

Activités anti-struvites et antimicrobiennes des extraits aqueux et éthanoliques de *Saussurea costus* (Falc) Lipsch

Naima Mammate¹, Fatima Ezzahra El oumari¹, Salim Belchkar¹, Assia Benachour¹, Tarik Sqalli Houssaini¹.

¹ Laboratoire d'épidémiologie et de recherche en sciences de la santé, Faculté de médecine, de pharmacie et de médecine dentaire de Fès.

Objectif

Les calculs de struvite sont inclus dans la catégorie des lithiases infectieuses car la présence de struvite atteste nécessairement de l'intervention d'un germe uréolytique pouvant conduire à une alcalinité suffisamment élevée de l'urine pour provoquer la précipitation simultanée de phosphates d'ammonium et de magnésium. Les mécanismes de la lithogénèse infectieuse impliquant la formation de struvite nécessitent des conditions physico-chimiques qui ne se rencontrent que dans les urines modifiées par la présence de micro-organismes à une activité uréasique tels que les proteus ou les *staphylocoques* et certaine souche d'*Escherichia colis* possèdent une uréase[1]. L'action de l'uréase bactérienne impliquant l'hydrolyse de l'urée qui conduit à la libération de NH₃ qui s'hydrolyse en ammonium, provoquant une forte alcalinisation de l'urine, dont le pH dépasse 7. 5 jusqu'à 10 qui conduit à la précipitation sous forme de struvite. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité anti-struvite et antimicrobienne de *Saussurea costus* (Falc) Lipsch, qui a de nombreuses activités biologiques et un fort pouvoir curatif et préventif contre une variété de maladies[2].

Introduction

Saussurea costus (Falc) Lipsch est une herbe traditionnelle utilisée pour traiter les problèmes de calculs rénaux car elle contient plusieurs molécules utilisées pour traiter ce problème de santé, comme les flavonoïdes et la quercitrine. Les calculs infectieux sont les plus douloureux de tous les troubles des voies urinaires, les plus courants étant les calculs de phosphate d'ammonium (struvite) et de carapatite, causés par une infection bactérienne avec activité uréase. Les antibiotiques sont utilisés pour traiter ces calculs, mais la résistance bactérienne aux antibiotiques augmente. La présente étude a examiné les activités anti-urolitiques *in vitro* de l'extrait aqueux et éthanolique de *Saussurea costus* (Falc) Lipsch contre les cristaux de struvite synthétisés par la méthode de cristallisation microscopique et turbidimétrique. Les résultats de ces méthodes ont révélé que l'extrait éthanolique de cette plante a un effet inhibiteur significatif sur la cristallisation de struvite, avec un pourcentage d'inhibition de (87. 447 ±1.107) (p < 0.001) pour une concentration de 1mg. ml⁻¹ avec une diminution du nombre de cristaux à <100/mm³ par rapport à la cystone et à l'extrait aqueux de (400/mm³) et (700/mm³) respectivement. L'activité antibactérienne des extraits de plante étudié a été examinée contre plusieurs bactéries productrices d'uréase, cette activité a été évaluée par méthodes de l'évaluation qualitative et quantitative, la concentration minimale inhibitrice la plus élevée était pour l'extrait éthanolique avec une CMI de 100mg/mL pour *Staphylococcus aureus* suivi par une CMI de 200mg.mL⁻¹ pour *Klebsiella pneumoniae*. Il a montré une concentration bactéricide minimale CMB contre *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* (>50mg.mL⁻¹) et (>200mg.mL⁻¹) respectivement.

Matériel et méthodes

Étude *in vitro* de l'activité anti-lithiasique

1. Cristallisation microscopique et turbidimétrique

Ce protocole implique la préparation de deux solutions. La solution A qui se compose de dihydrogénophosphate de potassium (KH₂PO₄) 0,1 M et la solution B qui se compose de chlorure de magnésium (41 g), de chlorure d'ammonium (50 g) et de 20 mL d'hydroxyde d'ammonium dilués 10 fois dans 50 mL d'eau bi-distillée. 1 mL de la solution A a été versé dans des tubes de verre, suivi de 1 mL d'extrait à différentes concentrations (0,1, 0,25, 0,5, 0,75 et 1 en mg/mL). Au lieu de l'extrait, les tubes de contrôle négatif contenaient 1 mL d'eau distillée, et les tubes de contrôle positif contenaient 1 mL de cystone à différentes concentrations. Puis 1 ml de solution B a été ajouté, les tubes ont été incubés à 37°C pendant 30 minutes. La morphologie et le nombre de cristaux de struvite de chaque échantillon ont ensuite été déterminés au microscope(400x). L'inhibition de la cristallisation de struvite a été étudiée en mesurant la densité optique des solutions préparées dans un spectrophotomètre UV/Vis, et la densité optique a été déterminée à λ=620 nm[1][3]. La formule suivante a été utilisée pour calculer le pourcentage d'inhibition (%) des cristaux de struvite produits par les extraits de plante étudié:

$$\% \text{ Of inhibition} = \frac{\text{Control absorbance} - \text{Test absorbance}}{\text{Control absorbance}}$$

2.Activité anti-microbienne [1]

Les souches bactériennes testées ont été préalablement isolées de l'environnement du centre d'hémodialyse de l'hôpital universitaire Hassan II (Fès). Il s'agit de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* qui sont des Bacilles gram positifs, tandis que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont des Cocci gram négatifs.

2.1. concentration minimale inhibitrice CMI: La CMI a été définie comme la plus faible concentration d'antibiotique nécessaire pour inhiber la croissance d'une bactérie. Dans cette expérience, nous avons déterminé la CMI des extraits qui se sont révélés positifs lors du premier test (test de diffusion sur disque). Nous avons utilisé une plaque de 96 puits dans laquelle chaque puits contenait 20 µl d'eau pure + 20 µl de souche + 20 µl d'extraits aqueux et éthanoliques de (400 à 0,39 mg.mL⁻¹) + 140 µl de milieu BHI (Brain heart infusion). Un indicateur TTC (chlorure de triphényltétrazolium) a révélé la croissance bactérienne après 24 heures d'incubation à 37°C.

2.2. Concentrations bactéricides minimales CMB: La CMB est la concentration bactéricide minimale, qui est définie comme la plus faible concentration d'agent antimicrobien nécessaire pour tuer 99,9 % de l'inoculum final après 24 heures d'incubation à 37°C. En fonction de la CMI, la CMB peut être déterminée. Les extraits des puits dont la concentration est égale ou inférieure à la CMI sont étalés sur une gélose nutritive et après 24 heures d'incubation à 37°C, on observe une croissance bactérienne.

Résultats

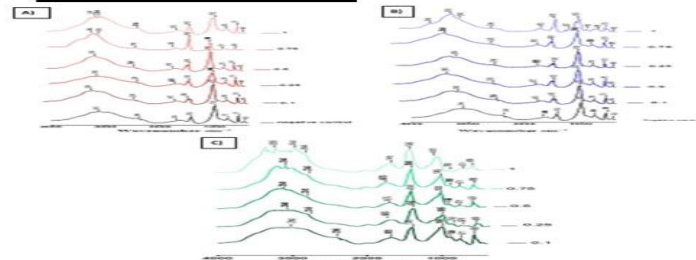


Figure1.: Spectre (FT-IR) d'un calcul de struvite.

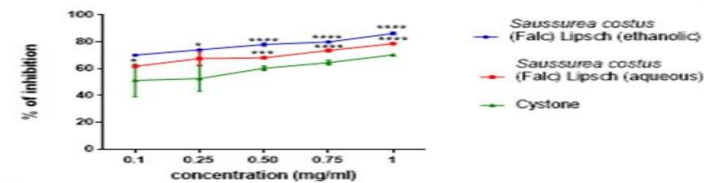


Figure 2:Effect of aqueous and ethanolic extracts from *Saussurea costus* (Falc) Lipsch on struvite crystallization

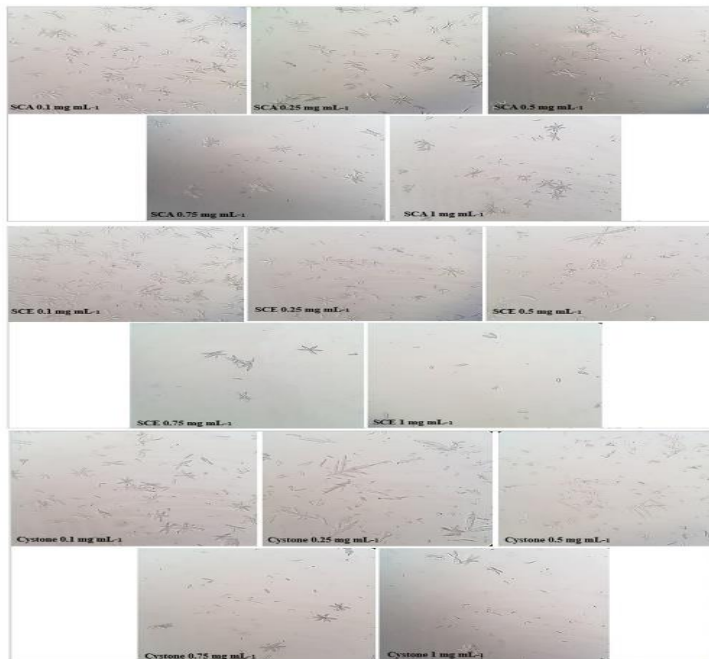


Figure 3 : Observation microscopique des cristaux de struvite à différentes concentrations de cystone et des extraits.

Etraits	<i>Saussurea costus</i> (Falc) Lipsch (ethanolic)	<i>Saussurea costus</i> (Falc) Lipsch (ethanolic)	<i>Saussurea costus</i> (Falc) Lipsch (aqueous)	<i>Saussurea costus</i> (Falc) Lipsch (aqueous)
Souches	<i>Staphylococcus Aureus</i> (Gram +)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Gram -)	<i>Staphylococcus Aureus</i> (Gram +)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Gram -)
CMI	50 mg/ml	200 mg/ml	400 mg/ml	200 mg/ml
CMB	100 mg/ml	-	-	-
Effet	Bactéricide	Bactériostatique	Bactériostatique	Bactériostatique

Tableau 1. CMI et CMB des extraits aqueux et éthanoliques de *Saussurea costus* (Falc) Lipsch

Conclusion

Les résultats obtenus ont prouvé que cette plante est très efficace contre struvite. Des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer les composants actifs de l'extrait et les mécanismes responsables de l'activité observée.

Références

- [1]:Mammate, N.; El oumari, F.E.; Imtara, H.; Belchkar, S.; Benjelloun Touimi, G.; Al-Zharani, M.; A. Rudayni, H.; Ahmed Qurtam, A.; S. Atefissa, M.; A. Nasr, F.; M. Noman, O.; Sqalli Houssaini, T. Anti-Struvite, Antimicrobial, and Anti-inflammatory Activities of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Saussurea costus* (Falc) Lipsch Asteraceae. *Molecules* **2023**, *28*, 667. <https://doi.org/10.3390/molecules28020667>
- [2]: Mammate, N.; El oumari, F.E.; Imtara, H.; Belchkar, S.; Lahrichi, A.; Alqahtani, A.S.; Noman, O.M.; Tarayrah, M.; Houssaini, T.S. Antioxidant and Anti-Urolithiatic Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts from *Saussurea costus* (Falc) Lipsch Using Scanning Electron Microscopy. *Life* **2022**, *12*, 1026. <https://doi.org/10.3390/life12071026>
- [3]: