

Caractérisation phénotypique des entérobactéries antibiorésistantes isolées des voies urogénitales et sensibilité aux extraits des alicaments (*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* et *Allium porrum*) à Kisangani (Province de la Tshopo, RD Congo)

[Phenotypic characterization of antibiotic resistant enterobacteria isolated from the urogenital pathways and sensitivity to extracts of alicaments (*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* and *Allium porrum*) at Kisangani (Tshopo Province, DR Congo)]

O. Lokonga and M. Dasangba

Département des sciences Biotechnologiques, Faculté des sciences, B.P. 2012, Université de Kisangani, RD Congo

Copyright © 2020 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The objective of this work is to determine the phenotypic characterization of enterobacteria with a view to identifying them, extracting aromatic oils, and preparing ethereal, chloroformic extracts of foods, in order to test the antibacterial activity of four foods, among other *Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* and *Allium porrum*. The aqueous, ethereal and chloroform extracts were obtained by hydro-distillation and by the extraction method using ether and chloroform respectively.

As a result, the strains observed are Gram negative bacteria; their morphological and biochemical characterization made it possible to identify three germs including *Citrobacter sp*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*.

The study of the sensitivity of these strains to hydro-distillation, to the ethereal and chloroform extract of *Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* and *Allium porum* by the method of diffusion in agar medium led to the following results: strains S8, S13 and S16 inhibited on hydro distillation (8; 15; 16mm of inhibition diameters); the ethereal extract of these same drugs inhibited the S14 strains for garlic (with 8mm inhibition diameter; S13 and S16 for chives (with 10mm inhibition diameter) and finally, the S16 strain for onion (with 16mm inhibition diameter), on the other hand, the chloroformic extract presented the zones of inhibition to strains S15 and S16 (14 and 12mm inhibition diameter) for *Allium sativum* (garlic); to strains S6 and S16 (9 and 13mm inhibition diameters) for *Allium schoenoprasum* (chives) and finally, strain S16 (17mm inhibition diameter) for *Allium cepa* (onion).

Further in-depth research should be encouraged in order to make available to society effective and less expensive products which fight against antibiotic-resistant enterobacteria in the Kisangani region.

KEYWORDS: Characterization, Phenotypic, Enterobacteriaceae, Antibiotic resistant, Urogenital pathways, Sensitivity, Extracts, Alicaments, *Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa*, *Allium porrum*.

RESUME: L'objectif de ce travail est de déterminer la caractérisation phénotypique des entérobactéries en vue de les identifier, d'extraire les huiles aromatiques, et préparer des extraits éthérés, chloroformiques des alicaments, afin de tester l'activité antibactérienne de quatre alicaments entre autre *Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* et *Allium porrum*. Les extraits aqueux, éthérés et chloroformiques ont été obtenus par l'hydro distillation et par la méthode d'extraction à l'aide de l'éther et de chloroforme respectivement.

Il ressort de résultat que les souches observées sont des bactéries Gram négatif; leur caractérisation morphologique et biochimique ont permis d'identifier trois germes dont *Citrobacter sp*, *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli*.

L'étude de la sensibilité des ces souches à l'hydro distillation, à l'extrait éthéré et chloroformique d'*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* et *Allium porum* par la méthode de diffusion en milieu gélosé a abouti aux résultats suivants: les souches S8, S13 et S16 ont inhibé à l'hydro distillation (8; 15; 16mm de diamètres d'inhibition); l'extrait éthéré de ces mêmes

aliments ont inhibé les souches S14 pour l'ail (avec 8mm de diamètre d'inhibition; S13 et S16 pour la ciboulette (avec 10mm de diamètre d'inhibition) et enfin, la souche S16 pour l'oignon (avec 16mm de diamètre d'inhibition). Par contre, l'extrait chloroformique a présenté les zones d'inhibitions aux souches S15 et S16 (14 et 12mm de diamètre d'inhibition) pour *Allium sativum* (ail); aux souches S6 et S16 (9 et 13mm de diamètres d'inhibition) pour *Allium schoenoprasum* (ciboulette) et enfin, la souche S16 (17mm de diamètre d'inhibition) pour *Allium cepa* (oignon).

Les recherches ultérieures approfondies sont à encourager dans le but de mettre à la disposition de la société des produits efficaces et moins coûteux qui luttent contre les entérobactéries antibiorésistantes dans la région de Kisangani.

MOTS-CLEFS: Caractérisation, Phénotypique, Entérobactéries, Antibiorésistantes, Voies Urogénitales, Sensibilité, Extraits, Alicaments, *Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa*, *Allium porrum*.

1 INTRODUCTION

Malgré la découverte des microorganismes par Louis Pasteur et Robert Koch, pères fondateurs de la microbiologie au dix-neuvième siècle et en dépit de l'identification de nombreux agents infectieux et de la multiplication des vaccins à la suite de leurs travaux, les microorganismes ont continué à poser de sérieux problèmes de santé publique jusqu'à ce jour. La pneumonie, la diphtérie, la syphilis, la tuberculose, le choléra, pour n'en citer que quelques-unes, faisaient des ravages [1].

Les Infections Urinaires constituent un des motifs de consultations et de prescriptions d'antibiotiques à Kisangani. Elles peuvent être dues aux bactéries aussi bien Gram positives que Gram négatives parmi lesquelles plusieurs entérobactéries, dont *Escherichia coli*, *Enterobacter*, qui d'après leur nom devraient résider dans l'appareil digestif migrent dans les voies génitales [2; 3; 42].

Ces infections peuvent être causées par des bactéries de la famille d'Entérobactériaceae, comme *Escherichia coli* avec la plus grande prévalence d'infection. D'autres espèces des bactéries causant des infections urinaires sont les *Staphylococcus*, *Klebsiella spp*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* [4; 5; 42; 43].

Une infection urinaire ou plus précisément les infections du tractus urinaires sont un groupe de maladies infectieuses causées par des microorganismes qui peuvent toucher n'importe quelle région du tractus urinaire. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlure lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre [6; 7; 38; 42].

Certains facteurs peuvent favoriser les infections urinaires, comme: la rétention urinaire, une mauvaise hygiène chez la femme, les rapports sexuels, des malformations au niveau de l'appareil urinaire, des calculs urinaires, diabète, l'utilisation de sondes urinaire, une grossesse, la constipation, la ménopause, un herpès génital, une transplantation rénale, des troubles de la prostate chez l'homme [6; 7; 41; 42; 43].

Les infections urinaires, lorsqu'elles ne sont pas soignées de façon adéquate, peuvent atteindre les voies hautes du tractus urinaires, ce qui peut provoquer une pyélonéphrite aiguë ou chronique, causant dans certains cas des lésions rénales et parfois même une insuffisance rénale. Toute infection chronique présente un taux important de morbidité. Les décharges bactériennes dans la circulation systémique accompagnées d'un état fébrile, d'une agitation et d'une désorientation sont bien connues surtout chez la personne âgée [5; 42; 43].

La découverte des antibiotiques est venue révolutionner l'histoire de la médecine en permettant de traiter de nombreuses maladies bactériennes mortelles comme la peste, la tuberculose, la pneumonie, la syphilis ou le tétanos [8].

Aujourd'hui, pourtant, les bactéries infectieuses deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques : aux Etats-Unis, des épidémies de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline sont connues tandis qu'en France, le taux de staphylocoques dorés résistants à la méthicilline est de 40 % [9; 10].

L'antibiorésistance est une menace sérieuse et urgente pour la santé dans le monde. Ce phénomène émergent résulte de l'acquisition, par des bactéries pathogènes, de systèmes les protégeant de certains antibiotiques utilisés en médecine. Ces bactéries voient leurs structures ou fonctionnement évoluer, les rendant ainsi insensibles aux antibiotiques habituels. Elles peuvent même acquérir des enzymes capables d'inactiver les dits antibiotiques. Qui plus est, ce système est évolutif: certains caractères d'antibiorésistance se transmettent d'une bactérie à une autre, diversifiant et étoffant les défenses existantes chez ces dernières. Même si de nouveaux antibiotiques sont développés pour contrer ces mécanismes de défense, ceux-ci évoluent et les bactéries pathogènes s'arment donc toujours mieux contre les différentes générations d'antibiotiques [6; 11; 12; 13; 14; 42].

L'usage abusif de ces antibiotiques par la population a créé beaucoup de problème notamment la résistance à certains germes. La résistance des bactéries aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème de santé publique, comme l'attestent des nombreux rapports publiés tant en France qu'à d'autres pays. La solution apparait particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, où les Staphylocoques et certains bacilles à Gram négatif, parmi lesquelles les *Entérobactéries*, les *Pseudomonas* et *Acinetobacter* sont souvent responsables d'infections dues à des souches multi-résistantes [6; 7; 43].

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. Elle peut toucher toute personne, à n'importe quel âge et dans n'importe quel pays.

La résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel mais le mauvais usage de ces médicaments chez l'homme et l'animal accélère le processus.

Un nombre croissant d'infections, comme la pneumonie, la tuberculose ou la gonorrhée, la salmonellose, deviennent plus difficiles à traiter les antibiotiques utilisés pour les soigner perdant leur efficacité [12; 13; 14; 37; 39].

La résistance aux antibiotiques entraîne une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et une hausse de la mortalité [14].

Bien avant le développement des antibiotiques pharmaceutiques développés dans les années 1940, il y avait des aliments et des herbes qui aidaient à se protéger des infections et maladies sur une base quotidienne.

Face au problème soulevé depuis plusieurs années par la résistance des bactéries, la seule alternative fiable à l'usage des antibiotiques semble être celle des huiles essentielles. Connue de façon empirique depuis des siècles, leur efficacité anti-infectieuse a été scientifiquement démontrée *in vitro* et *in vivo* [3; 11].

C'est ainsi que nous avons pensé à la promotion de la recherche des alicaments qui sont une de source sûre et permanente pouvant permettre la fabrication des médicaments contre les affections bactériennes résistantes aux antibiotiques classiques.

A Kisangani, précisément à la faculté des sciences, des travaux ont été entrepris sur la recherche de l'activité antibactérienne des extraits des plantes médicinales [14; 15; 16; 17; 18]. D'où, la poursuite de l'étude de la caractérisation des entérobactéries et leur sensibilité aux alicaments (ail, oignon, ciboulette et poireau) à Kisangani (R.D Congo).

Le présent travail a pour objectif général de faire la caractérisation phénotypique des entérobactéries en vue de les identifier et d'extraire les huiles aromatiques et préparer des extraits éthers, chloroformiques des alicaments, afin de tester l'activité antibactérienne.

Les objectifs spécifiques poursuivis dans cette étude sont les suivants:

- Identifier les entérobactéries isolées des voies urogénitales;
- Tester *in vitro* l'activité antibactérienne des huiles aromatiques extraites des alicaments (ail, oignon, ciboulette et poireau) sur les souches d'Entérobactéries résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani;
- Tester *in vitro* l'activité antibactérienne des extraits aqueux (hydro distillation), éthers et chloroformiques sur les souches d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani.

L'intérêt de ce travail est de caractériser les entérobactéries antibiorésistantes qui conduiront à l'identification des espèces impliquées dans les infections urogénitales d'une part, les huiles extraites des alicaments ne sont pas antibiotiques mais " eubiotiques " (qui favorisent la vie) en respectant la flore intestinale, sans engendrer aucune perturbation immunitaire.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATÉRIEL

Le matériel d'étude est constitué de matériel bactériologique et végétal.

2.1.1 MATÉRIEL BACTÉRIOLOGIQUE

Le matériel bactériologique était constitué de 16 souches d'entérobactéries antibiorésistantes. Ces souches ont été isolées par Lokonga (2017-2019) à partir des produits pathologiques humains (urines, sécrétions vaginales, cervico-vaginales, cervicales, urétrales) et conservées dans la gélose molle. Ces bactéries étaient résistantes aux antibiotiques suivants: ciprofloxacin, chloramphénicol, Moxyclav, ampicilline, gentamycine, cotrimoxazole, acide nalidixique, érythromycine, doxycycline, céphatax, cloxacilline et tazex.

2.1.2 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre travail était constitué: *Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa*, *Allium porrum*. Les illustrations morphogénétiques des espèces végétales sont représentées respectivement par les figures 1 à 4.



Fig. 1. *Allium sativum*/ Famille: Alliaceé

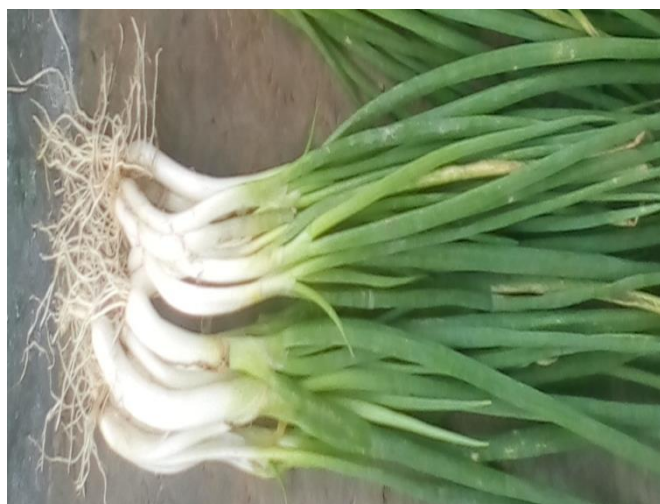


Fig. 2. *Allium schoenoprasum*/ Famille: Amaryllidacée



Fig. 3. *Allium cepa*/ Famille: Liliaceae



Fig. 4. *Allium porum/ Famille: Alliaceae*

2.2 MÉTHODES

2.2.1 CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

La caractérisation phénotypique des 16 souches d'entérobactéries antibiorésistantes était basée sur les caractéristiques morphologiques et biochimiques [2; 19; 20; 21; 22; 23; 42]. L'identification a été faite conformément à la clé de détermination de Sneath *et al.* [23; 24; 42].

Le coefficient de similarité calculé suivant la formule de Gower Sneath *et al.*, [24], a permis de comparer les profils de nos souches à ceux des souches standards.

2.2.2 TEST DE SENSIBILITÉ

2.2.2.1 PRÉPARATION DES EXTRAITS

Pour obtenir les différents extraits des plantes, deux méthodes d'extraction au froid ont été utilisées, à savoir la méthode par reflux et la méthode d'extraction séquentielle par des solvants successifs [25].

Il s'agit de l'extrait obtenu par l'hydro distillation (extraits aqueux), l'extrait étheré et de l'extrait chloroformique.

Les alicaments utilisés ont été broyés dans un mortier avec pilon jusqu'à l'obtention des broyats.



Fig. 5. *Processus d'extraction des extraits*

2.2.2.1.1 HYDRO DISTILLATION

La technique consiste à éplucher 1 Kg d'extraits d'alicaments, pilés dans un mortier propre puis ajouter 3 à 4 litres d'eau ordinaire, enfin porté en macération pendant 24 heures. A l'aide de distillateur à vapeur, extraire de l'huile aromatique à partir des alicaments préalablement macérés.

2.2.2.1.2 EXTRAITS ÉTHÉRÉS

L'éther de pétrole a servi de solvant d'extraction. 50 ml de solvant sont versés en série dans les tubes à essai dans lesquels sont chaque fois épuisés 10 grammes des alicaments épluchés, pilés dans un mortier propre. Les mélanges sont macérés pendant 48 heures et ensuite filtrés. Les filtrats sont enfin concentrés par évaporation jusqu'à 2 ml d'extrait dans chaque tube [26; 27; 28; 30].

2.2.2.1.3 EXTRAITS CHLOROFORMIQUES

A 10 grammes du matériel végétal broyé, ajouter 50 ml de chloroforme, puis agiter pendant quelques minutes et, enfin mettre en macération pendant 24 heures. Après chaque extraction, le solvant est évaporé à l'étuve à 37°C jusqu'à 2 ml d'extrait dans chaque tube.

2.2.2.2 PRÉPARATION DES DISQUES TESTS

Les disques ont été fabriqués à partir de papier filtre découpé grâce à un perforateur. On obtiendra ainsi le disque de 6mm de diamètre et 0,5mm d'épaisseur [13; 30], stérilisé à l'autoclave. Les disques stériles ont été plongés aseptiquement dans la solution à tester. Les flacons contenant les disques étaient ainsi imbibés et placés à l'étuve à 37°C pour le séchage complet des disques tests [30; 31; 32].

2.2.2.3 PRÉPARATION DE L'INOCULUM

Un aliquot d'une culture pure prélevé à l'aide d'une anse de platine stérile est émulsionné dans 5 ml de bouillon nutritif. L'incubation est effectuée à l'étuve à 37°C jusqu'à l'obtention d'une opacité visible [2].

2.2.2.4 ENSEMENCEMENT (ÉCOUVILLONNAGE)

On plonge un écouvillon stérile dans l'inoculum. L'excès de bouillon est rejeté par pression et rotation de l'écouvillon contre la paroi de tube. Ensuite, on étale l'inoculum sur la gélose de Mueller Hinton en faisant passer l'écouvillon deux ou trois fois sur toute la surface du milieu, en tournant chaque fois la boîte de 60°C, de façon à assurer un ensemencement uniforme, puis on laisse sécher les boîtes 15 minutes à 37°C [2; 11; 33].

Les disques imprégnés des différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Les boîtes de Pétri sont d'abord laissées pendant 1h à la température ambiante pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 h [30]. L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque [13; 30; 31; 34; 35; 42].

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DES SOUCHES DES ENTEROBACTERIES

Les résultats obtenus dans cette étude sur la caractérisation phénotypique, basée sur les caractéristiques morphologiques et biochimiques des entérobactéries se présentent dans le tableau 2 et sa fréquence est illustrée par la figure 6.

Tableau 1. Caractères morphologiques et biochimiques des souches d'entérobactéries

| Souches | Caractères morphologiques | | Caractères biochimiques | | | | | | | | | | IS | Germe |
|---------|---------------------------|------|-------------------------|------|-----|-----|----|-----|-----|----|----|----|-----|--------------------------|
| | Forme | Gram | GLU | LACT | H2S | GAZ | CS | MOB | IND | UR | MR | AC | | |
| S1 | Bacille | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - | 0,3 | <i>Escherichia coli</i> |
| S2 | Bacille | - | + | - | - | + | - | + | - | + | + | - | 0,5 | <i>Escherichia coli</i> |
| S3 | Bacille | - | + | + | - | + | - | + | - | + | - | + | 0,6 | <i>Escherichia coli</i> |
| S4 | Bacille | - | + | - | + | + | - | + | - | + | + | - | 0,6 | <i>Escherichia coli</i> |
| S5 | Bacille | - | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | 0,8 | <i>Escherichia coli</i> |
| S6 | Bacille | - | + | + | + | + | - | - | - | + | + | - | 0,6 | <i>Escherichia coli</i> |
| S7 | Bacille | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | 0,2 | <i>Escherichia coli</i> |
| S8 | Bacille | - | + | - | + | + | - | + | + | + | + | - | 0,7 | <i>Escherichia coli</i> |
| S9 | Bacille | - | + | + | + | + | - | + | + | + | + | - | 0,8 | <i>Escherichia coli</i> |
| S10 | Bacille | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - | 0,6 | <i>Escherichia coli</i> |
| S11 | Bacille | - | + | - | + | + | - | + | - | + | + | - | 0,6 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| S12 | Bacille | - | - | + | + | + | - | + | - | + | + | - | 0,6 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| S13 | Bacille | - | + | - | - | - | - | + | - | + | + | - | 0,4 | <i>Citrobacter sp</i> |
| S14 | Bacille | - | + | + | - | + | - | + | - | + | + | - | 0,6 | <i>Citrobacter sp</i> |
| S15 | Bacille | - | + | + | - | + | - | + | + | + | + | - | 0,7 | <i>Citrobacter sp</i> |
| S16 | Bacille | - | + | + | + | + | - | + | - | + | + | - | 0,7 | <i>Citrobacter sp</i> |

Légende: GLU: Glucose

LACT: Lactose

H₂S: sulfure d'hydrogène

CS: Citrate de Simmons

MOB: Mobilité

IND: Indole

UR: Uréase

MR: Méthyle rouge

AC: Acétoine

IS: Indice de similarité

Les caractéristiques morphologiques et biochimiques des souches reprises du tableau 2 montre ce qui suit:

- Les souches étudiées ont la forme de bacille, sont gram-négatifs.
- Les caractères biochimiques testés fournissent les données suivants: 87,5 % des souches ont fermentées le glucose, alors que 50 % des souches ont fermenté le lactose, 81,25 % des souches ont produits le gaz, pendant que 87,5 % de souches sont mobiles, 31,25 % ont produit de l'Indole, 100 % de souches ont produits de l'uréase; 43,75 %, 87,5 % et 12,5 % des souches ont produits respectivement d'H₂S, de Méthyle rouge et d'Acétoine. Aucune souche n'utilise le citrate (0 %).

L'indice de similitude varie entre 0,2 à 0,8 et montre qu'il existe une forte similarité entre les caractéristiques étudiées.

Les résultats obtenus sur la fréquence des entérobactéries sont illustrés par la figure 6.

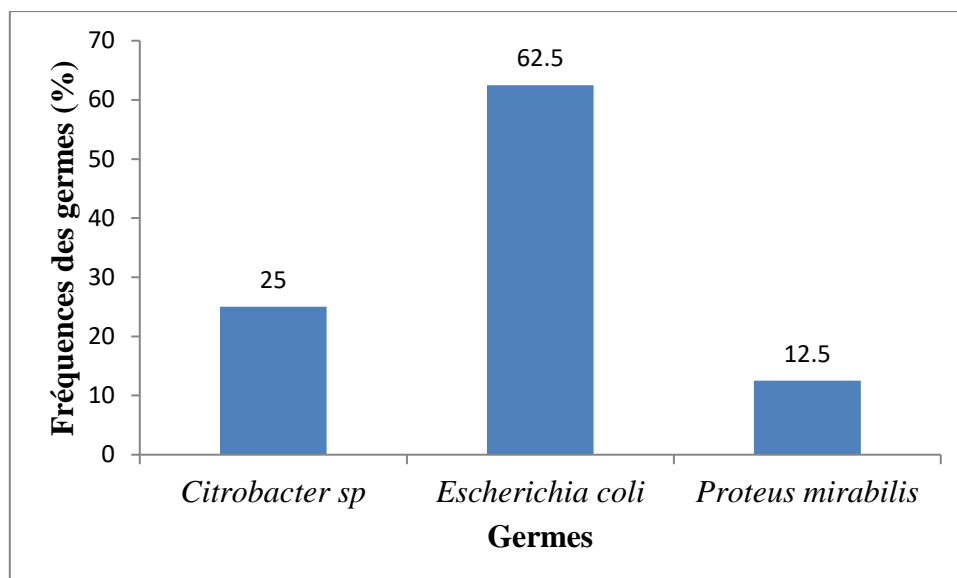


Fig. 6. Fréquence des souches des entérobactéries isolées des voies urogénitales

L'observation de cette figure 8 révèle la prédominance d'*Escherichia coli* 10 souches (62,5 %), suivi de *Citrobacter sp* 4 souches (25 %) et, enfin de *Proteus mirabilis* 2 soit (12,5 %).

3.2 TEST DE SENSIBILITÉ AUX ALICAMENTS

3.2.1 HYDRODISTILLATION

L'activité antibactérienne des entérobactéries antibiorésistantes à l'hydrodistillation d'*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* et *Allium porum* sont données dans le tableau 3.

Tableau 2. Activité antibactérienne des entérobactéries antibiorésistantes à l'hydrodistillation des alicaments

| Souches | Ail | Ciboulette | Ognon | Poireau |
|---------|-----|------------|-------|---------|
| S1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S8 | 0 | 8 | 0 | 0 |
| S9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S11 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S13 | 0 | 15 | 0 | 0 |
| S14 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S15 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S16 | 0 | 16 | 13 | 14 |

Il ressort du tableau 3 que l'extrait de l'hydrodistillation d'*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* et *Allium porum* utilisé pour cette étude n'ont pas exercé d'activité antibactérienne vis-à-vis de la majorité de souches testées.

Cependant on remarque les zones d'inhibitions de (8; 15 et 16mm) notamment de la ciboulette exercée sur les souches S8 (*E.coli*), S13 et S16 (*Citrobacter sp.*).

Par contre, l'oignon et poireau ont présenté aussi une zone d'inhibition (13 et 14mm) sur la souche S16 (*Citrobacter sp.*). L'ail n'a pas présenté d'activité antibactérienne.

Par rapport aux résultats de Lega [40], qui a obtenu de diamètres d'inhibition de 8 et 12mm selon les concentrations autour des souches d'*E.coli* avec les extraits méthanoliques des feuilles d'*Argemone mexicana* L. La valeur de 8mm est la même que celle obtenue autour de la souche S8 (*Escherichia coli*) avec les extraits *Allium schoenoprasum* pour la même concentration. Les diamètres d'inhibition de 15 et 16mm avec les extraits d'*Allium schoenoprasum*, de 13mm avec les extraits d'*Allium cepa* et de 14mm pour ceux d'*Allium porum* sont supérieurs. La différence est due aux plantes et aux solvants utilisés pour évaluation de l'activité antibactérienne.

En nous référant aux résultats d'Etobo [18] qui avait obtenu le plus grand diamètre d'inhibition de 20mm sur la souche E8 d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques avec l'extrait d'*Ananas comosus* et de *Nymphaea lotus*. Ce diamètre d'inhibition est supérieur à nos diamètres d'inhibition. Ceci s'explique par les espèces végétales testées.

3.2.2 EXTRAITS ÉTHÉRÉS

L'activité antibactérienne des entérobactéries antibiorésistantes aux extraits éthers d'*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum* et *Allium cepa* sont illustrés dans le tableau 4.

Tableau 3. Activité antibactérienne des entérobactéries antibiorésistantes aux extraits éthers des alicaments

| Souches | Ail | Ciboulette | Oignon |
|---------|-----|------------|--------|
| S1 | 0 | 0 | 0 |
| S2 | 0 | 0 | 0 |
| S3 | 0 | 0 | 0 |
| S4 | 0 | 0 | 0 |
| S5 | 0 | 0 | 0 |
| S6 | 0 | 0 | 0 |
| S7 | 0 | 0 | 0 |
| S8 | 0 | 0 | 0 |
| S9 | 0 | 0 | 0 |
| S10 | 0 | 0 | 0 |
| S11 | 0 | 0 | 0 |
| S12 | 0 | 0 | 0 |
| S13 | 0 | 10 | 0 |
| S14 | 8 | 0 | 0 |
| S15 | 0 | 0 | 0 |
| S16 | 0 | 10 | 16 |

Le tableau 4 montre que les extraits éthers d'*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum* et *Allium cepa* n'ont pas d'activité antibactérienne vis-à-vis des souches d'entérobactéries.

Par contre, les extraits éthers de l'ail, ciboulette et de l'oignon ont montré une activité antibactérienne de 8; 10; 16mm de zone d'inhibition respectivement sur les souches S14, S13, et S16.

Kaddour [36] avait utilisé l'extrait phénolique d'ail sur la croissance des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaris*) aux quels toutes les deux souches testées ont été insensibles. Cela peut s'expliquer par les solvants, les ressources morphogénétiques de l'ail utilisés et les espèces bactériennes testées.

3.2.3 EXTRAITS CHLOROFORMIQUES

L'activité antibactérienne des entérobactéries antibiorésistantes aux extraits chloroformiques d'*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum* et *Allium cepa* sont inscrits dans le tableau 5.

Tableau 4. Activité antibactérienne des entérobactéries antibiorésistantes aux extraits chloroformiques des alicaments

| Souches | Ail | Ciboulette | Oignon |
|---------|-----|------------|--------|
| S1 | 0 | 0 | 0 |
| S2 | 0 | 0 | 0 |
| S3 | 0 | 0 | 0 |
| S4 | 0 | 0 | 0 |
| S5 | 0 | 0 | 0 |
| S6 | 0 | 9 | 0 |
| S7 | 0 | 0 | 0 |
| S8 | 0 | 0 | 0 |
| S9 | 0 | 0 | 0 |
| S10 | 0 | 0 | 0 |
| S11 | 0 | 0 | 0 |
| S12 | 0 | 0 | 0 |
| S13 | 0 | 0 | 0 |
| S14 | 0 | 0 | 0 |
| S15 | 14 | 0 | 0 |
| S16 | 12 | 13 | 17 |

L'observation du tableau 5 montre ce qui suit: l'extrait chloroformique d'*Allium sativum*, a présenté les zones d'inhibitions de 14 et 12mm sur les souches S15 et S16; *Allium schoenoprasum* a inhibé la croissance des souches S6 et S16 avec 9 et 13mm, et enfin, *Allium cepa* a inhibé la souche S16 avec le diamètre d'inhibition de 17mm.

Les extraits chloroformiques de l'ail, de ciboulette et de l'oignon n'ont pas agit sur la plupart des souches.

Comparativement aux résultats d' Etobo [18] qui a obtenu des diamètres d'inhibition de 12,7mm sur la souches E4 des bactéries du même genre avec l'extrait chloroformiques de *Bindes pilosa* et celui de 8,7mm sur la même souche E4 d'entérobactérie avec l'extrait chloroformique de *Persea americanus*. La plupart de nos diamètres d'inhibition sont supérieurs (14mm sur la souche S15, 12mm sur la souche S16, 13mm sur la même souche S16 et celui de 17mm sur ladite souche S16) respectivement avec les extraits chloroformiques d'*Allium sativum*, d'*Allium schoenoprasum* et d'*Allium cepa*. Cela pourrait s'expliquer par les ressources végétales utilisées.

4 CONCLUSION

Ce travail avait pour objectif de déterminer la caractérisation phénotypique des entérobactéries en vue de les identifier et d'extraire les huiles aromatiques et préparer des extraits éthers, chloroformiques des alicaments, afin de tester l'activité antibactérienne.

Les extraits aqueux, éthers et chloroformique ont été obtenus respectivement à l'aide de distillateur à vapeur, de l'éther et de chloroforme puis les huiles aromatiques à partir des alicaments préalablement macérés. La détermination de caractères morphologiques et biochimiques a été de même utilisée pour identifier les germes isolés des voies urogénitales dans ce travail.

Les résultats obtenus montrent que:

Les souches observées au microscope sont des bactéries Gram négatif, les souches identifiées sont de *Citrobacter*, *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli*. Pour ce faire, 87,5 % des souches ont fermentées le glucose, alors que 50 % des souches ont fermenté le lactose, 81,25 % des souches ont produits le gaz, pendant que 87,5 % de souches sont mobiles, 31,25 % ont produit de l'Indole, 100 % de souches ont produits de l'uréase; 43,75 %, 87,5 % et 12,5 % des souches ont produits respectivement d'H₂S, de Méthyle rouge et d'Acétoïne. Aucune souche n'utilise le citrate (0 %).

L'indice de similitude varie entre 0,2 à 0,8 et montre qu'il existe une forte similarité entre les caractéristiques étudiées.

- L'hydro distillation d'*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa* et *Allium porum* ont inhibés les souches S8, S15 et S16; l'extrait éthéré de ces mêmes alicaments ont inhibés les souches S14 pour l'ail; S13 et S16 pour la ciboulette et enfin, la souche S16 pour l'oignon. Par contre, l'extrait chloroformique a présenté les zones d'inhibitions aux souches S15 et S16 pour l'ail; aux souches S6 et S16 pour la ciboulette et enfin, la souche S16 pour l'oignon.
- Partant de ces résultats, il nous revient d'affirmer les hypothèses émises dans cette étude à savoir les entérobactéries isolées des voies urogénitales renfermeraient les différentes espèces; les huiles aromatiques auraient une activité antibactérienne sur les souches d'entérobactéries antibiorésistantes aux antibiotiques et afin, les extraits aqueux (hydro distillation), éthers et chloroformiques réagiraient à divers degrés sur les souches d'entérobactéries ont été vérifiées.

Au vue de ces résultats, nous suggérons ce qui suit:

- Poursuivre la caractérisation des ces souches en complétant d'autres tests biochimiques;
- Une caractérisation génotypique pour une classification plus rigoureuse;
- Utiliser d'autres solvants ou faire l'hydro distillation fractionnée en variant d'autres températures d'extraction;
- Déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de chaque extrait actif à
- L'égard des germes bactériens testés.
- Envisager l'utilisation d'autres alicaments (tels que le miel, Chou, le Curcuma) en vue d'étudier l'inhibition de la croissance bactérienne afin de combattre les infections urogénitales.

REFERENCES

- [1] OMS, 2007: Plantes médicinales. Disponible sur www.oms.org.
- [2] Monica. C. 2000. District laboratory practice in tropical countries part 2. Ed. Cambridge university press 435P.
- [3] Sens, G., 1979: Les huiles essentielles-généralités et définitions, dans traité de phytothérapie et d'aromathérapie, édition Maloine, pp. 141-142.
- [4] De Mouy D., Lepargneur J. P., Auriol J. C., Bandler H., Larribet G., Declercq G., Armengaud M. et les membres de l'AFORCOPIBIO. 1994. Evolution des fréquences d'isolement et de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées d'infections urinaires en pratique de ville de 1986 à 1993.- Méd. Mal. Infect. numéro spécial: 539-42.
- [5] Burne, R. et Chen, Y., 2000. Bacterial ureases in infectious diseases. *Microbes and Infection*. 2. pp. 533-542.
- [6] Henquell C., Sirot D., Chanal C., De Champs C., Chatron P., Lafeuille B., Texier P., Sirot J. and Cluzel R. 1994. Frequency of inhibitor-resistant TEM β -lactamases in *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in France. - *J. Antimicrob Chemother.* 34: 7-7-1.
- [7] Weber PH., Scotto M., Plaisance J. J., Mancy C., Chouteau J., Chef F. et Labia R. 1995. Activités in vitro de l'amoxicilline et de l'association amoxicilline-acide clavulanique vis-à-vis d'*Escherichia coli* en médecine de ville. - Méd. Mal. Infect. 25: 1 6.
- [8] Gaudy, C et Buxeraud, J. 2005. Antibiotiques: Pharmacologie et thérapeutique. Elsevier Masson, Paris, 273p.
- [9] Rossion, 1998. L'hôpital qui rend malade, Science et vie, 965, Hachette, Paris, pp. 91-97.
- [10] Leem: les entreprises du médicament. 2010. Résistance aux antibiotiques- Etat de lieux.
- [11] Ngemenya, M., Mbah, J., Tane, P. and Titanji, V., 2006. Antibacterial effects of some Cameroonian Medicinal plants against common pathogenic Bacteria. *Afr. J. Trad. CAM.3* (2); Research Paper; pp.84-93.
- [12] Leclercq, R., 2008. Mondialisation de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *MS-Medecine Sciences* 24 (hors série n° 3).
- [13] Bolou G.E.K, Attioua B., N'guessan A.C., Coulibaly A., N'guessan J.D. et Djaman A.J., 2011. Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium* in *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 80, p. 772 – 790.
- [14] Lokonga O., Kwembe K., and Osenge N. 2020. Screening Chimique et étude de l'activité antibactérienne de Cinq Plantes Médicinales (*Anthonotha macrophylla*, *Azadirachta indica*, *Trema orientalis*, *Citrus limon* et *Ananas comosus*) sur les Souches de *Salmonella* Antibioresistantes à Kisangani (RD CONGO) in *International Journal of Innovation and Scientific Research* ISSN 2351-8014 Vol. 48 No. 2 May 2020, pp. 70-87.
- [15] Mabika, 1983, Plantes médicinales et médecines traditionnelles au Kasai Occidental", Thèse inédite, Fac.Sc, UNIKIS, 510p.
- [16] Mbuyi, M., Bigawa, S., Kumbukame, L.B., Tchatchambe, W.B., et Omande, B., 1998. Recherches sur l'activité antimicrobienne de quelques espèces végétales utilisées dans le traitement des diarrheas infectieuses en médecine traditionnelle zaïroise in *Annales. Fac.Sc., UNIKIS*, vol6, pp 97-110.
- [17] Mbuyi, M., Kumbukame, L.B. et Ambali, L. 1994. Etude comparée de l'activité antibactérienne in vitro des extraits bruts et celles des alcaloïdes totaux isolés de *Penianthus longifolius* Miers (*Menispermaceae*) et de *Cognauxia trilobata* Cogn (*Cucurbitaceae*) in *Ann. Fac. Sc.UNIKIS*, vol 10, pp 119-126.
- [18] Etobo., K. 2012. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes medicinales sur les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani (RDC), thèse inéd. UNIKIS, 142 P.

- [19] Larpent. J.P, Larpent.M.G. 1970. Microbiologie pratique. Herman. Paris, 203P.
- [20] Lambert R., 1989. Microbiologie des aliments. Université Catholique Louvain la Neuve, 196P.
- [21] Monica. C. 2006. District laboratory practice in tropical countries Second Edition. part 2. Ed. Cambrige university press 442P.
- [22] Monica. C. 2006. District laboratory practice in tropical countries Second Edition. part 1. Ed. Cambrige university press, 462P.
- [23] Singleton, P., 2004. Bactériologie, Dunod, paris; 542P.
- [24] Sneath, PH. Mair, N.S. Sharpe, M.E., J.C., 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology. Willians and Wilkins, London.
- [25] Adams et Wilcok, 1968. Laboratory experiements in organic chemistry. 5e edition, The Macmillan, London, pp. 101-123.
- [26] Zirihi G., Kra a.K.M., and Guede-Guina F.2003. Évaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O.Kantze (Astéracée) « PYMI » sur la croissance in vitro de *Candida albicans*, *Revue de Médecine et pharmacie Afrique*,17, p. 11 - 18.
- [27] Bouret, J., 1984.Le défi de médecine par les plantes. France-empire, Paris, 345 p.
- [28] Wagner, H., Blandt, S., Zgainski, E., 1984. Plant Drug Analysis. Sprig-Verlag, Nex-York, 320 p.
- [29] Janovska, D., Kubikova, K. and Kokoska, L., 2003. Screeing for antimicrobial activity of some medecinal plants species of traditional chinese médecine. *Czech J. food Sci.*, Vol. 21. N° 3: 107-110 p.
- [30] Adesokan A. A., Akanji M.A., and Yakubu M.T.2007. Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark, *African Journal of Biotechnology*, 6 (22), p. 2502 - 2505.
- [31] Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris T.C., and Truck M. 1966. Antibiotic susceptibility. Testing by a standardized single disc method, *American Journal of Clinical Pathology*, 45, p. 493 - 496.
- [32] Biomereux, 1980. Bactériologie, Mercy-Etoile, France, 179 p.
- [33] Caquet, R. 2008. 250 examens de laboratoire. Prescription et Interprétation. 10è éd. Elsevier Masson, Paris, 437p.
- [34] Deeni Y.Y., Sadiq N.M., 2003. Antimicrobial properties and phytochemical constituents of the leaves of African misteloe (*Tapinanthus dodoneifolius* (DC) Danser) (Loranthaceae): and ethno medicinal plant of Hansland, Northern Nigeria. *Journal of Ethno pharmacology* 83: 235-240.
- [35] Doughari J.H., Pukuma M.S., and De n. 2007. Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca*L. Drel. and *Moringa oleifera* Lam. on *Salmonella typhi*, *African Journal of biotechnology*, 6 (19), p. 2212 - 2215.
- [36] Kaddour,2009. Effet des extraits phénoliques d'ail (*Allium sativum*) sur la croissance des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophiles* et *Lactobacillus bulgaricus*). Master université Add El Hannid Ibn Badii, Algérie, 45 p.
- [37] Gaudy, C et Buxeraud, J. 2005. Antibiotiques: Pharmacologie et thérapeutique. Elsevier Masson, Paris, 273p.
- [38] Belas, R. 1992. The swarming phenomenon of *Proteus mirabilis*. *ASM News*, 58, pp.15-22.
- [39] Festy, D., 2008. Pharmacien, ma bible des huiles essentielles, édition Leduc, 20 p.
- [40] Lega, I., 2010.Evaluation des propriétés antibactériennes, in vitro, d'extraits de feuilles d'argemonemexicana l. (papaveraceae) Thèse inéd. université de Ouagadougou, 76P.
- [41] Piccini, C., Barbe, F. et Legnani, C., 1998. Identification of iron-regulated outer membrane protein in uropathogenic *Proteus mirabilis* and its relationship with heme uptake. *FEMS Microbiol.Lett.*, 166; 243-248.
- [42] Renaud, Hansen, W. et Bollet, C. 1994.Manuel de bactériologie Clinique, Volume 2, 2ème éd, Elsevier, collection Option Bio, Paris, 1053-1128.
- [43] Chin N.T., Perry C.M., Ly N.T., Ha h.D., Thong M., and Diep T.S, 2002. Randomized controlled comparison of azithromycin and ofloxacin for treatment of multidrug resistant or nalidixic acid resistant enteric fever, *Antimicrobial Agents and chemotherapy*, 44, p. 1855 - 1859.