

BURKINA FASO
Unité - Progrès - Justice

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

**UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN SCIENCES DE LA SANTE
(UFR/SDS)**

SECTION PHARMACIE



Année universitaire : 2009/2010

N° 098

**EVALUATION DES PROPRIETES ANTIBACTERIENNES,
IN VITRO, D'EXTRAITS DE FEUILLES D'ARGEMONE
MEXICANA L. (PAPAVERACEAE)**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 10 Juillet 2010

Pour l'obtention du Diplôme de DOCTORAT en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

par

LEGA Ibrahim

Né le 14 novembre 1983 à Ouagadougou, Burkina Faso

Directeur de thèse : Pr Agrégé Jean-Baptiste NIKIEMA

Co-directeur : Dr Seydou T. SOURABIE

JURY

Président: Pr Agrégé Rasmané SEMDE

Membres : Pr Agrégé Jean SAKANDE

Dr Seydou T. SOURABIE

Dr Charlemagne GNOULA



**LISTE DU PERSONNEL
DE L'UFR/SDS**



A NOS MAITRES ET JUGES

 **A notre Maître et directeur de thèse :**

Le Professeur Jean Baptiste NIKIEMA
Agrégé de Pharmacognosie
Enseignant de Pharmacognosie à l'UFR/SDS
Directeur de l'approvisionnement pharmaceutique à la Direction Générale de la Pharmacie, du Médicament et des Laboratoires (DGPML)

Cher Maître,

Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de diriger ce travail, malgré vos multiples occupations. Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos enseignements durant notre cursus universitaire. La qualité de vos enseignements, votre rigueur scientifique, votre pédagogie et votre constante disponibilité font de vous une référence.

Soyez assuré de notre profond respect et de notre grande admiration.

 **A notre Maître et président du jury**

Le Professeur Rasmané SEMDE
Agrégé de Galénique
Enseignant de Galénique à l'UFR/SDS
Directeur de la réglementation pharmaceutique à la DGPML

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider le jury chargé d'évaluer notre travail. Nous avons été marqués par vos qualités pédagogiques et votre constante disponibilité pendant notre formation. C'est une fierté pour nous de vous compter parmi nos Maîtres. L'intérêt que vous avez manifesté à ce travail malgré vos nombreuses charges universitaire et administrative nous reconforte. Veuillez accepter en retour le témoignage de notre grande reconnaissance et de notre profond respect.

A notre maître et juge

Le Professeur Jean SAKANDE
Agrégé de Biochimie
Enseignant de Biochimie à l'UFR/SDS
Directeur des laboratoires à la Direction Générale de la Pharmacie, du Médicament et des Laboratoires

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail. Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos enseignements durant notre cursus universitaire. Votre nom a toujours rimé avec rigueur scientifique et qualité des enseignements. Soyez assuré de notre profond respect et de notre grande admiration.

A notre Maître et co- directeur :

Le Docteur Seydou T. SOURABIE
Chargé de recherche à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/
Département Médecine Pharmacopée Traditionnelles / Pharmacie
(MEPHATRA/PH)
Enseignant vacataire en Pharmacognosie à l'UFR/SDS

Cher maître,

Vous nous avez suggéré ce travail et vous vous êtes intimement associé à sa réalisation avec une disponibilité et une assistance sans faille. Vos conseils et vos encouragements nous ont permis de surmonter bien de difficultés. Veuillez trouver ici, l'expression de notre profonde gratitude.

 **A notre maître et juge**

**Le Docteur Charlemagne GNOULA,
Assistant de Chimie thérapeutique à l'UFR/SDS**

Cher maître,

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Vos qualités humaines, votre abnégation au travail, votre disponibilité suscitent notre admiration.

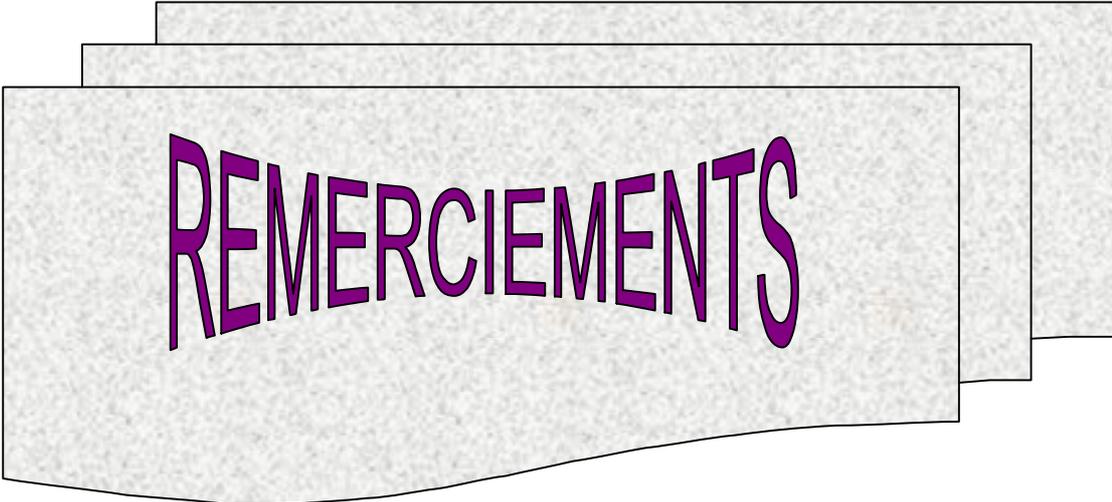
Veillez accepter le témoignage de notre grande reconnaissance.



DEDICACES

Je dédie ce travail à :

- **Mon père !** Ton soutien et tes bénédictions m'ont toujours accompagné. Je voudrais, à travers ce travail qui est l'aboutissement de ton dévouement constant et de tes nombreuses privations, te rendre un vibrant hommage et t'exprimer mes sentiments d'amour filial et de respect. Que Dieu te garde encore longtemps auprès de nous.
- **Ma mère !** Depuis mon enfance, tu t'es efforcée de m'inculquer les valeurs morales qui sont les tiennes. J'espère que je suis à la hauteur de tes attentes. Que Dieu te bénisse et te donne longue vie afin que tu bénéficies des fruits de l'arbre que tu as planté et entretenu.
- **Mon frère Daoud et ma sœur Ami !** Cultivons l'amour et l'unité pour être plus forts.
- **Mon oncle Rasmané !** Merci pour ton soutien.
- **A madame Aïssata TANOU !**
C'est une grande chance de vous avoir. Merci pour tout ce que vous avez fait pour votre petit cousin.
- **A mes amis et compagnons d'étude Razakh, Céline, Wétien, Moïse et Judith. A Kate, Luc et Ruth !** Pour votre soutien constant au cours de ces années d'études. Je vous dédie ce travail comme gage de notre indéfectible amitié.
- **A Eric, Sounkalo, Zagué, Inno, Sakira, Mohamed, Noufou, Alain, Pierre, Albert, Sangaré, Homo, Diasso, Yac, Habasse, Aymar, Charles, Isdine, Pascaline, Alain, Mané et tous mes promotionnaires !**
Des années durant, nous avons partagé des moments de joie et de peine. Je vous dédie ce travail pour les nuits blanches passées ensemble, pour l'entraide constante durant ces années. Pour nos idéaux, recevez ces quelques vers de Victor HUGO:
*"Ceux qui vivent, ce sont ceux qui luttent, ce sont
Ceux dont un dessein ferme emplit l'âme et le front
Ceux qui d'un haut destin gravissent l'âpre cime,
Ceux qui marchent pensifs, épris d'un but sublime,..."*
- **mes amis du Secondaire, Vincent, Bamogo, Clément, Batina, Mandé, Hermann!**
Les circonstances de la vie nous ont séparés mais je ne vous ai pas oublié.
- **Mes frères cadets de l'UFR/SDS !** C'est dur mais avec un peu plus d'efforts chaque jour vous y arriverez.
- **A Willy, Colosse, Lass et tous les camarades amateurs de Basket !** On est ensemble.
- **Aux amis de JCI Bobo!** tous les combats pour un monde meilleur méritent d'être menés.



REMERCIEMENTS

Je remercie sincèrement :

- **Tout le personnel des laboratoires de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) ;**
- **Tout le personnel des laboratoires du Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou (CHUSS) de Bobo Dioulasso ;**

Pour votre soutien constant et votre compréhension.

- **Dr Aristide Traoré et Dr Badioré Ouattara**

Nous avons bénéficié de vos connaissances et de votre encadrement. Recevez ici, toute notre gratitude et notre reconnaissance.

- **Dr Félix Kini**

Merci pour votre soutien et votre contribution à l'aboutissement de ce travail.

Profonde gratitude et sincère reconnaissance.

- **Dr Dominique Niamba**

Merci pour votre contribution à l'aboutissement de ce travail.

➤ **Dr Sylvin Ouédraogo, Dr Noya Somé, Dr Marius Lompo, Mr Luc Sawadogo, Mr Roger Kaboré.**

➤ **Monsieur Yaro Boubacar**

Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de ce travail.

➤ **Monsieur Siaka Traoré et Georges Biébouré au laboratoire de bactériologie du CHUSS ;**

➤ **Messieurs Laurent Millogo et Paul Ouedraogo ;**

➤ **Blandine Kantiono ;**

Pour votre contribution inestimable à la réalisation de ce travail.

"Par délibération, l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation"

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
CMI	:	Concentration Minimale Inhibitrice
µl	:	microlitre
ADN	:	Acide Désoxyribonucléique
ARN	:	Acide Ribonucléique
s	:	Coefficient de sédimentation
CMB	:	Concentration Minimale Bactéricide
h	:	heure
ml	:	millilitre
mm	:	millimètre
°C	:	degré Celsius
MEPHATRA/PH	:	Médecine et Pharmacopée Traditionnelle/Pharmacie
IRSS	:	Institut de Recherche en Sciences de la Santé
CHU/SS	:	Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou
DPF	:	Département de la Production Forestière
INERA	:	Institut National de l'Environnement, l'Elevage et de la Recherche Agronomique
CNRST	:	Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique
g	:	gramme
l	:	litre
min	:	minute
mg	:	milligramme
v/v	:	volume par volume
THR	:	Taux d'Humidité Résiduelle

SOMMAIRE

INTRODUCTION-ENONCE DU PROBLEME.....	4
1. GENERALITES.....	7
1.1. GENERALITES SUR ARGEMONE MEXICANA L.	7
1.1.1. Description.....	7
1.1.2. Emplois en médecine traditionnelle	11
1.1.3. Chimie.....	12
1.1.4. Toxicité	14
1.1.5. Pharmacologie	14
1.2. GENERALITES SUR LES BACTERIES ETUDIEES.....	18
1.2.1. Les entérobactéries.....	18
1.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
1.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (bacille pyocyannique).....	23
1.3. GENERALITES SUR L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ANTIBIOTIQUES <i>IN VITRO</i>.....	26
1.3.1. Mécanisme d'action des antibiotiques	26
1.3.2. Croissance bactérienne en présence d'antibiotiques.....	29
1.3.3. Facteurs influençant l'activité <i>in vitro</i> des antibiotiques.....	31
1.3.4. Méthodes d'étude <i>in vitro</i> de l'activité des antibiotiques.....	31
2. OBJECTIFS.....	35
2.1. OBJECTIF GENERAL	35
2.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES.....	35
3. MATERIEL ET METHODES.....	36
3.1. CADRE ET PERIODE D'ETUDE.....	36
3.2. MATERIEL	36
3.2.1. Support biologique.....	36
3.2.2. Matériel végétal.....	36
3.2.3. Matériel et réactifs pour les études phytochimique et bactériologique.....	37
3.3. METHODES	39
3.3.1. Etude phytochimique	39
3.3.2. Essais antibactériens	43
3.4. TRAITEMENT DES DONNEES	44

4. RESULTATS	45
4.1. ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE	45
4.1.1. Les extractions	45
4.1.2. Le criblage phytochimique	46
4.2. ESSAIS ANTIBACTERIENS	47
4.2.1. Etude de la sensibilité des bactéries aux extraits végétaux.....	47
4.2.2. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques	48
4.2.3. Evaluation des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	48
5. DISCUSSION	50
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	53
BIBLIOGRAPHIE	54
ANNEXES	60

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I.</u> Taux d'humidité résiduelle de la matière végétale	45
<u>Tableau II.</u> Rendement des différentes extractions.....	45
<u>Tableau III.</u> Groupes chimiques du macéré méthanolique	46
<u>Tableau IV.</u> Sensibilité des bactéries aux extraits d' <i>Argemone mexicana</i> L.	46
<u>Tableau V.</u> Relation entre la concentration et l'activité antibactérienne du macéré méthanolique	47
<u>Tableau VI.</u> Antibiogramme.....	47
<u>Tableau VII.</u> Effet des dilutions du macéré méthanolique sur la croissance bactérienne dans les puits des plaques de microtitration.....	49
<u>Tableau VIII.</u> Concentrations Minimales Inhibitrices du macéré méthanolique.....	49

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

<u>Photo 1.</u> Jeunes plants d' <i>Argemone mexicana</i> L.....	9
<u>Photo 2.</u> Tige d' <i>Argemone mexicana</i> L.....	10
<u>Photo 3.</u> Fruit d' <i>Argemone mexicana</i> L.....	10
<u>Photo 4.</u> Fleur d' <i>Argemone mexicana</i> L.....	10
<u>Photo 5.</u> Feuilles d' <i>Argemone mexicana</i> L.	10
<u>Photo 6.</u> Boîte de Pétri gélosée montrant quatre (4) puits creusés dans la gélose	43
<u>Photo 7.</u> Extrait méthanolique en diffusion dans les puits creusés dans une boîte de Pétri gélosée.....	43
<u>Photo 8.</u> Plaque de microtitration contenant des extraits végétaux.....	44

INTRODUCTION-ENONCE DU PROBLEME

Les maladies infectieuses sont une des premières causes de mortalité dans le monde. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) estime que les maladies infectieuses sont responsables de 14 millions de décès par an dans le monde et elles représentent 43% des décès dans les pays en développement (OMS, 1999). Au Burkina Faso, en 2008, quatre parmi les cinq premières causes de décès dans les districts sanitaires étaient le fait des pathologies d'origine infectieuse. Il s'agissait du paludisme, de la diarrhée, de la méningite, et des infections respiratoires aiguës (Ministère de la Santé, 2009).

Pour faire face à ces maladies infectieuses, de nombreux moyens existent depuis 1870, date à laquelle Louis Pasteur découvrit le premier microbe responsable d'une maladie infectieuse. Louis Pasteur posa les principes de l'asepsie pour éviter la transmission des microbes d'un opéré à un autre, et prôna l'hygiène hospitalière pour éviter les transmissions d'infections entre malades contagieux. Il mettra ensuite au point le vaccin contre la rage en 1885 qui sera suivi de toute une génération de vaccins : avec les anatoxines tétanique et diphtérique par Ramon en 1923, et le Bacille Calmette et Guérin (BCG) en 1921. Enfin, en 1929, Alexander Fleming découvre la pénicilline et ses propriétés bactéricides, ouvrant la voie au traitement des maladies infectieuses par les antibiotiques.

Il faut reconnaître que les stratégies de lutte ont porté fruit, cependant de nouveaux défis sont à relever. En effet, l'usage non rationnel des antibiotiques a rendu de plus en plus de bactéries résistantes à ces médicaments. A côté de ces résistances acquises il faut également noter les résistances naturelles des bactéries aux antibiotiques ; cas par exemple des bactéries produisant des β -lactamases à l'égard des β -lactamines. Aussi, le coût relativement cher des antibiotiques limite l'accès des populations des pays en voie de développement à ces médicaments.

Pour pallier ces insuffisances, il est nécessaire de trouver de nouvelles molécules médicamenteuses. La médecine traditionnelle constitue un terrain privilégié de

recherche de ces nouvelles molécules, au regard du fort potentiel pharmacologique qu'elle regorge. En effet, l'OMS évoque cette médecine comme une source sûre de remèdes pour la prise en charge des maladies d'origine microbienne et non microbienne.

Dans les pays en développement, plus du tiers des habitants n'a pas accès aux médicaments modernes, et environ 80% de la population a recours aux recettes de la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé (OMS, 2003 ; Pousset, 2004). Malheureusement ces recettes sont utilisées sans évaluation scientifique de leur propriété thérapeutique. Il est donc important de valider scientifiquement les recettes traditionnelles afin de contribuer à une meilleure prise en charge thérapeutique de la santé des populations.

Des recherches menées à travers le monde (Izzo *et al.*, 1995 ; Hammer *et al.*, 1999 ; Eloff, 2001 ; Sanogo *et al.*, 2006 ; Hori *et al.*, 2006 ; Dupont *et al.*, 2006 ; Ndip *et al.*, 2007 ; Oliveira *et al.*, 2007) ont montré l'efficacité de plusieurs plantes, utilisées en médecine traditionnelle, contre les microorganismes.

Au Burkina Faso, des recherches entreprises à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) et à l'Université de Ouagadougou ont permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne d'un certain nombre de plantes utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso notamment *Nauclea latifolia* Sm. (Sourabié, 1990), *Acacia nilotica* var *adansonii* (Najada, 2000), *Dichrostachys cinerea* L. (Sinon, 2001) et *Euphorbia hirta* L. (Soma, 2002).

Dans l'optique d'une connaissance approfondie des plantes anti-infectieuses qui font l'objet d'un usage en médecine traditionnelle au Burkina Faso, nous nous sommes intéressés à *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae), une plante utilisée en médecine traditionnelle en Inde, au Mexique et en Afrique, notamment au Burkina Faso. Ses feuilles sont utilisées en décoction pour le traitement de pathologies diverses dont les infections cutanées, digestives, et uro-génitales.

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et de l'extrait des alcaloïdes totaux des feuilles d'*Argemone mexicana* L. a été testée sur cinq souches bactériennes qui

ont été isolées de produits pathologiques (selles, urines, sang). Il s'agit des germes ci-dessous :

- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Salmonella typhi*
- *Pseudomonas aeruginosa*

Notre étude se veut :

- un travail d'investigation portant sur l'exploration des propriétés antibactériennes des plantes d'intérêt médicinal en général et en particulier sur la détermination de l'activité inhibitrice de croissance microbienne d'*Argemone mexicana* L.
- une contribution à la valorisation scientifique des plantes ayant un intérêt pharmacologique avéré au sein de la riche biodiversité végétale du Burkina Faso.

1. GENERALITES

1.1. GENERALITES SUR ARGEMONE MEXICANA L.

1.1.1. Description

➤ Classification

Règne : Plantae
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Papavérales
Famille : Papavéraceae
Genre : Argemone
Espèce : mexicana

➤ Noms vernaculaires

Argemone mexicana L. est communément appelée argemone mexicaine. Elle est également connue sous diverses appellations, à savoir : Chardon, chaudion, chardon marbré, chardon bénit des Antilles, figuier infernal, pavot cornu, herbe dragon.

➤ Synonyme

Argemone mexicana L. a un nom synonyme qui est *Argemone grandifolia* Sweet.

➤ Répartition géographique

Argemone mexicana L. est une plante originaire du Mexique et du sud des Etats-Unis d'Amérique. Elle a été importée dans de nombreuses régions du globe terrestre où elle s'est parfois acclimatée : Antilles, Hawaï, Cuba, Afrique et Asie. C'est une plante annuelle qui croît sur tous les terrains, en particulier ceux riches en nitrates ; elle peut se développer également sur des sols nutritionnellement pauvres, et peut tolérer la sécheresse. Au Burkina Faso la plante est rare en zone sahélienne. Elle est présente en zone soudanienne (la partie sud du pays).

➤ Description de la plante :

- Le port

L'argemone mexicaine est une plante annuelle, herbacée, dressée, épineuse et peu ramifiée. Elle peut mesurer jusqu'à 80 cm de hauteur.

- Les feuilles

Les feuilles sont glabres, simples, sessiles, alternes, dentées, épineuses, veinées de blanc et possèdent une couleur bleu-vert. Elles mesurent environ 20 cm de long pour 8 cm de large, et sont coriaces et épaisses.

- Les fleurs

La fleur possède six (06) pétales de couleur jaune vif ou jaune pâle, arrondis, et un pistil à stigmates de couleur rouge qui brunit en vieillissant. Les fleurs mesurent environ 6 cm de diamètre et sont solitaires. Le calice est formé de deux sépales épineux qui tombent après éclosion de la fleur.

- Les fruits

Le fruit de l'argemone est une capsule épineuse allongée, ovoïde, qui laisse échapper à maturité jusqu'à 400 graines brunes par ses fentes latérales. Un plant d'argemone mexicaine peut produire jusqu'à 90 capsules.

- Le latex

L'argemone mexicaine possède un latex jaune orangé qui s'épaissit au contact de l'air.



Photo 1 : Jeunes plants d'*Argemone mexicana* L. cultivés au Département
MEPHATRA/PH. (D' T. S. SOURABIE, 2006)



Photo 2: Tige d'*Argemone mexicana* L.



Photo 3: Fruit d'*Argemone mexicana* L.



Photo 4: Fleur d'*Argemone mexicana* L.



Photo 5: Feuilles d'*Argemone mexicana* L.

(Source des photos 2, 3, 4 et 5: <http://fr.wikipedia.org>; Janvier 2007)

1.1.2. Emplois en médecine traditionnelle (Neuwinger, 2000 ; Doumbouya et Aberlenc, 2001)

Argemone mexicana L. a une longue histoire d'utilisation en médecine traditionnelle et ce, depuis l'époque des aztèques. Cet ancien peuple du Mexique utilisait l'argemone, plante considérée comme sacrée, pour soigner plusieurs maladies. Les feuilles d'*Argemone mexicana* L. sont également utilisées pour leurs vertus thérapeutiques en Inde et en Afrique, notamment au Burkina Faso.

Outre les feuilles, d'autres parties sont également utilisées en médecine traditionnelle notamment les tiges, les graines, les racines, et le latex.

➤ Les feuilles et les tiges

On attribue aux feuilles ou tiges feuillues des propriétés antalgique, anti inflammatoire, sédative, narcotique, antibactérienne et spasmolytique.

En médecine traditionnelle, le décocté aqueux des feuilles et/ou des tiges est utilisé sous forme de boisson pour combattre la syphilis, les infections urinaires, le paludisme, l'ictère, les éruptions cutanées, les gastro-entérites. L'utilisation sous forme de bain sert à traiter les douleurs musculaires. Le décocté des feuilles et/ou des tiges est également utilisé contre les vomissements et les convulsions.

➤ Les graines

Les graines d'*Argemone mexicana* L. sont utilisées comme tonique, aphrodisiaque, antitussif et antiasthmatique. Elles sont également utilisées pour soigner les morsures de serpents et les piqûres de scorpions.

➤ Les racines

Les racines sont utilisées pour leur action antalgique, anti inflammatoire, cholagogue, diurétique et antibactérienne. Elles sont également employées dans le traitement de la gonococcie, des maux de dents et d'yeux.

➤ Le latex

Le latex, de couleur jaune, est utilisé pour soigner les verrues, l'herpès, la cataracte et les ulcères.

1.1.3. Chimie

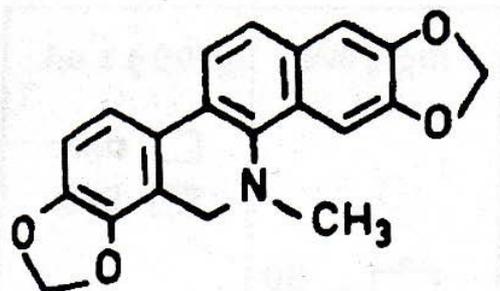
Argemone mexicana L. est une plante qui a fait l'objet de nombreux travaux qui ont permis de connaître sa composition chimique. Bose et *al.* (1963) ont mis en évidence la présence:

- d'acides hydrophiles et lipophiles (8,56%) ;
- de constituants inorganiques : potassium, aluminium, sulfates, nitrates et carbonates ;
- des tanins (1,10%) ;
- de la résine (1,75%) ;
- des alcaloïdes (0,125%) dont la berbérine et la protopine (0,084%) ;

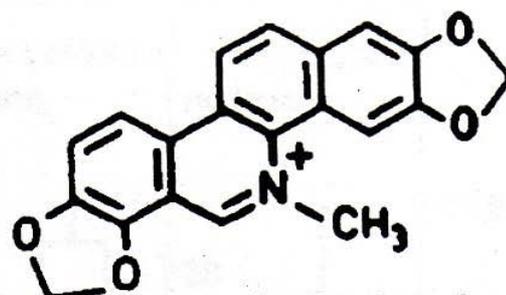
Par ailleurs, les travaux de Upreti et *al.* (1991) font état de la présence d'alcaloïdes de type isoquinoléique surtout au niveau des graines avec des concentrations relativement variables :

- dihydrosanguinarine (87,00%)
- sanguinarine (5,00%)
- berbérine (0,57%)
- protopine (0,34%)
- chelerythrine (0,12%)
- coptisine (0,03%)

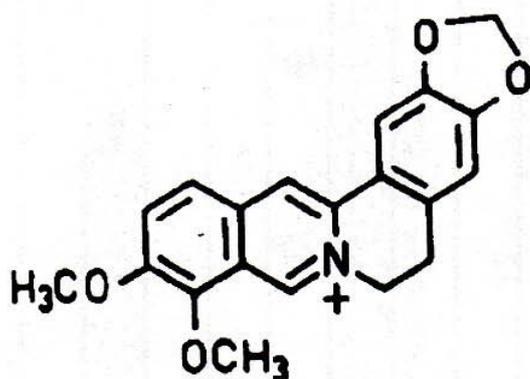
De même, Bhardway (1982) ; et Harborne (1983) mentionnent l'existence de deux flavonoïdes dans les graines, notamment la luteoline et l'eriodictyol.



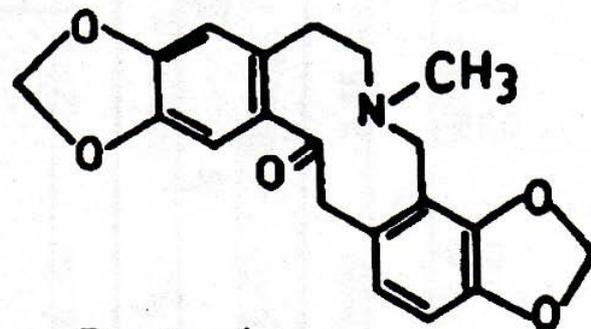
Dihydrosanguinarine



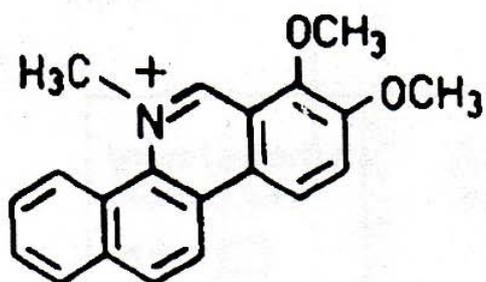
Sanguinarine



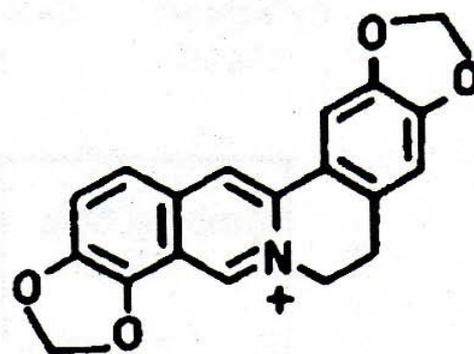
Berberine



Protopine



Chelerythrine



Coptisine

Structures des principaux alcaloïdes d'*Argemone mexicana* L. (Upreti *et al*, 1991)

1.1.4. Toxicité (Tandon *et al.*, 1975 ; Verma *et al.*,2001)

Argemone mexicana L. est une plante qui a été à l'origine d'une maladie appelée « hydropisie épidémique », une pathologie caractérisée par une accumulation de la lymphe dans les tissus et les cavités de l'organisme. La première notification de cette pathologie remonte à l'année 1877 en Inde. Des cas d'hydropisie épidémique ont été signalés en Mauritanie, aux Iles Fidji, à Madagascar et en Afrique du sud. La sanguinarine, l'un des alcaloïdes majeurs d'*Argemone mexicana* L., a été identifiée comme étant la principale cause de cette toxicité. Dans la production d'huile, un mélange accidentel ou volontaire des graines d'*Argemone mexicana* L. avec d'autres graines notamment celles de *Brassica nigra* (Brassicaceae), communément appelé la moutarde, donne une huile contaminée à la sanguinarine. Des quantités négligeables de sanguinarine ne provoquent pas de toxicité, cependant plus de 1% d'huile de graines d'*Argemone mexicana* L. sont suffisants pour produire des symptômes. La sanguinarine est 2,5 fois plus toxique que la dihydrosanguinarine, son dérivé hydrogéné.

1.1.5. Pharmacologie

De nombreux travaux effectués sur *Argemone mexicana* L. ont permis de mettre en évidence une diversité d'action pharmacologique.

1.1.5.1. Actions pharmacologiques

➤ Action antipaludique (Willcox *et al.*, 2007)

Le décocté aqueux des parties aériennes d'*Argemone mexicana* L. permet d'avoir une réponse clinique adéquate et une baisse de la parasitémie chez des malades souffrant de paludisme simple.

➤ Action molluscicide (Singh et Singh, 1999)

Les graines d'*Argemone mexicana* L. tuent *Lymnea acuminata*, mollusque hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica* et *Fasciola gigantica* qui sont des parasites de l'homme et du bétail. La protopine et la sanguinarine ont été identifiées comme les alcaloïdes responsables de cette action.

➤ Activité antibactérienne

Les extraits aqueux et hydro-alcoolique des graines et des feuilles inhibent la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Bhattacharjee *et al.*, 2006).

La sanguinarine, la chelerythrine, la protopine et la berbérine ont manifesté une activité anti-*Helicobacter pylori*, surtout la berbérine et la sanguinarine (Mahady *et al.*, 2003).

➤ Action larvicide

Les études de Sakthivadivel et Thilagavathy (2003) ont montré que les extraits de graines de *Argemone mexicana* L. détruisaient les larves de *Aedes aegypti* L., important vecteur de la dengue en Inde.

➤ Action sur la pression sanguine (Bose *et al.*, 1963)

Les alcaloïdes totaux, la protopine et la berbérine provoquent une baisse de la pression sanguine chez les chiens.

➤ Action sur les muscles lisses et squelettiques (Bose *et al.*, 1963)

Les alcaloïdes totaux et la berbérine ont un effet cardiomodérateur et entraînent une stimulation du tonus et des mouvements péristaltiques de l'intestin.

La berbérine et la protopine ont une activité ocytocique, et provoquent des vasodilatation et bronchoconstriction.

La protopine provoque une contraction généralisée des muscles squelettiques à fortes doses tandis que les alcaloïdes totaux provoquent des contractions, même à de faibles doses.

➤ Action trypanocide (Rosenkranz *et al.*, 2008)

La chelerythrine et la sanguinarine détruisent les formes sanguines de *Trypanosoma brucei*, un parasite responsable de la trypanosomiase chez l'homme.

➤ Action sur les plaquettes sanguines

La chelerythrine est un antiagrégant plaquettaire; elle inhibe la formation de la thromboxane (Ko *et al.*, 1990).

La sanguinarine diminue la formation de la thromboxane B₂ (Mackray *et al.*, 2008).

➤ Action antidiabétique (Jung *et al.*, 2008 ; Kong *et al.*, 2009)

La coptisine et la berbérine sont antidiabétiques par des mécanismes différents.

➤ Action anticancéreuse (Seraphim *et al.*, 2008 ; Matkar *et al.*, 2008)

La sanguinarine empêche la prolifération de cellules cancéreuses humaines.

➤ Action anti-inflammatoire

La chelerythrine a une action anti-inflammatoire par sa toxicité sur les polynucléaires (Sweeney *et al.*, 2000). La sanguinarine est également un anti-inflammatoire (Mackray *et al.*, 2008). La berbérine est utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires dans la spécialité pharmaceutique SEDACOLLYRE®.

➤ Action anti-cytopathique

Les travaux de Sourabié (2006) sur l'exploration du pouvoir anti-ictérique des feuilles d'*Argemone mexicana* L. ont mis en évidence une réduction notable de l'activité des transaminases, des phosphatases alcalines et de la bilirubine directe chez le rat wistar préalablement intoxiqué par une injection intra-péritonéale de CCl₄ (0,5 ml/Kg).

De même, Rathi *et al.* (2008) ont montré que la protopine, un des alcaloïdes isoquinoléiques de la drogue, exerçait une action hépato-protectrice par protection du glutathion réduit et un effet inhibiteur sur la peroxydation lipidique.

1.1.5.2. Mécanismes d'action des principaux alcaloïdes

Les différentes actions pharmacologiques des alcaloïdes d'*Argemone mexicana* L. sont sous-tendues par divers mécanismes d'action :

- La sanguinarine (Verma *et al.*, 2001 ; Mackray *et al.*, 2008 ; Matkar *et al.*, 2008 ; Bai *et al.*, 2008)
- inhibition des canaux ioniques Na⁺ K⁺ ATPase dépendants.
 - dégradation de la membrane cellulaire par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)
 - inhibition de l'activité de l'ADN polymérase
 - accumulation de pyruvate due à une augmentation de la glycogénolyse
 - liaison spécifique aux bases pyrimidiques
 - production de H₂O₂ avec déplétion des antioxydants qui engendrent l'apoptose (mort cellulaire programmée)

- inhibition des cyclooxygénases 1 et 2 entraînant le blocage de la production des médiateurs lipidiques de l'inflammation.

➤ La chelerythrine (Herbert *et al.*, 1990 ; Sweeney *et al.*, 2000 ; Matkar *et al.*, 2008 ; Bai *et al.*, 2008)

- liaison spécifique aux bases pyrimidiques
- production de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) avec déplétion des antioxydants qui engendrent l'apoptose.
- inhibiteur spécifique de la protéine kinase C.
- activation d'une protéase chez les polynucléaires, la caspase-3, intervenant dans les phénomènes d'apoptose et de nécrose.

➤ La protopine (Chao *et al.*, 1998 ; Jiang *et al.*, 2004 ; Xiao *et al.*, 2008)

- inhibition spécifique des canaux potassiques
- diminution de l'activité de H₂O₂ dans les cellules
- antagonisme calcique

➤ la coptisine (Jung *et al.*, 2008)

- inhibition de l'aldose réductase.

➤ La berbérine (Kong *et al.*, 2009)

- inhibition de l'activité de la protéine kinase C avec diminution de l'expression du gène de l'insulino-résistance.

1.2. GENERALITES SUR LES BACTERIES ETUDIEES

1.2.1. Les entérobactéries

Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires à Gram négatif très répandues dans l'appareil digestif des êtres humains et des animaux, d'où leur nom.

➤ Morphologie

Les dimensions varient suivant l'âge de la culture, l'espèce et la souche de l'ordre de 2 à 3 µm de long sur 0,6 µm de large.

Certains genres ou espèces de la famille ne contiennent que des bactéries immobiles : *Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*. La plupart des bactéries classées dans les autres genres sont au contraire mobiles. La longueur des flagelles dépend des conditions de culture ; elle peut atteindre 20 µm. Les entérobactéries peuvent posséder des pili ou fimbriae qui leur donnent des propriétés adhésives.

Certaines cultures d'entérobactéries peuvent posséder une volumineuse capsule. Cette structure est habituelle chez les cultures du genre *Klebsiella*. Les *E. coli* peuvent exceptionnellement posséder une capsule. Les bacilles capsulés cultivent sur milieu gélosé en donnant des colonies muqueuses.

➤ Caractères cultureux

La plupart des espèces d'entérobactéries cultivent sur milieu minimal sans facteurs de croissance. En milieu gélosé, les colonies sont le plus fréquemment rondes, lisses, à bords réguliers, avec un diamètre de 2 à 3 mm après 18 h d'incubation à 37 °C. Les colonies entièrement muqueuses sont particulièrement fréquentes chez les cultures de *Klebsiella*. Dans un bouillon de culture, les entérobactéries donnent un trouble homogène avec des ondes moirées (avec des reflets changeant) quand on agite le tube.

➤ Caractères antigéniques

Les entérobactéries possèdent un pouvoir antigénique qui est lié à l'existence d'antigènes variés. Les principaux antigènes sont :

- *Antigène commun des entérobactéries :*

La plupart des espèces d'entérobactéries possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunin ou ECA (Enterobacterial Common Antigen).

- *Antigènes de la paroi ou Antigènes O*

Ce sont des antigènes de nature lipopolysaccharidique. Ils sont thermostables et alcoolostables. Ils sont constitués de trois parties : le lipide A, le « core » et le polysaccharide.

- *Antigènes K ou antigènes de morphologie*

Ils sont de nature très diverse et entourent l'antigène O. On les désigne sous le nom général d'antigènes K. Certains constituent une capsule visible au microscope, comme celui des *Klebsiella* ou de certains *Escherichia coli*.

- *Antigènes flagellaires ou antigènes H*

Ils sont de nature protéinique et jouent un rôle dans l'identification du germe.

1.2.1.1. *Escherichia coli*

➤ Habitat

Les *Escherichia coli* sont des hôtes normaux du tube digestif, de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud qu'ils colonisent dès les premières heures de la naissance. *Escherichia coli* n'existe pas normalement dans l'eau et le sol. Sa présence à ce niveau est un indicateur de contamination fécale. Certains antigènes peuvent donner à des *Escherichia coli* commensaux des potentialités pathogènes : c'est le cas de l'antigène K1. La plupart des *Escherichia coli* uropathogènes possèdent des adhésines qui leur permettent de se multiplier sur les cellules épithéliales de l'arbre urinaire.

➤ Pouvoir pathogène naturel

Escherichia coli est un germe qui peut être responsable de plusieurs types d'infections chez l'homme. Ainsi distingue-t-on :

- Infections de l'arbre urinaire : *Escherichia coli* est fréquemment en cause dans les infections de l'arbre urinaire.
- Méningites et septicémies : celles-ci surviennent surtout chez le nourrisson durant le premier mois de la vie.

- Infections intestinales (gastroentérites)

1.2.1.2. *Salmonella typhi*

➤ Habitat

Les *Salmonella* sont essentiellement des parasites intestinaux des animaux vertébrés. Elles peuvent être disséminées dans l'environnement par le biais des excréta. Si elles ne peuvent s'y multiplier de manière significative, elles peuvent cependant y survivre, en particulier dans le sol, pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité leur sont favorables.

➤ Pouvoir pathogène naturel

Salmonella typhi est un germe strictement humain ; il cause des syndromes typhiques avec essaimage dans le sang. La maladie se transmet d'homme à homme par l'intermédiaire d'eau de boisson ou d'aliments souillés par des excréments humains.

1.2.1.3. *Klebsiella pneumoniae*

➤ Habitat

Klebsiella pneumoniae est une bactérie répandue dans la nature ; on peut l'isoler de l'eau, de végétaux, d'aliments divers. Elle est rencontrée chez 30 à 40 % des animaux sauvages ou domestiques, ainsi que chez l'homme. *Klebsiella pneumoniae* végète sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures.

➤ Pouvoir pathogène naturel

Klebsiella pneumoniae est principalement responsable de bronchopneumopathies et d'infections urinaires chez l'homme ; ce germe est secondairement responsable d'infections hépatovésiculaires, de pus divers, et d'infections péritonéales. Les septicémies à *Klebsiella* sont de pronostic sévère. Elles surviennent chez des malades débilisés et ont souvent pour point de départ une infection urinaire (cas le plus fréquent), respiratoire ou biliaire.

1.2.2. *Staphylococcus aureus*

➤ Caractères morphologiques

Dans le pus, *Staphylococcus aureus* se présente sous l'aspect de coques en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chaînettes (3 à 5 éléments), mesurant de 0,8 à 1 µm, gardant le Gram. Sur les cultures en milieu solide, il se dispose en « **grappe de raisin** », alors qu'en milieu liquide il est souvent isolé, en diplocoque. Il est immobile, non sporulé et ne possède pas de capsule visible au microscope optique sauf de très rares souches ; d'autres souches, formant des colonies mucoïdes, sont entourées d'une pseudocapsule.

➤ Caractères cultureux

Staphylococcus aureus est un germe aérobie, anaérobie facultatif, qui pousse facilement sur milieu ordinaire ; certains facteurs de croissance lui sont indispensables tels que la vitamine B₁ et l'acide nicotinique ; il n'exige pas de biotine ni de tryptophane. Il pousse en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et 14 aminoacides dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique. La température de croissance optimale est de 37°C (de +10 à +45°C), le pH optimal est de 7,5 mais de grandes variations de pH sont tolérées.

En bouillon ordinaire, la culture de *Staphylococcus aureus* est rapide. En quelques heures, un trouble homogène puis un dépôt sont observés. Il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide. Sur gélose ordinaire, les colonies sont lisses, rondes, bombées et leur diamètre est de 1 mm ; la plupart des souches produisent un pigment doré ou citrin, non diffusible dans le milieu.

A une température de +4 °C, le staphylocoque conserve sa vitalité pendant 3 mois dans le pus, pendant un an sur gélose ; il est détruit à 58 °C au bout de 60 min. Il résiste bien sur les poussières de l'air et sur les surfaces. Sa croissance est inhibée par les androgènes et la progestérone.

La plupart des souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré ou jaune citron ; mais certaines donnent des colonies blanches.

➤ Caractères métaboliques et physiologiques

Staphylococcus aureus possède une catalase mais pas d'oxydase. Il est actif sur les hydrates de carbones : le glucose est utilisé en anaérobie et aérobie ainsi que le mannitol.

➤ Toxines et enzymes diffusibles

Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* produisent des protéines excrétées dans le milieu extracellulaire et douées soit d'une activité toxique, soit d'une activité enzymatique.

- **Les toxines** : on distingue plusieurs types.
 - ✓ Les hémolysines
 - ✓ Les leucocidines de Panton et Valentine
 - ✓ L'exofoliatine ou épidermolysine : provoque le "syndrome de la peau ébouillantée".
 - ✓ Les entérotoxines staphylococciques : provoquent des manifestations cliniques digestives.
 - ✓ La toxine du syndrome de choc toxique staphylococcique qui se manifeste par un début brutal avec fièvre à 39°C, une érythrodermie diffuse suivie d'une desquamation au niveau des paumes et des plantes, une hypotension artérielle avec état de choc et des atteintes pluriviscérales.

- **Les enzymes** : on distingue plusieurs types.
 - ✓ La coagulase
 - ✓ La fibrinolysine
 - ✓ Les lipases
 - ✓ Les phosphatases
 - ✓ La hyaluronate-lyase
 - ✓ La nucléase
 - ✓ Les protéases
 - ✓ Les lysozymes

➤ Antigènes somatiques

Il existe trois antigènes pariétaux caractéristiques de l'espèce (peptidoglycane, protéine A et acides teichoïques), des antigènes pariétaux de type et des antigènes de surface.

➤ Pouvoir pathogène naturel chez l'homme

Les infections à staphylocoques peuvent être localisées et de propagation directe en atteignant essentiellement le revêtement cutané, ou diffuser par voie sanguine en prenant un caractère septicémique et un polymorphisme symptomatique extrême.

- Les staphylococcies localisées cutanées et muqueuses sont les plus importantes et peuvent représenter la porte d'entrée et la forme initiale d'infections systémiques plus sévères. Les infections cutanées peuvent rester superficielles et déterminer des staphylococcies bulleuses. Elles peuvent se développer dans le follicule pilo-sébacé (folliculite, furoncle), ou les glandes sudoripares (hidrosadénite axillaire). Les infections cutanées peuvent également réaliser des atteintes variées végétantes (botryomycome) ou gangréneuses ; elles peuvent se développer au niveau des ongles et déterminer des panaris, onyxis, ou périonyxis.
- Les staphylococcies septicémiques (staphylococcémies) peuvent être d'évolution aiguë ou chronique. Elles succèdent généralement à une infection cutanéomuqueuse souvent passée inaperçue.
- Les syndromes provoqués par certaines toxines sont bien définis : c'est le cas des exfoliatines, des entérotoxines et de la toxine du choc toxique.

1.2.3. *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique)

➤ Habitat

Le bacille pyocyanique (du grec : puon, pus ; et du latin : cyaneus, bleu foncé) est maintenant désigné sous le nom de *Pseudomonas aeruginosa* (du latin : aes, airain, cuivre ; aerugo, rouille d'airain, vert de gris ; aeruginosus, couvert de rouille). C'est une bactérie qui vit normalement à l'état saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux ; elle résiste mal à la dessiccation. Elle peut aussi vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux et exercer chez certains de ces hôtes un pouvoir pathogène indiscutable. Il est convenu de la définir comme un agent pathogène "opportuniste".

➤ Caractères morphologiques

Les *Pseudomonas* ont la forme de bâtonnets rigides, droits, avec des extrémités arrondies. Elles sont très mobiles et se déplacent en ligne droite, avec un léger frémissement, à condition que la tension partielle d'oxygène du milieu soit suffisante.

➤ Caractères cultureux

En plus de la production spécifique de pyocyanine, les cultures de *Pseudomonas aeruginosa* sont souvent caractérisées par deux propriétés spéciales : la production d'un voile fragile et peu épais à la surface des milieux liquides et une odeur caractéristique, aromatique.

Un autre phénomène est caractéristique de cette espèce : une dissociation spontanée en trois types principaux de colonies sur milieux gélosés. Ainsi on retrouve :

- des colonies larges, rugueuses avec un centre plus bombé et un bord irrégulier.
- des colonies petites, lisses, mates, légèrement bombées avec un bord circulaire régulier.
- des colonies de type muqueux sont rares.

➤ Produits diffusibles

Pseudomonas aeruginosa est un germe capable de produire de nombreux métabolites qui vont diffuser dans le milieu environnant, souvent beaucoup plus toxiques que l'endotoxine liée au lipopolysaccharide, et qui sont susceptibles de jouer un rôle soit dans la virulence de la bactérie, soit dans la protection contre la maladie.

Les pigments diffusibles produits par *Pseudomonas aeruginosa* ne sont pas toxiques ; ils exercent probablement un rôle pour la survie *in vivo*. *Pseudomonas aeruginosa* produit de façon habituelle deux pigments : la pyocyanine spécifique de l'espèce, et la pyoverdine (pigment jaune-vert fluorescent).

Les métabolites qui sont le plus souvent en rapport avec la physiopathologie sont principalement des protéases, des hémolysines et des toxines protéiques notamment l'exotoxine A.

➤ *Pouvoir pathogène naturel*

Le bacille pyocyanique présente la particularité d'être un germe peu virulent chez l'individu normal, et au contraire très pathogène chez le sujet dont les moyens de défense sont altérés. On peut ainsi noter chez l'homme :

- des infections cutanées ;
- des infections chez les immunodéprimés ou après traumatismes ;
- des infections du tractus digestif.

1.3. GENERALITES SUR L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ANTIBIOTIQUES IN VITRO

1.3.1. Mécanisme d'action des antibiotiques (Ducharme *et al.*, 2001)

➤ Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

La paroi bactérienne est l'enveloppe externe qui confère à la bactérie sa forme. Elle protège la cellule bactérienne contre les agents extérieurs et la forte pression osmotique interne. La paroi bactérienne est constituée sur le plan chimique d'un polymère particulier, le peptidoglycane. Les transpeptidases et les carboxypeptidases sont des enzymes nécessaires à la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes fixent les β lactamines, d'où leur nom de Protéines Liant les Pénicillines (PLP).

- β lactamines

Les β lactamines se fixent sur les PLP et inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, substance glycopeptidique spécifique aux bactéries et qui constitue la paroi. Cette inhibition entraîne un arrêt de la croissance bactérienne (bactériostase). L'inhibition est poursuivie par une dégradation, de mécanisme mal connu et qui aboutit à une désorganisation et à une lyse de la bactérie (bactéricide).

- Glycopeptides

Les glycopeptides inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane en contractant des liaisons hydrogène avec le précurseur de ce dernier. Il en résulte un accès difficile pour les enzymes de transformation du précurseur et donc une inhibition de la synthèse du peptidoglycane.

- Fosfomycine

La fosfomycine se lie de façon covalente et inhibe ainsi la pyruvyl-transférase, une enzyme impliquée dans la synthèse du précurseur du peptidoglycane.

➤ Antibiotiques inhibant la synthèse ou le fonctionnement de l'ADN

- Rifampicine

L'effet bactériostatique de cet antibiotique s'explique par sa fixation covalente sur la sous-unité β de l'ARN polymérase ADN-dépendante, enzyme responsable de la transcription de l'ADN en ARN messager. L'effet bactéricide pourrait s'expliquer par la stabilité de cette liaison covalente et par la formation de radicaux libres (par oxydation du noyau quinone de la rifampicine) toxiques pour l'ADN bactérien.

- Quinolones

Les quinolones pénètrent dans le cytoplasme bactérien par diffusion passive et inhibent l'ADN gyrase en formant un complexe ternaire ADN-gyrase-quinolone. Il s'ensuit une inhibition rapide de la synthèse de l'ADN suivie de la mort de la bactérie.

- Sulfamides

Les sulfamides sont des analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque et, de ce fait, inhibent de façon compétitive la formation de l'acide dihydrofolique qui est nécessaire à la synthèse de l'acide tétrahydrofolique indispensable aux bactéries. Les bactéries, contrairement aux eucaryotes ne peuvent pas utiliser les folates exogènes et doivent par conséquent les synthétiser (à l'exception des entérocoques).

- Triméthoprime

La triméthoprime est aussi un analogue structural de l'acide dihydrofolique. Elle inhibe de façon compétitive la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (THF) indispensable aux bactéries.

- Nitro-imidazolés et nitrofuranes

Les nitro-imidazolés et nitrofuranes ont leur groupement nitro (NO_2) réduit par les systèmes transporteurs intra-cytoplasmiques des bactéries sensibles. Les dérivés réduits diffusent vers l'ADN bactérien, l'oxydent et provoquent des coupures des brins d'ADN entraînant ainsi la mort de la bactérie.

➤ Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

La protéogenèse, traduction de l'ARN messenger (ARNm) en protéine, est réalisée par les ribosomes. Chaque ribosome se dissocie en deux sous-unités représentant chacune 2/3 et 1/3 de la masse globale. Les sous-unités sont constituées par des protéines et des ARN ribosomiaux (ARNr). Chaque sous-unité est caractérisée par son coefficient de sédimentation exprimé en unité Svedberg (s). Les bactéries possèdent des ribosomes dont les grandes sous-unités et les petites sous-unités sont respectivement de 50 s et 30 s.

- Aminosides

Les aminosides traversent la membrane des bactéries par transport actif puis se fixent sur l'ARNr 16 s, l'un des constituants de la sous unité 30 s. Cette fixation altère la traduction de l'ARNm en protéines, aboutissant à des protéines anormales et réduites en nombre. Les protéines anormales sont intégrées dans la membrane cytoplasmique qui perd ainsi son intégrité. Ce phénomène confère aux aminosides un effet bactéricide puissant et rapide.

- Cyclines

Les cyclines se fixent sur les sous-unités ribosomiales 30 s et inhibent ainsi la phase d'élongation de la traduction de l'ARNm en protéines.

- Macrolides et apparentés

Les macrolides et apparentés se fixent sur la sous-unité 50 s au niveau de l'ARN ribosomal 23 s entraînant ainsi une inhibition de la phase d'élongation de la synthèse protéique.

- Phénicolés

Les phénicolés et apparentés se fixent sur la sous unité 50 s au niveau de l'ARN ribosomal 23 s entraînant une inhibition de la phase d'élongation de la synthèse protéique.

- Acide fusidique

Le mécanisme d'action de cet antibiotique est mal connu ; il serait le fait d'un blocage de la phase d'élongation de la synthèse protéique.

➤ Antibiotiques actifs sur les membranes bactériennes

- Polypeptides

Les polypeptides se fixent sur la membrane externe de la bactérie, puis sur la membrane cytoplasmique, ce qui provoque la désorganisation de ces structures et entraîne la mort du micro-organisme.

1.3.2. Croissance bactérienne en présence d'antibiotiques (Le Minor et Veron, 1989)

Les concentrations d'antibiotique qui affectent la croissance bactérienne en milieu de culture sont dites bactériostatiques. A un temps donné, et pour une concentration définie d'antibiotique, l'effet bactériostatique est caractérisé par un nombre de bactéries inférieur à celui d'une culture témoin sans antibiotique et, au mieux, égal au nombre de bactéries inoculées. Ceci peut être le résultat soit d'une diminution du nombre des divisions des bactéries sans altération de leur vitalité, soit d'un équilibre entre la croissance et la mort des bactéries.

Lorsque des bactéries viables évoluent en deçà de l'inoculum initial, l'effet de l'antibiotique est dit bactéricide.

1.3.2.1. Bactériostase

L'étude de la croissance des bactéries en fonction des concentrations d'antibiotiques permet d'analyser le phénomène d'inhibition et de définir les concentrations (points limites) représentatives de l'activité antibiotique.

➤ Analyse du phénomène d'inhibition

L'inhibition de la croissance bactérienne serait le résultat de deux phénomènes contraires : certains individus peuvent être inhibés ou tués à une concentration donnée, tandis que les autres continuent de se multiplier et ne seront inhibés ou tués qu'à une concentration supérieure. L'effet global observé ne serait que la résultante d'un phénomène de "naissance-mort".

➤ Définition des points limites

- la concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) est la concentration d'antibiotique qui inhibe 50% des individus de la population bactérienne étudiée.
- La concentration inhibitrice 90 (CI₉₀) est la concentration qui inhibe 90% des individus par rapport au témoin sans antibiotique
- La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 h. C'est le point limite universellement utilisé pour caractériser l'activité d'un antibiotique. On emploie pour sa détermination des dilutions d'antibiotique de raison 2, alors que le calcul de la CI₅₀ nécessite des dilutions rapprochées et des numérations bactériennes non réalisables en routine.

2.3.2.2. Bactéricidie

On parle d'effet bactéricide d'un antibiotique à un temps donné, lorsque le nombre de bactéries viables est inférieur à celui de l'inoculum. L'effet bactéricide d'un antibiotique est faible par rapport à celui d'un antiseptique : il se manifeste en quelques heures, alors qu'il suffit de quelques minutes pour un antiseptique. Les cinétiques de bactéricidie présentent deux aspects principaux :

- elles peuvent être identiques au cours du temps pour des concentrations variables d'antibiotiques et on parle alors d'effet bactéricide "temps dépendant".
- elles peuvent varier en fonction du temps avec la concentration étudiée d'antibiotique et on parle d'effet bactéricide "dose dépendant".
- point limite : par analogie avec la CMI, on définit une concentration minimale bactéricide (CMB). La CMB est la concentration d'antibiotique permettant d'obtenir, après 18 h de contact, un taux de survivants inférieur ou égal à 0,01 % de l'inoculum (soit 1 bactérie pour 10 000ensemencées).

1.3.3. Facteurs influençant l'activité *in vitro* des antibiotiques (Le Minor et Veron, 1989)

➤ La densité de l'inoculum

Lorsque l'inoculum est très dense, on accroît les chances d'augmenter la valeur de la CMI.

➤ La nature du milieu de culture

- Le pH du milieu peut influencer l'activité antibiotique. Les β -lactamines (sauf la pénicilline G) et les tétracyclines sont plus actives en milieu acide, alors que les aminosides et les macrolides sont plus actifs en milieu alcalin.
- La concentration en cations divalents, Ca^{++} et Mg^{++} en particulier, affecte l'activité des aminosides et des tétracyclines. Les concentrations élevées en cations divalents diminuent la fixation des aminosides sur les sites anioniques de la membrane externe et empêchent leur pénétration. Les faibles concentrations peuvent au contraire augmenter leur perméabilité et donner une fausse sensibilité.
- Une teneur élevée en Na Cl diminue l'activité des aminosides.

➤ Une atmosphère d'incubation enrichie en CO_2 diminue le pH du milieu et peut modifier l'activité de certains antibiotiques.

➤ La durée d'incubation est également un facteur de variabilité des CMI. Une lecture après 16 à 18 h d'incubation à 37°C donne les résultats les plus reproductibles.

Le milieu de culture Mueller Hinton constitue le milieu universellement utilisé pour déterminer l'activité *in vitro* des antibiotiques.

1.3.4. Méthodes d'étude *in vitro* de l'activité des antibiotiques

1.3.4.1. Méthode par diffusion en milieu gélosé et facteurs influençant la dimension de la zone d'inhibition (Vandepitte *et al.*, 1994 ; Ducharme et Martineau, 2001)

➤ Méthode par diffusion en milieu gélosé

A partir d'une source quelconque (dépôt en surface ou dans un puits, disque de papier buvard préimprégné), un antibiotique diffuse dans un milieu de culture gélosé en réalisant

un gradient de concentration. Après une phase de latence durant laquelle la diffusion de l'antibiotique progresse, la multiplication des bactéries va se produire. Une compétition s'installe alors entre la diffusion de l'antibiotique à partir de la source et la croissance des bactéries. La dimension de la zone d'inhibition sera déterminée par la distance que la concentration inhibitrice d'antibiotique pourra parcourir avant que soit atteinte une certaine densité microbienne. L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé est un procédé largement répandu du fait de sa simplicité. Cependant, la qualité des résultats peut varier en fonction de plusieurs paramètres qu'il importe de maîtriser par une standardisation des méthodes.

➤ Facteurs influençant la dimension de la zone d'inhibition

- Densité de l'inoculum

Si l'inoculum est trop petit, les zones d'inhibition seront plus étendues, bien que la sensibilité du germe ne soit pas modifiée. Des souches relativement résistantes peuvent alors être considérées comme sensibles. A l'inverse, si l'inoculum est trop important, la zone d'inhibition sera réduite et des souches sensibles peuvent alors être considérées comme résistantes.

- Minutage de l'application des disques

Si les boîtes de Pétri, après avoir étéensemencées avec la souche à tester, sont laissées à la température ambiante pendant longtemps qu'il n'est recommandé, la multiplication de l'inoculum peut avoir lieu avant l'application des disques. Cela entraîne une diminution du diamètre de la zone d'inhibition et peut faire qu'une souche sensible soit considérée comme résistante.

- Température d'incubation

Les tests de sensibilité sont normalement réalisés à 35°C pour obtenir une croissance optimale. Si l'on abaisse la température, la durée nécessaire pour obtenir la croissance s'allonge et il en résulte des zones plus grandes. Des températures supérieures à 35°C annulent les résultats de l'oxacilline/meticilline.

- Durée d'incubation

La plupart des techniques requièrent une durée d'incubation située entre 16 et 18 heures. Cependant, en cas d'urgence, un rapport provisoire peut être établi au bout de 6 heures.

- Profondeur de la gélose et espacement des disques imprégnés d'antibiotique

Des zones d'inhibition excessivement importantes peuvent se former sur des milieux trop fins ; l'inverse est valable pour des milieux trop épais. Des variations mineures de la profondeur de la couche de gélose ont un effet négligeable. La profondeur doit être d'environ 4 mm soit environ 25 ml de milieu pour une boîte de Pétri de 90 mm. Un espacement correct des disques est indispensable pour éviter un chevauchement des zones d'inhibition ou leur déformation près du bord de la boîte. Sur une boîte de Pétri de 90 à 100 mm, on peut disposer au maximum sept disques. On en dispose six à intervalles réguliers tout autour de la boîte à environ 15 mm du bord et un au centre.

- Activité des disques imprégnés d'antibiotique

Le diamètre de la zone d'inhibition est lié à la quantité de médicament présente dans le disque.

- Composition du milieu de culture

Le milieu influe sur la taille de la zone d'inhibition par son effet sur la vitesse de croissance du germe, la vitesse de diffusion de l'antibiotique et l'activité de l'agent utilisé.

1.3.4.2. Méthodes par dilution

Selon plusieurs auteurs (Le Minor et Veron, 1989 ; Vandepitte *et al.*, 1994 ; Alzoreky et Nakahara, 2003 ; Zampini *et al.*, 2005 ; Berahou *et al.*, 2007), les méthodes par dilution permettent une meilleure estimation quantitative de l'activité antibiotique.

➤ Dilution en milieu gélosé

La méthode de dilution en milieu gélosé Mueller Hinton nécessite l'incorporation de chaque concentration d'antibiotique dans le milieu liquéfié de manière à avoir une

dilution au dixième de l'antibiotique dans la gélose. Après solidification, 1 à 10 µl de l'inoculum correspondant à chaque bactérie testée, sont déposés en spot sur la surface de la gélose. La CMI est définie par la concentration minimale d'antibiotique ne laissant subsister aucune ou, au plus, une à trois colonies après 18 h d'incubation à 37°C.

➤ Dilution en milieu liquide (bouillon)

Les méthodes de dilution en milieu liquide (bouillon Mueller Hinton) sont réalisées dans des tubes (macrométhode) ou dans des plaques de microtitration (microméthode).

Les microméthodes sont plus adaptées à la pratique de l'antibiogramme, grâce à une automatisation possible de la préparation des dilutions d'antibiotiques et de la lecture des CMI.

1.3.4.3. E-test (Ducharme et Martineau, 2001)

Le E-test tire profit des avantages du test par diffusion (rapidité et simplicité) et du test par dilution (obtention d'une valeur quantitative de la sensibilité). Des languettes contenant chacune un antibiotique spécifique sont disposées sur le milieu de culture. Les languettes sont graduées afin d'indiquer la CMI de l'antibiotique pour la bactérie étudiée.

2. OBJECTIFS

2.1. OBJECTIF GENERAL

Evaluer les propriétés antibactériennes *in vitro* d'extraits (extrait des alcaloïdes totaux et extrait méthanolique) de feuilles d'*Argemone mexicana* L.

2.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Préparer un extrait hydro-alcoolique et un extrait des alcaloïdes totaux à partir de feuilles d'*Argemone mexicana* L.
- Réaliser des réactions de caractérisation des principaux groupes chimiques des feuilles d'*Argemone mexicana* L.
- Tester *in vitro* l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-alcoolique et l'extrait des alcaloïdes totaux vis-à-vis de :
 - * *Staphylococcus aureus*
 - * *Escherichia coli*
 - * *Klebsiella pneumoniae*
 - * *Salmonella typhi*
 - * *Pseudomonas aeruginosa*
- Déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de chaque extrait actif à l'égard des germes bactériens testés.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. CADRE ET PERIODE D'ETUDE

Notre étude s'est déroulée d'une part au laboratoire de Phytochimie du département de Médecine et Pharmacopée Traditionnelles/Pharmacie (MEPHATRA/PH) de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) et d'autre part au service des laboratoires du Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou de Bobo Dioulasso (CHU/SS), plus précisément au laboratoire de Bactériologie.

Notre étude s'est déroulée du 26 Mars 2007 au 22 Janvier 2009.

3.2. MATERIEL

3.2.1. Support biologique

Il est constitué de cinq souches cliniques de germes bactériens qui ont été isolés puis identifiés à partir de produits pathologiques (urines, selles, et sang) parvenus au laboratoire. Il s'agit de :

- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Salmonella typhi*
- *Pseudomonas aeruginosa*

3.2.2. Matériel végétal

La matière première végétale est constituée de feuilles d'*Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). L'échantillon a été récolté courant décembre 2005 à Bérégadougou, un département de la province de la Comoé (région des Cascades). Les feuilles, une fois séparées des tiges, sont séchées ; elles sont ensuite réduites en une poudre fine à l'aide d'un broyeur (de l'unité sémi-industrielle d'extraction de principes actifs végétaux de l'IRSS). La poudre ainsi obtenue va servir à la réalisation des différentes opérations d'extraction.

Par ailleurs, l'identification de l'échantillon de drogue a été confirmée au laboratoire de botanique de l'INERA/CNRST (Institut National de l'Environnement, l'Elevage et de la Recherche Agronomique/ Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique) par comparaison avec un spécimen de la plante répertorié sous la référence HNBU 762.

3.2.3. Matériel et réactifs pour les études phytochimique et bactériologique

➤ Matériel et réactifs pour l'extraction

- Evaporateur rotatif (type Büchi RE 11 Rotavapor muni d'un Büchi 436 Water Bath)
- Plaque chauffante
- Etuve de marque Memmert Type UL30 F-Nr. 840 452 (30-220°C)
- Centrifugeuse (Type 4225 Centrifuge)
- Verrerie
- Réactifs :
 - ✓ Eau distillée
 - ✓ Acide sulfurique 5%
 - ✓ Carbonate de sodium
 - ✓ Chlorure de méthylène
 - ✓ Méthanol 35%
 - ✓ Sulfate anhydre de sodium

➤ Matériel pour la lyophilisation

- Réfrigérateur-congélateur
- Lyophilisateur de paille (Marque CHRIST® Type ALPHA 1-2)

➤ Matériel et réactifs pour la caractérisation des groupes chimiques

- Verrerie
- Détecteur Lampe Ultra Violet (CAMAG CAT.No 29010 SER.No. 890664)
- Réactifs de caractérisation :
 - ✓ Dichlorométhane
 - ✓ Anhydride acétique
 - ✓ Ammoniaque

- ✓ Acide chlorhydrique
- ✓ Réactif de Mayer (solution iodo-mercurate de potassium)
- ✓ Réactif de Dragendorff (solution iodo-bismuthite de potassium)
- ✓ Méthanol
- ✓ Magnésium
- ✓ Trichlorure de fer
- ✓ Eau distillée

➤ Matériel pour les tests bactériologiques

- Milieux de culture :
 - ✓ Gélose Mueller Hinton
 - ✓ Bouillon Mueller Hinton
- Réactifs :
 - ✓ Eau distillée
 - ✓ Eau physiologique
 - ✓ Ethanol-eau (7:3 V/V)
 - ✓ Extraits végétaux
- Consommables :
 - ✓ Boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre
 - ✓ Disques d'antibiotiques (acide nalidixique, amoxicilline/acide clavulanique, ampicilline, ceftriaxone, cotrimoxazole, ciprofloxacine)
 - ✓ Pipettes Pasteurs en verre, ayant des pointes fermées autocassables et des bords de 6,75 mm de diamètre
 - ✓ Micropipettes
 - ✓ Embouts pour micropipettes
 - ✓ Tubes à essais
 - ✓ Plaques de microtitration à 96 puits

3.3. METHODES

3.3.1. Etude phytochimique

3.3.1.1. Extractions

➤ Préparation du macéré hydro-alcoolique

A une prise d'essai de 250 g de poudre végétale, on ajoute 1500 ml d'un mélange de méthanol-eau (3 :7 V/V).

L'ensemble est mis à macérer pendant 24 h à la température du laboratoire puis filtré. Le filtrat obtenu est centrifugé à 2000 tours/min pendant 5 min et le surnageant est recueilli dans un flacon coloré puis conservé dans le réfrigérateur à 4°C. L'extrait a été lyophilisé à partir d'un lyophilisateur de paillasse au bout de 72 h. L'extrait lyophilisé a été pesé en vue de déterminer le rendement de l'extraction.

➤ Extraction des alcaloïdes totaux

Une prise d'essai de 500 g de drogue pulvérisée est mise à macérer pendant 24 h dans une solution d'acide sulfurique 5% (3500 ml) ; le macéré est filtré sur du tissu nylon, puis sur du coton hydrophile. Le filtrat censé renfermer les alcaloïdes sels est alcalinisé au moyen d'une solution de carbonate de sodium jusqu'à pH 8-9 (alcaloïdes bases).

La solution alcaline obtenue est ensuite transvasée dans un ballon à décanter puis traitée avec du dichlorométhane. Les différentes phases organiques sont ensuite réunies, puis séchées sur du sulfate anhydre de sodium. La phase organique séchée est alors filtrée sur papier Wattman et le filtrat qui en résulte est évaporé à sec sous pression réduite au Rotavapor.

➤ Taux d'humidité résiduelle (THR) de la matière végétale

1 g de drogue est pesé dans un verre de montre puis placé à l'étuve à 105°C. Après 1h d'incubation, puis à des intervalles réguliers de 30 min à l'étuve, la prise d'essai est pesée jusqu'à obtenir un poids constant. La teneur en eau et le THR sont donc déterminés comme suit : **Teneur en eau (g) = Pesée initiale(1g) – Pesée finale (g)**

$$\text{THR (\%)} = \text{Teneur en eau} \times 100$$

3.3.1.2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique est effectué dans le but de déterminer les constituants chimiques présents dans l'extrait méthanolique de la drogue. Il a été réalisé selon une méthode adaptée et validée au Laboratoire de Chimie du Département MEPHATRA/PH à partir de la méthode classique de Ciulei (1982).

➤ L'extrait lyophilisé (10 g) est dissous dans 200 ml d'eau distillée et la solution qui en résulte est transvasée dans un ballon à décanter de 250 ml puis extraite avec du dichlorométhane par petites portions (3 x 50 ml). Les extraits sont réunis et séchés sur du sulfate anhydre de sodium puis filtrés sur papier Wattman.

- Dans la fraction dichlorométhylénique, l'on recherche les composés apolaires tels que les stérols, les triterpènes, les émодols, les aglycones flavoniques, les alcaloïdes base et les coumarines.
- Les hétérosides polaires (polyphénols, saponosides, alcaloïdes sels, flavonoïdes, anthracénosides, dérivés coumariniques) sont recherchés dans la phase aqueuse résiduelle.
- ✓ Les polyphénols (tanins), les saponosides, les alcaloïdes sels sont recherchés directement dans la phase aqueuse.
- ✓ Les flavonoïdes, les glycosides stéroïdiques, les glycosides triterpéniques, les anthracénosides, et les dérivés coumariniques sont recherchés après une hydrolyse de la phase aqueuse résiduelle
- Hydrolyse de la phase aqueuse résiduelle

Une hydrolyse acide est réalisée. On ajoute à 30 ml de la phase aqueuse, 15 ml d'acide chlorhydrique à 10%. L'ensemble est ensuite chauffé à reflux pendant 30 min, et une extraction par le dichlorométhane est réalisée après refroidissement.

➤ Recherche des principaux groupes chimiques

- Caractérisation des triterpènes et stérols

Pour ce faire, l'on a mis à profit la réaction de Liebermann-Burchard.

10 ml de la phase dichlorométhylénique sont évaporés par chauffage dans un flacon; au résidu on ajoute 0,5 ml d'anhydride acétique, puis 0,5 ml de dichlorométhane.

La solution obtenue est transférée dans un tube à essai. Après agitation, l'on dépose 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube à essai.

L'apparition d'un anneau de couleur rose brun avec un surnageant vert ou violet signe la présence de stérols. Par contre, si l'anneau de coloration vire au violet avec un surnageant violet ou vert, l'on est en présence de triterpènes.

- Caractérisation des coumarines

3 ml de la phase dichlorométhylénique sont évaporés. Le résidu est redissous dans 4 ml d'eau distillée chaude. La solution obtenue est ensuite transvasée dans 2 tubes à essai.

T1: Tube de témoin

T2: Tube test dans lequel on ajoute 0,5 ml d'ammoniaque à 10 %.

Les tubes sont observés sous lumière UV. L'apparition d'une fluorescence bleue verdâtre ou violette signe la présence de coumarines.

- Caractérisation des alcaloïdes bases

Pour ce faire, nous avons utilisé les réactifs généraux des alcaloïdes (RGA), en particulier le réactif de Valser-Mayer et le réactif de Dragendorff.

Le résidu obtenu par évaporation de 10 ml d'extrait dichlorométhylénique est dissous dans 1,5 ml d'acide chlorhydrique à 2 %. La solution est répartie à volume égal dans 3 tubes à essai.

T1: On ajoute 2 à 3 gouttes du réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité opalescent ou blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.

T2: On ajoute 2 à 3 gouttes de réactif de Dragendorff. En présence d'alcaloïdes, il se forme un précipité brun.

T3: Tube témoin (dans lequel l'on n'ajoute pas de réactif).

- Caractérisation des émодols

Dans un tube à essai contenant 3 ml d'extrait, on ajoute 1 ml d'ammoniaque à 25%. Après agitation, l'apparition d'une coloration rouge indique la présence des émодols.

- Caractérisation des flavonoïdes

On a mis à profit la réaction de Shibata (ou Test à la cyanidine).

Le résidu obtenu après évaporation de 3 ml d'extraits aqueux est dissous dans 1 à 2 ml de méthanol 50% à chaud. L'on ajoute de la tournure de magnésium puis 4 à 5 gouttes d'acide chlorhydrique concentré.

L'apparition d'une coloration rouge (flavonols) ou orange (flavanones) indique la présence de flavonoïdes.

- Caractérisation des alcaloïdes sels

L'extrait aqueux (10 ml) est évaporé ; au résidu d'évaporation on ajoute 10 ml d'acide chlorhydrique à 10%. Le filtrat qui en résulte est alcalinisé par l'ammoniaque à 10% (pH=8-9). Les alcaloïdes sous forme basique sont solubles dans un milieu peu polaire et donc extractibles par le dichlorométhane. Lorsqu'ils sont extraits, la phase organique est évaporée ; au résidu l'on ajoute 1,5 ml d'acide chlorhydrique à 2% à chaud. La solution obtenue est répartie dans 3 tubes à essai.

T1 : Tube destiné à la réaction de Mayer.

T2 : Tube destiné à la réaction de Dragendorff.

T3 : Tube témoin.

- Caractérisation des polyphénols (tanins)

On a mis à profit la réaction avec la trichlorure de fer.

1ml de l'extrait aqueux est dilué au ½ dans 1 ml d'eau distillée. On ajoute 2 à 3 gouttes d'une solution de trichlorure de fer à 1%.

Une coloration vert noirâtre indique la présence de tanins catéchiques ; et la présence des tanins galliques est matérialisée par une coloration bleue ; tandis qu'un mélange des deux colorants met en évidence les deux types de tanins.

- Caractérisation des saponosides (saponines)

Elle a été effectuée à l'aide de l'indice de mousse.

On réalise un mélange de 2 ml d'extrait aqueux de la drogue avec 2 ml d'eau distillée dans un tube à essai. Ce mélange est agité pendant 15 minutes.

L'apparition d'une colonne de mousse d'au moins 1 cm de hauteur persistant au minimum 15 min indique la présence de saponosides.

3.3.2. Essais antibactériens

3.3.2.1. Etude de la sensibilité des germes vis-à-vis des extraits testés

Nous avons mis à profit la méthode de diffusion en milieu gélosé à partir de puits (Mathabe *et al.*, 2006 ; Shan *et al.*, 2007).

Principe :

A l'aide de pipette Pasteur, des puits de 7 mm de diamètre sont creusés dans de la gélose Mueller Hinton coulée en boîtes de Pétri. Des ensemencements avec les suspensions bactériennes sont ensuite effectués ; chaque puits reçoit 50 μ l d'extrait ou de solution témoin (eau distillée, éthanol-eau 7 :3 V/V). Après 24 h d'incubation à 37 °C à l'étuve, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

L'extrait des alcaloïdes totaux bases est quant à lui testé aux concentrations suivantes : 25 mg/ml ; 12,5 mg/ml ; 6,25 mg/ml ; 3,125 mg/ml et 1,5625 mg/ml.

Pour le macéré méthanolique, il a été testé aux concentrations de : 500 mg/ml; 250 mg/ml; 125 mg/ml et 62,5 mg/ml.

Les tests ont été réalisés trois fois pour chaque type d'extrait.



Photo 6: Boîte de Pétri gélosée montrant quatre (4) puits creusés dans la gélose

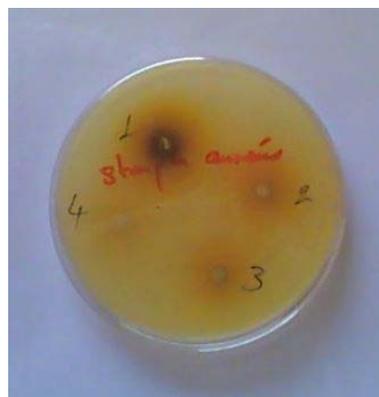


Photo 7: Extrait méthanolique en diffusion dans les puits creusés dans une boîte de Pétri gélosée

(Photos : Ibrahim LEGA ; CHU/SS, Décembre 2008)

3.3.2.2. Etude de la sensibilité des germes aux antibiotiques

Nous avons mis à profit la méthode de diffusion en milieu gélosé préconisée par Vandepitte *et al.* (1994).

Principe :

Une suspension bactérienne du germe à tester estensemencée dans des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton. Des disques d'antibiotiques sont ensuite déposés sur la gélose ; puis les boîtes de Pétri sont mises à incuber à 37°C en étuve. Après 24 h d'incubation, l'on procède à la lecture des résultats ; celle-ci consiste à mesurer le diamètre de chaque zone d'inhibition.

Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont effectuées à l'aide d'une règle millimétrée sur la surface inférieure de la boîte, sans ouvrir le couvercle.

3.3.2.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La détermination des CMI a été faite sur l'extrait méthanolique. Pour ce faire, nous avons mis à profit la méthode de microdilution de Yanasuka *et al.* (2005).

Principe :

On réalise des séries de dilutions de gradient 2 de l'extrait, ainsi que des suspensions bactériennes dans du bouillon Mueller Hinton.

Chaque puits reçoit 20 µl d'extrait et 80 µl de suspension bactérienne. Après 24 h d'incubation à 37°C en étuve, les CMI sont déterminées.

Les tests ont été réalisés trois fois.



Photo 8: Plaque de microtitration contenant des extraits végétaux

(Photos : Ibrahim LEGA ; CHU/SS, Décembre 2008)

3.4. TRAITEMENT DES DONNEES

Les données ont été traitées à l'aide du logiciel Excel 2003.

4. RESULTATS

4.1. ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE

4.1.1. Les extractions

Les extractions ont été réalisées sur la poudre de feuilles d'*Argemone mexicana* L. Le taux d'humidité résiduelle de la drogue, de même que le rendement d'extraction ont été déterminés et consignés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau I : Taux d'humidité résiduelle de la prise d'essai

	Poids (g)
Matière végétale	1,00
Matière végétale après passages à l'étuve	0,96
Teneur en eau	0,04
Taux d'humidité résiduelle (%)	4

Tableau II : Rendement des différentes extractions

	Macéré méthanolique	Alcaloïdes
Quantité de poudre utilisée (g)	250,00	500,00
Quantité d'extrait sec (g)	20,95	2,02
Rendement (%)	8,38	0,40

4.1.2. Le criblage phytochimique

Les tests de caractérisation phytochimiques effectués avec l'extrait méthanolique ont mis en évidence plusieurs groupes de principes chimiques (Tableau III).

Tableau III : Groupes chimiques du macéré méthanolique

	Phase dichlorométhylénique	Phase aqueuse résiduelle	
		hydrolysats	Fraction non hydrolysée
Stérols	++		
Triterpènes	-		
Emodols	-		
Aglycones flavoniques	-		
Alcaloïdes bases	++		
Coumarines	-		
Saponosides			+
Glycosides stéroïdiques		++	
Glycosides triterpéniques		-	
Anthracénosides		++	
Flavonoïdes		-	
Alcaloïdes sels			+++
Dérivés coumariniques		-	
Tanins catéchiques et galliques			+++

+++ = présence forte ; ++ = présence moyenne ; + = présence faible ; - = absence.

4.2. ESSAIS ANTIBACTERIENS

4.2.1. Etude de la sensibilité des bactéries aux extraits végétaux

Les bactéries sélectionnées, au contact des extraits de la plante, ont montré une sensibilité variable d'un germe à l'autre. Le tableau ci-dessous résume le comportement de différents germes vis-à-vis des extraits testés.

Tableau IV : Sensibilité des bactéries aux extraits d'*Argemone mexicana* L.

Extraits	<i>S a</i>	<i>E c</i>	<i>S t</i>	<i>K p</i>	<i>P a</i>
Alcaloïdes totaux bases	-	-	-	-	-
Macéré méthanolique	+	+	+	+	-

Le signe - correspond à une absence d'activité de l'extrait ; et + une présence d'activité.

S a=*Staphylococcus aureus*; *E c*=*Escherichia coli*; *S t*=*Salmonella typhi* *K p*= *Klebsiella pneumoniae* ; *P a*=*Pseudomonas aeruginosa*.

La variation de la sensibilité microbienne vis-à-vis de l'extrait méthanolique est confirmée par l'existence de différences dans les diamètres d'inhibition aux diverses concentrations d'extraits comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau V : Relation entre la concentration et l'activité antibactérienne du macéré méthanolique

Concentration (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
500,0	8±1	12±1	13±2	11±2
250,0	7±0	8±1	11±2	8±1
125,0	7±0	7±0	9±1	7±0
62,5	7±0	7±0	7±0	7±0

7 mm correspond à une absence de zone d'inhibition.

4.2.2. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Les antibiotiques utilisés comme produits de référence se caractérisent par leur forte activité inhibitrice de croissance sur les germes testés, laquelle est matérialisée par des diamètres d'inhibition plus importants comparativement à ceux obtenus avec l'extrait méthanolique.

Tableau VI : Antibiogramme

Antibiotique (µg)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)				
	<i>S a</i>	<i>E c</i>	<i>S t</i>	<i>K p</i>	<i>P a</i>
Acide nalidixique (30)	12	29	26	26	25
Ampicilline (10)	18	0	36	12	0
Amoxicilline/Acide clavulanique (20/10)	27	25	31	29	0
Cotrimoxazole (1,25/23,75)	28	0	32	31	0
Ciprofloxacine (5)	35	35	41	28	33
Ceftriaxone (30)	29	34	37	26	20

S a=*Staphylococcus aureus* ; *E c*=*Escherichia coli* ; *S t*=*Salmonella typhi* ; *K p*= *Klebsiella pneumoniae*, *P a*=*Pseudomonas aeruginosa*.

4.2.3. Evaluation des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les CMI sont obtenues à partir d'une dilution (gradient 2) de la solution mère de l'extrait méthanolique qui s'est montré actif sur les souches microbiennes (tableaux VII et VIII).

Tableau VII : Effet des dilutions du macéré méthanolique sur la croissance bactérienne dans les puits des plaques de microtitration.

Germes	Dilutions Minimales Inhibitrices du macéré et concentrations correspondantes en mg/ml											
	1/1 (500)	1/2 (250)	1/4 (125)	1/8 (62,5)	1/16 (31,25)	1/32 (15,62)	1/64 (7,81)	1/128 (3,90)	1/256 (1,95)	1/512 (0,97)	1/1024 (0,48)	1/2048 (0,24)
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.typhi</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>K.pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Le signe - correspond à une absence de croissance visible à l'œil

Le signe + correspond à une présence de croissance visible à l'œil

Les valeurs de CMI déterminées pour chacun des germes testés sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau VIII : Concentrations Minimales Inhibitrices du macéré méthanolique

	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
CMI (mg/ml)	62,5	125	7,81	15,62
Dilution	1/8	1/4	1/64	1/32

5. DISCUSSION

➤ *Limites de l'étude*

- **Indisponibilité de souches de référence**

Nous avons testé l'activité antibactérienne des extraits d'*Argemone mexicana* L. sur des micro-organismes isolés de produits pathologiques en absence de souches internationales de référence telles que les souches ATCC (American Type Culture Collection). L'utilisation de telles souches aurait permis une meilleure comparaison des résultats entre souches cliniques pathogènes et souches de référence.

- **Absence de co-solvant**

Pour la détermination de la sensibilité des bactéries vis-à-vis de l'extrait alcaloïdique, nous avons utilisé de l'éthanol (éthanol-eau 7:3V/V) pour solubiliser l'extrait sec des alcaloïdes. Certes, l'alcool solubilise les alcaloïdes bases et les alcaloïdes sels ; cependant l'utilisation d'un co-solvant comme le Diméthylsulfoxyde (DMSO) aurait peut-être permis une meilleure solubilisation de l'extrait sec.

➤ *Etude phytochimique*

Les extractions réalisées sur la poudre de feuilles d'*Argemone mexicana* ont permis d'obtenir 20,95 g de résidus secs pour le macéré méthanolique et 2,02 g pour les alcaloïdes totaux soit des rendements de 8,38 % pour le macéré méthanolique et 0,40 % pour l'extrait alcaloïdique. Le taux d'humidité résiduelle de la poudre de feuilles a été de 4%; ce faible taux traduit une bonne conservation de cette poudre.

Les tests de caractérisation effectués au moyen de réactifs spécifiques sur l'extrait méthanolique ont permis d'identifier plusieurs groupes de principes chimiques dont certains comme les tanins, les alcaloïdes, les anthracénosides et les glycosides stéroïdiques sont particulièrement importants en pharmacognosie et partant en thérapeutique.

La présence de groupes chimiques potentiellement actifs au plan pharmacologique tels que les tanins et les alcaloïdes a été également signalée par **Bose et al. (1963)** qui ont travaillé sur une espèce indienne de l'argemone.

➤ **Les essais antibactériens**

Les essais pharmacologiques antimicrobiens effectués dans le cadre de la présente étude ont mis en évidence une activité inhibitrice de croissance de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Argemone mexicana* L. (Papaveraceae) sur la plupart des micro-organismes testés (04 germes sur 05) à l'exception d'un seul, *Pseudomonas aeruginosa*. Cette activité inhibitrice de croissance est une illustration de la sensibilité des germes étudiés vis-à-vis de l'extrait végétal, laquelle sensibilité par ailleurs, varie d'une souche bactérienne à l'autre au regard des CMI déterminées. Les souches les plus sensibles ont été celles qui présentaient les CMI les plus basses, toute chose qui permet de faire une classification des micro-organismes par ordre de sensibilité croissante selon la CMI : *Salmonella typhi* (CMI = 7,81mg/ml) s'est avéré être la souche clinique la plus sensible, suivie par *Klebsiella pneumoniae* (CMI = 15,62 mg/ml), *Staphylococcus aureus* (CMI = 62,5 mg/ml) et *Escherichia coli* (CMI = 125 mg/ml).

Sur le plan de la relation structure/activité pharmacologique, l'action inhibitrice de croissance microbienne mise en évidence a été le fait de l'extrait méthanolique de la drogue pour lequel les tests de caractérisation phytochimiques ont révélé une forte présence des tanins. En effet, la littérature spécialisée fait état de nombreux travaux qui mettent en relief le rôle prépondérant des tanins en tant qu'agents antibactériens notoires (Lutete *et al.*, 1994; Sanogo *et al.*, 2006; Scalbert, 1991)

En comparaison avec les données de la littérature spécialisée, nos résultats corroborent ceux obtenus par **Bhattacharjee et al. (2006)** en Inde sur une espèce locale de la plante dont l'extrait méthanolique a révélé un pouvoir antibactérien très prononcé sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Par ailleurs, nos résultats semblent en contradiction avec ceux obtenus par **Mahady et al. (2003)** aux Etats-Unis d'Amérique ; lesquels résultats ont mis en évidence une action antibactérienne due aux alcaloïdes des feuilles ; tout chose que nous n'avons pas pu vérifier dans notre étude.

➤ **L'antibiogramme**

Les résultats de l'antibiogramme ont mis en lumière une inégale sensibilité des cinq souches cliniques pathogènes vis-à-vis des antibiotiques utilisés comme substances de référence. Cette différence de réceptivité face aux produits de référence, elle-même consécutive à l'inégale sensibilité des germes vis-à-vis des extraits méthanolique et d'alcaloïdes bases totaux de feuilles d'*Argemone mexicana* L. est également illustrée par les variations des diamètres d'inhibition de chaque germe testé contre le produit de référence. Ainsi, l'effet antibiotique (de la plupart des produits de référence) a été manifeste sur *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Klebsiella pneumoniae* tandis que l'ampicilline, l'amoxicilline/acide clavulanique et le cotrimoxazole n'ont exercé aucune action antibiotique sur *Pseudomonas aeruginosa*. De même, ni l'ampicilline, ni le cotrimoxazole n'ont montré une quelconque action antibiotique sur *Escherichia coli*.

L'antibiogramme réalisé avec l'extrait méthanolique testé contre les souches cliniques étudiées montre un profil antibactérien similaire à celui observé avec les substances de référence si l'on en juge par les diamètres d'inhibition mesurés ; en effet certains de ces diamètres étaient nettement supérieurs en terme de dimension à quelques uns obtenus avec les antibiotiques purs utilisés comme produits de référence.

A la lumière des résultats enregistrés, il nous est loisible d'affirmer au terme de notre étude que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Argemone mexicana* L. exerce un pouvoir antibiotique manifeste sur les souches cliniques pathogènes étudiées.

En outre, le profil antibiotique de l'extrait méthanolique peut être considéré comme très faible par rapport à celui des produits de référence qui sont par définition de molécules purifiées dont les CMI sont de l'ordre du microgramme.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Argemone mexicana L. (Papaveraceae) est une plante de la pharmacopée traditionnelle burkinabé ; elle fait l'objet de nombreux usages en médecine traditionnelle dans les localités où elle pousse spontanément. L'utilisation des feuilles en décoction pour traiter le paludisme, l'ictère, les maux de ventre d'origine spastique fait d'*Argemone mexicana* L. une plante particulièrement prisée au plan médicinal en médecine traditionnelle.

La mise en évidence effective d'un pouvoir antibactérien inhérent aux feuilles d'*Argemone mexicana* L. vient étendre la sphère d'action pharmacologique de cette plante du patrimoine médico-traditionnel du Burkina Faso. Nos résultats apportent une confirmation quant à l'existence de propriétés antibactériennes de plus en plus reconnues à certaines espèces d'intérêt médicinal de notre pharmacopée traditionnelle.

Au plan des perspectives, certains aspects des résultats acquis commandent une investigation plus poussée ; il s'agit entre autre :

- d'étendre le choix des germes à tester à d'autres souches pathogènes telles que les germes antibiorésistants à l'origine de nombreux échecs de l'antibiothérapie.
- de procéder à un fractionnement de l'extrait méthanolique afin d'identifier les fractions actives qui pourront faire l'objet d'une étude toxico-pharmacologique pour mieux situer la toxicité de la drogue.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Alzoreky N.S., Nakahara K.** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiol* 2003; 80:223-30.
2. **Bai L.P., Cai Z., Zhao Z.Z., Nakatami K., Jiang Z.H.** Site-specific binding of chelerythrine and sanguinarine to single pyrimidine bulges in hairpin. *Anal Bioanal Chem* 2008; 392(4):709-16.
3. **Berahou A., Auhmani A., Fdil N., Benharref A., Jana M., Gadhi C.A.** Antibacterial activity of *Quercus ilex* bark's extracts. *J Ethnopharmacol* 2007; 112:426-9.
4. **Bhardwaj D.K., Bisht M.S., Jain R.K., Munjal A.** Phenolics from the seeds of *Argemone mexicana*. *Phytochemistry* 1982; 21(8):2154-6.
5. **Bhattacharjee I., Chatterjee S.K., Chatterjee S., Chandra G.** Antibacterial potentiality of *Argemone mexicana* solvent extracts against some pathogenic bacteria. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101(6):645-8.
6. **Bose B.C., Vijayvargiya R., Saifi A.Q., Sharma S.K.** Chemical and pharmacological studies on *Argemone mexicana*. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1963; 52:1172-5.
7. **Chao M.D., Chen I.S., Cheg J.I.** Inhibition of proteine kinase C translocation from cytosol to membrane by chelerythrine. *Planta Med* 1998; 64(7):662-3.
8. **Ciulei I.** Pratical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants- Methodology for analysis of vegetable drugs. *Ed. Ministry of chemical industry, Bucharest, 1982: 67.*
9. **Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).** Communiqué 2006 : Le Comité, janvier 2006.
10. **Doumbouya L., Aberlenc H.P.** Médecine traditionnelle mandingue en haute Guinée. Montpellier, 2001 : 103.
11. **Ducharme M.P., Gimenez F., Decroix M.O., Ferreira E., Martineau P., Massias L.** Généralités sur les antibiotiques par voie systémique : classification, mécanismes d'action, spectre d'activité, prévention de l'iatropathologie. Dans : **Association nationale des enseignants de Pharmacie clinique et**

- thérapeutique, eds.** Pharmacie clinique et thérapeutique. 2^{ème} édition. Paris : Masson, 848-73.
12. **Ducharme M.P., Martineau P.** Principes d'utilisation des antibiotiques. Dans : **Association nationale des enseignants de Pharmacie clinique et thérapeutique, eds.** Pharmacie clinique et thérapeutique. 2^{ème} édition. Paris : Masson, 876-94.
13. **Dupont S., Caffin N., Bhandari B., Dykes G.A.** In vitro antibacterial activity of Australian native herb extracts against food-related bacteria. *Food Control* 2006; 17:929-32.
14. **Eloff J.N.** Antibacterial activity of Marula (*Sclerocarya birrea* (A.rich) Hochst. Subsp. *caffra* (Sond.) kokwaro) (Anacardiaceae) bark and leaves. *J Ethnopharmacol* 2001; 76:305-8.
15. **Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V.** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999; 86:985-90.
16. **Harborne J.B., Williams C.A.** Flavonoids in the seeds of *Argemone mexicana*: a reappraisal. *Phytochemistry* 1983; 22(6):1520-1.
17. **Herbert J.M., Angereau J.M., Gleye J., Maffrand J.P.** Chelerythrine is a potent and specific inhibitor of protein kinase C. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 172(3):993-9.
18. **Hori Y., Sato S., Hatai A.** Antibacterial activity of plants extracts from Azuki beans (*Vigna angularis*) *in vitro*. *Phytother Res* 2006; 20:162-4.
19. **Institut National de la Statistique et de la Démographie (INSD).** Recensement général de la population et de l'habitat de 2006. Ouagadougou : INSD, Juillet 2008.
20. **Institut National de la Statistique et de la Démographie (INSD).** Tableau de bord social 2008. Ouagadougou : INSD, Décembre 2008.
21. **Institut National de la Statistique et de la Démographie (INSD).** Analyse des résultats de l'enquête sur les conditions de vie des ménages en 2007. Ouagadougou: INSD, Octobre 2007.
22. **Izzo A.A., Di Carlo G., Biscardi D., De Fusco R., Mascolo N., Borrelli F., Capasso F.** Biological screening of Italian medicinal plants for antibacterial activity. *Phytother Res* 1995; 9:281-6.
23. **Jiang B., Cao K., Wang R.** Inhibitory effect of protopine on K(ATP) channel subunits expressed in HEK-293 C. *Eur J Pharmacol* 2004; 506:93-100.

24. **Jung H.A., Yoon N.Y., Bae H.J., Min B.S., Choi J.S.** Inhibitory activities of the alkaloids from *Coptidis rhizome* against aldose reductase. *Arch Pharm Res* 2008; 31(11):1405-12.
25. **Ko F.N., Chen I.S., Wu S.J., Lee L.G., Haung T.F., Teng C.M.** Antiplatelet effects of chelerythrine chloride isolated from *Zanthoxylum simulans*. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1052(3):360-5.
26. **Kong W.J., Zhang H., Song D.Q., Xue R., Zhao W., Wei J., Wang Y.M., Shan N., Zhou Z.X., Yang P., You X.F., Li Z.R., Si S.Y., Zhao L.X., Pan H.N., Jiang J.D.** Berberine reduces insuline resistance through proteine kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression. *Metabolism* 2009; 58:109-19.
27. **Le Minor L., Veron M.** Bactériologie médicale. 2ème édition. Paris : Flammarion, 1989 : 298-306.
28. **Lutete T.K.K., Ntondele D., Cimanga K., Luki N.** Antimicrobial activity of tannins. *Fitoterapia* 1994; 64:276-8.
29. **Mackray I., Govender T., Gathiram P.** Sanguinarine. *Cardiovasc Ther* 2008; 26(1):75-83.
30. **Mahady G.B., Pendland S.L., Stoia A., Chadwick L.R.** In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to isoquinoleine alkaloids from *Sanguinaria Canadensis* and *Hydrastis Canadensis*. *Phytother Res* 2003; 17:217-21.
31. **Mathabe M.C., Nikolova R.V., Lall N., Nyazema N.Z.** Antibacterial activities of medicinal plants used for the treatment of diarrhoea in Limpopo province, South Africa. *J Ethnopharmacol* 2006; 105:286-93.
32. **Matkar S.S., Wrischnik L.A., Hellmann-Blumberg U.** Production of hydrogenperoxyde and redox cycling can explain how sanguinarine and chelerythrine induce rapide apoptosis. *Arch Biochem Biophys* 2008;477(1):43-52.
33. **Ministère de la santé/ Burkina Faso.** Annuaire statistique 2008. Ouagadougou : le Ministère, Juin 2009.
34. **Najada S.** : Etude de l'activité antibactérienne d'*Acacia nilotica* var *adansonii* [thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie]. Ouagadougou : Univ. de Ouagadougou, 2000.
35. **Ndip R.N., Tarkang A.E.M., Mbullah S.M., Luma H.N., Malongue A., Ndip L.M., Nyongbela K., Wirmum C., Efange S.M.N.** *In vitro* anti-*Helicobacter*

- pylori* activity of extracts of selected medicinal plants from north west Cameroon. *J Ethnopharmacol* 2007; 114:452-7.
36. **Neuwinger H.D.** African traditional medicine: A dictionary of plant use and applications. Stuttgart: Medpharm-scientific Publishers, 2000:589.
37. **Oliveira D.F., Pereira A.C., Figueiredo H.C.P., Carvalho D.A., Silva G., Nunes A.S., Alves D.S., Carvalho H.W.P.** Antibacterial activity of plant extracts from brazilian southeast region. *Fitoterapia* 2007; 78:142-5.
38. **Organisation Mondiale de la Santé.** Rapport sur la santé dans le monde, 1998 : la vie au 21^e siècle, une perspective pour tous. Genève : OMS, 1999.
39. **Organisation Mondiale de la Santé.** Médecine traditionnelle. Centre des médias, aide mémoire n°135,2003.
40. **Pousset J.L.** Plantes médicinales d'Afrique, comment les reconnaître et les utiliser ? Paris : Edisud, 2004 :7-8.
41. **Rathi A., Srivastava A.K., Shirwaikar A., Rawat A.K.S., Mehrotra S.** Hepatoprotective potential of *Fumaria indica* Pugsley whole plant extracts fractions and an isolated alkaloid protopine. *Phytomedicine* 2008; 15:470-7.
42. **Rosenkranz V., Wink M.** Alkaloids induce programmed cell death in bloodstream form of Trypanosomes (*Trypanosoma b. brucei*). *Molecules* 2008; 13(10):2462-73.
43. **Sakthivadivel M., Thilagavathy D.** Larvicidal and chemosterilant activity of the acetone fraction of petroleum ether extract from *Argemone mexicana* L. seed. *Bioresour Technol* 2003; 89:213-6.
44. **Sanogo R., Diallo D., Diarra S., Ekoumou C., Bougoudougou F.** Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Médical* 2006 ; XXI(1) :18-24.
45. **Scalbert A.** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 1991;30:3875-83.
46. **Serafim T.L., Matos J.A., Sardao V.A., Pereira G.C., Branco A.F., Pereira S.L., Parke D., Perkins E.L., Moreno A.J., Holy J., Oliveira P.J.** Sanguinarine cytotoxicity on mouse melanoma K1735-M2 cells nuclear vs. mitochondrial effects. *Biochem Pharmacol* 2008; 76(11):1459-75.
47. **Shan B., Cai Y., Brooks J.D., Corke H.** The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int J Food Microbiol* 2007; 117:112-9.

48. **Singh S., Singh D.K.** Molluscicidal activity of *Abrus precatorius* Linn. And *Argemone mexicana* Linn. *Chemosphere* 1999; 38(14):3319-28.
49. **Sinon L.** : Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de *Dichrostachys cinerea*(L.) Wight et Arn (mimosaceae) [thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie]. Ouagadougou : Univ. de Ouagadougou, 2001.
50. **Soberon J.R., Sgariglia M.A., Sampietro D.A., Quiroya E.N., Vattuone M.A.** Antibacterial activity of plant extracts from north western Argentina. *J Appl Microbiol* 2007; 102:1450-61.
51. **Soma S.B.** : Activité antibactérienne d'extraits d'*Euphorbia hirta* (Linn), une plante utilisée traditionnellement dans le traitement des infections urinaires [thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie]. Ouagadougou : Univ. de Ouagadougou, 2002.
52. **Sourabié S.** : Contribution à l'étude chimique et pharmacologique de *Nauclea latifolia* Sm. et *Holarrhena floribunda* (G.Don) Dur. et Schinz : plantes de la pharmacopée burkinabé préconisées dans le traitement des gastroenterites infantiles [Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) en sciences biologiques appliquées, option Biochimie-Microbiologie]. Ouagadougou : Univ. de Ouagadougou, 1990.
53. **Sourabié T.S., Nikiema J.B., Nacoulma O.G., Guissou I.P., editors.** Etudes préliminaires du pouvoir antihepatotoxique d'une plante de la pharmacopée burkinabé préconisée dans le traitement traditionnel de la jaunisse : cas d'*Argemone mexicana* L. (papavéracée). Procédures du congrès délocalisé de la Société de Pathologie Exotique sur le progrès des recherches en médecine tropicale : 2006 Nov 2-3 ; Ouagadougou. Ouagadougou : Société de Pathologie Exotique, 2006.
54. **Sweeney J.F., Nguyen P.K., Atkins K.B., Hinshaw D.B.** Chelerythrine chloride induces rapid polymorphonuclear leukocyte apoptosis through activation of caspase-3. *Shock* 2000; 13(6):464-71.
55. **Tandon R.K., Singh D.S., Arora R.R., Lal P., Tandon B.N.** Epidemic dropsy in New Delhi. *Am J Clin Nutr* 1975; 28:883-7.
56. **Upreti K.K., Das M., Khanna S.K.** Biochemical toxicology of Argemone oil. I. Effect on hepatic cytochrome P-450 and xenobiotic metabolizing enzymes. *J Appl Toxicol* 1991; 11(3):203-9.

57. **Vandepitte J., Engbaek K., Piot P.** Bactériologie clinique : techniques de base pour le laboratoire. Genève : Organisation Mondiale de la Santé, 1994 :117.
58. **Verma S.K., Dev G., Tyagi A.K., Goomber S., Jain G.V.** *Argemone mexicana* poisoning:autopsy findings of two cases. *Forensic Science International* 2001; 115:135-41.
59. **Willcox M.L., Graz B., Falquet J., Sidibé O., Forster M., Diallo D.** *Argemone mexicana* decoction for the treatment of the uncomplicated falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007; 101:1190-8.
60. **Xiao X., Liu J., Zhu X., Yang H., Wang C., Zhang Y.** Protection effects of protopine and hydrogène peroxide induced oxidative injury of PC 12 cells via Ca^{2+} antagonism and antioxidant mechanism. *Eur J Pharmacol* 2008; 591:21-7.
61. **Yasunaka K., Abe F., Nagayama A., Okabe H., Lozada-Perez L., Lopez-Villafranco E., Muniz E.E., Aguilar A., Reyes-Chilpa R.** Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthonés. *J Ethnopharmacol* 2005; 97:293-99.
62. **Zampini I.C., Vattuone M.A., Isla M.I.** Antibacterial activity of *Zuccagnia punctata* Cav. Ethanolic extracts. *J Ethnopharmacol* 2005;102:450-6.

ANNEXES

Concentrations et diamètres critiques pour les antibiotiques (CASFM, 2006)

Antibiotique	Charge du disque (µg)	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		Sensible	Résistant	Sensible	Résistant
Acide nalidixique	30	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15
Ampicilline	10	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14
Amoxicilline/acide clavulanique	20/10	≤ 4/2	> 16/2	≥ 21	< 14
Cotrimoxazole	1,25/23,75	≤ 2/39	> 8/152	≥ 16	< 10
Ciprofloxacine	5	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
Ceftriaxone	30	≤ 4	> 32	≥ 21	< 15

SERMENT DE GALIEN

" Je jure en présence des maîtres de l'UFR/SDS, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

- ✚ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- ✚ D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- ✚ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.
- ✚ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.
- ✚ Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.
- ✚ Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque."



EVALUATION DES PROPRIETES ANTIBACTERIENNES IN VITRO D'EXTRAITS DE FEUILLES D'ARGEMONE MEXICANA L. (PAPAVERACEAE)

Résumé

Argemone mexicana L. est une plante annuelle épineuse de 20 à 80 cm de haut, peu ramifiée. Elle est utilisée en médecine traditionnelle en Inde, au Mexique, et en Afrique, notamment au Burkina Faso.

Notre étude avait pour objet d'évaluer l'activité antibactérienne d'extraits méthanolique et alcaloïdique des feuilles de la plante sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

La méthode de diffusion à partir de puits a été utilisée pour déterminer la sensibilité des bactéries aux extraits végétaux. Les CMI ont été déterminées par la méthode de microdilution sur plaque de microtitration.

Les tests phytochimiques qualitatifs effectués ont mis en évidence une prépondérance des tanins et des alcaloïdes parmi les principaux groupes chimiques identifiés dans les feuilles d'*Argemone mexicana* L.

Salmonella typhi, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* ont été sensibles à l'extrait méthanolique avec des CMI respectives de 7,8125 mg/ml; 62,5 mg/ml ; 15,6250 mg/m ; et 125 mg/ml.

Les résultats concluants de l'étude antibactérienne d'extrait de feuilles d'*Argemone mexicana* L. permettent d'envisager en guise de perspectives:

- Une extension de l'investigation à d'autres germes ;
- Un fractionnement de l'extrait méthanolique afin d'identifier les substances actives ;
- Une étude toxicologique et pharmacologique des fractions actives.

Mots clés : *Argemone mexicana*, activité antibactérienne, *Salmonelle typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*.

Auteur : LEGA Ibrahim ; cel : 00226 78 17 46 53 ; E-mail : lega.ibrahim@gmail.com

EVALUATION DES PROPRIETES ANTIBACTERIENNES D'EXTRAITS DE FEUILLES D'ARGEMONE MEXICANA L. (PAPAVERACEAE)

Résumé

Argemone mexicana L. est une plante annuelle épineuse de 20 à 80 cm de haut, peu ramifiée. Elle est utilisée en médecine traditionnelle en Inde, au Mexique, et en Afrique, notamment au Burkina Faso.

Notre étude avait pour objet d'évaluer l'activité antibactérienne d'extraits méthanolique et alcaloïdique des feuilles de la plante sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

La méthode de diffusion à partir de puits a été utilisée pour déterminer la sensibilité des bactéries aux extraits végétaux. Les CMI ont été déterminées par la méthode de microdilution sur plaque de microtitration.

Les tests phytochimiques qualitatifs effectués ont mis en évidence une prépondérance des tanins et des alcaloïdes parmi les principaux groupes chimiques identifiés dans les feuilles d'*Argemone mexicana* L.

Salmonella typhi, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* ont été sensibles à l'extrait méthanolique avec des CMI respectives de 7,8125 mg/ml; 62,5 mg/ml ; 15,6250 mg/m ; et 125 mg/ml.

Les résultats concluants de l'étude antibactérienne d'extrait de feuilles d'*Argemone mexicana* L. permettent d'envisager en guise de perspectives:

- Une extension de l'investigation à d'autres germes ;
- Un fractionnement de l'extrait méthanolique afin d'identifier les substances actives ;
- Une étude toxicologique et pharmacologique des fractions actives.

Mots clés : *Argemone mexicana*, activité antibactérienne, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*.

Auteur : LEGA Ibrahim ; tel : 00226 78 17 46 53 ; E-mail : lega.ibrahim@gmail.com