

Sensibilité des Salmonelles Typhimurium vis-à-vis des extraits totaux de *Costus afer* in vitro

[Sensitivity of *Salmonella Typhimurium* to total extracts of *Costus afer* in vitro]

Tshipele Ondas Arnold¹, Pitu Mbabu Hugo¹, Pungi Phambu Sandrine², Futi Yi Nkimi Sambu¹, Mayina Phuati Cloery¹, and Nlandu Khonde Alphonse¹

¹Institut Supérieur de Techniques Médicales de Tshela (ISTM, TSHELA), RD Congo

²Institut Supérieur d'Études Agronomiques de Tshela (ISEA, TSHELA), RD Congo

Copyright © 2021 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: Typhoid fever remains, today, a major public health problem worldwide with a universal estimate of 12 to 33 million annual cases. It is caused by a strictly human species, *Salmonella typhi*, discovered since 1880 by Eberth. Typhoid fever has long been the cause of human disasters across the world: in the 17th century, for example, 600 people died from this disease in James Town in Virginia (USA). Indeed, the defective hygienic conditions of our immediate environment place *S. typhi* at the first rank of the main causes of food poisoning, typhoid fever is also the main disease of « dirty hands ». Formerly effective, most antibiotics have shown their limits: which leads researchers to turn to plants (traditional medicine) to assess their sensitivity to salmonella typhi. *Costus afer* has been used in certain regions as a medicinal decoction against hemorrhoids and liver diseases for a long time, we thought to test in vitro its activity against *S. typhi*. Of this research, 67% of the typhus strains tested were sensitive below 3%, the strains became resistant: 33% for greatly reduced concentrations.

KEYWORDS: Sensitivity, total extracts, *costus afer*, *Salmonella*.

RESUME: La fièvre typhoïde demeure encore, de nos jours, un grand problème de santé publique dans le monde entier avec une estimation universelle de 12 à 33 millions des cas annuels. Elle est causé par une espèce strictement humaine, *la Salmonella typhi* découvert depuis 1880 par Eberth. Depuis longtemps, la fièvre typhoïde cause des désastres humains à travers le monde: au XVII^e siècle par exemple, 600 personnes sont mortes de cette affection à James Town en Virginie (USA). En effet, les conditions hygiéniques défectueuses de notre environnement immédiat placent *le S.typhi* au premier rang des causes principales des toxiques – infections alimentaires, la fièvre typhoïde constitue d'ailleurs la principale maladie des « mains sales ». Jadis efficaces, la plupart d'antibiotiques ont montré leur limites: ce qui pousse les chercheurs à se tourner vers les plantes (médecine traditionnelle) pour évaluer leur sensibilité vis-à-vis de *salmonella typhi*. *Le Costus afer* est utilisé dans certaine région comme décoction médicamenteuse contre les hémorroïdes et les affections hépatiques depuis longtemps, nous avons pensé tester in vitro son activité vis-à-vis de *S.typhi*. De ces recherches, 67% des souches typhiques testées furent sensibles en deçà de 3%, les souches devenaient résistantes: 33% pour des concentrations fortement diminuées.

MOTS-CLEFS: Sensibilité, extraits totaux, *costus afer*, *Salmonella*.

1 INTRODUCTION

Depuis la première observation d'Eberth concernant le Bacille typhique (1880), et ensuite la découverte des autres *Salmonelles* (il se déroule plus d'un siècle), demeurent toujours un problème sanitaire important aussi bien dans les pays développés que ceux en développement.

Le Salmonella typhi, espèce strictement humaine, est un pathogène qui cause la fièvre typhoïde. A ce jour, on dénombre 12 à 33 millions des cas annuels à travers le monde.

Cause principale des toxi – infections alimentaires dans nos milieu à hygiène fécale, « **péril fécal** », défectueuse, *le S.typhi* est transmise par voie orale: on parle alors des maladies des mains sales

A cause de l'hygiène fécale et alimentaire précaire en RDC en général, et dans la cité de Tshela/ Kongo Central en particulier, la fièvre typhoïde devient une endémie permanente, avec des flambées épidémiques de temps à temps.

Remarque de systèmes sanitaires adéquats, l'usage abusif et irrationnel d'antibiotiques jadis efficaces ainsi que la précarité des conditions hygiéniques rendent cette affection grave c'est pourquoi, la fièvre typhoïde représente la troisième cause de consultations médicales dans notre zone de santé après les infections respiratoires et le paludisme.

Actuellement, nous constatons une augmentation des cas de résistances des couches isolées vis – à – vis des antis biotiques, ce qui contribue à compliquer le problème. Ce phénomène de multi résistance de souches de *S.typhi* a été observé pour la première fois en 1987 lors des épidémies de fièvre typhoïde en Afrique et en Asie ⁽²⁾.

C'est pourquoi, devant cette impasse et la vitesse d'émergence de la sélection de souches multiresistantes, l'OMS recommande la recherche de nouvelles molécules à base de plantes médicinales locales afin de combattre efficacement cette maladie grave.

C'est ainsi qu'ayant constaté que les extraits totaux *de Costus afer* étaient utilisés comme traitement dans les affections suivantes: pneumopathies, origines, paludisme, incontinence urinaire, jaunisse, nous avons pensé les tester *in vitro* contre *le S.typhi*

D'ailleurs, *le Costus afer* est couramment utilisé comme plante médicinale en Afrique tropicale et plusieurs usages ont été confirmés par des évaluations systématiques des composés actifs de différentes parties de la plantes.

Devant ces vertus de la plante, nous nous sommes posés la question de savoir si les extraits totaux de *Costus afer* ne pouvaient pas avoir une activité antibactérienne *in vitro* vis-à-vis *de S.typhi*.

Sachant que les extraits totaux de sa tige sans écorce possédés une activité anti – typhique, la détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice) de cette décoction s'avérait impérieuse pour une utilisation efficiente. De de cette molécule (principe actif).

Tout en contribuant à la lutte contre les Salmonelloses en général, et la fièvre typhoïde en particulier, cette étude vise à tester l'activité anti – salmonella des extraits totaux *de Costus afer in vitro*.

Comme objectif principal, cette étude vise à:

- ❖ Tester la sensibilité de salmonella typhi vis – à vis des extraits totaux de *costus afer in vitro*.

2 MÉTHODOLOGIE

2.1 SITE D'ÉTUDE

Cette étude s'est déroulée dans la cité de Tshela chef de Territoire du même nom, plus précisément à l'Institut supérieur des techniques Médicales de Tshela (ISTM en sigle).

2.2 ECHANTILLON D'ÉTUDE

La sélection des souches de *salmonella typhi* était sur le milieu de culture sélectif (Mac Conkey), de l'étude des caractères biochimiques. Les extraits totaux de *costus afer* étaient obtenus après broyage de la pulpe de la tige de *costus afer*.

L'exclusion des saches des autres entérobactéries et d'autres parties de *costus afer*.

Notre échantillon était ainsi constitué de six différentes concentrations des extraits de *costus afer* pesés et des souches (colonies) de *S. Typhi*.

2.3 MÉTHODES

Cette étude transversale et prospective, basée sur l'expérimentation a consisté à utiliser les extraits totaux de *costus afer* comme inhibiteur contre la *salmonella typhi* dans le Mac Conkey (Milieu sélectif).

3 MATÉRIEL ET MÉTHODE

3.1 MATÉRIEL

3.1.1 SITE DE RÉCOLTE DES ÉCHANTILLONS DE COSTUS AFER ET S. TYPHI

Les colonies des *S typhi* ont isolées à partir de laboratoire de cliniques universitaires de Kinshasa transportées dans l'eau peptonnée.

Les tiges de *costus afer* étaient récoltées dans la forêt à deux kilomètres du campus de l'Institut Supérieur de Techniques médicales de Tshela.

3.1.2 MATÉRIEL UTILISÉS

- Une machette
- Boîte de Petri
- Tubes à essai
- Ouate sec
- Un broyeur
- Un mortier
- Un pilon
- Incubateur
- Anse de platine bouclée
- Aux de platine efilée
- Une balance de précision digital
- Une plaque chauffante pour la préparation de milieux de culture
- Erlenmeyer
- Cylindre gradué
- Autoclave
- Portoir pour tubes à essai.
- Une moto pour atteindre la forêt

3.1.3 RÉACTIFS UTILISÉS

- Milieux de culture: Mac conkey
- Eau peptonnée pour la préparation de l'inoculum

3.2 MÉTHODES

3.2.1 PRÉLÈVEMENT DES SOUCHES DE SALMONELLA TYPHIMURIUM

Après isolement sur le macconkey, suivie de l'identification sur le kligler, citrate sinons, et riu au laboratoire, de clinique universitaire de Kinshasa, les souches pures de *S. thphri* était obtenues.

3.2.2 RÉCOLTE DES TIGES DE COSTUS AFER

Dans la forêt le long de la rivière, les tiges de costus afer étaient coupés grâce à une machette.

3.2.3 BROYAGE DES TIGES COSTUS AFER.

Pour les extraits totaux aqueux le broyage s'effectuait dans un mortier grâce à un pilon et le jus était obtenu après filtration sur une compresse hydrophile.

Par contre, les extraits totaux solides, les tiges de costus afer passaient d'abord au séchage à la température ambiante de laboratoire avant d'être broyer au broyeur.

3.2.4 SENSIBILITÉ DES STYPHI VIS- À VIS DE DIFFÉRENTS EXTRAITS TOTAUX DE COSTUS AFER SUR LE MACCONKEY.

1. Pour les extraits totaux aqueux, les différents volumes de jus étaient mélangés respectivement dans les différentes boîtes de pétri contenant le MacConkey après sa préparation et stérilisation immédiatement après la récolte, avant la solidification du Mac Conkey.

2. En ce qui concerne les extraits totaux solides, après avoir posé les différentes concentrations, des extraits totaux solides étaient ajoutées dans les différentes boîtes de pétri contenant le Mac Conkey avant la solidification de ce dernier.

En fin pour les deux types d'extraits totaux nous procéderons par l'ensemencement de l'inoculum de styphi sur les différentes boîtes de pétri de Mac Conkey combiné aux extraits totaux.

4 RÉSULTATS

Les résultats de notre recherche sont repris dans différents tableaux qui suivent:

Tableau 1. *Résultats de la sensibilité de salmonella typhimurium vis- à-vis des extraits totaux solide de costus afer*

Mac Conkey	Concentration des extraits totaux solide	Résultats à près 24 heure
Boite de petri 1	500mg	+
Boite de petri 2	450mg	+
Boite de petri 3	400mg	+
Boite de petri 4	350mg	+
Boite de petri 5	300mg	+
Boite de petri 6	250mg	+
Boite de petri 7	200mg	+
Boite de petri 8	150mg	-
Boite de prtri 9	100mg	-
Boite de petri 10	50mg	-

Légende:

+: Sensible

-: Résistant

Ce tableau montre que sur dix boîtes de pétri contenant le mélange Mac Conkey et extraits totaux solides de costus afer, la salmonella typhi s'est montrée sensible dans sept boîtes de pétri sur 10, soit 70%.

Par contre, elle a été résistante dans trois boîtes de pétri sur 10, soit 30%.

Tableau 2. Résultats de l'inhibition de la *Salmonella typhimurium* par des extraits totaux aqueux de *costus afer*

Mac Conkey	Volume des extraits totaux aqueux en ml	Résultats en 24 heures
Boite de pétri 1	5ml	+
Boite de pétri 2	4,5ml	+
Boite de pétri 3	4ml	+
Boite de pétri 4	3,5ml	+
Boite de pétri 5	3ml	+
Boite de pétri 6	2,5ml	+
Boite de pétri 7	2ml	-
Boite de pétri 8	1,5ml	-
Boite de pétri 9	1ml	-
Boite de petri10	0,5ml	-

Légende:

+: Sensible

-: Résistant

Il ressort de ce tableau que l'inhibition de *S. typhi* par des extraits totaux aqueux de *costus fer* est fonction de volume ou de la quantité de ces derniers car sur dix boites de pétri du mélange MacConkey et extraits totaux aqueux, la salmonella Typhi a été inhibé à 60% soit six boites de pétri sur dix.

Par contre sa résistance a été observé dans quatre boites avec une fréquence de 40% soit quatre boites de pétri sur dix.

5 DISCUSSION

De cette étude de la sensibilité de la salmonella typhimurium vis-à-vis des extraits totaux solides et aqueux de *Costus afer* in vitro nous pouvons retenir ce qui suit:

Le tableau I sur les résultats de la sensibilité de la *Salmonella Typhimurium* vis-à-vis des extraits totaux solides de *costus Afer* indique que sur les dix boites de pétri contenant la combinaison MacConkey et extraits solides de *costus afer*, la *Salmonella Typhimurium* s'est montrée sensible dans sept boites de Pétri sur dix soit 70%. Par contre, elle s'est révélée résistante dans trois boites de pétri sur dix, soit 30% cette fréquence élevée observer de la sensibilité de salmonella typhimurium dans ce tableau serait due à la concentration considérable du principe actif dans cette combinaison Mac Conkey et extraits totaux aqueux.

Par contre, la résistance remarquée dans ce tableau pourrait se justifier par la faible concentration du principe actif dans le mélange MacConkey extrait totaux solides.

Le tableau II sur les résultats de l'inhibition de la *Salmonella Typhi* par les extraits totaux aqueux de *Costus afer*; stipule que l'inhibition de *S typhi* par les extraits totaux aqueux de *Costus afer* est fonction de volume ou de la quantité de ces derniers car sur le mélange Mac Conkey et extraits totaux aqueux, la *Salmonella typhimurium* a été à 60 dans les boites à forte quantité d'extraits totaux aqueux soit six boites de pétri sur dix.

Par contre, sa résistance a été observée dans quatre boites avec une fréquence de 40% soit quatre boites pétri sur dix.

Cette inhibition constatée de la *Salmonella* à 70% pourrait se justifier par le fait que les extraits totaux aqueux dépouillés de particules solides seraient constitués en majorité que de principe actif.

La résistance de *Salmonella typhi* observée serait due au faible volume des extraits totaux aqueux de *Costus afer*.

Notre étude carrobore avec Kara Sk et al dans multidrug résistance typhoïde fever, démontrant la résistance de la *Salmonella typhi* aux antibiotiques.

En outre, BRIDG E et Hannia dans micropropagation and determination of the in vitro stability of *Annona cherinala* Mill and *Annona muricata*, où ils confirment l'activité d'*Annona muricata* et ses vertus ainsi son action sur certains micro organismes.

6 CONCLUSION

L'objectif principal de cette étude était de contribuer à la lutte contre la salmonellose et la fièvre typhoïde et aussi de promouvoir la recherche de traitement à base des plantes médicinales à base de costus afer.

Deux types d'extraits totaux étaient utilisés comme inhibiteur pour tester la sensibilité de S.typhimurium: extraits totaux aqueux et solides.

Après leurs mélange le macconkey suivie de l'inoculum, la sensibilité de Salmonella typhimurium a été observer vis-à-vis des deux extraits totaux.

Ainsi, une prédominance de la fréquence d'inhibition de S.typhi par rapport à sa résistance aux deux types d'extraits totaux a été remarquée.

REFERENCES

- [1] ABUCESO p et al (2000), Blood culture confirmed typhoid fever in a provincial hospital in the Philippine's Southeast Asian journal of tropical Medicine and public heath. P.6, 32.
- [2] Bernard Boullard. Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. De Boeck Secundair, 2001 -636p.
- [3] BRING et Hannia: Micropropagation and determinantion of the in vitro stability of Anna cherimola Mill and Annoma muricata.
- [4] GUTAm. V et al. sensitivity pattern of Salmonella Serotypes in northerm India. Braziliam Journal of Infections diseases. P6,7.
- [5] HEITHOFF DM, Shimp WR et al Intraspecies Variation in the emergence of hyper infections bacterial Strains in Nature Plospathog. 2012; 8 (4): 1002647.
- [6] Johannes Seideman. World Spice Plants; Economic Usage, Botany, Taxonomy. Springer Sciences & Business Media, 13 Juin 2005 – 591 p.
- [7] KASA. SK et al (2000): Multidrug – resistance thyphoïde fever, tropical doctor, P. 7, 30, 195.
- [8] PROTA, Plante médicinales, 2008 -869p.
- [9] Visuel Rocky Mountain laboratoires, NIAID, NIH "la salmonella typhimurium envahit les cellules humaines cultivés. Doi: 10.1371/journal.ppat.1002647.