

Caractérisation Phénotypique des Souches de *Salmonella* Antibiorésistantes et Sensibilité aux Extraits des Alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum* et le Miel) à Kisangani (Province de la Tshopo, RDC)

[Phenotypic Characterization of Antibioresistant *Salmonella* Strains and Sensitivity to extracts of Alicaments (*Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum*, and Honey) in Kisangani (Tshopo Province, DRC)]

O. Lokonga, I. Kumbonyeki, and K. Etobo

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: Our study was devoted to the phenotypic characterization of antibio-resistant *salmonella* strains with a view to identify them and to study their susceptibility to alicaments particularly *Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum* and honey.

By comparing the phenotypic characterization (morphological and biochemical) of our 7 *salmonella* strains using the key of Monica 2014, we found out 42.86% *Salmonella paratyphi A* and 57.14 % of *Salmonella typhi*.

Extraction of the alicaments by the aromatogram method permitted us to obtain the following results:

The white onion extract showed an antibacterial activity of 8 mm diameter inhibition zones on S1 strain and 18 mm diameter on S7 strain while the ethanolic extract of *Allium schoenoprasum* showed an antibacterial activity of 2 mm diameter inhibition zones on strains S2 and S3. The concentrated white onion extract showed an antibacterial activity of 4 mm diameter inhibition zone on S2 strain while the red onion showed 4 mm diameter inhibition zones on S2 strain. Strains S2 and S5 and *Allium schoenoprasum* showed an antibacterial activity of the inhibition zones of 12 mm and 14 mm diameters on strains S6 and S7, and finally the honey showed an antibacterial activity of the zones of inhibitions of 21 mm diameter on strain S1, and 2 mm diameter on strains S2, S3 and S6.

KEYWORDS: Phenotypic, Characterization, Antibio-resistant, *Salmonella*, Strains, Extracts, Alicaments, Sensitivity, *Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum*, Honey.

RESUME: Notre étude était consacrée sur la caractérisation phénotypique des souches de *salmonella* antibiorésistantes en vue de les identifier et d'étudier leurs sensibilités vis-à-vis des alicaments notamment: *Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum* et le Miel.

En confrontant les caractéristiques phénotypiques (morphologiques et biochimiques) de nos 7 souches de *salmonella* à la clé de Monica 2014. Nous avons aboutis aux résultats suivants: 42,86% de *Salmonella paratyphi A* et 57,14% de *Salmonella typhi*.

Les extraits des alicaments par la méthode d'aromatogramme nous a permis d'obtenir les résultats suivants:

L'extrait éthéré de l'oignon Blanc a présenté une activité antibactérienne des zones d'inhibitions de 8 mm de diamètre sur la souche S1 et de 18 mm de diamètre sur la souche S7 alors que l'extrait éthanolique d'*Allium schoenoprasum* a présenté une activité antibactérienne des zones d'inhibitions de 2 mm de diamètre sur les souches S2 et S3. L'extrait brut concentré de l'oignon Blanc a présenté une activité antibactérienne d'une zone d'inhibitions de 4 mm de diamètre sur la souche S2 alors que l'oignon Rouge a montré des zones d'inhibitions de 4 mm de diamètre sur les souches S2 et S5 et l'*Allium schoenoprasum* a présenté une activité antibactérienne des zones d'inhibition de 12 mm de diamètre et de 14 mm de diamètres sur les souches

S6 et S7 et enfin le Miel a présenté une activité antibactérienne des zones d'inhibitions de 21 mm de diamètre sur la souche S1, et de 2 mm de diamètre sur les souches S2 et S3 et S6.

MOTS-CLEFS: Caractérisation, Phénotypique, Souches, *Salmonella*, Antibiorésistantes, Sensibilité, Extraits, Alicaments, *Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum*, Miel.

1 INTRODUCTION

La fièvre typhoïde représente un véritable problème de santé publique dans le monde. En effet, les infections à *salmonella*, restent un problème de santé dans des pays développés et sous-développés. Parmi ces infections, figurent les infections gastro-intestinales et les infections extradiigestives. Le sérovar *Salmonella typhi* est responsable de gastro-entérite, et peut aussi causer des septicémies [1].

La fièvre typhoïde, aussi connue sous le nom de fièvre entérique, est une infection bactérienne gastro-intestinale qui a eu un effet préjudiciable persistant chez l'homme. La bactérie de la typhoïde est de la famille des entérobactéries dont *salmonella*. Ces bacilles gram-négatifs, anaérobies facultatifs sont également flagellés, mobiles et ne forme pas de spores. Bien que cet organisme ne comporte pas d'exotoxines capables de promouvoir la maladie, il est fortement antigénique et provoque une réaction inflammatoire tissulaire intense. La fièvre typhoïde est due aux salmonelles de sérotype *typhimurium* (*S.typhi*) et *paratyphimurium* (*S.paratyphi*) [2].

Bien qu'une grande variété d'animaux puisse être infectée par les salmonelles, seul l'homme est porteur des sérotypes *S. typhi* et *S. paratyphi* de la fièvre typhoïde. Ainsi les animaux de ferme, les animaux de compagnie et les autres animaux ne sont ni porteurs ni vecteurs de la fièvre typhoïde. La contamination humaine se fait habituellement par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Il n'est pas surprenant que les pays les plus touchés soient ceux qui sont les plus pauvres et sans services sanitaires adéquats. Les salmonelles non typhoïdiques (SNT) peuvent être transmises par les animaux comme par l'homme sous forme de gastro-entérite mineure [3].

Les maladies d'origine alimentaires sont une cause importante de morbidité et de mortalité à travers le monde. En effet, White et al [4], estiment que les diarrhées tuent 3 millions d'enfants chaque année. Aux Etats-Unis, on estime que 1,4 millions de personnes sont infectées par des salmonelles non typhiques chaque année, avec 15000 hospitalisations et 400 morts, alors qu'en France, le nombre est estimé à 30000 cas de salmonelloses avec entre 92 et 535 morts [5; 6].

Depuis de nombreuses années, *Salmonella* constitue la cause majeure des infections du tractus digestif humain, liées à la consommation de denrées alimentaires d'origine animales. Il s'agit d'un agent étiologique de la salmonellose-humaine d'origine alimentaire. Dans la plupart des cas, la salmonellose est causée par des produits alimentaires contaminés, en particulier ceux d'origine animale tels que la volaille, les œufs, le bœuf et le porc. Les fruits et les légumes sont également signalés comme des véhicules de transmission de *Salmonella*, et la contamination peut se produire à plusieurs étapes de la chaîne alimentaire [7].

Au niveau mondial, la typhoïde est plus fréquente en milieu urbain qu'en milieu rural. Il y a plus de 22 millions de cas avec 200 000 décès chaque année, ce qui représente un taux de mortalité de 1-4%. Le poids de la maladie repose plus sur les pays aux ressources limitées que sur les pays développés. L'Amérique du Nord et l'Europe ont moins de 10 cas pour 100 000 habitants alors que l'Asie centrale et du Sud-est ont dix fois ce taux, ce qui en fait la région avec le taux le plus élevé du monde. L'éruption de la maladie est plus fréquente dans les pays pauvres car on y trouve des aliments et de l'eau contaminés du fait de l'existence de champs arrosés avec des eaux usées, de vendeurs de rue, de fruits et légumes non cuits, du contact avec des malades et d'un accès à des toilettes et au lavage des mains limités [3].

Dans les pays développés, *Salmonella* est reconnu comme l'agent pathogène important d'origine alimentaire qui est responsable de l'intoxication alimentaire collective avec environ 65% des cas en France [8] et 95% aux États-Unis d'Amérique [9]. Bien que la déclaration et l'enregistrement des 12% des cas de *Salmonella* demeurent insuffisants, *Salmonella* est la principale cause d'intoxication alimentaire au Maroc [10].

Dans les pays en voie de développement, la fièvre typhoïde fait 600000 morts et les salmonelloses non typhiques sont responsables de diarrhées aiguës. En Afrique subsaharienne, ces dernières liées à la contamination de l'eau et des aliments par les selles, aboutissent au décès de 22 à 45% des personnes infectées [11; 51].

En Afrique (au Maroc), 7118 cas de toxi-infections alimentaires ont été rapportés entre 2000 et 2004 dont plus de 86 % sont d'origine bactérienne [12], et 1160 cas d'intoxication alimentaire ont été enregistrés en 2008 (Selon le centre antipoison et pharmacovigilance, Maroc).

En RDC l'OMS a reçu des rapports faisant état d'une poussée épidémique importante de la fièvre typhoïde à Kinshasa. Les cas se sont produits dans les banlieues de Kimbaseke, Kikimi, Masina et Ndjili, déjà affectées en mai 2004 par une grosse flambée épidémique d'infections à *E.coli*. Au 13 décembre 2004, on avait signalé au total 13 400 cas. Entre le 1er et le 10 décembre 2004, on a dénombré 615 cas graves souffrant d'une péritonite avec ou sans perforation, dont 134 mortels (taux de létalité de 21,8 %). *S. typhi* a été retrouvée dans 5 échantillons sur 32.

Autres sérotypes peuvent être responsables des infections extra-intestinales telles que les infections des voies urinaires, la suppuration profonde et la méningite chez les individus immuno-déficients [13].

Elles entraînent une large variété de signes cliniques chez l'animal avec le plus fréquemment des diarrhées profuses et de l'hyperthermie mais aussi possibilité de septicémies aiguës, avortement, arthrite et des signes respiratoires [14].

Cependant dans de nombreux cas les porcs et les volailles adultes sont des porteurs asymptomatiques [15]. Ces animaux ont donc un rôle important dans la diffusion des salmonelles mais également en tant que source de contamination des aliments de l'origine d'infection humaine.

En effet, les salmonelles peuvent avoir des impacts plus ou moins importants sur l'homme, selon l'individu atteint et si elles ne sont pas gérées assez rapidement. Elles peuvent être responsables de gastro-entérites, toxi-infections alimentaires et des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes (*S. typhi* et *S. paratyphi*). On retrouve aussi des complications plus graves chez les personnes affaiblies (vieillards, nouveau-nés, immunodéprimés) avec de la septicémie, méningite, endocardite et jusqu'au décès dans de rares cas. Par contre certains individus peuvent présenter des formes de portage sain, sans signe clinique [16].

Un nombre croissant d'infections, comme la pneumonie, la tuberculose ou la gonorrhée, la salmonellose, deviennent plus difficiles à traiter car les antibiotiques utilisés pour les soigner perdant leur efficacité [1; 2; 12; 15]

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

La grande majorité des isolats de *S. typhimurium*, isolés au Canada, aux États-Unis et en Europe, ont des gènes de résistance qui sont associés à l'ampicilline, le chloramphénicol, la streptomycine, les sulfamidés et la tétracycline. Les isolats de *S. typhimurium* sont résistants aussi à d'autres antimicrobiens, par exemple: l'apramycine, la gentamicine, la kanamycine, le triméthoprime, l'amoxicilline-acide clavulanique et/ou la ciprofloxacine [17].

La résistance des bactéries est un problème de santé mondial, auquel l'humanité doit faire face à l'aube du troisième millénaire. L'utilisation massive des antibiotiques durant les cinquante dernières années est la cause principale de l'apparition de souches résistantes [18]. La résistance bactérienne est devenue un phénomène global et préoccupant.

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'un micro-organisme à résister aux effets des antibiotiques.

Ce phénomène peut naître d'une mutation génétique aléatoire de la bactérie, qui fait qu'elle va survivre au traitement et transmettre cette caractéristique en se reproduisant. Il peut aussi survenir par des transferts de gènes résistants (plasmide, transposon) entre bactéries [1; 17].

Les résistances chromosomiques ne concernent en général qu'un antibiotique ou une famille d'antibiotiques. Les résistances plasmidiques peuvent quant à elles concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques. Elles représentent le mécanisme de résistance le plus répandu, soit 80% des résistances acquises [1].

Les antibiotiques ont permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux maladies infectieuses au cours du 20e siècle. Hélas, leur utilisation massive et répétée, a conduit à l'apparition de bactéries résistantes à ces médicaments [1].

Ces résistances sont devenues massives et préoccupantes. Certaines souches sont multi résistantes, c'est-à-dire résistantes à plusieurs antibiotiques. D'autres sont même devenues toto-résistantes, c'est-à-dire résistantes à quasiment tous les antibiotiques disponibles. Ce phénomène, encore en augmentation constante, place les médecins dans une impasse thérapeutique: ils ne disposent plus d'aucune solution pour lutter contre l'infection [1; 10; 12; 15; 16].

L'émergence des bactéries résistantes a été au départ contrée par la mise au point de nouveaux antibiotiques, mais on assiste aujourd'hui à l'essoufflement de la recherche et à la diminution du nombre de nouvelles molécules disponibles [1; 2; 3; 15; 16].

Deux phénomènes importants dominent l'actualité des résistances. Tout d'abord l'augmentation continue, aujourd'hui plus encore en ville qu'à l'hôpital, des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (EBLSE). Certaines espèces comme *Escherichia coli* ou *Klebsiella pneumoniae* sont devenues résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) qui constituent les antibiotiques de référence pour traiter ces espèces bactériennes. En 2014, 11% des souches de *E. coli* et 35% de celles de *K. pneumoniae* isolées de bactériémies étaient devenues résistantes à ces C3G. Dans les infections urinaires, ces chiffres sont de 7% pour *E. coli* et 16% pour *K. pneumoniae*. Les médecins doivent alors utiliser des antibiotiques "de derniers recours": les carbapénèmes.

Or, et c'est le deuxième phénomène très inquiétant, depuis quelques années apparaissent des souches d'entérobactéries produisant des carbapénémases. Ces enzymes détruisent ces antibiotiques et confèrent ainsi une résistance à la bactérie. Cela peut conduire à des situations d'impasse thérapeutique [1; 2; 3; 15; 16].

En février 2017, l'OMS¹ a publié une liste de bactéries résistantes représentant une menace à l'échelle mondiale.

A. baumannii, *P. aeruginosa* et les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) représentent ainsi une urgence critique car elles résistent à un grand nombre d'antibiotiques.

Six autres bactéries, dont *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori* (ulcères de l'estomac), les salmonelles et *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrhée), représentent une urgence élevée.

Enfin, pour *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* (otites) et les *Shigella spp.* (dysenterie), l'urgence est modérée.

De plus l'agent de la tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, multirésistant dans certaines parties du monde, fait l'objet d'un programme propre de l'OMS.

C'est pourquoi l'OMS, suivie par les grandes organisations internationales, préconise une vision globale de la lutte contre les antibiorésistances.

Des recherches sont également menées pour tester des traitements alternatifs aux antibiotiques.

Les plantes médicinales sont utilisées sur tous les continents pour leur efficacité, leur accessibilité et le faible coût par rapport aux médicaments vendus en pharmacie. Un éclairage scientifique sur ces connaissances ancestrales est important pour valider l'usage de quelques-unes de ces plantes. Par ailleurs, les principes actifs de nombreux médicaments vendus en pharmacie ont été découverts dans les plantes. C'est le cas par exemple le taxol isolé de l'if et utilisé dans le traitement des cancers du sein ou de l'ovaire. Cela traduit toute l'importance des plantes dans la découverte de nouvelles molécules actives [20; 21; 22; 50]. Récemment à Kisangani, à la faculté des sciences de l'Université de Kisangani, les recherches s'orientent également sur l'étude de l'inhibition de la croissance bactérienne par les alicaments [23; 24; 25]

C'est ainsi que nous avons pensé à la promotion de la recherche des quelques alicaments qui sont une source sûre pouvant contenir des substances antibactériennes.

Notre travail vise à caractériser les souches de *salmonella* antibiorésistantes et tester leurs sensibilité aux extraits des alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum*; et le Miel) à Kisangani.

OBJECTIF GÉNÉRAL

Généralement le présent travail vise de faire la caractérisation basé sur le test phénotypique en vue d'identifier les souches de *salmonella* antibiorésistantes et de tester leurs sensibilités aux alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum*; et le Miel).

¹ OMS. 2017 identifie les 12 'superbactéries' résistantes les plus dangereuses en effet que « l'Organisation mondiale de la santé a publié lundi une liste de 12 familles de bactéries contre lesquelles elle juge « urgent » de développer de nouveaux traitements ».

En menant cette étude, nos objectifs spécifiques consistent à :

- Caractériser les souches de *salmonella* antibiorésistantes en vue de les identifier et
- Tester *in vitro* l'activité antibactérienne des extraits des alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum* et le Miel) sur les souches de *salmonella* antibiorésistantes à Kisangani.

Etant donné que la fièvre typhoïde est une maladie d'origine alimentaire qui représente le principal problème de santé publique, notre étude trouve son intérêt à la valorisation des alicaments dans la lutte contre la fièvre typhoïde, causée par les souches de *salmonella* antibiorésistantes.

2 MATÉRIEL

Au cours de notre étude portant sur la caractérisation des souches de *salmonella* antibiorésistantes et sensibilité aux alicaments dans la région de Kisangani, nous avons utilisé le matériel bactériologique, végétal et le miel.

2.1 MATÉRIEL BACTÉRIOLOGIQUE

Le matériel bactériologique était constitué des 7 souches du genre *salmonella*. Ces souches ont été isolées par Lokonga Jules en 2018 et conservées dans la gélose molle au laboratoire biomédicale de la faculté des sciences de l'université de Kisangani. Ces souches ont été résistantes aux antibiotiques suivants: Ampicilline, Amoxicilline, Céphatax, Ciprocin, Chloramphénicol, Clamoxile, Cloxacilline, Doxycycline, Bactrime, Erythromycine, Tazex, Moxyclav et Gentamycine.

2.2 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Le matériel végétal faisant l'objet de notre travail sont constitués de:

Brassica oleracea (chou); *Allium cepa* (oignon) dont nous avons utilisé deux variétés morphogénétiques (oignon blanc et oignon rouge), *Allium schoenoprasum* (ciboulette) et le Miel brut. Le matériel végétal et le miel sont représentés par les figures 1 à 4.



Fig. 1. *Brassica oleracea*/ Famille: *Brassicaceae*



Fig. 2. *Allium cepa*/ Famille: Liliaceae



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



Fig. 4. Miel

2.3 MÉTHODES

La caractérisation était basée sur l'étude de caractères phénotypiques des souches de *salmonella*. Pour ce faire, les tests morphologique et biochimique ont été réalisés [26; 27; 28].

L'identification a été faite conformément à la clé de détermination de Sneath *et al.* [29; 30; 31].

Le coefficient de similarité calculé suivant la formule de Gower Sneath *et al.*, [30], a permis de comparer les profils de nos souches à ceux des souches de référence.

2.4 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 [32]. Il s'agit des extraits étherés, bruts concentrés et éthanoliques.

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

2.4.1 EXTRAITS BRUT CONCENTRÉS

Cet extrait a été obtenu par la méthode de reflux dans laquelle le jus obtenu après pressage et filtrage. 10ml de jus était placé dans chaque tube stérile puis laisser évaporé dans l'étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un volume de 2ml [34; 35; 41].

2.4.2 EXTRAITS ÉTHÉRÉS

L'éther de pétrole a servi de solvant d'extraction. 50 ml de solvant ont été 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 ont été macérés pendant 48 heures et ensuite filtrés. Les filtrats ont été enfin concentrés par évaporation jusqu'à 2 ml d'extrait dans chaque tube [33; 34; 35; 36].

2.4.3 EXTRAITS ÉTHANOLIQUES

A 10 grammes du matériel végétal broyé, nous avons ajouté 50 ml de l'alcool 95%, et mis en macération pendant 48 heures. Après chaque extraction, le solvant était évaporé à l'air libre jusqu'à 2 ml d'extrait dans chaque tube.

2.5 TEST DE SENSIBILITÉ

2.5.1 PRÉPARATION DES DISQUES TESTS

Les disques ont été fabriqués à partir de papier filtre découpé grâce à un perforateur. On avait obtenu ainsi le disque de 6 mm de diamètre et 0,5mm d'épaisseur que nous avons stérilisé à l'autoclave. Les disques stériles ont été plongés aseptiquement dans les extraits à tester. Les flacons contenant les disques ont été ainsi imbibés des extraits et placés à l'étuve à 37°C pour le séchage complet des disques tests [37].

2.5.2 PRÉPARATION DE L'INOCULUM

Un aliquote d'une culture pure prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile était émulsionné dans 5 ml de bouillon nutritif. L'incubation était effectuée à l'étuve à 37°C jusqu'à l'obtention d'une opacité visible [27].

2.5.3 ENSEMENCEMENT

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 [27; 38; 39].

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 [41]. L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque [40; 41; 42; 43; 44].

2.6 ANALYSE STATISTIQUE

Pour déterminer la similitude des souches par rapport aux tests biochimiques utilisés, l'indice de similitude de Jacquard-Sneath [30] a été utilisé. Cet indice varie entre 0-1.

Le logiciel PAST a été utilisé pour l'analyse des données quantitatives des expérimentations. L'analyse de la variance a été faite avec le même logiciel pour comparer nos quatre extraits des alicaments.

La fréquence des *Salmonella* a été déterminée par la formule suivante:

$$\% = \frac{fi}{fti} * 100$$

fi = Effectif des individus;

fti = Effectif total;

% = Pourcentage ou fréquence.

3 RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DES SOUCHES DES SALMONELLA

Les résultats obtenus dans cette étude sur la caractérisation phénotypique des *Salmonella* se présentent dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractères morphologiques et biochimiques des souches des salmonella

Caractères Morphologiques						Caractères Biochimiques					Identification
Souches	Forme	Gram	MOB	IND	UR	H2S	LACT	GAZ	GLU	IS	
S1	Bâtonnet	-	+	-	+	-	-	+	+	0,5	<i>Salmonella paratyphi A</i>
S2	Bâtonnet	-	+	-	+	-	-	+	+	0,5	<i>Salmonella paratyphi A</i>
S3	Bâtonnet	-	+	-	+	-	-	-	-	0,3	<i>Salmonella typhi</i>
S4	Bâtonnet	-	+	-	+	-	-	-	+	0,4	<i>Salmonella typhi</i>
S5	Bâtonnet	-	+	-	+	-	-	-	+	0,4	<i>Salmonella typhi</i>
S6	Bâtonnet	-	+	-	+	-	-	+	+	0,5	<i>Salmonella paratyphi A</i>
S7	Bâtonnet	-	+	-	+	-	-	-	-	0,3	<i>Salmonella typhi</i>

Légende:

MOB: Mobilité

IND: Indole

UR: Uréase

H2S: Sulfure d'hydrogène

LACT: Lactose

GLU: Glucose

IS: Indice de similarité

Il ressort du tableau 1 que les souches microscopiquement observées sont des bactéries Gram négatif.

A cet effet, les caractères biochimiques testés fournissent les données suivantes: 100% de souches sont mobiles, toutes les souches n'ont pas produit l'indole, 100% de souches ont produit l'uréase, toutes les souches n'ont pas produit l'H₂S, 42,9% des souches ont produits le gaz, aucune souches n'a fermenté le lactose et 71,42% des souches ont fermentés le glucose. En le confrontant par la clé d'identification en référence de [27; 28; 49] nous avons abouti aux résultats suivants: 42,86% de *Salmonella paratyphi A* et 57,14% de *Salmonella typhi*.

La figure 5 nous présente les fréquences obtenues.

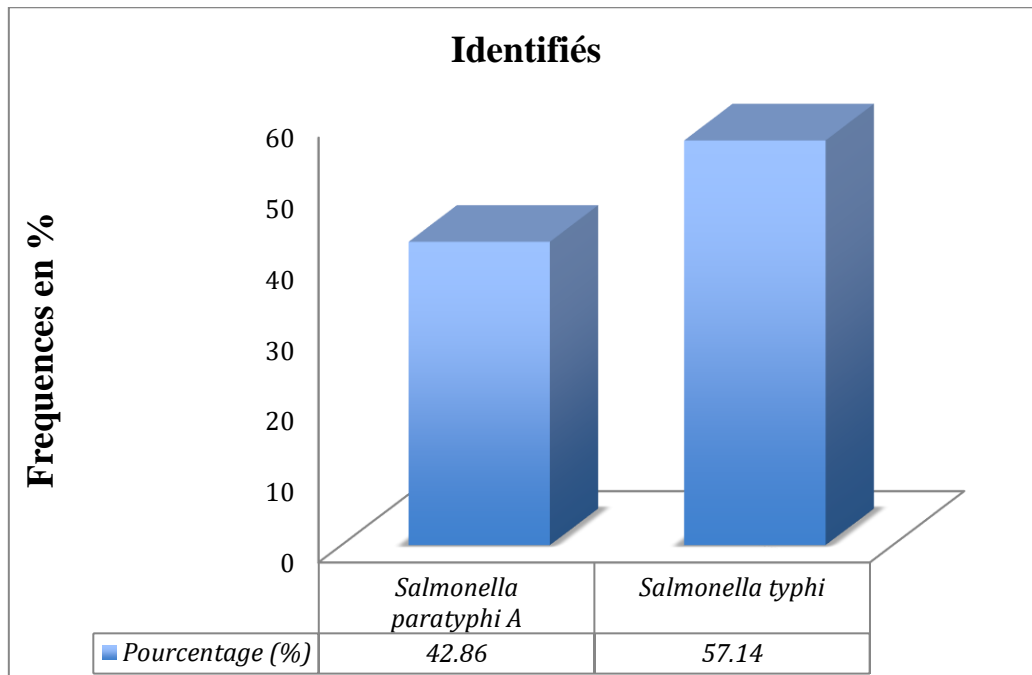


Fig. 5. Fréquence des souches des *Salmonella* isolées

L'observation de cette figure 5 révèle la prédominance de *Salmonella typhi* (57,14 %) et, enfin de *Salmonella paratyphi A* (42,86 %).

3.2 TEST DE SENSIBILITÉ

3.2.1 EXTRAITS ÉTHÉRÉS

L'activité antibactérienne des extraits éthers de *Brassica oleracea*; *Allium cepa* et *Allium schoenoprasum* sur les souches de *Salmonella* sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. L'activité antibactérienne des extraits éthers des alicaments sur les souches de salmonella

Souches	<i>Allium cepa</i>		<i>Brassica oleracea</i>	<i>Allium schoenoprasum</i>
	Blanc	Rouge		
S1	8	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	18	0	0	0

Il ressort du tableau 2 que l'extrait étheré de *Brassica oleracea*; *Allium cepa* et *Allium schoenoprasum* qui ont été utilisé pour cette étude n'ont pas exercé d'activité antibactérienne vis-à-vis à la majorité de souches testées. Néanmoins nous remarquons les zones d'inhibitions de 8 mm de diamètre de l'oignon blanc sur la souche S1 et 18 mm de diamètre sur la souche S7. Par contre, l'oignon rouge, le chou et la ciboulette n'ont pas présenté d'activité antibactérienne.

Par rapport aux résultats de Lokonga et Dasangba [25], qui ont obtenu avec les extraits éthers de l'ail, ciboulette et de l'oignon une activité antibactérienne de 8; 10; 16mm de zone d'inhibition respectivement sur les souches S14, S13, et S16 les bactéries du même genre. Le diamètre d'inhibition sur la souche de *Salmonella typhi* (S7) est supérieur à nos diamètres. Celui

de 8mm sur *Salmonella paratyphi A* est le même que le nôtre sur la S14. Et inférieur à 10 et 16mm respectivement sur les souches S13 et S16. Cette différence s'explique par l'espèce bactérienne testée.

Selon Lokonga *et al* [45]. montre qu'il n'y avait pas d'inhibition pour les extraits éthers ou aucune activité antibactérienne n'a été observée. Cette différence s'explique par les espèces des plantes utilisées.

Contrairement à Etobo [46] qui avait testé les entérobactéries résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani aux plantes médicinales, dont 5 souches de *Salmonella*, pour lesquels 2 extraits de plantes sur 20 testés avaient inhibé toutes les souches dont il s'agit de l'extrait 15 de *Cassia Occidentalis* et 18 de *Annas Comosus* et *Nympaea Lotus*. Le premier extrait à inhibé les 5 souches avec un diamètre maximal de 15,5 mm et le deuxième a inhibé aussi toutes les 5 souches avec un diamètre maximal de 22 mm. Cette divergence s'explique par la nature des plantes utilisée et par les souches testées.

3.2.2 EXTRAITS ÉTHANOLIQUE

Le tableau 3 présente l'activité antibactérienne des extraits éthanolique de *Brassica oleracea*; *Allium cepa* et *Allium schoenoprasum* sur les souches de *salmonella*.

Tableau 3. L'activité antibactérienne des extraits éthanolique des alicaments sur les souches de salmonella

Souches	<i>Allium cepa</i>		<i>Brassica oleracea</i>	<i>Allium schoenoprasum</i>
	Blanc	Rouge		
S1	0	0	0	0
S2	0	0	0	2
S3	0	0	0	2
S4	0	0	0	0
S5	0	0	0	0
S6	0	0	0	0
S7	0	0	0	0

L'observation du tableau 3 montre ce qui suit: l'extrait éthanolique d'*Allium schoenoprasum* a présenté les diamètres des zones d'inhibitions de 2 mm sur les souches S2 et S3. Par contre l'extrait éthanolique de *Brassica oleracea* et *Allium cepa* n'ont pas exercé d'activité antibactérienne.

En confrontant nos résultats avec ceux de Lokonga *et al* [45]. Il ressort que l'extrait éthanolique avaient présenté des zones d'inhibitions de 9 mm de diamètre pour *Anthonotha macrophylla* sur les souches 11, 12 et 13 et pour *Azadiractha indica* il y avait une zone d'inhibition de 9 mm de diamètre sur la souche 7. Cette différence s'explique par les espèces végétales utilisées.

Zarrouq [47] au Maroc, avait testé l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques d'*Anabasis aretioides* vis-à-vis de 12 souches bactériennes dont les *Salmonella* faisant partie et aux quels toutes les souches des *Salmonella* testées n'ont pas présenté des activités antibactériennes. Cette différence s'explique par les espèces des plantes utilisées.

Etobo [46], montre que sur les 20 extraits de plante testés, un seul a inhibé une souche sur les 5 autres, il s'agit de l'extrait 18 d'*Annas Comosus* et *Nymphaea Lotus* qui avait présenté un diamètre de 15 mm sur la souche E8. Cette divergence s'explique par les plantes utilisées et par les souches testées.

3.2.3 EXTRAITS BRUT CONCENTRÉS

Le tableau 4 présente l'activité antibactérienne des extraits bruts concentrés de *Brassica oleracea*; *Allium cepa* et *Allium schoenoprasum* sur les souches de *salmonella*.

Tableau 4. L'activité antibactérienne des extraits bruts concentrés des alicaments sur les souches de *salmonella*

Souches	<i>Allium cepa</i>		<i>Brassica oleracea</i>	<i>Allium schoenoprasum</i>
	Blanc	Rouge		
S1	0	0	0	0
S2	4	4	0	0
S3	0	0	0	0
S4	0	0	0	0
S5	0	4	0	0
S6	0	0	0	12
S7	0	0	0	14

Le tableau 4 montre que l'extrait brut concentré d'*Allium cepa* a inhibé la souche S2 d'un diamètre de 4 mm pour l'oignon Blanc alors que l'oignon Rouge a montré des zones d'inhibitions de 4 mm de diamètre sur les souches S2 et S5, cependant l'extrait concentré de *Brassica oleracea* n'a pas montré d'activité antibactérienne vis-à-vis des souches de *Salmonella*. Par contre, on observe les zones d'inhibition de 12 mm et 14 mm de diamètres d'*Allium schoenoprasum* sur les souches S6 et S7.

Etobo [46], montre que sur les 20 extraits de plantes testées, 2 avaient inhibé toutes les souches, il s'agit de l'extrait 5 de *Citrus Limon* et l'extrait 19 de *Citrus Limon* et *Aframomum Laurentii*. Le premier extrait avait inhibé toutes les souches avec un diamètre d'inhibition maximal de 21 mm tandis que le diamètre minimal était de 9,5 mm. Pour le second extrait qui avait aussi inhibé toutes les souches, le plus grand diamètre d'inhibition était de 16 mm sur la souche E8 et le plus petit diamètre étant de 9 mm. Cette différence s'explique d'une part par la nature des plantes utilisées et d'autre part par les souches testées.

3.2.4 MIEL

Le tableau 5 présente l'activité antibactérienne du Miel sur les souches de *salmonella*.

Tableau 5. L'activité antibactérienne du Miel sur les souches de *salmonella*

Souches	Miel
S1	21
S2	2
S3	2
S4	0
S5	0
S6	2
S7	0

Il ressort du tableau 5 que le Miel a montré une activité antibactérienne de zone d'inhibition de 21 mm de diamètre sur la souche S1 et des zones inhibitions de 2 mm de diamètre sur les souches S2, S3 et S6.

Nos résultats réconfortent ceux de Belhaj *et al* [48]., qui ont étudié l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine dont ces résultats montrent que, tous les miels qu'ils ont utilisés avaient un effet antibactérien. Les diamètres d'inhibitions étaient de 10 à 44 mm respectivement pour *Salmonella*. Cette différence s'explique d'une part par la nature du Miel utilisée et d'autre part par les souches testées.

Le test ANOVA utilisé pour comparer nos quatre extraits des alicaments a donné une valeur $F = 1$, $df = 3$, $p = 0,4363$. Ainsi, nous pouvons dire qu'il n'existe pas des différences significatives entre nos quatre extraits des alicaments utilisés. Où F : coefficient de Fisher; df : degré de liberté; p : pourcentage.

4 CONCLUSION

La présente étude a permis de faire la caractérisation phénotypique des souches de *Salmonella* antibiorésistantes en vue de les identifier et de tester leurs sensibilités aux alicaments (*Allium cepa*, *Brassica oleracea*, *Allium schoenoprasum* et le Miel).

Les objectifs poursuivis dans cette étude étaient de:

- Caractériser les souches de *salmonella* antibiorésistantes en vue de les identifier et
- Tester *in vitro* l'activité antibactérienne des extraits des alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum* et le Miel) sur les souches de *salmonella* antibiorésistantes.

En confrontant les caractéristiques phénotypiques (morphologiques et biochimiques) de nos 7 souches de *salmonella* à la clé de Monica (2000; 2006; 2014). Nous avons aboutis aux résultats suivants: 42,86% de *Salmonella paratyphi A* et 57,14% de *Salmonella typhi*.

Les extraits des alicaments par la méthode d'aromatogramme nous a permis d'obtenir les résultats suivants:

L'extrait éthéré de l'oignon Blanc a présenté une activité antibactérienne des zones d'inhibitions de 8 mm de diamètre sur la souche S1 et de 18 mm de diamètre sur la souche S7 alors que l'extrait éthanolique d'*Allium schoenoprasum* a présenté une activité antibactérienne des zones d'inhibitions de 2 mm de diamètre sur les souches S2 et S3. L'extrait brut concentré de l'oignon Blanc a présenté une activité antibactérienne d'une zone d'inhibitions de 4 mm de diamètre sur la souche S2 alors que l'oignon Rouge a montré des zones d'inhibitions de 4 mm de diamètre sur les souches S2 et S5 et l'*Allium schoenoprasum* a présenté une activité antibactérienne des zones d'inhibition de 12 mm de diamètre et de 14 mm de diamètres sur les souches S6 et S7 et enfin le Miel a présenté une activité antibactérienne des zones d'inhibitions de 21 mm de diamètre sur la souche S1, et de 2 mm de diamètre sur les souches S2 et S3 et S6.

Par la suite de ces résultats, nous affirmons que la confrontation de nos résultats de caractérisation phénotypiques à la clé de Monica (2014), a montré des diverses espèces alors que les extraits des alicaments utilisés ont montrés des diamètres des zones d'inhibition sur les souches de *salmonella*.

Pour la continuité de cette étude, nous suggérons aux chercheurs:

- De poursuivre la caractérisation génotypique de ces 7 souche de *salmonella*;
- Utiliser d'autres solvants organiques qui peuvent libérer le principe actif.
- Utiliser d'autres alicaments pour tester leurs sensibilités sur les mêmes souches de *salmonella*.

REFERENCES

- [1] Benacer D., Kwai lin T., Haruo W., Savithri D.P., 2010. Characterization of drug-resistant *Salmonella enteric* serotype Typhimurium by antibiograms, plasmids, integrons, resistance genes, and PFGE. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 20 (6): 1042-1052.
- [2] Wain J, Hendriksen RS, Mikoleit M, 2014. Typhoid Fever. *The Lancet* 2014; 385 (9973): 1136-1145.
- [3] Longo D, Fauci A, Kasper D. 2012. *Harrison's principles of internal medicine: Salmonellosis*. 18 th Ed. New York, N.Y.: Mc Graw Hill Medical,.
- [4] White PL, Baker AR, James WO. 1997. Strategies to control *Salmonella* and *campylobacter* in raw poul tryproducts. *Rev. Sci. Tech.*, 16: 525-541. Pmid: 9501366.
- [5] Humphrey T. 2000. Public-health aspects of *Salmonella* infection. In *Salmonella in Domestic Animals*, Way C, Way A (eds). Oxon: CABI Publishing: 245-263. doi.org/10.1079/9780851992617.0245.
- [6] Voetsch AC, Van Gilder TJ, Angulo FJ, Farley MM, Shallow S, Marcus R, Cieslak PR, Deneen VC, Tauxe RV, Emerging Infections Program Food Net Working Group. 2004. Food-Net estimate of the burden of illness caused by non-typhoidal *Salmonella* infections in the United States. *Clin. Infect. Dis.*, 38 (S3): 127-134.
- [7] Guibourdenche M., Roggentin P., Mikoleit M., Fields P.I., Bockemuhl J., Grimont P.A.D. et al., 2010. Supplement 2003-2007 (N°. 47) to the White – Kauffman-Le Minorscheme. *Res. Microbiol.* 161, pp. 26-29.
- [8] Haeghebaert S., Le querrec F., Bouvet P., Gallay A., Espie E., Vaillant V., 2002. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. *BEH*, N° 50: 249.
- [9] Millemann Y., 1998. Les marqueurs épidémiologiques des salmonelles, *Vet. Res.*, 29, 3-19.
- [10] Rodrigue D.C., Tauxe R.V et Rowe B., 1990. International increase in *Salmonella enteritidis*: a new pandemic, *Epidemiology Infect*, 1, 21-27.
- [11] Bell, C., & Kyriaki, A., 2002. *Salmonella*. p. 307-331. In C. Blackburn, P. McClure.
- [12] Bertrand R. B., 2003. Etude de la contamination des milieux internes de l'œuf par *salmonella* sérotype Enteritidis. Thèse, École Nationale Vétérinaire D'Alfort, 106p.
- [13] Brenner F.W., Villar R.G., Angulo F.J., Tauxe R. & Swaminathan B. 2000. Guestcommentary: *Salmonella* Nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology* 38 (7), 2465 - 2467.

- [14] Konaté K, Souza A, Kassi Yomalan T, Dibala IC, Barro N, Millogo-Rasolodimby J, Nacoulma OG 2011. Phytochemical composition, Antioxidant and Anti-inflammatory potential of bioactive fractions from extracts of three medicinal plants traditionally used to treat liver diseases in Burkina Faso. *International Journal of phytomedicine* 3: 406-415.
- [15] Foley SL, Nayak R, Hanning IB, Johnson TJ, Han J, Ricke SC 2011. Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. *Appl. Environ. Microbiol*, 77: 13, 42734279.
- [16] Temelli S, Kahya S, Eyigor A, Carli KT. 2010. Incidence of *Salmonella* Enteritidis in chicken layer flocks in Turkey: results by real-time polymerase chain reaction and International Organization for Standardization culture methods. *Poultry Sciences*, 89: 7, 1406 ñ 1410.
- [17] Bergeron, N. 2009. Caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats de *Salmonella typhimurium* provenant de porcs sains ou septicémiques. Thèse, Université de Montréal. 244 p.
- [18] Grimont P.AD., and Weill F-X., 2007. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9 th edition, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*.
- [19] Organisation Mondiale de la Santé. Rapport sur la santé dans le monde, 1998: la vie au 21e siècle, une perspective pour tous. Genève: OMS, 1999.
- [20] Amélie C.P., 2006. *Salmonella*, salmonelloses bovines: Etat des lieux. épidémiologie en France, thèse, pp 22,23.
- [21] Nostro A, Germano M, D'Angelo V, Cannatelli M. 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lettres en Microbiologie Appliquée* 30: 379-384.
- [22] Christian, G. 1999. Détection rapide de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques dans des infections urinaires à l'aide de la cytofluorométrie en flux. Thèse de doctorat; Université du québec, Fac. de Médecine 132p.
- [23] Angbongbo et Lokonga 2017. Caractérisation des Entérobactéries antibiorésistantes isolées des voies Urogénitales et activité antibactérienne des extraits des Alicaments (*Allium sativum* et *Allium schoenoprasum*) à Kisangani. *Unikis, Fac. des sciences*, 37 p.
- [24] Kalala et Lokonga 2017. Caractérisation des Entérobactéries antibiorésistantes isolées des voies Urogénitales et activité antibactérienne des extraits des Alicaments (*Allium cepa* et *Allium porrum*) à Kisangani. *Unikis, Fac. des sciences*, 34 p.
- [25] Lokonga O. and Dasangba M. 2020. 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 laTshopo, RD Congo) In *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 29 No. 4 Jul. 2020, pp. 1015-1026.
- [26] Delarras, C. 2007. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Ed. EM inter, TEC&Doc. Lavoisier. 476P.
- [27] Monica. C. 2000. *District laboratory practice in tropical countries part 2*. Ed. Cambrige university press 435P.
- [28] Monica. C. 2014. *District laboratory practice in tropical countries Second Edition. part 2*. Ed. Cambrige university press, 434P.
- [29] Singleton, P., 2004. *Bactériologie*, Dunod, paris; 542P.
- [30] Sneath, PH. Mair, N.S. Sharpe, M.E., J.C., 1986. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Willians and Wilkins, London.
- [31] Renaud, Hansen, W. et Bollet, C. 1994. *Manuel de bactériologie Clinique, Volume 2, 2ème éd*, Elsevier, collection Option Bio, Paris, 1053-1128.
- [32] Adams et Wilcok, 1968. *Laboratory experiements in organic chemistry*. 5e edition, The Macmillan, London, pp. 101-123.
- [33] Harborne J.B., Williams C.A. 1983. Flavonoids in the seeds of *Argemone mexicana*: a reappraisal. *Phytochemistry* 1983; 22 (6): 1520-1.
- [34] Bouret, J., 1984. *Le défi de médecine par les plantes*. France-empire, Paris, 345 p.
- [35] Wagner, H., Blandt, S., Zgainski, E., 1984. *Plant Drug Analysis*. Sprig-Verlag, Nex-York, 320 p.
- [36] 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.
- [37] Biomereux, 1980. *Bactériologie*, Mercy-Etoile, France, 179 p.
- [38] 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.
- [39] Caquet, R. 2008. *250 examens de laboratoire. Prescription et Interprétation*. 10è éd. Elsevier Masson, Paris, 437p.
- [40] 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.
- [41] 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.
- [42] 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.

- [43] Deeni Y.Y., Sadiq N.M., 2003. Antimicrobial properties and phytochemical constituents of the leaves of African mistletoe (*Tapinanthus dodoneifolius* (DC) Danser) (Loranthaceae): and ethno medicinal plant of Hansland, Northern Nigeria. *Journal of Ethno pharmacology* 83: 235-240.
- [44] 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.
- [45] Lokonga O., Kwembe K., and Osenge N. 2020. Screening Chimique et étude de l'activité antibactérienne de Cinq Plantes Médicinales (*Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha 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.
- [46] Etobo., K. 2012. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales sur les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani (RDC), thèse inéd. UNIKIS, 142 P.
- [47] Zarrouq, B., 2010. Etude photochimique et activité antibactérienne d'*Anabasis aretioides* au Maroc. Thèse, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar El Mahraz Département de Biologie, Fès. 74p.
- [48] O. Belhaj, I. El Abbadi, T. Ouchbani., 2016. Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine. 22p.
- [49] WHO 2003. Manual for the laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens of public health importance in the developing world, p. 103 - 162.
- [50] Organisation Mondiale de la Santé. 2003. Médecine traditionnelle. Centre des médias, aide mémoire n°135,.
- [51] Hanes D., 2003. Nontyphoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier J. (Eds.) *International Handbook of Food borne Pathogens*, Marcel Dekker: New York, 137-149.