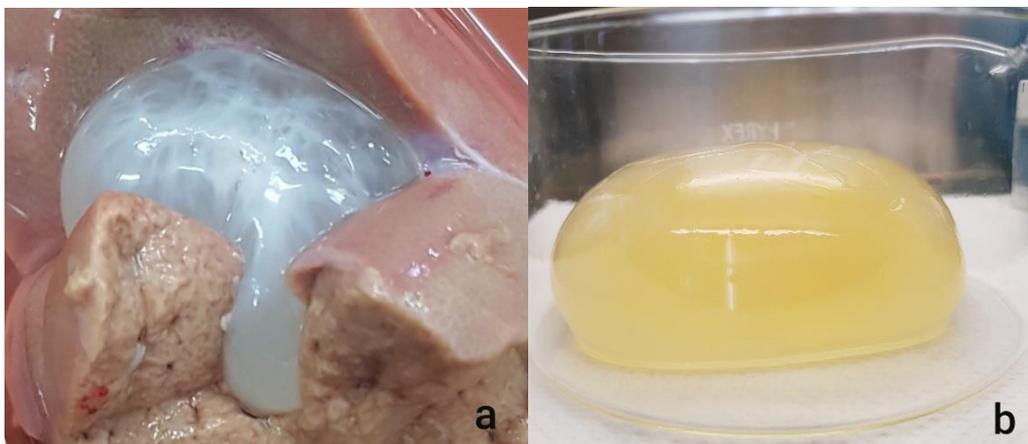


Figure 25 : kyste hydatique de foie animal (a) Poumon humain (b) (Original 2021)

1-3- Les souches microbiennes

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en utilisant des souches suivantes (tableau V) :

Tableau V : souches microbiennes utilisé

Souches	Définition
<i>E. coli</i>	Une bactérie (Gram -) anaérobie facultative que l'on trouve dans l'intestin des vertébrés, en forme de bâtonnet, très commune chez l'être humain.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> médical (ATCC 27853)	Une bactérie (Gram -) robuste, naturellement très résistante aux antibiotiques est une bactérie de forme bacille.
<i>Serratia marcescens</i> .	Une espèce de bactérie (Gram -), en forme de bacille de la famille des Enterobactériacae. Un agent pathogène humain que l'on trouve couramment dans les voies respiratoires et urinaires d'adultes hospitalisés et dans le système gastro-intestinal des enfants
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	Une bactérie (Gram +) en forme de coque. Elle est l'espèce la plus pathogène du genre Staphylococcus qui est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	une bactérie (Gram +) aérobie trouve dans les voies respiratoires. Elle est un coccus, de forme arrondie,

1-4- Matériels de laboratoire

Nous avons utilisé les appareillages suivant (tableau VI) :

Tableau VI : différents appareillages utilisés.

Appareillages	Photos
Centrifugeuse ALC PK121R	
Rotavapeur BUCHI B-480	
Hotte à flux laminaire FASTER	
Autoclave	
Lyophilisateur CHRIST	
Incubateur à CO₂	
Lecteur microplaque Multiskan FC	
Microscope	

Réactifs chimiques

Les principaux réactifs chimiques utilisés :

Acide chlorhydrique (HCl), Diméthyl sulfoxyde (DMSO), Méthanol (CH₃OH), Eau distillée, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Gélose nutritive (GN), Chlorure de fer III (FeCl₃), Magnésium (Mg), Trichlorure d'aluminium (AlCl₃), Ammoniaque (NH₄OH), Acide gallique, Foline siocalteu, Quercétine, réactif de Mayer, réactif de Wanger, Gélose Mueller Hinton, Hydroxyde de sodium (NaOH).

2- Méthode

2-1- Préparation des graines de *Lepidium sativum* pour l'irradiation

Les graines de *Lepidium sativum* ont été conditionnées dans des sachets à raison de 10 g. Ces derniers ont été étiquetés (date d'irradiation, dose d'irradiation et poids) (Figure 26) avant de procéder à l'irradiation.



Figure 26 : Graines de *Lepidium sativum* conditionnées dans des sachets (Original 2021)

2-2- Irradiation les graines de *Lepidium sativum*

L'irradiation des graines de *Lepidium sativum* a été effectuée au moyen d'un irradiateur pilote au niveau du Centre de Recherche Nucléaire d'Alger (CRNA) (Figure 27). Il est composé de trois sources cylindriques de ⁶⁰Co de type COP4 fabriquées par ORIS (France). Elles sont disposées verticalement dans un porte-source en acier inoxydable. Les sources de dimension 384 mm de hauteur et de 26,6 mm de diamètre ainsi disposées forment une hauteur active de 1152 mm. Pour des raisons pratiques une cale de 85 mm est déposée sous la source du bas.

En position d'irradiation, la partie inférieure de cette source se trouve à 350mm au-dessus de la platine. L'activité initiale au 08/10/2002 date d'installation de la source, était de $13,32 \cdot 10^{14}$ Bq soit 35990 Ci.

Dimensions de la piscine :

- ✓ Profondeur 6,50 m
- ✓ Longueur : 2,50 m
- ✓ Largeur : 2,20 m
- ✓ Volume de remplissage en eau désionisée est de 35 m³

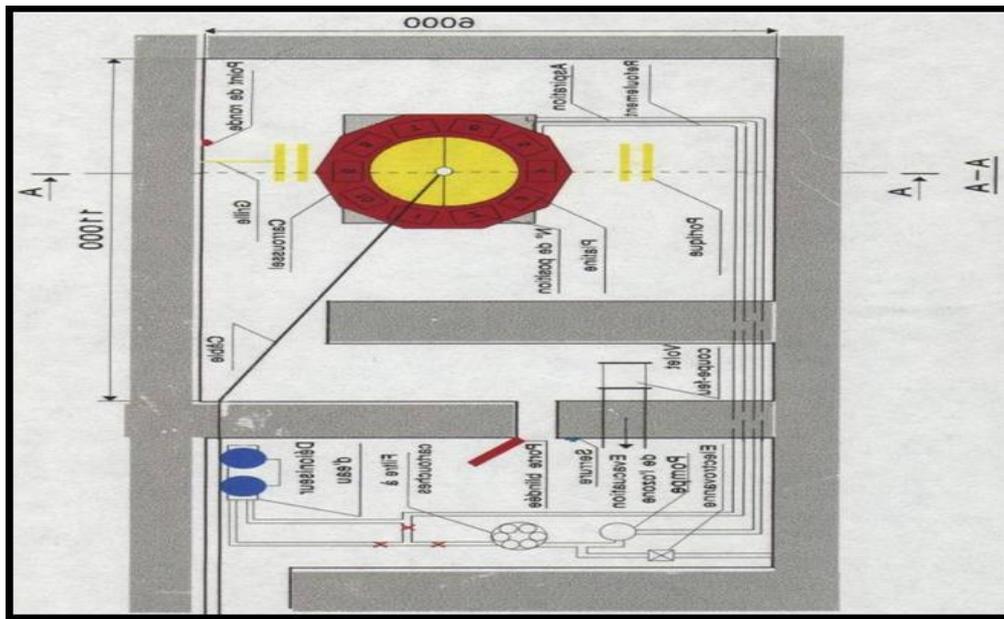


Figure 27 : Schéma de l'irradiation pilote de CRNA (Hadj Rabia, 2019)

Protocole

Les graines de *Lepidium sativum* ont été soumises aux rayonnements gamma γ en utilisant comme source le cobalt 60 (⁶⁰Co). Différentes doses (0.4, 0.8, 1.2, 1.4, 2) ont été appliquées avec un débit de dose de 11.41 Gy/min (Tableau VII).

Tableau VII : Irradiation des graines de *Lepidium sativum*

Temps d'irradiation (min)	35 min	1h 10min	1 h 45 min	2 h	2 h 54min
Dose (KGy)	0.4	0.8	1.2	1.4	2
Position B (cm)	10				
Débit de dose (Gy/min)	11.41				

2-3- Plantation

En vue de suivre la croissance du *Lepidium sativum*, 5 g de graine issues de chaque dose d'irradiation ont été plantés dans des bacs (Figure 28). La germination a été contrôlée durant toute la période tout en assurant les conditions adéquates à savoir l'humidité et la lumière.

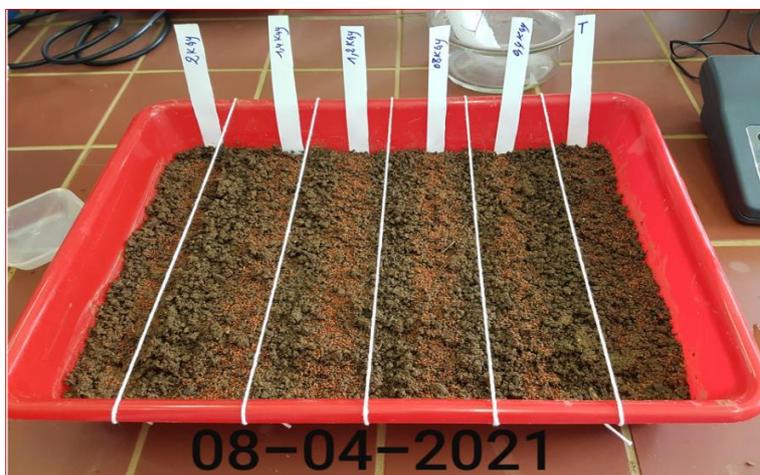


Figure 28 : Plantation des graines de *Lepidium sativum*. (Original 2021)

2-4- Préparation des extraits méthanoliques des graines de *Lepidium sativum*

Principe

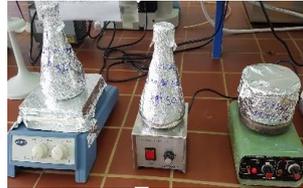
Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules chimiques contenues dans les graines de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

Protocole

20 g de graines de *Lepidium sativum* ont été pesées et broyées au moyen d'un moulin, puis macérées à l'obscurité dans 300 ml de méthanol. Le mélange a été laissé sous agitateur 24 h à température ambiante. La solution est filtrée par la suite au moyen d'une passoire puis centrifugée pendant 10 min à une vitesse de 7000 tours/min.

Le surnageant récupéré a été évaporé à 37 °C dans un Rotavapeur (Büchi B-480) pendant 1 h 30 min. Le résidu obtenu a été récupéré dans un volume d'eau distillée pour être lyophilisé (Figure 29).

Broyage des graines



- Macération dans 300 ml de méthanol
- Agitation 24h à T° ambiant

Filtration



Centrifugation

Évaporation 37°C pdt
1 h 30



Reconstitution du résidu
et répartition dans des
flacons

Lyophilisation



Figure 29 : Protocole de préparation de l'extrait méthanolique des graines de *lepidium sativum*

2-5- Le test phytochimique

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste à détecter les différentes familles de métabolites secondaires existants dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés ainsi que des examens en lumière ultraviolette (Mohammedi, 2013).

Flavonoïde

Un mélange de 5ml de l'extrait avec quelques gouttes de HCl concentré et 0.5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence après apparition d'une couleur rose ou rouge qui se développe après 3 minutes (Bouhadjera et al., 2005).

Alcaloïde

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et Wagner.

1ml de chaque extrait est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 0,5 ml de réactif de Mayer, l'autre par 0,5 ml de réactif de Wagner. L'apparition respective d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

Tanins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 2 ml de l'extrait placé dans des tubes en présence de 200ul de FeCl₃ (1% dans du méthanol). Après agitation, l'apparition d'une couleur vire au brun noire en présence de tanins galliques (tanins hydrolysables). La couleur vire au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés) (Karumi et al., 2004).

Quinones libres

Les quinones libres sont mises en évidence à partir de 1ml de l'extrait avec quelques gouttes de NaOH (1%). L'apparition de couleur rouge ou jaune indique la présence des quinones.

Coumarins

2 ml d'extrait sont introduits dans un tube avec 0,5ml de NH₄OH à 25%. Après observation sous UV à 366 nm, une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

Saponines

5 ml d'extrait mis dans des tubes sont agités pendant quelques secondes puis laissés au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante indique la présence des saponines (Bidie et al., 2011).

2-6- Analyse quantitative des composés phénoliques

principe

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Rossi en utilisant le réactif de Folin-Siocalteu, tandis que les flavonoïdes ont été quantifiés par le dosage direct par le trichlorure d'aluminium selon la méthode adaptée de Lamaïosn et Carnat ([Belguidoum, 2012](#)).

2-6-1- Dosage des polyphénols totaux

protocole

La méthode de quantification des polyphénols a été réalisée par une micro-méthode en utilisant des micro-plaques de 96 puits . Le remplissage de la micro-plaque a été effectué en quadruplicata en ajoutant à 20 µl d'extrait irradié et non irradié (1.5 mg/ml), 100 µl de Follin (à 10%) et 80µl de Na₂Co₃ (à 75%). Pour le blanc, l'extrait a été remplacé par 20 µl de méthanol.

La détermination des concentrations des polyphénols totaux a été effectuée après extrapolation sur courbe d'étalonnage en utilisant comme standard l'acide gallique à des concentrations [200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ,3.12 mg/ml].

La lecture de l'absorbance a été faite à 760 nm après agitation et incubation pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante.

2-6-2- Dosage de Flavonoïdes totaux

Protocol

La méthode de dosage des flavonoides choisie est la micro-méthode par utilisation de micro-plaques de 96 puits. Le remplissage des puits a été effectué en quadruplicata en déposant dans chaque puits 100 µl de AlCl₃ (2 g dans 100 ml de méthanol) et 100 µl de l'extrait (T, 0.4, 0.8, 1.2, 1.4, 2) à une concentration de 3 mg/ml. 20 µl de DMSO ont été utilisés comme blanc et la quercetine à des concentrations [64, 32,16, 8, 4, 2, 1 mg/ml] comme standard pour tracer la courbe d'étalonnage.

La lecture de l'absorbance a été faite à 450 nm après agitation et incubation pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante.

2-7- Évaluation de l'Activité antioxydant

principe

D'un point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant des groupes -SH, -NH et -OH. Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle possède un électron non apparié sur un atome d'azote. Ce radical ne forme pas des dimères, il reste donc sous sa forme monomère qui est relativement stable (Popovici et al., 2009).

La réduction du DPPH par un agent antioxydant en DPPH-H induit une perte de sa couleur violette foncée qui va se transformer en jaune pâle (Molyneux, 2004) (figure 30). Cette réaction qui s'effectue à température ambiante pour éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles (Popovici et al., 2009) peut être suivie spectrophotométriquement en mesurant la diminution de son absorbance (Molyneux, 2004).

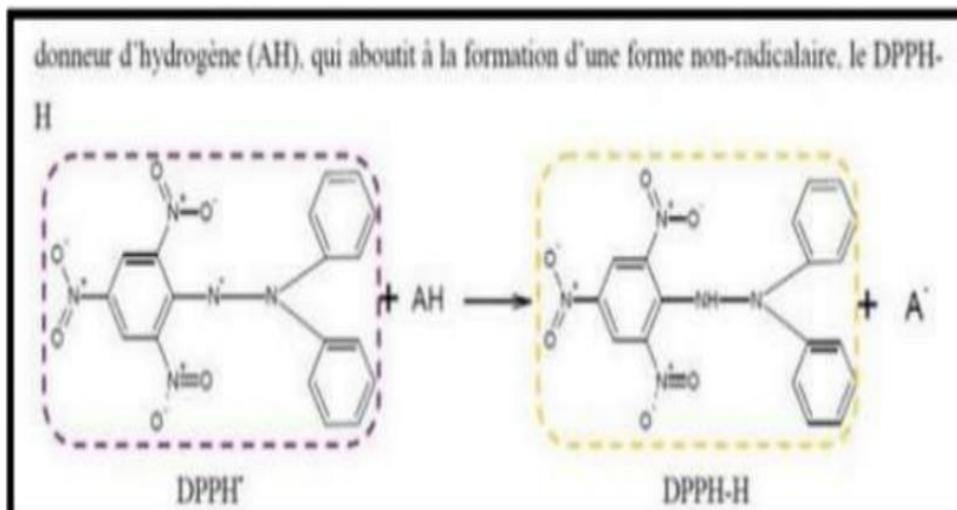


Figure 30 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (Molyneux, 2004).

Protocol

L'activité antioxydante a été évaluée par la micro-méthode utilisant des micro-plaques de 96 puits. A 100 µl d'extrait (10 mg/ml) diluée à différentes concentrations (10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.322, 0.156 mg/ml) sont ajoutés 2,4 mg DPPH dans un 100 ml méthanol. Le blanc correspond à 100 µl de DPPH et 100 µl de Méthanol.

Après incubation pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante, une lecture de l'absorbance est effectuée à 530 nm.

2-8-2- Test de l'activité antibactérienne

a- *Ensemencement des souches à tester*

La gélose Mueller-Hinton stérile est coulée dans des boîtes pétrie stériles à 4 mm d'épaisseur. Un étalement à deux reprises à la surface entière de la gélose Mueller Hinton (GMH) a été effectué au moyen d'un écouvillon imbibé dans une suspension bactérienne préalablement préparée (Figure 33).



Figure 33 : Étalement des suspensions à deux reprises (original 2021)

b- **Test de sensibilité aux extraits et à l'antibiotique**

Un volume de 40 μ l (30 mg/ml) d'extraits méthalonique (T, 0.4, 0.8, 1.2, 1.4, 2 KGy) et de DMSO (blanc) a été déposé sur des disques stériles, préalablement disposés à la surface de la gélose. Après diffusion pendant 20 min, les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 h (Figure 34). La lecture est effectuée en mesurant le diamètre apparu autour des disques (zones circulaires transparentes) correspondant à l'inhibition de la croissance en le comparant à celui de l'antibiotique standard (Colistin) . Un diamètre large se traduit par la présence de souche sensible.

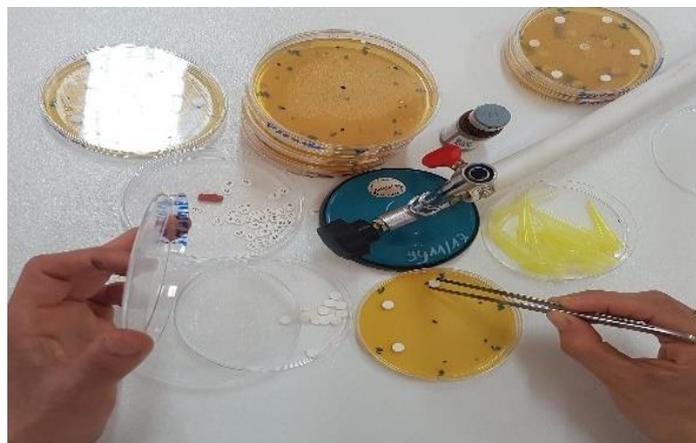


Figure 34 : Disposition des disques (original 2021)

2-9- Evaluation de l'activité antiparasitaire de l'extrait

Les kystes hydatiques d'origine animal (kyste hépatique de mouton) et humain (kyste pulmonaire) ont été ramenés respectivement au niveau de l'abattoir de Hadjout de la willaya de Tipaza et du service cardiovasculaire-thoracique de l'hôpital Mustapha Bacha. Ces kystes ont été lavés à l'eau physiologique stérile puis ponctionnés stérilement sous une hotte à flux laminaire (Figure 35).

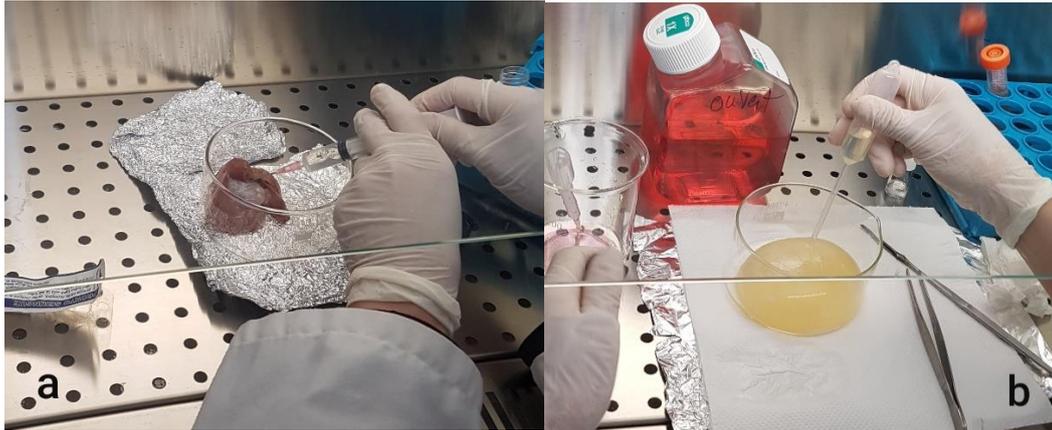


Figure 35 : Ponction du kyste hydatique de foie animal(a) et de poumon humain(b) (original 2021)

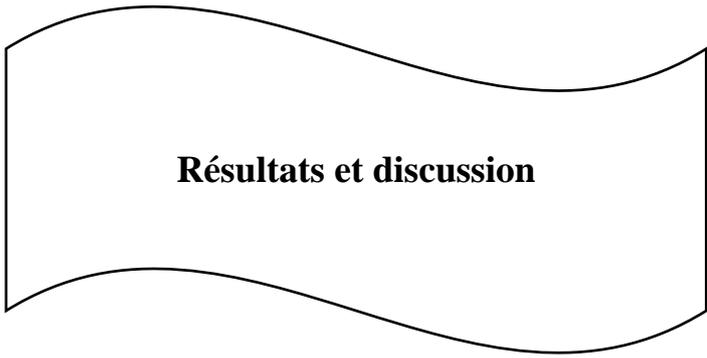
Le fluide hydatique a été par la suite centrifugé à 2500 tours/min pendant 20 min en vue de récupérer le culot qui contient les formes parasitaires vivantes (protoscolex). La présence de ces dernières a été confirmée par observation au microscope optique.

La culture des protoscolex est généralement faite sur milieu RPMI 1640 additionné d'antibiotique streptomycine/pénicilline (100 U/ml de pénicilline et 100 µg/ml de streptomycine) et de 10% de sérum de veau fœtal (SVF), Ils sont mis en incubation dans une atmosphère humide avec 5% de CO₂. Les protoscolex sont ensuite soumis à un test de viabilité à l'éosine à 0.1%.

a- Test de viabilité des protoscolex

L'usage des colorants vitaux permet de révéler la viabilité des protoscolex. Le colorant pénètre à l'intérieur des protoscolex morts qui ne peuvent plus l'exclure, alors que les vivants sont imperméables à ce colorant ce qui donne alors une apparence réfringente au microscope optique.

A un volume de protoscolex est ajouté le même volume de colorant vital (v/v). Le mélange est incubé pendant 5 min à température ambiante et une goutte de ce mélange est déposée entre lame et lamelle pour réaliser une observation au microscope photonique à différents grossissements.



Résultats et discussion

RÉSULTAT ET DISCUSSION

1- Plantation des graines irradiées

Les résultats de la plantation des graines soumises ou non aux rayonnements gamma sont présentés sur (figure 36).



Figure 36 : Résultats de *Lepidium sativum* cultivé après 4 jours (a) après 7 jours (b) après 10 jours (c) de plantation (*original 2021*)

En effet, il a été constaté que la durée de germination était retardée sous l'effet des rayonnements gamma notamment pour les fortes doses de 1.2, 1.4 et 2 kGy qui ont montré un retard dans l'initiation et l'achèvement de la germination. Cet effet était très évident pour la dose 2 kGy. Il est probable que ce ralentissement dans la germination est due à l'effet inhibiteur de ces rayonnements sur la dormance des graines tel qu'il a été rapporté par ([Ahmad et Qureshi 1992](#) ; [Din et al., 2003](#)).

Malgré le retard de la germination, il est intéressant de noter qu'une dense croissance a été observée pour les graines irradiées à des doses 0.8, 1.2 et 1.4 kGy (Figure 36) comparée à celle du témoin non traité par les rayonnements. Cela a été déjà observé par ([Abdul et al., 2010](#)) qui ont constaté une augmentation dans le pourcentage de germination à des doses 0.7 et 0.8 kGy. D'après eux, cela était attribué à l'effet stimulateur de ces rayonnements sur l'activation de la synthèse de RNA ou des protéines ou alors à l'élimination des moisissures, la population bactérienne et de leurs spores. L'effet des rayonnements gamma à une dose 2 kGy a révélé non seulement un retard dans la germination mais aussi une croissance moins abondante à celle du témoin non irradié (Figure 36) avec un aspect nain des plantes. Ceci est du probablement à l'activité mitotique réduite et au taux réduit d'humidité sous l'effet de fortes doses tel qu'il a été décrit par ([Khalil et al., 1986](#) ; [Abdul et al., 2010](#)).

2- Rendement de l'extrait méthanolique

Plusieurs travaux ont été investigués sur la plante *Lepidium sativum* en vue d'évaluer les activités biologiques potentielles, exercées par ses constituants chimiques. Cependant jusqu'à présent, aucun travail n'a été entrepris pour étudier l'impact des rayonnements gamma sur les composés bioactifs de cette plante.

L'objectif principal de cette étude consiste à explorer l'effet de diverses doses d'irradiation gamma sur la composition chimique de l'extrait méthanolique des graines de *Lepidium sativum* et sur son activité antioxydante, antibactérienne et antiparasitaire.

Le rendement d'extraction a été déterminé après extraction méthanolique suivie d'une lyophilisation (Figure 37).

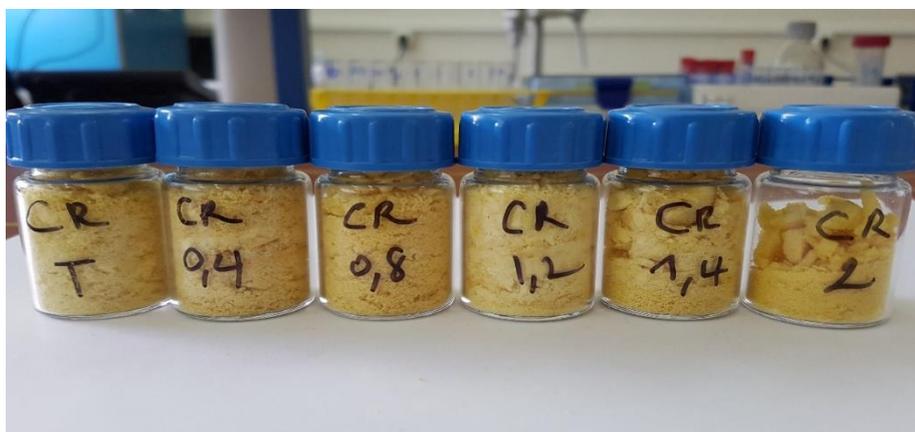


Figure 37 : Extrait lyophilisé des graines de *Lepidium sativum* (original 2021)

Les résultats présentés sur le tableau VIII montrent des rendements de 8.75%, 8.27%, 8.62%, 8.81% et 9.3% respectivement pour les graines irradiées à des doses (0.4, 0.8, 1.2, 1.4 et 2 kGy) et 7.6% pour le témoin non soumis aux radiations.

Nos résultats montrent une augmentation dans le rendement d'extraction de l'ordre de 1.15%, 0.67%, 1.02%, 1.21% et 1.7% pour les graines ayant reçu respectivement les doses 0.4, 0.8, 1.2, 1.4 et 2 kGy, avec un taux maximal atteint à la dose 2 kGy.

L'augmentation dans le poids sec des extraits méthanoliques pourrait être due à l'effet des rayonnements gamma sur la structure des tissus des plantes et à la dégradation de certains composants de haut poids moléculaire, en les faisant passer d'une forme insoluble à une forme soluble dans le solvant d'essai (Bureau et al., 2009 ; Gumus et al., 2011 ; Abolhasani et al., 2018)

Tableau VIII : Rendement de l'extraction méthanolique

Doses (kGy)	Poids sec utilisé (g)	Rendement d'extraction(%)
0 (Témoin)	20	7.6
0.4	20	8.75
0.8	20	8.27
1.2	20	8.62
1.4	20	8.81
2	10	9.3

3- Tests phytochimique

L'analyse phytochimique des extraits méthanoliques préparés à partir des graines de *Lepidium sativum* soumises ou non à des rayonnements gamma montre selon le tableau IX les principaux groupes chimiques identifiés à savoir les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tannins, quinones, coumarines et les saponines.

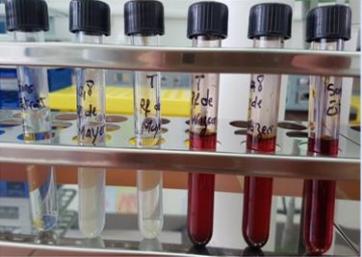
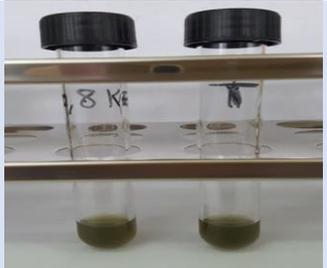
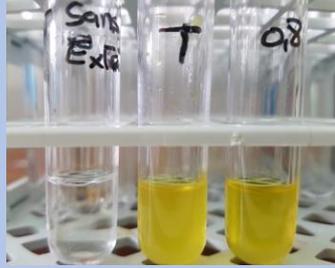
Ce résultat reflète la présence d'un certain nombre de constituants chimiques, connus par leurs différentes actions pharmacologiques.

Des investigations dans ce sens ont été entreprises par plusieurs chercheurs qui ont permis d'identifier différents composants bioactifs de cette plante (Berehe & Boru, 2014; George et al., 2015; Chatoui et al., 2016; Ghebremariam et al., 2018 ; Omer et al., 2020).

Il a été rapporté que les groupes flavonoïdes présentaient de hautes activités biologiques tels que les effets antioxydants, anti-inflammatoires antimicrobiens, anti-anioniques, anticancer et anti-allergiques (Anyasor et al., 2010). Les saponines sont eux même impliquées dans les mécanismes de défense du fait de leur activité antibactérienne (Barile et al., 2007). Les tanins et leurs dérivés sont des composants phénoliques considérés comme des antioxydants primaires ou des capteurs de radicaux libres (Igbinosa et al., 2009).

Le choix adéquat du solvant d'extraction semble être une étape importante étant donné que la solubilité des composants bioactifs qu'on désire extraire dépend étroitement de cette phase tel qu'il a été observé par (Chatoui et al., 2016), en ayant utilisé trois solvants (méthanol, l'acétate d'éthyle et éther de pétrole), ils ont pu détecter les tanins, les stérols et les polyterpènes seulement après extraction méthanolique. Ce solvant est capable d'extraire à la fois des composants polaires et semi-polaires (Bureau et al., 2009)

Tableau IX : Analyse phytochimique des extraits méthanoliques de *lepidium sativum*

Composants chimiques	Présence /Absence dans le matériel végétal	Résultats
Flavonoïdes	+	
Alcaloïdes	+	 test de réactive Mayer test de réactive Wagner
Tanins	+	
Quinones libres	+	
Coumarines	+	
Saponines	+	

4- Analyse quantitative des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits méthanoliques des graines de *Lepidium sativum* non traités par les rayonnements gamma et ceux irradiés à des doses 0,4, 0,8, 1,2, 1,4 et 5 kGy a été réalisé en quadruplicate par une micro-méthode colorimétrique (Figure 38).

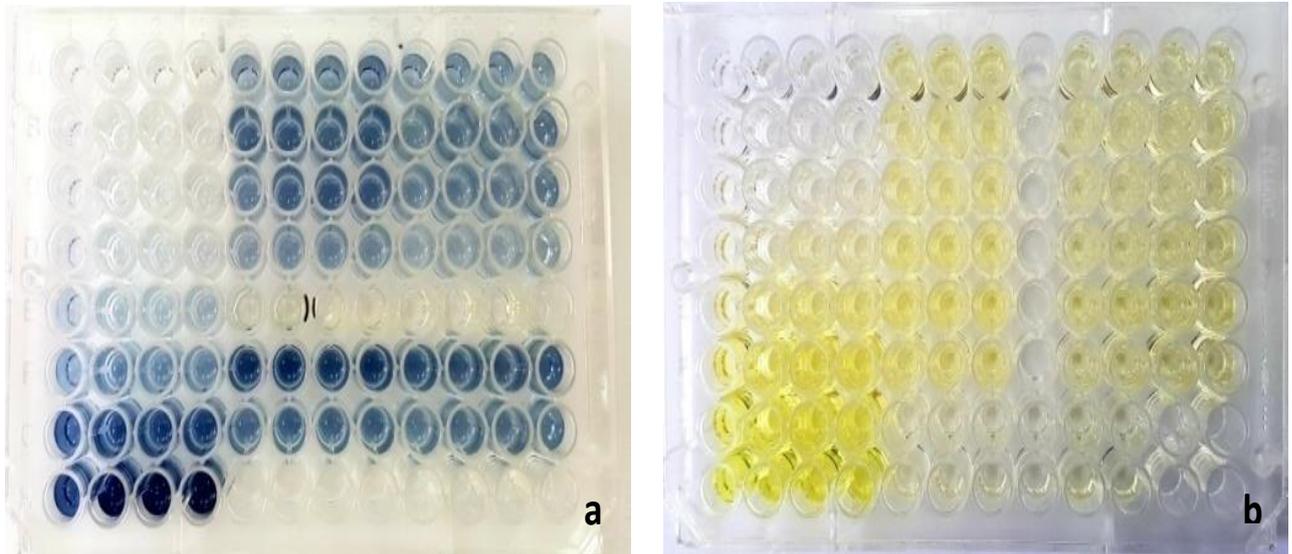


Figure 38 : Dosage des polyphénols (a) et des flavonoïdes(b) (original 2021)

La concentration en composés phénoliques contenus dans ces extraits a été déterminée par extrapolation sur deux courbes étalons, établies à partir d'une solution standard d'Acide gallique (dosage des polyphénols totaux) et de quercétine (dosage des flavonoïdes) (Figure 39).

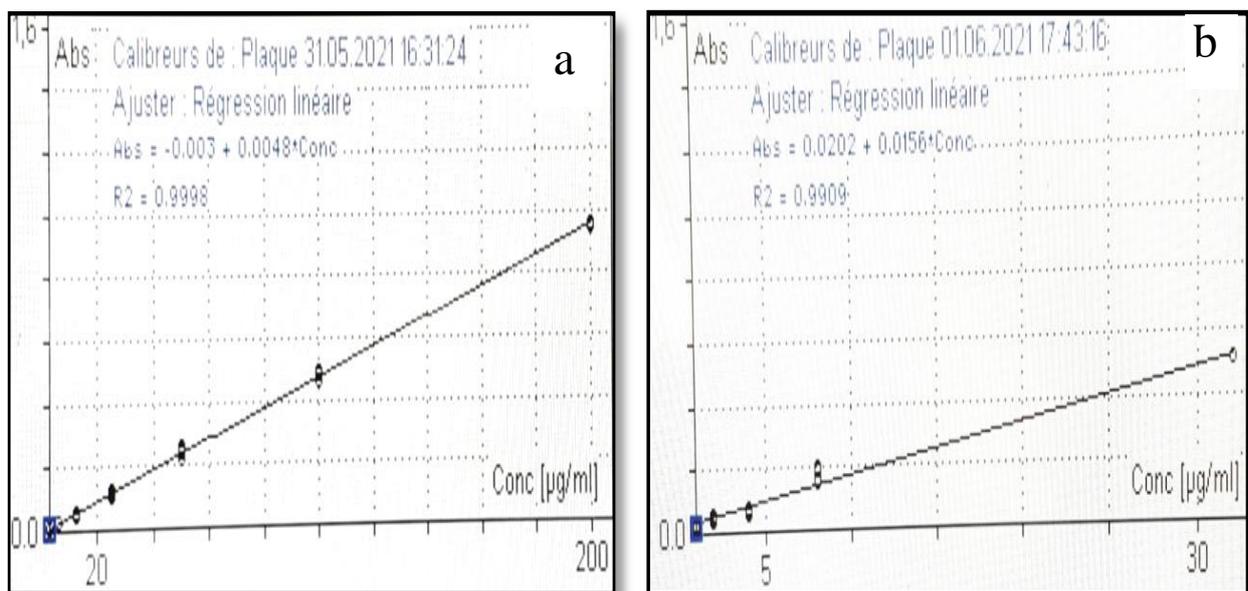


Figure 39 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique (a) et la quercétine (b) (original 2021)

La teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes correspondantes à l'extrait étudié a été exprimée respectivement en milligramme d'équivalent d'acide gallique ou de quercétine par gramme d'extrait lyophilisé (tableau X).

Tableau X : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des graines de *Lepidium sativum* exposées aux rayonnements gamma

Dose (kGy)	Polyphénol totaux (mgEAG/g)	Flavonoïdes (mgEQ/g)
0	32.01±3.89	1.94±0.10
0.4	49.18±1.77*	2.62±0.11*
0.8	48.91±2.00*	2.60±0.23*
1.2	64.87±3.37*	3.38±0.24*
1.4	72.89±1.02*	4.10±0.32*
2	47.76±1.47*	3.20±0.20*

Teneurs exprimés en Moyenne ±DS

* Valeurs significativement différentes en comparaison avec le témoin non irradié (Turky test, $p < 0.05$)

D'après le tableau, une différence remarquable est observée dans la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits méthanoliques des graines exposées aux rayonnements gamma par rapport celle du témoin non irradié.

Ces résultats montrent un effet dose-dépendant qui se traduit par une augmentation significative ($p < 0.05$) de la teneur en composants phénoliques en fonction de la dose appliquée. Les valeurs maximales atteintes pour les polyphénols totaux et les flavonoïdes sont respectivement 72.89±1.02 mgEAG/g et 4.10±0.32 mgEQ/g pour la dose 1.4 kGy. Ces valeurs diminuent respectivement jusqu'à 47.76±1.47 mgEAG/g et 3.20±0.20 mgEQ/g après exposition à 2 kGy.

Selon la bibliographie, la teneur en composants phénoliques dans les extraits préparés à partir des graines non irradiés de *Lepidium sativum* s'avère variable car cela dépend de l'origine des graines, le solvant utilisé et les conditions opératoires (Chatoui et al., 2020).

Il n'y a aucune information disponible dans la bibliographie sur l'effet des radiations ionisantes sur la teneur en composants phénoliques des graines de *Lepidium sativum*. Cependant, des investigations entreprises sur d'autres plantes ont révélé des diminutions dans la quantité de ces polyphénols (Koseki et al., 2002 ; Gumus et al., 2011), contrairement à d'autres travaux qui ont trouvé aucun effet significatif (Kim et al., 2000; Mishra et al., 2006; Pérez et al., 2007). Selon (Gumus et al., 2011), cette différence d'effet est attribuée à une variation dans les composants phénoliques des plantes, conditions géographiques et environnementales, la procédure et le solvant d'extraction et la dose d'irradiation (Bureau et al., 2009).

Il est intéressant de noter que nos résultats révèlent un effet bénéfique des rayonnements gamma sur l'accumulation des composants phénoliques tel qu'il a été démontré par plusieurs auteurs (Bureau et al., 2009; Khalil et al., 2015; Lee et al., 2017).

Les données obtenues à partir des plantes cultivées ont montré aussi qu'il y'avait une corrélation dans l'augmentation de la dose d'irradiation et l'activité de l'enzyme phénylalanine ammonia-lyase (PAL) qui est impliquée dans la biosynthèse de divers phénoliques et flavonoïdes. (El-Beltagi et al., 2011 ; Vardha & Shukla, 2017).

D'après nos résultats, l'augmentation du taux des polyphénols en fonction de la dose d'irradiation s'explique probablement par une libération des composants phénoliques à partir des composants glycosidiques et à la dégradation des formes complexes sous l'effet des rayonnements en formes plus simples (Harrison & Were, 2007 ; Vardha & Shukla, 2017). Certains auteurs ont associé cette augmentation à une dégradation des tannins. (Bureau et al., 2009).

Quant à la diminution du taux des polyphénols totaux pour la dose 2kGy, ceci pourrait être due à une dégradation et disparition de certains composants (Abdeldaim et al., 2009) présentant une sensibilité aux fortes doses reçues. Une autre explication probable est peut être liée aux changements de conformation dans la structure des polyphénols. (Bureau et al., 2009). Des analyses complémentaires pourraient nous apporter plus de clarification.

Il est probable que l'irradiation exerce son effet en induisant la radiolyse des molécules d'eau qui donnent naissance à des radicaux libres. Ces derniers, peuvent engendrer une rupture des liaisons glycosidiques, menant à la formation des composants simples d'où l'augmentation de la teneur des polyphénols totaux (Vardha & Shukla, 2017).

5- Évaluation de l'Activité antioxydante

Les radicaux libres sont des espèces extrêmement réactives et sont connues par leur effet détériorant menant à de nombreux problèmes de santé et maladies dégénératives. Les plantes sont bien connues par leurs composants antioxydants potentiels tels que les flavonoïdes, les tanins les lignines etc.

L'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques des graines de *Lepidium sativum* exposées ou non aux rayonnements gamma a été analysée en utilisant le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) qui a été réalisé en triplicata par une micro-méthode colorimétrique (Figure 40). La réduction dans l'absorbance de DPPH est liée au potentiel antioxydant de l'extrait qui permet de réduire ce composé radicalaire de couleur violette en un composé jaunâtre non radicalaire.

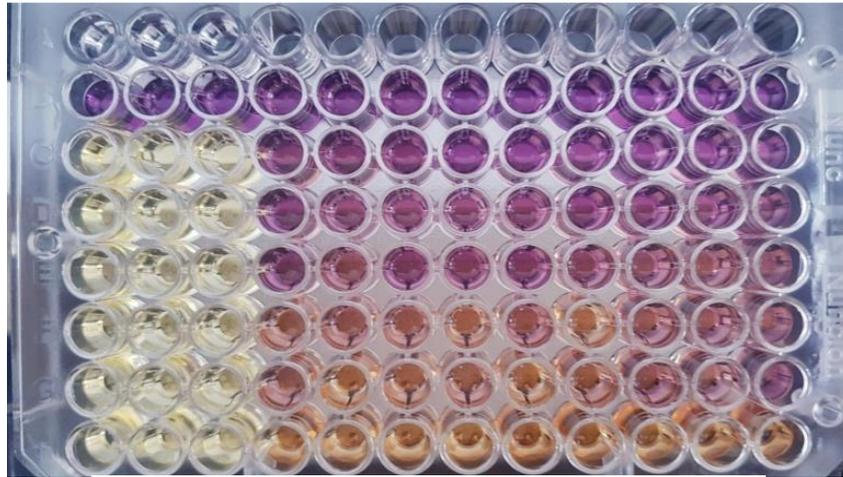


Figure 40: Activité antioxydante (original 2021)

Le graphe (Figure 41) montre le pourcentage d'inhibition du DPPH qui augmente en fonction des différentes concentrations d'extraits testés (0.078-5 mg/ml) ainsi que les doses d'irradiation.

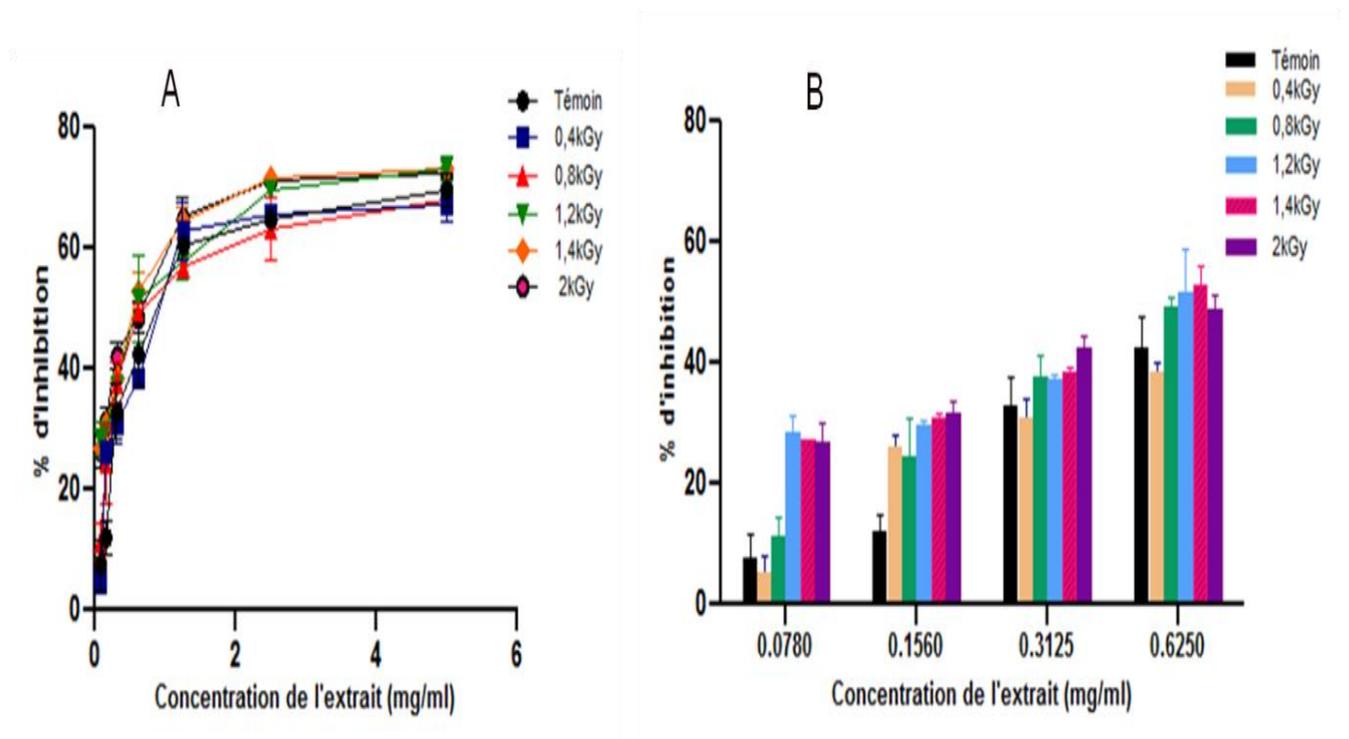


Figure 41 : Activité de piégeage des extraits des graines irradiées et non irradiées sur le radical DPPH (original 2021)

Il paraît que l'effet des rayonnements gamma augmente de façon significative cette capacité de piégeage du radical DPPH ($p < 0.0001$) pour les doses 0.4, 0.8, 1.2, 1.4 et 2 kGy par rapport au témoin non irradié et ce, pour une concentration de 0,156 mg/ml d'extrait méthanolique (Figure 41 (B)).

Pour une concentration de 0.625mg/ml, Cette inhibition augmente significativement ($p < 0.05$) à 54.25 % et 52.94 %, respectivement pour les doses 1.2 et 1.4 KGy comparé au témoin non irradié (42.39%).

Il est probable que cette augmentation est le résultat d'une accumulation des polyphénols totaux dans l'extrait des graines irradiées (Bureau et al., 2009; Chatoui et al., 2020) notamment pour les doses 1.2 et 1.4 kGy qui ont révélé des teneurs plus élevées. Ces polyphénols sont de puissants antioxydants bénéfiques pour la santé de l'homme pouvant neutraliser l'action nuisible de plusieurs molécules oxydatives.

Comme l'analyse phytochimique a révélé la présence des flavonoïdes, des saponines, des tannins, des quinones et des alcaloïdes, cela traduit en fait l'effet antioxydant observé dans notre étude sachant que ces composés bioactifs possèdent une capacité donatrice d'hydrogène, en agissant comme antioxydant capable de décolorer la solution DPPH (Chatoui et al., 2016). Ce pouvoir antioxydant a été aussi décrit par (Jovanovic et al., 1994) en démontrant la capacité de ces composés phénoliques à piéger les radicaux libres, le superoxyde et le radical hydroxyle par un simple transfert d'électrons.

6- Évaluation de l'activité antibactérienne

La recherche de nouveaux produits naturels est considérée comme une approche prometteuse pour découvrir de nouvelles sources d'activité antimicrobienne raison de la menace mondiale de résistance bactérienne aux antibiotiques actuellement utilisés. Les plantes médicinales sont considérées comme des alternatives cliniquement efficaces et plus sûres à ces antibiotiques synthétiques.

A cet effet, l'activité antibactérienne de notre extrait méthanolique a été investiguée dans cette étude en ayant testé 4 souches bactériennes Gram⁻ (*E. coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginus médical* (ATCC27853), *Serratia marcescens*) et 2 souches Gram⁺ (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pneumoniae*).

Les résultats présentés dans le tableau XI montrent les zones d'inhibition de ces différentes souches, variant de 9 à 15 mm et 6 à 12 mm, respectivement pour 30 mg/ml (1.2 mg/disque) d'extraits des graines irradiées et non irradiées. Aucune inhibition de la souche d'E coli n'a été observée vis-à-vis de cet extrait et aucun effet antibactérien n'a été exercé par le DMSO.

Tableau XI : Etude de l'activité inhibitrice d'extraits des graines de *Lepidium sativum*

Souches bactériennes	Diamètre d'inhibition (mm)							
	Témoin	Dose 0.4kGy	Dose 0.8kGy	Dose 1.2kGy	Dose 1.4kGy	Dose 2kGy	Anti-biotique	DMSO
<i>E. coli</i> (ATCC25922)	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	6	10	10	11	11	10	34	0
<i>Pseudomonas aeruginosa médical</i> (ATCC27853)	9	9	12	12	15	8	7	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	12	15	15	14	15	15	10	0
<i>Serratia marcescens</i>	11	12	12	12	13	13	14	0

Une meilleure zone d'inhibition de 15 mm a été obtenue avec les extraits irradiés contre les souches *Streptococcus aureus* (ATCC25923) et *pseudomonas aeruginosa médical* (ATCC 27853). Par contre ces dernières, ont montré respectivement des diamètres réduits jusqu'à 7 mm et 10 mm vis-à-vis de l'antibiotique standard (Colistin) cela indique que notre extrait présente un pouvoir antibactérien puissant par rapport à celui de l'antibiotique standard.

Il paraît que les rayonnements gamma exercent un effet positif en améliorant l'inhibition de la croissance des souches *Pseudomonas aeruginosa médical* (ATCC 27853), *Serratia marcescens*, *Streptococcus pneumoniae*, et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (Eamsiri et al., 2019).

L'efficacité antimicrobienne des extraits de graines de *Lepidium sativum* par rapport à divers agents pathogènes microbiens a été documentée (Akrayi et al., 2012; Alqahtani et al., 2018; Saddiq et al., 2019; Ibrahim et Kebede., 2020). En effet, des travaux rapportés par (Omer et al., 2020) ont révélé des effets antibactériens à des concentrations d'extrait supérieures à celles utilisées dans notre étude : ≥ 25 mg/ml (2.5 mg/puits) pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), ≥ 200 mg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa médical* (ATCC 27853) et ≥ 50 mg/ml pour *E. coli*. Absence d'inhibition pour cette dernière est probablement due à la faible concentration d'extrait utilisée dans notre cas, qui est de 30 mg/ml (1.2mg/disque).

une activité contre ces trois souches a été aussi observée par (Adam et al., 2011) à une concentration de 2.5 mg/ml (2.5 mg/puits). D'autres ont pu observer cet effet contre ces souches à une concentration de 50 mg/ml (5 mg/puits) excepté la souche *Staphylococcus aureus* (Ghebremariam et al., 2018) qui était résistante contrairement à notre cas où elle a montré une

sensibilité à une faible concentration d'extrait (1.2mg/ml) et qui augmentait sous l'effet des rayonnements.

Nos résultats semblent satisfaisants étant donné qu'à des concentrations faibles en extrait il a été pu observer des inhibitions pour toutes les souches excepté *E coli*. Cela pourrait refléter la bonne qualité de notre extrait en termes de préservation de ses composés bioactifs lors de sa préparation.

7- Évaluation de l'activité antiparasitaire

Pour évaluer l'activité antiparasitaire, il a fallu faire une récolte des kystes hydatiques soit d'origine humaine ou animale. Ceci a nécessité des déplacements au niveau des hôpitaux, au niveau des cliniques privées et même au niveau des abattoirs où nous étions obligés d'assister toute la matinée à l'abattage des bovins et des ovins pour pouvoir éventuellement avoir un kyste.

Aussi, vue la pandémie du COVID-19, cela s'est répercuté sur notre travail en limitant ou en immobilisant les interventions au niveau des hôpitaux et des accès au niveau des abattoirs.

Durant toute la période du stage, nous avons pu obtenir que deux kystes. Un kyste hépatique de mouton, qui a été ramené au niveau de l'abattoir de Hadjout. Un deuxième kyste hydatique de poumon humain, récupéré du service cardiovasculaire-thoracique de l'hôpital Mustapha Bacha.

La réalisation du test antiparasitaire nécessite des formes parasitaires vivantes avec un taux de viabilité supérieur à 90%. Malheureusement après ponction des kystes hydatiques pour récupérer les protoscolex, le premier était complètement stérile (absence de protoscolex) alors que le deuxième contenait des formes parasitaires en état de souffrance après observation microscopique (Figure 42 (a)(b)).

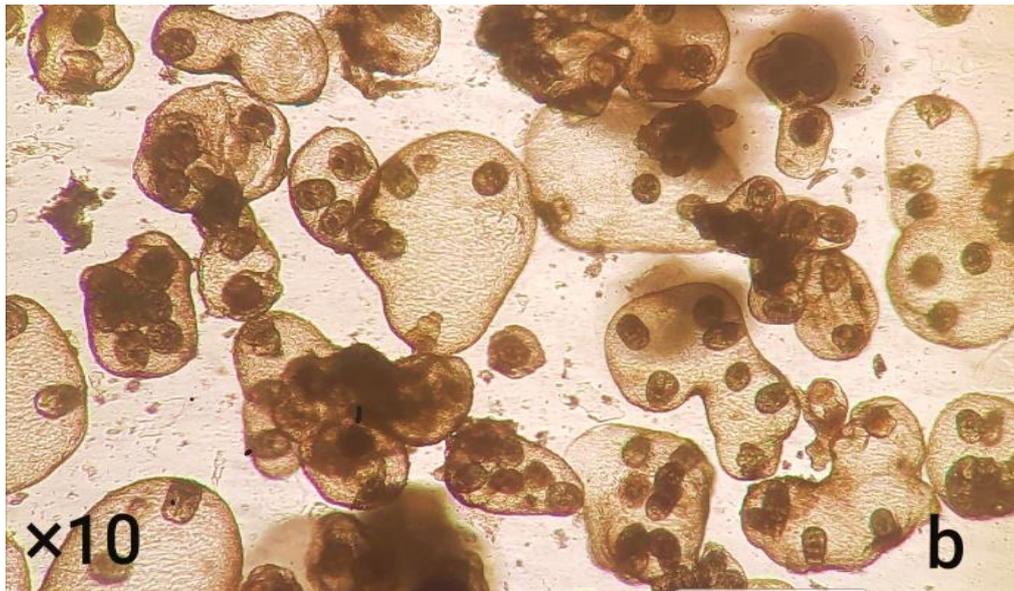


Figure 42 : observation microscopique des protoscolex dans des vésicules prolifères (original 2021)

Cet état persistait même après les avoir mis en incubation pendant 24h dans du milieu de culture pour qu'ils s'adaptent à leur environnement (Figure 43). Après incubation, le taux de viabilité s'est avéré très faible (26.3%) pour la réalisation du test.

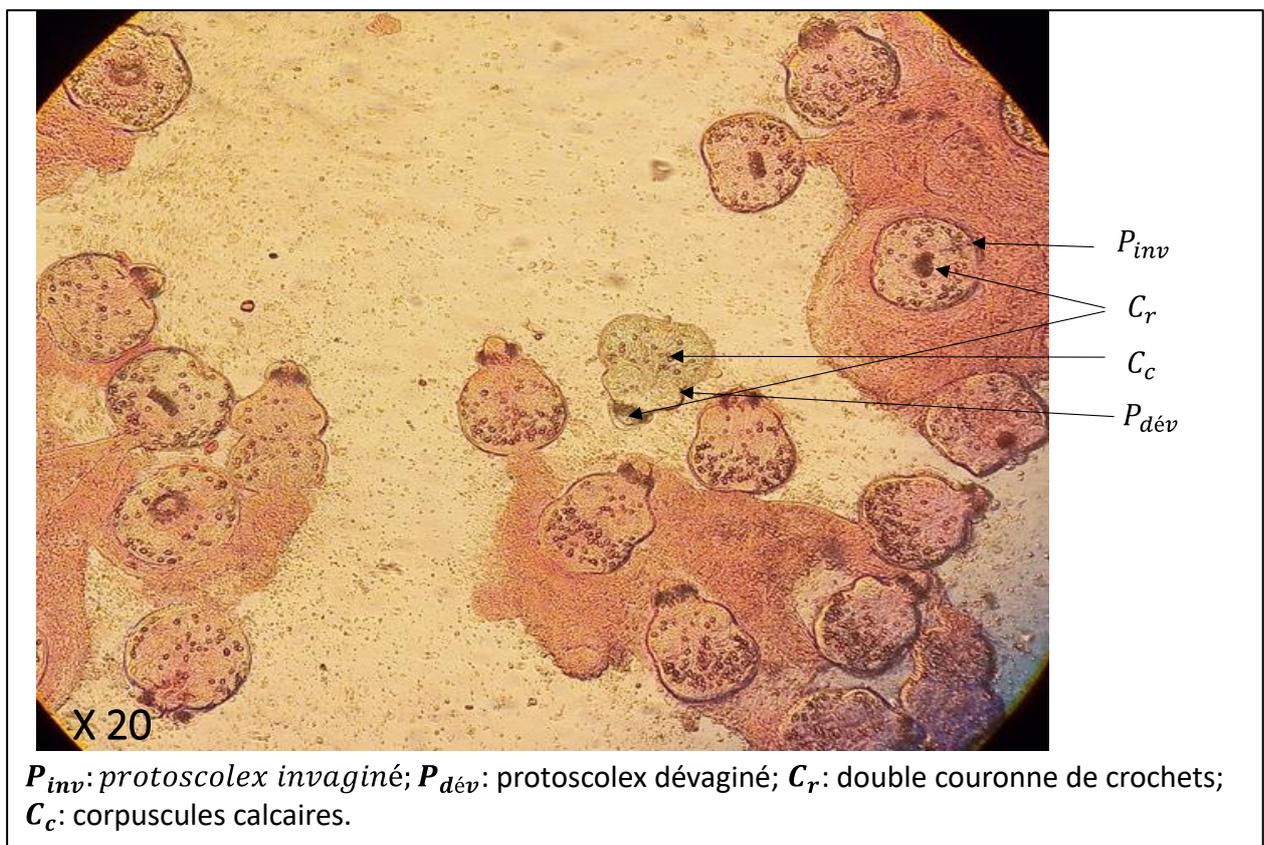
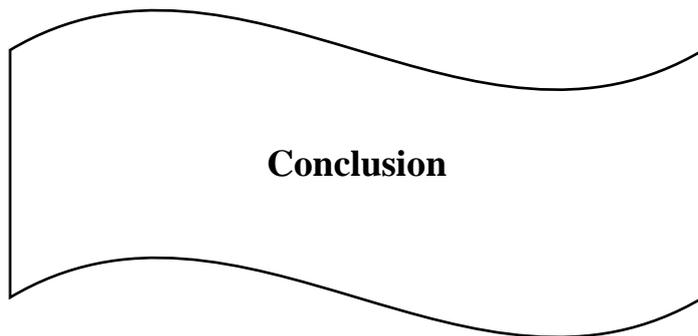


Figure 43 : Observation microscopique des protoscolex colorés à l'éosine après 24 h de mise en incubation dans du milieu RPMI 1640 (original 2021)



Conclusion

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'Algérie est très connue par ses plantes aromatiques et médicinales. Elles sont riches en métabolites secondaires qui leur confèrent de diverses caractéristiques pharmacologiques.

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à la plante « *Lepidium sativum* » dont le choix s'est basé sur son utilisation fréquente dans nos traditions culinaires et médicinales, en visant l'étude de ses effets biologique après traitement par les rayonnements gamma.

Nous avons procédé d'abord à l'irradiation des graines de *Lepidium sativum* à différentes doses (0,4 ; 0,8 ; 1.2 ; 1.4 et 2 kGy) en vue d'évaluer l'impact des rayonnements gamma sur la composition chimique et sur les effets biologiques de l'extrait.

L'estimation du rendement d'extraction à partir des graines irradiées a révélé une augmentation dans le poids sec des extraits par rapport au témoin, proportionnellement à la dose appliquée. Le taux maximal atteint était de 9.3% à la dose 2 kGy.

L'analyse phytochimique a permis d'identifier les principaux constituants chimiques, connus par leurs différentes actions pharmacologiques à savoir les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tannins, quinones, coumarines et les saponines.

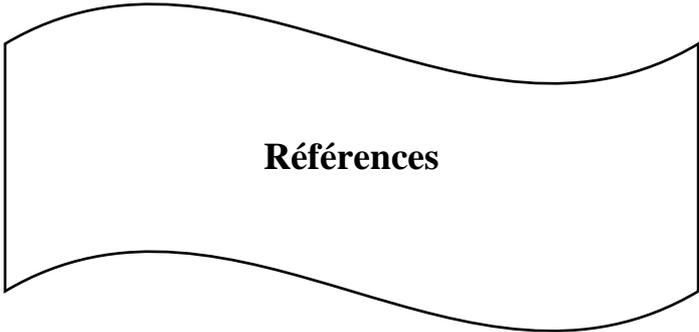
En outre, le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'extrait des graines irradiées a montré des teneurs significativement augmentées par rapport au témoin, atteignant respectivement des valeurs maximales de 72.89 ± 1.02 mgEAG/g et 4.10 ± 0.32 mgEQ/g pour une dose de 1.4 kGy.

Le traitement par irradiation gamma a révélé aussi un accroissement dans l'activité de piégeage du radical libre DPPH notamment pour les extraits des graines irradiées à les doses 1.2 et 1.4 kGy qui ont montré des taux élevés en polyphénols totaux et en flavonoïdes, connus par leurs propriétés antioxydantes.

L'impact des rayonnements gamma sur l'activité antibactérienne de l'extrait a été prouvé par une amélioration de l'inhibition de la croissance des souches testées par rapport au témoin, en révélant des zones d'inhibition augmentées sauf pour *E coli* qui a montré une résistance à 30mg/ml d'extrait. Une sensibilité de cette souche serait probable pour des concentrations plus élevées.

Quant à l'évaluation de l'activité antiparasitaire, cette dernière n'a pas pu être effectuée étant donné que le taux de viabilité des parasites était faible (26.3%) et insuffisant pour la réalisation de ce test.

Au vu des résultats obtenus, il serait intéressant en continuité de ce travail d'évaluer cette activité antiparasitaire et de s'investiguer aussi à l'étude de l'impact des rayonnements gamma sur l'amélioration des composés bioactifs des plantes, connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-infectieuses.



Références

« A »

- Abdul**, M., Khan, A. U. R., Habib, A., & Zahir, M. (2010). Gamma irradiation effects on some growth parameters of *Lepidium sativum* L. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 5(1), 39-42.
- Abdeldaim**, G. M., Strålin, K., Kirsebom, L. A., Olcén, P., Blomberg, J., & Herrmann, B. (2009). Detection of *Haemophilus influenzae* in respiratory secretions from pneumonia patients by quantitative real-time polymerase chain reaction. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 64(4), 366-373.
- Abderrezak**, R., & AIB, S. (2019). *Analyse phytochimique et activités biologiques des extraits aqueux de Satureja calamintha des monts de Maadid (région de Hodna)* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- Abolhasani**, A., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2018). Effect of gamma irradiation on the extraction yield, antioxidant, and antityrosinase activities of pistachio green hull extract. *Radiation Physics and Chemistry*, 144, 373-378.
- Acha**, P. N., & Szyfres, B. (2005). Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux.
- Acosta-Jamett**, G., Cleaveland, S., Cunningham, A. A., Barend, M., & Craig, P. S. (2010). *Echinococcus granulosus* infection in humans and livestock in the Coquimbo region, north-central Chile. *Veterinary Parasitology*, 169(1-2), 102-110.
- Adam**, S. I., Salih, S. A., & Abdelgadir, W. S. (2011). " In vitro " Antimicrobial Assessment of " *Lepidium sativum* " L. Seeds Extracts. *Asian Journal of Medical Sciences*, 3(6), 261-266.
- Afify**, A. E. M. M., El-Beltagi, H. S., Abd El-Salam, S. M., & Omran, A. A. (2011). Bioavailability of iron, zinc, phytate and phytase activity during soaking and germination of white sorghum varieties. *Plos one*, 6(10), e25512.
- Ahlawat**, S., Saxena, P., Alam, P., Wajid, S., & Abdin, M. Z. (2014). Modulation of artemisinin biosynthesis by elicitors, inhibitor, and precursor in hairy root cultures of *Artemisia annua* L. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 811-824.
- Akrai**, H. F., & Tawfeeq, J. D. (2012). Antibacterial activity of *Lepidium sativum* and *Allium porrum* extracts and juices against some gram positive and gram negative bacteria. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 20(1), 10-16.
- Ahmad**, S., & Qureshi, S. (1992). Comparative study of two cultivars of *Zea mays* after seed irradiation. *Sarhad Journal of Agriculture (Pakistan)*.
- Ahmed**, S. A., & Baig, M. M. V. (2014). Biotic elicitor enhanced production of psoralen in suspension cultures of *Psoralea corylifolia* L. *Saudi journal of biological sciences*, 21(5), 499-504.
- Akula**, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Alam-Eldin**, Y. H., & Badawy, A. F. (2015). Destructive effect of gamma irradiation on *Echinococcus granulosus* metacestodes. *Parasitology research*, 114(8), 3145-3150.
- Alqahtani**, F. Y., Aleanizy, F. S., Mahmoud, A. Z., Farshori, N. N., Alfaraj, R., Al-Sheddi, E. S., & Alsarra, I. A. (2019). Chemical composition and antimicrobial, antioxidant, and anti-

inflammatory activities of *Lepidium sativum* seed oil. *Saudi journal of biological sciences*, 26(5), 1089-1092.

Anyasor, G. N., Ogunwenmo, O., Oyelana, O. A., & Akpofunure, B. E. (2010). Phytochemical constituents and antioxidant activities of aqueous and methanol stem extracts of *Costus afer* Ker Gawl.(Costaceae). *African Journal of Biotechnology*, 9(31), 4880-4884.

Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food chemistry*, 104(1), 21-29.

Ashok, P., Lathiya, H., & Murugesan, S. (2015). Manzamine alkaloids as antileishmanial agents: a review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 928-936.

Aubry, P. (2013). Hydatidose ou kyste hydatique. *Med Trop*.

Aza-González, C., Núñez-Palenius, H. G., & Ochoa-Alejo, N. (2012). Molecular biology of chili pepper anthocyanin biosynthesis. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 56(1), 93-98.

Azzam, E. I., Jay-Gerin, J. P., & Pain, D. (2012). Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer letters*, 327(1-2), 48-60.

« B »

Bakkali, A., Jaabari, I., Bouhdadi, H., Razine, R., El Harrag, J., Belkhadir, A., ... & Laaroussi, M. (2017, May). Cardiac hydatid cyst about 17 operated cases. In *Annales de Cardiologie et D'angeiologie* (Vol. 67, No. 2, pp. 67-73).

Barile, E., Bonanomi, G., Antignani, V., Zolfaghari, B., Sajjadi, E., Scala, F., & Lanzotti, V. (2007). Phytochemical screening and antimicrobial assessment of *Abutilon mauritianum*, *bacopa monifera* and *Datura stramonium*. *Phytochemistry*, 68, 596-603.

Batista, R., De Jesus Silva Júnior, A., & De Oliveira, A. B. (2009). Plant-derived antimalarial agents: new leads and efficient phytomedicines. Part II. Non-alkaloidal natural products. *Molecules*, 14(8), 3037-3072.

Bassaid Oulhadj, R., & Zermane, A. (2020). Extraction de l'huile essentielle de *Lepidium Sativum* par plusieurs.

Belguidoum, M. (2012). Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*. *Mémoire de masters, Université Kasdi Merbah Ouargla* p37.

Behrouzian, F., Razavi, S. M., & Phillips, G. O. (2014). Cress seed (*Lepidium sativum*) mucilage, an overview. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 3(1), 17-28.

Bentounsi, B., Meradi, S., Ayachi, A., & Cabaret, J. (2009). Cestodes of untreated large stray dog populations in Algeria: a reservoir for herbivore and human parasitic diseases. *The Open Veterinary Science Journal*, 3(1).

Benmoussa, M. (2019). Kyste hydatique du sein: à propos d'un cas (Doctoral dissertation).

Berehe, S. G., & Boru, A. D. (2014). Phytochemical screening and antimicrobial activities of crude extract of *Lepidium sativum* seeds grown in Ethiopia. *International journal of pharmaceutical Sciences and research*, 5(10), 4182-4187.

Bellili, K., & Bendou, G. (2018). *Recherche du kyste hydatique sur les ovins, les bovins et les caprins dans les quelques abattoirs de la région de Tizi-Ouzou* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Bidie, A. P., N'Guessan, B. B., Yapo, A. F., N'Guessan, J. D., & Djaman, A. J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8(1-2), 1-12.

Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., & Ziyat, A. (2002). Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 10(1), 33-50.

Bronstein, J. A., & Klotz, F. (2005). Cestodoses larvaires. *EMC-Maladies infectieuses*, 2(2), 59-83.

Botta, B., Menendez, P., Zappia, G., de Lima, R. A., Torge, R., & Monache, G. D. (2009). Prenylated isoflavonoids: botanical distribution, structures, biological activities and biotechnological studies. An update (1995-2006). *Current medicinal chemistry*, 16(26), 3414-3468.

Bouhadjera, K., Bendahou, M., & Tabti, B. (2005). Anti-microbial Activity of extracts from Algerian *Aristida pungens* L. *Pak J Biol Sci*, 8(2), 206-210.

Bourée, P., & Bisaro, F. (2007). Hydatidose: aspects épidémiologique et diagnostique. *Antibiotiques*, 9(4), 237-245.

Bouteldja, R. (2018). *Etude des effets du monoxyde d'azote in vivo, in vitro et in situ au cours des localisations fréquentes et rares de l'hydatidose" apport de l'analyse protéomique du liquide hydatique"* (Doctoral dissertation).

Buttenschoen, K., & Buttenschoen, D. C. (2003). Echinococcus granulosus infection: the challenge of surgical treatment. *Langenbeck's archives of surgery*, 388(4), 218-230.

Bureau, S., Ruiz, D., Reich, M., Gouble, B., Bertrand, D., Audergon, J. M., & Renard, C. M. (2009). Rapid and non-destructive analysis of apricot fruit quality using FT-near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 113(4), 1323-1328.

« C »

Chatoui, K., Talbaoui, A., Aneb, M., Bakri, Y., Harhar, H., & Tabyaoui, M. (2016). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of *Lepidium sativum* seeds from Morocco. *J. Mater. Environ. Sci*, 7(8), 2938-2946.

Chatoui, K., Harhar, H., El Kamli, T., & Tabyaoui, M. (2020). Chemical composition and antioxidant capacity of *Lepidium sativum* seeds from four regions of Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020.

Cheng, A. X., Lou, Y. G., Mao, Y. B., Lu, S., Wang, L. J., & Chen, X. Y. (2007). Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions. *Journal of integrative plant biology*, 49(2), 179-186.

Chohra, B. (2019). *l'hydatidose ovine dans la region de m'sila (prevalence et incidence sur la sante publique)* (doctoral dissertation, université mohamed boudiaf de m'sila).

Craig, P. S., & Larrieu, E. (2006). Control of cystic echinococcosis/hydatidosis: 1863–2002. *Advances in parasitology*, *61*, 443-508.

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural product reports*, *26*(8), 1001-1043.

« D »

Deepthi, S., & Satheeshkumar, K. (2016). Enhanced camptothecin production induced by elicitors in the cell suspension cultures of *Ophiorrhiza mungos* Linn. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *124*(3), 483-493.

Din, R., Khan, M. M., Qasim, M., Jehan, S., & Khan, M. M. I. (2003). Induced mutability studies in three wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties for some morphological and agronomic characteristics. *Asian journal of plant Sciences*.

Diwakar, B. T., Dutta, P. K., Lokesh, B. R., & Naidu, K. A. (2008). Bio-availability and metabolism of n-3 fatty acid rich garden cress (*Lepidium sativum*) seed oil in albino rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *78*(2), 123-130.

Diwakar, B. T., Dutta, P. K., Lokesh, B. R., & Naidu, K. A. (2008). Bio-availability and metabolism of n-3 fatty acid rich garden cress (*Lepidium sativum*) seed oil in albino rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *78*(2), 123-130.

Doke, S., & Guha, M. (2014). Garden cress (*Lepidium sativum* L.) seed-an important medicinal source: A. *Cellulose*, *9*, 0-03.

Dougaz W., Nouira R., Aoun K., Dziri C. (2017). le kyste hydatique de foie. *Revuefrancophone des laboratoires* 491 : 31-37.

Dupont, J. (2004). On the solid, liquid and solution structural organization of imidazolium ionic liquids. *Journal of the Brazilian Chemical Society* *15*(3): 341-350.

Dziri, C., Haouet, K., & Fingerhut, A. (2004). Treatment of hydatid cyst of the liver: where is the evidence?. *World journal of surgery*, *28*(8), 731-736.

« E »

Eamsiri, J., Chookaew, S., Pewlong, W., Sajjabut, S., & Orpong, P. (2019, August). Effects of irradiation on antioxidant and antimicrobial activities of *Coscinium fenestratum* (Goetgh.) Colebr. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1285, No. 1, p. 012006). IOP Publishing.

El-Beltagi, H. S., Ahmed, O. K., & El-Desouky, W. (2011). Effect of low doses γ -irradiation on oxidative stress and secondary metabolites production of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) callus culture. *Radiation Physics and chemistry*, *80*(9), 968-976.

« F »

Falana, H., Nofal, W., & Nakhleh, H. (2014). A review article *Lepidium sativum* (Garden cress). *Pharm-D Program, College of Nursing, Pharmacy and Health Professions, Birzeit University*, 1-8.

Forkner, R. E., Marquis, R. J., & Lill, J. T. (2004). Feeny revisited: condensed tannins as anti-herbivore defences in leaf-chewing herbivore communities of *Quercus*. *Ecological Entomology*, *29*(2), 174-187.

Fulzele, S., El-Sherbini, A., Ahmad, S., Sangani, R., Matragoon, S., El-Remessy, A., ... & Liou, G. I. (2015). MicroRNA-146b-3p regulates retinal inflammation by suppressing adenosine deaminase-2 in diabetes. *BioMed research international*, 2015.

« G »

Gershenson, J., & Dudareva, N. (2007). The function of terpene natural products in the natural world. *Nature chemical biology*, 3(7), 408-414.

Getachew, M., Yewhalaw, D., Tafess, K., Getachew, Y., & Zeynudin, A. (2012). Anaemia and associated risk factors among pregnant women in Gilgel Gibe dam area, Southwest Ethiopia. *Parasites & vectors*, 5(1), 1-8.

Ghebremariam, Y. S., Demoz, M. S., & Fissehay, N. A. (2018). Phytochemical screening and antimicrobial potential of *Lepidium sativum* and *Rumex nervosus* in Eritrea. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 1-8.

Girmay, S., Science, A., Dekebo, A., & Science, A. (2014). phytochemical screening and antimicrobial activities of crude. 5(january). [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.5\(10\).4182-87](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.5(10).4182-87).

González-Tejero, M. R., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C. P., Ramiro-Gutiérrez, J. M., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., ... & ElJohrig, S. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(2), 341-357.

Graham, S. (2000). Constructing premium network spaces: reflections on infrastructure networks and contemporary urban development. *International journal of urban and regional research*, 24(1), 183-200.

Gregory, I. N., & Ell, P. S. (2007). *Historical GIS: technologies, methodologies, and scholarship* (Vol. 39). Cambridge University Press.

Gumus, T., Albayrak, S., Sagdic, O., & Arici, M. (2011). Effect of gamma irradiation on total phenolic contents and antioxidant activities of *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris*, and *Thymbra spicata* from Turkey. *International Journal of Food Properties*, 14(4), 830-839.

« H »

Hadj Rabia, S. (2019). Evaluation de l'usage des radiotraceurs dans le diagnostic et le traitement de l'hydatidose : *apport de l'irradiation gamma dans une approche immunoprotectrice*.

Harrison, K., & Were, L. M. (2007). Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of almond skin extracts. *Food Chemistry*, 102(3), 932-937.

Hashemi, S. M., & Naghavi, M. R. (2016). Production and gene expression of morphinan alkaloids in hairy root culture of *Papaver orientale* L. using abiotic elicitors. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 125(1), 31-41.

Hassan, L. G., Hassan, S. W., Hashim, T., Umar, K. J., & Sani, N. A. (2011). Determination of nutritive values of garden cress (*Lepidium Sativum* L.) leaves. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 4(2), 18-23.

Hazhazi Hassina, R. K. (2017). Prévalence de l'*Echinococcus granulosus*, fertilité des kystes hydatique et viabilité des protoscolex chez les ovins dans la région de Biskra.

He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., ... & Duan, C. Q. (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, *15*(12), 9057-9091.

Herzi, N. (2013). *Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles* (Doctoral dissertation).

Horling, F., Lamkemeyer, P., Konig, J., Finkemeier, I., Kandlbinder, A., Baier, M., & Dietz, K. J. (2003). Divergent light-, ascorbate-, and oxidative stress-dependent regulation of expression of the peroxiredoxin gene family in Arabidopsis. *Plant physiology*, *131*(1), 317-325.

Hui, C., Bin, Y., Xiaoping, Y., Long, Y., Chunye, C., Mantian, M., & Wenhua, L. (2010). Anticancer activities of an anthocyanin-rich extract from black rice against breast cancer cells in vitro and in vivo. *Nutrition and cancer*, *62*(8), 1128-1136.

« I »

Ibrahim, N., & Kebede, A. (2020). In vitro antibacterial activities of methanol and aqueous leave extracts of selected medicinal plants against human pathogenic bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *27*(9), 2261-2268.

Igbinosa, O. O., Igbinosa, E. O., & Aiyegoro, O. A. (2009). Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *African journal of pharmacy and pharmacology*, *3*(2), 058-062.

« J »

Jovanovic, S. V., Steenken, S., Tomic, M., Marjanovic, B., & Simic, M. G. (1994). Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, *116*(11), 4846-4851.

« K »

Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*, *2*(7), 377-392.

Kadam, P., Yadav, K., Shivatare, P., Narappanawar, N., Pande, A., & Patil, M. (2012). *Lepidium sativum* Linn: An Ethnobotany and Phytopharmacological. *International Journal of drug formulation and research*, *3*(3).

Karazhiyan, H., Razavi, S. M., & Phillips, G. O. (2011). Extraction optimization of a hydrocolloid extract from cress seed (*Lepidium sativum*) using response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, *25*(5), 915-920.

Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, *4*(3), 179-182.

Kayoueche, F. Z., Benlatreche, C., & Barnouin, J. (2009). Epidémiologie de l'hydatidose et de la fasciolose chez l'animal et l'homme dans l'Est algérien.

Kebeish, R., Deef, H. E., & El-Bialy, N. (2015). Effect of gamma radiation on growth, oxidative stress, antioxidant system, and alliin producing gene transcripts in *Allium sativum*. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, *3*(3), 161-174.

Khalil, S. K., Rehman, S., Afridi, K., & Jan, M. T. (1986). Damage induced by gamma radiation in morphological and chemical characteristics of barley. *Sarhad Journal of Agriculture*, 2(1), 45-52.

Khanbabaee, K., & Van Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.

Khenaka, K. (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovine.

Kim, J. H., Baek, M. H., Chung, B. Y., Wi, S. G., & Kim, J. S. (2004). Alterations in the photosynthetic pigments and antioxidant machineries of red pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings from gamma-irradiated seeds. *Journal of Plant Biology*, 47(4), 314-321.

Kim, M. J., Yook, H. S., & Byun, M. W. (2000). Effects of gamma irradiation on microbial contamination and extraction yields of Korean medicinal herbs. *Radiation physics and chemistry*, 57(1), 55-58.

Klotz, F., Nicolas, X., Debonne, M., Garca, J.F., Andreu, J.M. (2000). Kystes hydatiques du foie. Editions Scientifiques et Médicales Elsevier, Paris. Hépatologie, 7-023-A-10, 16 p.

Kohil, K. (2008). Etude épidémiologique et moléculaire d'*Echinococcus granulosus* en Algérie.

Kohil, K. (2015). Etude épidémiologique et moléculaire d'*Echinococcus granulosus* dans l'est de l'Algérie.

Kohil, K., El Fegoun, M. B., & Gharbi, M. (2017). Prévalence du téniasis échinococcique chez les chiens errants dans la région de Constantine, Nord-Est algérien. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 110(4), 224-229.

Koseki, P. M., Villavicencio, A. L. C., Brito, M. S., Nahme, L. C., Sebastião, K. I., Rela, P. R., ... & Freitas, P. C. (2002). Effects of irradiation in medicinal and edible herbs. *Radiation Physics and Chemistry*, 63(3-6), 681-684.

Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

Kruger, M. J., Davies, N., Myburgh, K. H., & Lecour, S. (2014). Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. *Food Research International*, 59, 41-52.

« L »

Lalaina, D. T. H. (2017). Parcours: biotechnologies (Doctoral dissertation, université d'Antananarivo).

Lee, J. H., Woo, K. S., Kim, J. K., Kim, M., Lee, B. W., Sim, E., ... & Kim, H. J. (2018). Effects of gamma-irradiated soybean pod extract on oxidative stress, cancer cell viability, and tyrosinase inhibition. *Journal of Food Biochemistry*, 42(1), e12459.

Lekouaghet, A., Boutefnouchet, A., Bensusici, C., Gali, L., Ghenaiet, K., & Tichati, L. (2020). In vitro evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extract and its fractions from *Leuzea conifera* L. roots. *South African Journal of Botany*, 132, 103-107.

Lovegrove, J. A., Stainer, A., & Hobbs, D. A. (2017). Role of flavonoids and nitrates in cardiovascular health. *Proceedings of the Nutrition Society*, 76(2), 83-95.

Lu, J. J., Bao, J. L., Chen, X. P., Huang, M., & Wang, Y. T. (2012). Alkaloids isolated from natural herbs as the anticancer agents. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2012.

« M »

Maffei, M. E. (2010). Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *South African Journal of Botany*, 76(4), 612-631.

Manallah, A. (2012). *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive* Pr. BOURICHE Rapporteur: Pr. BELATTAR Noureddine. Pr. Examineur: Pr. BOUZIDI Pr. AMIRA وزارة التعليم العالي والبحث العلمي Sétif 1 (Doctoral dissertation, Université de Sétif 1-Ferhat Abbas).

McManus, D. P., Gray, D. J., Zhang, W., & Yang, Y. (2012). Diagnosis, treatment, and management of echinococcosis. *Bmj*, 344.

Mekkiou, R. (2005). Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires d'espèces du genre Genista (Fabaceae).

Michalczyk, D., Drozdowicz, A., Pintscher, S., & Plonka, P. M. (2011). Mycetoal bloom in a hydroponic culture of garden cress (*Lepidium sativum* L.). *International journal of food microbiology*, 145(1), 336-341.

Mishra, B. B., Gautam, S., & Sharma, A. (2006). Microbial decontamination of tea (*Camellia sinensis*) by gamma radiation. *Journal of food science*, 71(6), M151-M156.

Mohammedi, Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. *Thse de Doctorat en Biologie, Universit Abou Bekr Belkaid, Algrie.*

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

Murthy, H. N., Lee, E. J., & Paek, K. Y. (2014). Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 118(1), 1-16.

« N »

Naik, P. M., & Al-Khayri, J. M. (2016). Abiotic and biotic elicitors—role in secondary metabolites production through in vitro culture of medicinal plants. *Abiotic and Biotic Stress in Plants, Recent Advances Future Perspectives. IntechOpen*, 247-277.

Namdeo, A. G. (2007). Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacogn Rev*, 1(1), 69-79.

Neumayr, A., Tamarozzi, F., Goblirsch, S., Blum, J., & Brunetti, E. (2013). Spinal cystic echinococcosis—a systematic analysis and review of the literature: part 2. Treatment, follow-up and outcome. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(9), e2458.

Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S. O. N. J. A., Driscoll, S., Novitskaya, L., & Foyer, C. H. (2002). Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration?. *Annals of Botany*, 89(7), 841-850.

Norman, P. J., Hollenbach, J. A., Nemat-Gorgani, N., Marin, W. M., Norberg, S. J., Ashouri, E., ... & Parham, P. (2016). Defining KIR and HLA class I genotypes at highest resolution via high-throughput sequencing. *The American Journal of Human Genetics*, 99(2), 375-391.

« O »

Omer, A. B., Nour, A. H., Ali, M. M., Ishag, O. A. O., Erwa, I. Y., & Ali, M. A. (2020). Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Lepidium sativum* Seeds Extract. *South Asian Research Journal of Natural Products*, 10-17.

« P »

Pérez, M. B., Calderon, N. L., & Croci, C. A. (2007). Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food chemistry*, 104(2), 585-592.

Peters, M. D., Godfrey, C. M., Khalil, H., McInerney, P., Parker, D., & Soares, C. B. (2015). Guidance for conducting systematic scoping reviews. *JBIEvidence Implementation*, 13 (3), 141–146.

Popoff, M. Y., Bockemühl, J., & Gheesling, L. L. (2004). Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann–White scheme. *Research in microbiology*, 155(7), 568-570.

Popović, B. M., Štajner, D., Mandić, A., Čanadanović-Brunet, J., & Kevrešan, S. (2013). Enhancement of antioxidant and isoflavones concentration in gamma irradiated soybean. *The Scientific World Journal*, 2013.

Prajapati, V. D., Maheriya, P. M., Jani, G. K., Patil, P. D., & Patel, B. N. (2014). *Lepidium sativum* Linn.: A current addition to the family of mucilage and its applications. *International journal of biological macromolecules*, 65, 72-80.

« R »

Raval, N. (2016). A comprehensive review of *Lepidium sativum* Linn, a traditional medicinal plant. *World J Pharm Pharm Sci*, 5, 1593-1601.

Ripoche, M. (2009). *La lutte contre l'hydatidose en Sardaigne* (Doctoral dissertation).

« S »

Saadi, A. (2021). *Contribution à l'évaluation du programme de contrôle de l'échinococcose kystique au Maroc* (Doctoral dissertation, Université de Liège, Liege, Belgique).

Saddiq, A. A., & Alkinani, M. H. (2019). Fungicidal impact of *Salvadora Persica* L.(Miswak) extract on growth of foodborne pathogens, *Aspergillus* species. *Dose-Response*, 17(3), 1559325819876218.

Said-Al Ahl, H., Hussein, M. S., Gendy, A. S., & Tkachenko, K. G. (2015). Quality of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil grown in Egypt. *International Journal of Plant Science and Ecology*, 1(4), 119-123.

Shakeran, Z., Keyhanfar, M., Asghari, G., & Ghanadian, M. (2015). Improvement of atropine production by different biotic and abiotic elicitors in hairy root cultures of *Datura metel*. *Turkish Journal of Biology*, 39(1), 111-118.

Shama IYA, Shayma AMS, Warda SA. (2011). In vitro antimicrobial assessment of *Lepidium sativum* L. seeds extracts. *Asian Journal of Medical Sciences*. 3(6): 261-266.

Siva, G., Sivakumar, S., Premkumar, G., Kumar, T. S., & Jayabalan, N. (2014). Enhanced production of psoralen through elicitors treatment in adventitious root culture of *Psoralea corylifolia* L. *Int J Pharm Pharm Sci*, 7, 146-149.

Skuhala, T., Trkulja, V., Runje, M., Vukelić, D., & Desnica, B. (2014). Albendazolesulphoxide concentrations in plasma and hydatid cyst and prediction of parasitological and clinical outcomes in patients with liver hydatidosis caused by *Echinococcus granulosus*. *Croatian medical journal*, 55(2), 146-155.

Soumia saouli, B. A. Contribution à l'étude des caractéristiques phytochimiques de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* L.

Srivastava, S., & Srivastava, A. K. (2014). Effect of elicitors and precursors on azadirachtin production in hairy root culture of *Azadirachta indica*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172(4), 2286-2297.

« T »

Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant physiology/by Lincoln Taiz and Eduardo Zeiger* (No. Libro 581.1 T3 (2006)).

Tasdemir, D., Kaiser, M., Brun, R., Yardley, V., Schmidt, T. J., Tosun, F., & Rüedi, P. (2006). Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues: in vitro, in vivo, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(4), 1352-1364.

Thompson, R. C. A. (2017). Biology and systematics of *Echinococcus*. *Advances in parasitology*, 95, 65-109.

« U »

Ulitsky, I., Shkumatava, A., Jan, C. H., Sive, H., & Bartel, D. P. (2011). Conserved function of lincRNAs in vertebrate embryonic development despite rapid sequence evolution. *Cell*, 147(7), 1537-1550.

« V »

Vardhan, P. V., & Shukla, L. I. (2017a). Gamma irradiation of medicinally important plants and the enhancement of secondary metabolite production. *International Journal of Radiation Biology*, 0(0), 1–13. <https://doi.org/10.1080/09553002.2017.1344788>.

Vardhan, P. V., & Shukla, L. I. (2017b). Gamma irradiation of medicinally important plants and the enhancement of secondary metabolite production. *International Journal of Radiation Biology*, 93(9), 967–979. <https://doi.org/10.1080/09553002.2017.1344788>.

Vigor, C., Crauste, C., & Vercauteren, P. J. Vin blanc et santé. Un vin qui n'a pas «à rougir» de sa couleur.

Vuitton, D. A., Bresson-Hadni, S., Giraudoux, P., Bartholomot, B., Laplante, J. J., Delabrousse, E., ... & Manton, G. (2010). Échinococcose alvéolaire: d'une maladie rurale incurable à une infection urbaine sous contrôle?. *La Presse Médicale*, 39(2), 216-230.

« W »

Wallace, T. C., Slavin, M., & Frankenfeld, C. L. (2016). Systematic review of anthocyanins and markers of cardiovascular disease. *Nutrients*, 8(1), 32.

Wejih, D., Ramzi, N., Karim, A., & Chadli, D. (2017). Le kyste hydatique du foie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2017(491), 31-37.

Wen, H., New, R. R., & Craig, P. S. (1993). Diagnosis and treatment of human hydatidosis. *British journal of clinical pharmacology*, 35(6), 565-574.

« Y »

Yennek, S., & Yennek, S. (2017). *Etude rétrospective sur le kyste hydatique dans la région de Dellys* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

« Z »

Zahran, A. A., & Eliwa, N. E. (2015). Influence of gamma radiation, glutathione and ascorbic acid on some antioxidant enzymes in Egyptian clover (*Trifolium alexandrinum* L.) under aluminum stress. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 15, 1887-1894.

Zait, H., Kouidri, M., Grenouillet, F. E., Umhang, G., Millon, L., Hamrioui, B., & Grenouillet, F. (2016). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus sensu stricto* and *Echinococcus canadensis* in humans and livestock from Algeria. *Parasitology research*, 115(6), 2423-2431.

Zhang, J., Ye, B., Kong, J., Cai, H., Zhao, Y., Han, X., & Li, F. (2013). In vitro protoscolicidal effects of high-intensity focused ultrasound enhanced by a superabsorbent polymer. *Parasitology Research*, 112(1), 385-391.

Zhu, M., Zheng, X., Shu, Q., Li, H., Zhong, P., Zhang, H., ... & Wang, L. (2012). Relationship between the composition of flavonoids and flower colors variation in tropical water lily (*Nymphaea*) cultivars. *PLoS One*, 7(4), e34335.

