

Caractérisation phénotypique des souches de staphylocoques antibiorésistantes isolées des voies uro-génitales et sensibilité aux alicaments (*Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum*, *Allium sativum* et le Miel) à Kisangani (Province de la Tshopo, RD Congo)

[Phenotypic characterization of antibioresistant staphylococci isolated from the Urogenital tract and susceptibility to food drugs (*Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum*, *Allium sativum* and Honey) in Kisangani (Tshopo Province, DR Congo)]

Jules Lokonga Okenge, Landry Musole Ntwali, and Sylvain Kumba Lubemba

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

Copyright © 2024 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 study was to phenotypically characterize antibiotic-resistant strains of staphylococci isolated from the urogenital tract and to test *in vitro* their sensitivity to extracts of medicinal products (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum*, *Allium sativum* and Honey). The concentrated crude extracts were obtained by the reflux method in which the juice obtained after pressing and filtering. Ethanolic and ethereal extracts obtained respectively by the extraction method using 95% ethanol and petroleum ether. The study of the sensitivity of the strains to the extracts was carried out by the method of diffusion in specific agar (Müller Hinton) on a petri dish containing discs soaked in solutions of the extracts. At the end of the experiments carried out, the following results were obtained: It emerges from the phenotypic characterization (morphological and biochemical) that all the strains of staphylococci studied are in clump and gram positive shell form. They all produced coagulase and catalase. Therefore, they all belong to the species *S. aureus*. The study of the sensitivity of the strains to different extracts of medicinal products reveals that the ethereal extracts are more effective than the concentrated and ethanolic crude extracts. They showed antibacterial activity in the majority of the strains tested. The largest inhibition diameter being in the order of 30 mm, this was achieved with the ethereal extract of *B. oleracea*. Concentrated ethanolic and crude extracts of *B. oleracea* respectively inhibited bacterial growth with a maximum diameter of around 17 and 18 mm. Honey exerted inhibitory activity of up to 17 mm in diameter. The strains were shown to be resistant to ethanolic extracts of *A. cepa*, *A. schoenoprasum* and *A. sativum*. This could be explained by the low concentration of the active ingredients in the solvents used and therefore the extracts were less likely to exert an effective inhibitory activity on the growth of antibiotic resistant strains of *staphylococcus*.

KEYWORDS: Characterization, phenotypic, Staphylococcus, antibiotic resistance, uro-genital tract, sensitivity, food drugs.

RESUME: Caractérisation phénotypique des souches de staphylocoques antibiorésistantes isolées des voies Uro-génitales et sensibilité aux alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum*; *Allium sativum* et le Miel) à Kisangani (RD Congo).

Cette étude a eu comme objectif de caractériser phénotypiquement des souches de staphylocoques antibiorésistantes isolées des voies uro-génitales et de tester *in vitro* leurs sensibilités aux extraits d'aliments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum*, *Allium sativum* et Miel).

Les extraits bruts concentrés ont été obtenus par la méthode de reflux dans laquelle le jus était obtenu après pressage et filtrage. Les extraits éthanoliques et éthérés ont été obtenus par la méthode d'extraction respectivement à l'aide de l'éthanol

à 95% et de l'éther de pétrole. La sensibilité des souches aux extraits a été étudiée par la méthode de diffusion en gélose spécifique (Müller Hinton) sur boîte de Pétri. A l'issue des expériences menées, les résultats suivants ont été obtenus:

Il ressort de la caractérisation phénotypique (morphologique et biochimique) que toutes les souches de staphylocoques étudiées sont de forme coque en amas et gram positif. Elles ont toutes produits de la coagulase et de la catalase. De ce fait, elles appartiennent toutes à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

L'étude de la sensibilité des souches aux différents extraits d'aliments révèle que les extraits étherés sont plus efficaces que les extraits bruts concentrés et éthanoliques. Ils ont montré une activité antibactérienne chez la majorité des souches testées. Le diamètre d'inhibition le plus élevé étant de l'ordre de 30 mm, ceci a été obtenu avec l'extrait étheré de *B. oleracea*. Les extraits éthanoliques et bruts concentrés de *B. oleracea* ont respectivement inhibé la croissance bactérienne avec un diamètre maximum de l'ordre de 17 et de 18 mm. Le Miel a exercé de sa part une activité inhibitrice avec un diamètre maximum de 17 mm.

Les souches se sont montrées résistantes aux extraits bruts concentrés éthanoliques des *A. cepa*, *A. schoenoprasum* et *A. sativum*. Ceci pourrait s'expliquer par la faible concentration des principes actifs dans les solvants utilisés et par conséquent, les extraits ont été moins susceptibles d'exercer une activité inhibitrice efficace sur la croissance des souches de staphylocoques antibiorésistantes.

MOTS-CLEFS: Caractérisation, phénotypique, Staphylocoque, antibiorésistantes, voies uro-génitales, sensibilité, aliments.

1 INTRODUCTION

La résistance bactérienne aux antibiotiques est à l'échelle mondiale un phénomène alarmant et constitue à l'heure actuelle un véritable problème de santé auquel il y a urgence de trouver des solutions palliatives [1; 9; 10].

De nos jours, le nombre d'antibiotiques concernés par la résistance est de plus en plus élevé, menant par conséquent à l'émergence des maladies infectieuses. En effet, certaines bactéries ont développé des mécanismes de résistances leur permettant de résister à l'action des antibiotiques. Et actuellement on note plus de 70% des espèces bactériennes qui causent des infections, résistant au moins à un antibiotique couramment utilisé dans l'antibiothérapie, ce qui pose un défi sérieux à la chimiothérapie [2; 11; 12; 13].

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 [1; 9; 10; 13].

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 positifs que Gram négatifs parmi lesquelles plusieurs entérobactéries, dont *Escherichia coli*, *Enterobacter*, qui d'après leur nom devraient résider dans l'appareil digestif migrent dans les voies génitales [3].

Ces infections peuvent être causées par des bactéries de la famille d'Entérobactériaceae, comme *E. 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; 13; 14; 15].

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, aujourd'hui, pourtant, les bactéries infectieuses deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques: aux Etats-Unis, des épidémies de *S. aureus* résistants à la méthicilline sont connues tandis qu'en France, le taux de staphylocoques dorés résistants à la méthicilline est de 40 % [1; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15].

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, la grossesse, la constipation, la ménopause, l'herpès génital, la transplantation rénale, des troubles de la prostate chez l'homme [4].

Les infections urinaires, lorsqu'elles ne sont pas soignées de façon adéquate, peuvent atteindre les voies hautes du tractus urinaire, 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 fécond, d'une agitation et d'une désorientation sont bien connues surtout chez la personne âgée [5]. La résistance aux antibiotiques entraîne une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et une hausse de la mortalité [4].

Ces dernières décennies, le risque de contracter les maladies infectieuses s'est sensiblement accru en raison de l'émergence et de la propagation des bactéries multi résistantes. En Afrique, ce problème est d'autant plus inquiétant. À titre d'exemple, certaines études réalisées ont montré que l'utilisation de l'Amoxicilline soit seule, soit en association avec l'acide clavulanique, pour le traitement des infections urinaires présentaient un taux de résistance de *E. coli* compris entre 50 et 70%. Par ailleurs, la croissance de l'antibiorésistance de ce germe lors des infections communautaires est considérée comme un phénomène alarmant [6].

Beaucoup d'antibiotiques sont connus, mais leur surconsommation entraîne des résistances de certaines bactéries à certains d'entre eux, et on remarque même des multi-résistances (cas de Staphylocoque doré), au point de rendre à nouveau incurable les premières maladies qui ont été traitées avec succès par les antibiotiques. Ainsi la population de Kisangani serait exposée à cette situation [7].

La résistance bactérienne aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. La problématique actuelle concerne les résistances acquises moins stables que les résistances naturelles.

La résistance peut être acquise par transfert de gènes (acquisition d'un plasmide ou d'un transposon): acquisition, par les bactéries, de gènes codant pour des protéines conférant une résistance accrue à des familles d'antibiotiques (le plasmide comportant plusieurs gènes de résistance). Elles sont transmissibles entre bactéries d'espèces différentes.

À l'heure actuelle, il n'existe pas au niveau mondial de vaccins anti-staphylococcique. La prophylaxie est difficile à réaliser du fait du caractère commensal et ubiquitaire des Staphylocoque. Cependant le Center for Disease Control (CDF) recommande l'application des mesures d'hygiène strictes et d'asepsie rigoureuse pour éviter la dissémination des souches pathogènes [5].

En présence d'une telle problématique, le recours à des stratégies thérapeutiques de lutte s'impose, entre autres, la recherche de nouvelles substances bioactives à même de soulager la population. C'est ainsi que nous avons recouru à la promotion de la recherche des alicaments qui sont une source sûre car, renfermant des principes actifs pouvant permettre de trouver de nouvelles substances bioactives contre les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques. Ce qui justifie notre recherche dont l'objectif général est de caractériser phénotypiquement les souches de staphylocoques antibiorésistantes isolées des voies uro-génitales et d'évaluer leur sensibilité aux extraits d'aliments suivants: *Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum*, *Alium sativum* et le Miel à Kisangani.

La présente étude contribue à la valorisation des alicaments en cherchant des substances naturelles actives sur les agents bactériens de plus en plus résistants aux antibiotiques.

Ce travail revêt ainsi un intérêt particulier dans le domaine de la santé publique du fait qu'il aborde un problème crucial auquel est confrontée l'humanité toute entière dans son quotidien et pourrait rendre service aux autorités sanitaires qui doivent assurer le bien-être des populations.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATÉRIEL

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

2.1.1 MATÉRIEL BACTÉRIOLOGIQUE

Dix souches de staphylocoques antibiorésistantes isolées par Lokonga (2020) à partir des produits pathologiques humains (urines, sécrétions vaginales, cervico-vaginales, cervicales, urétrales, sperme) et conservées dans la gélose molle au Laboratoire de microbiologie de la faculté des Science de l'Université de Kisangani ont utilisées.

Ces bactéries s'étaient révélées résistantes à une gamme d'antibiotiques: Ciprofloxacine, Chloramphénicol, Moxy-clav, Ampicilline, Gentamycine, Cotrimoxazole, acide Nalidixique, Erythromycine, Doxycycline, Céfotaxime, Cloxacilline, Clamoxil, et Tazex.

2.1.2 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les alicaments ci-dessous ci-après; *Allium sativum* (Famille: Alliaceae), *Allium cepa* (Famille: Liliaceae), *Allium schoenoprasum* (Famille: Amaryllidacée), *Brassica oleracea* (Famille: Brassicaceae) et le miel ont été utilisés pour tester la sensibilité des souches antibiorésistantes.

La figure 1 donne les illustrations morphogénétiques des espèces végétales utilisées et le miel.

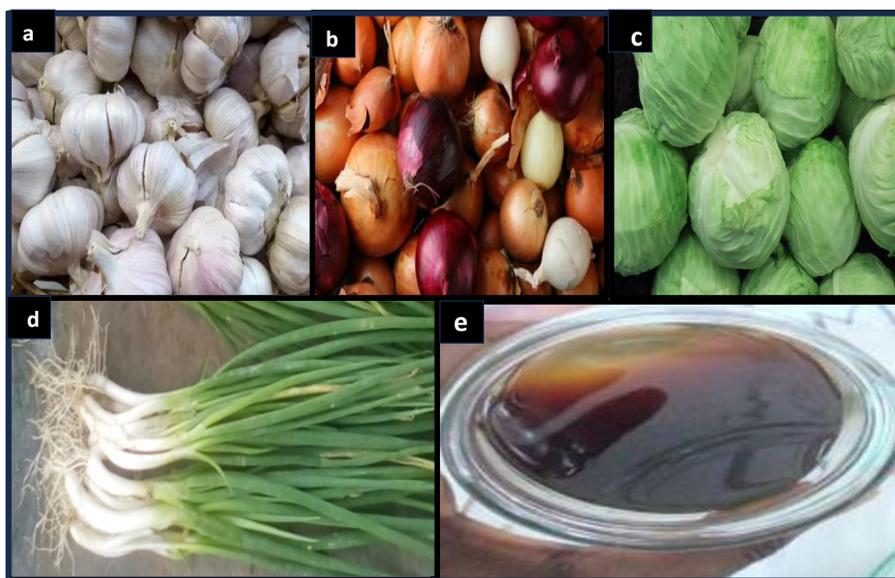


Fig. 1. Illustrations morphogénétiques des espèces végétales et le miel: a) *Allium sativum* b) *Allium cepa* c) *Brassica oleracea* d) *Allium schoenoprasum* et e) Miel

2.2 MÉTHODES

2.2.1 CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

La caractérisation phénotypique des 10 souches de Staphylocoques antibiorésistantes était basée sur les caractéristiques morphologiques et biochimiques [32; 33; 34; 35; 36; 37].

2.2.2 TEST DE SENSIBILITÉ

2.2.2.1 PRÉPARATION DES EXTRAITS

a) Extraits bruts concentrés

Ces extraits ont été obtenus par la méthode de reflux dans laquelle le jus obtenu après pressage et filtrage. 10ml de jus était placé dans chaque tube stérile puis laissé évaporer dans l'étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un volume de 2ml [28; 31; 38; 39].

Pour obtenir les différents extraits des plantes, la méthode d'extraction séquentielle par des solvants successifs a été utilisée [20; 22; 25]. Il s'agit de l'extrait obtenu par l'hydro distillation (extraits aqueux), l'extrait éthéré et de l'extrait alcoolique. Les alicaments utilisés ont été broyés dans un mortier avec pilon jusqu'à l'obtention des broyats.

b) 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; 30; 31; 34; 35; 38; 39; 41].



Fig. 2. Macération des alicaments épluchés dans l'éther de pétrole

c) 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 été évaporé à l'air libre jusqu'à 2 ml d'extrait dans chaque tube [19; 20; 22; 26; 28; 34; 35; 38; 39].



Fig. 3. 10 gr des alicaments épluchés dans 50ml de l'alcool 95%, en macération pendant 48 heures

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 [20; 21; 30; 31; 34; 35; 38; 39].

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; 6; 11; 13; 19; 33].

Les disques imprégnés des différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose de Muller Hinton. 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 par Pieds à coulisse [13; 30; 31; 32; 33; 34; 35; 36; 37].



Fig. 4. a) Dépôt de disques au moyen d'une pince stérile.; b) Incubation dans l'étuve; c) Observation macroscopique de zone d'inhibition après incubation

2.3 ANALYSES STATISTIQUES

Le test ANOVA réalisé par le logiciel R version 2.10.0 a été utilisé pour comparer les moyennes de diamètres d'inhibition de croissance de quatre différents extraits d'aliments.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus sur la caractérisation phénotypique (morphologique et biochimique) sont consignés dans le tableau 1. Ceux obtenus des extraits étherés, éthanoliques et bruts concentrés sont respectivement repris dans les tableaux 2, 3 et 4. La sensibilité aux alicaments et au miel est enfin donnée par le tableau 5.

3.1 CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES SOUCHES DES STAPHYLOCOQUES

Pour confirmer l'identité de nos souches, la caractérisation a concerné quelques principaux tests morphologiques et biochimiques (Tableau 1).

Tableau 1. Caractérisation morphologique et biochimique des souches des *Staphylocoques*

Souches	Caractères morphologiques		Caractère biochimiques		Identification
	Forme	Gram	Catalase	Coagulase	
S1	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S2	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S3	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S4	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S5	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S6	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S7	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S8	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S9	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>
S10	Coque en amas	+	+	+	<i>S. aureus</i>

Légende: += positif; S = souche des *staphylocoques*.

Ce tableau 1 révèle que toutes les souches testées sont de forme coque en amas, sont gram positives et produisent toutes de la coagulase et aussi de la catalase. Elles appartiennent de ce fait à l'espèce *Staphylococcus aureus* [32; 33; 34; 35; 36; 37].

3.2 TEST DE SENSIBILITÉ

Les tableaux 2, 3, 4 et 5 reprennent les résultats de la sensibilité des souches aux différents extraits (éthérés, éthanoliques, bruts concentrés et de miel) pour différents alicaments (*Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum*, *Allium sativum* et miel).

3.2.1 SENSIBILITE DES SOUCHES AUX EXTRAITS ÉTHÉRES

L'activité antibactérienne des extraits éthérés de *Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum* et *Allium sativum* sur les souches de *S. aureus* est reprise dans le tableau 2.

Tableau 2. Activité antibactérienne des extraits éthérés des alicaments sur les souches de *S. aureus*

Souches	<i>Alium cepa</i>		<i>B. oleracea</i>	<i>A. schoenoprasum</i>	<i>A. sativum</i>
	Blanc	Rouge			
S1	10	15	20	8	10
S2	10	15	25	9	12
S3	10	15	15	10	10
S4	13	16	27	10	13
S5	10	13	20	9	10
S6	5	5	14	5	7
S7	15	17	30	10	18
S8	1	2	5	2	4
S9	9	10	25	8	10
S10	10	13	23	11	12

Il ressort de ce tableau 2 que la majorité des souches sont sensibles aux extraits éthérés de différents alicaments étudiés. La plus importante activité antibactérienne est réalisée par *Brassica oleracea* (chou) qui montre un diamètre d'inhibition maximum de 30 mm sur la souche S7. Les plus faibles diamètres (1mm et 2mm) sont réalisés par *Allium cepa* sur la S8. De tous les alicaments, *Brassica oleracea* a réalisé une activité antibactérienne la plus efficace.

La tendance de ce résultat rejoint ceux de Lokonga *et al.* [40], qui avaient remarqué 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. La plupart de nos résultats par rapport à l'oignon utilisé sont supérieurs à 8 mm spécifiquement autour des souches S6 et S8 mais inférieur à 18 mm particulièrement au reste de nos extraits d'oignons rouge tout comme blanc. Cette différence s'explique par les espèces bactériennes testées.

Par contre Lokonga *et al.*, [41] montrent qu'il n'y avait pas d'inhibition pour les extraits éthérés ou aucune activité antibactérienne n'a été observée. Cette différence s'explique d'une part, par les espèces végétales utilisées et d'autre part, par les bactéries testées.

3.2.2 SENSIBILITE DES SOUCHES AUX EXTRAITS ÉTHANOLIQUE

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

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

Souches	<i>Allium cepa</i>		<i>B.oleracea</i>	<i>A. schoenoprasum</i>	<i>A. sativum</i>
	Blanc	Rouge			
S1	10	15	10	10	10
S2	0	0	0	0	0
S3	10	9	15	10	15
S4	8	10	17	9	10
S5	9	0	3	2	0
S6	0	0	0	0	0
S7	5	2	3	5	6
S8	0	0	0	0	0
S9	0	0	2	0	1
S10	10	10	15	10	10

Il ressort de ce tableau 3 que le diamètre le plus élevé est réalisé par le *Brassica oleracea*, soit 17 mm sur la souche S4. Le plus faible par *Allium sativum* sur la souche S9 (1 mm). D'autres souches sont résistantes à tous les alicaments étudiés. Il s'agit notamment des souches S1, S6 et S8 où aucune activité antibactérienne n'a été observée.

En confrontant nos résultats à ceux de Lokonga *et al.*, [41] montrent que l'extrait éthanolique avaient présenté des zones d'inhibitions de 9 mm de diamètre pour *Anthonotha macrophylla* sur les souches S11, S12 et S13 de *Salmonella* et pour *Azadirachtaindica* il y avait une zone d'inhibition de 9 mm de diamètre sur la S7.

Nous remarquons que nos résultats sont supérieurs aux résultats de Lokonga *et al* [41]. Cette différence s'explique d'une part par les espèces des plantes utilisées et d'autre part par les espèces bactériennes testées.

Par la suite ce résultat tante de rejoindre ceux de Lokonga *et al.* [42], qui avaient trouvé pour l'extrait éthanolique de l'*Allium schoenoprasum* présentant 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.

La plupart de nos résultats par rapport à *Allium schoenoprasum* sont supérieurs à 2mm spécifiquement pour les souches S1, S3, S4, S7, S10.

Les extraits éthanoliques de *Brassica oleracea* ont exercé d'activité antibactérienne autour des souches S1, S3, S4, S5, S7, S10 et le reste de nos extraits *Brassica oleracea* n'ont pas exercé d'activité antibactérienne sur les souches S2, S6, S8, S9.

Les extraits éthanoliques d'*Allium cepa* ont exercé l'activité antibactérienne pour les souches S1, S3, S4, S5, S7, S10 et le reste de nos extraits d'*Allium cepa* n'ont pas exercé d'activité antibactérienne particulièrement aux souches S2, S6, S8 et S9. Cette nuance s'explique par les bactéries testées.

Contrairement à l'étude réalisée par Kalala et Lokonga [43], qui ont utilisé l'extrait éthanolique de l'oignon et poireau sur les entérobactéries antibiorésistantes, aucune activité antibactérienne n'a été observée.

3.2.3 SENSIBILITE DES SOUCHES AUX EXTRAITS BRUTS CONCENTRES

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

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

Souches	<i>Allium cepa</i>		<i>B. oleracea</i>	<i>A. schoenoprasum</i>	<i>A. sativum</i>
	Blanc	Rouge			
S1	9	10	15	10	10
S2	7	10	15	10	8
S3	10	15	20	9	10
S4	9	11	15	10	14
S5	8	12	16	12	16
S6	9	10	18	11	15
S7	5	6	8	6	7
S8	8	7	5	7	6
S9	11	10	12	10	10
S10	10	10	15	11	12

Le tableau 4 montre que l'extrait brut concentré de *Brassica oleracea* a inhibé la souche S6 d'un diamètre d'inhibition maximum de 18 mm. En outre l'Oignon blanc dans la souche S7 et le chou dans la souche S8 ont inhibé la croissance de staphylocoques avec un diamètre d'inhibition minimum de 5 mm. Et pour les restes des extraits ont inhibé la croissance de staphylocoques avec de diamètre d'inhibition spécifique.

La tendance de ce résultat rejoint ceux de Lokonga *et al.* [41], qui avaient trouvé pour l'extrait brut concentré d'*Allium cepa* avait 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, il avait observé les zones d'inhibition de 12 mm et 14 mm de diamètres d'*Allium schoenoprasum* sur les souches S6 et S7.

La plupart de nos résultats par rapport à *Allium cepa* sont supérieurs à 4 mm pour toutes nos souches. Nous remarquons que tous nos extraits ont exercé une activité antibactérienne supérieure aux résultats de Lokonga *et al.* Cette distinction s'explique d'une part par les espèces des plantes utilisées et d'autre part par les espèces bactériennes testées.

Contrairement à l'étude réalisée par Angbongbo et Lokonga [44] l'extrait brut concentré des deux alicaments utilisés, à savoir l'ail et la ciboulette n'avaient pas une activité antibactérienne sur les souches testées. Cette divergence peut s'expliquer par les espèces bactériennes testées.

3.2.4 SENSIBILITE DES SOUCHES AUX EXTRAITS DE MIEL

Le tableau 5 présente l'activité antibactérienne du Miel sur les souches de staphylocoques

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

Souches	Miel
S1	15
S2	0
S3	15
S4	17
S5	5
S6	0
S7	4
S8	2
S9	1
S10	5

Le tableau 5 présente l'activité antibactérienne du Miel sur les souches de staphylocoques. Nos résultats réconfortent ceux de Belhaj *et al.* [22] qui ont étudié l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine sur les souches de *Salmonella* dont les 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 bactéries testées.

La tendance de ce résultat rejoint ceux de Lokonga et al. [40], qui avaient trouvé pour le Miel 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 pour les souches S2, S3 et S6 de *Salmonella*. La plupart de nos résultats par rapport au miel sont inférieurs à la valeur maximale de zone d'inhibition trouvée par Lokonga *et al.* [40], spécifiquement sur toutes nos souches testées. Cette différence s'explique d'une part par la qualité du miel et d'autre part par les espèces bactériennes testées.

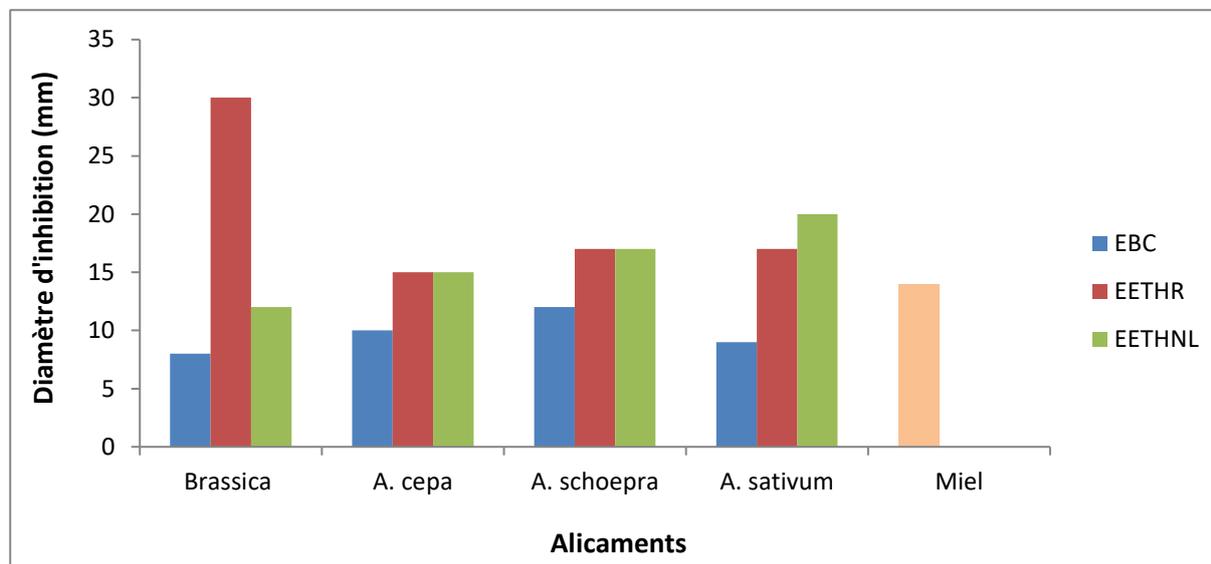


Fig. 5. Variation en fonction de diamètre d'inhibition (en mm) des extraits d'aliments (*Brassica oleracea*, *Allium cepa*, *Allium schoenoprasum*, *Allium sativum* et le Miel). EBC=Extrait brut concentré; EETHR=Extrait étheré; EETHNL= Extrait éthanolique

Les tests de l'activité antibactérienne de nos 4 extraits des alicaments illustrés dans la figure 5, nous montrent que les extraits étherés de nos alicaments ont réagi sur toutes nos dix souches.

Une comparaison de ces différents extraits montre que l'activité est élevée pour les extraits étherés. En observant ces résultats, nous remarquons que les extraits étherés ont une activité supérieure par rapport aux autres extraits.

Nous pensons que les principes actifs sont des concentrations plus élevées que celles susceptibles de provoquer une résistance de la croissance bactérienne.

La résistance bactérienne chez d'autres extraits pourrait s'expliquer par la lutte de forces et de puissances de précipitations qui existeraient entre les différents principes actifs ou à la présence d'un autre principe non détecté qui interférerait *in Vivo* avec le principe actif ou au fait que dans certains organes des plantes, le principe agissait indirectement en stimulant le mécanisme immunitaire *in vivo* Mboyangawo [21] ou encore au phénomène d'interférences qui existerait entre divers bio-substances pouvant accroître ou diminuer *in vitro* la biodisponibilité de la substance présentant une action thérapeutique Morel [45].

L'activité comparée des extraits obtenus par la méthode d'extraction séquentielle par de solvants successifs a révélé que tous les extraits utilisés, ceux à l'éther de pétrole ont été les plus actifs et que les extraits bruts concentrés et éthanoliques ont inhibé faiblement la croissance bactérienne. Ces résultats diffèrent de celui de Kumba [20] chez qui de tous les extraits utilisés, les extraits éthanoliques ont été plus actifs, suivi des extraits à l'éther di éthylique et enfin ceux à l'éther de pétrole. Cela nous pousse à penser que les groupes phytochimiques dissous dans l'éther di éthylique et l'éthanol à 95 % n'ont pas été suffisants pour inhiber la croissance bactérienne.

3.3 ANALYSE COMPARATIVE DE NOS EXTRAITS

Le test ANOVA a été utilisé pour comparer les quatre extraits des alicaments (Tableau 6).

Tableau 6. Comparaison des extraits d'alicaments par le test d'Anova

ANOVA test					
Source	Df	SumSq	MeanSq	F value	Pr (>F)
Extrait	4	24080.1	6020.02	23.08	0.0013***
Residuals	49	11739.8	260873		

Il ressort de ce tableau qu'il existe une différence très significative ($p < 0,01$) entre les extraits d'alicaments étudiés.

4 CONCLUSION ET SUGGESTIONS

Au terme de notre étude, qui était de caractériser phénotypiquement les souches de staphylocoques antibiorésistantes isolées des voies uro-génitales et de tester *in vitro* leurs sensibilités aux extraits d'alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum*, *Allium sativum* et le Miel).

Les objectifs poursuivis dans cette étude étaient de:

- Caractériser phénotypiquement les souches de staphylocoques antibiorésistantes ;
- Tester *in vitro* l'activité antibactérienne de différents extraits des alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa*; *Allium schoenoprasum*, *Allium sativum* et le Miel) sur les souches de staphylocoques antibiorésistantes.

Les extraits bruts concentrés ont été obtenus par la méthode de reflux dans laquelle le jus obtenu après pressage et filtrage. Les extraits éthanoliques et étherés obtenus respectivement par la méthode d'extraction à l'aide de l'éthanol à 95% et de l'éther de pétrole. L'étude de la sensibilité des souches aux extraits a été faite par la méthode de diffusion en gélose spécifique (Müller Hinton) sur boîte de Pétri contenant des disques imbibés des solutions des extraits.

A l'issu des expériences menées, les résultats suivants ont été obtenus:

Il ressort de la caractérisation phénotypique (morphologique et biochimique) que toutes les souches de staphylocoques étudiées sont de forme coque en amas et gram positives. Elles ont toutes produit de la coagulase et de la catalase. De ce fait, elles appartiennent toutes à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

L'étude de la sensibilité des souches aux différents extraits d'alicaments révèle que les extraits étherés sont plus efficaces que les extraits bruts concentrés et éthanoliques. Ils ont montré une activité antibactérienne chez la majorité des souches testées. Le diamètre d'inhibition le plus élevé étant de l'ordre de 30 mm, ceci a été obtenu avec l'extrait étheré de *B. oleracea*. Les extraits éthanoliques et bruts concentrés de *B. oleracea* ont respectivement inhibé la croissance bactérienne avec un diamètre maximum de l'ordre de 17 et de 18 mm. Le Miel a exercé une activité inhibitrice de l'ordre de 17 mm de diamètre maximum.

Les souches se sont montrées résistantes aux extraits éthanoliques des *Allium cepa*, *Brassica oleracea*, *Allium schoenoprasum* et *Allium sativum*. Ceci pourrait s'expliquer par la faible concentration des principes actifs dans les solvants utilisés et par conséquent, les extraits ont été moins susceptibles d'exercer une activité inhibitrice efficace sur la croissance des souches de staphylocoques antibiorésistantes.

Pour la continuité de cette étude, nous suggérons ce qui suit:

AUX CHERCHEURS:

- D'approfondir cette étude en se basant sur la caractérisation génotypique pour une précision plus rigoureuse
- Utiliser d'autres solvants organiques qui peuvent libérer mieux le principe actif
- Nous souhaitons que les études ultérieures soient menées sur l'extraction et la purification des principes actifs responsables de l'inhibition de la croissance des bactéries manifestant une multi résistance aux antibiotiques
- Utiliser d'autres alicaments pour tester leurs sensibilités sur les mêmes souches de staphylocoques

REFERENCES

- [1] Aires-de-Sousa M., 2017: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* among Animals: Current Overview. *Clinical Microbiology and Infection*; vol 23, no 6, pp. 373–380.
- [2] Chardon, Hélène, and Hubert Brugère, 2014: Usages Des Antibiotiques En Élevage et Filières Viandes. Centre d'Information Des Viandes. p. 373–380.
- [3] Okon, K. O., N. B. Adamu, U. M. Askira, T. M. Isyaka, S. G. Adamu, and A. Mohammed, 2014: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Colonization Rate among Ruminant Animals Slaughtered for Human Consumption and Contact Persons in Maiduguri, Nigeria. « *African Journal of Microbiology Research*, Vol 8; no 27. P 2643–2649.
- [4] Lekkerkerk, W. S. N., Nienke van de Sande-Bruinsma, M. A. B. van der Sande, Aimée Tjon-A-Tsien, Arina Groenheide, Anja Haenen, Aura Timen, P. J. van den Broek, W. J. B. van Wamel, and A. J. de Neeling, 2012: «Emergence of MRSA of Unknown Origin in the Netherlands. *Clinical Microbiology and Infection*; vol 18, no 7. P656–661.
- [5] Havaei, Seyed Asghar, Behnaz Assadbeigi, Bahram Nasr Esfahani, Nafiseh Sadat Hoseini, Nahid Rezaei, and Seyed Rouhollah Havaei, 2015: «Detection of *mecA* and Enterotoxin Genes in *Staphylococcus aureus* Isolates Associated with Bovine Mastitis and Characterization of Staphylococcal Cassette Chromosome Mec (SCCmec) in MRSA Strains.» *Iranian Journal of Microbiology*; Vol 7 no 3. P 161–67.
- [6] Marshall, Bonnie M., and Stuart B. Levy, 2011: «Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health.» *Clinical Microbiology Reviews*; vol 24, no 4. P 718–733.
- [7] Etobo K., 2007: L'étude de l'activité bactérienne des extraits de quelques plantes médicinales sur les souches isolées résistantes de sang transfusé à Kisangani (RDC). DEA inédit, Unikis, Fac. des sciences, pp 30-81.
- [8] Codex stan norme pour le miel 12-1981, (2001) p. 373–380.
- [9] Agabou A., Zouleikha O., NgbaEssebe C., Khemissi S., Tedj Eddine Chehboub M., Ilyes Bey Chehboub, Sotto A., Catherine Dunyach-R. et Lavigne J-P., 2017: «Emergence of Nasal Carriage of ST80 and ST152 PVL+ *Staphylococcus aureus* Isolates from Livestock in Algeria.» p. 373–380.
- [10] Alzohairy, Mohammad A, 2011: «Colonization and Antibiotic susceptibility Pattern of Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) among Farm Animals in Saudi Arabia.» *African Journal of Bacteriology Research*; vol 3, no 4, P 63–68.
- [11] Chaturvedi, Parul, Amit Kumar Singh, Amit Kumar Singh, snehanshushukla, and Loveleena Agarwal. «Prevalence of Mupirocin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Among Patients Admitted to a Tertiary Care Hospital, 2014: » *North American Journal of Medical Sciences*; vol 6, no 8. P 403–7.
- [12] Costa, Ana Rita, Deivid WF Batistão, Rosineide M. Ribas, Ana Margarida Sousa, Maria Olívia Pereira, and Claudia M. Botelho, 2013: «*Staphylococcus aureus* Virulence Factors and Disease.» *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education 1*, P 702–710.
- [13] Crossley, Kent, David Loesch, Barbara Landesman, Karen Mead, Myra Chern, and Richard Strate, 1979: «An Outbreak of Infections Caused by Strains of *Staphylococcus aureus* Resistant to Methicillin and Aminoglycosides. I. Clinical Studies.» *The Journal of Infectious Diseases*, vol 139, no 3. P 273–79.
- [14] Dios Caballero, Juan de, María Dolores Pastor, Ana Vindel, Luis Máiz, Genoveva Yagüe, Carme Salvador, Marta Cobo, María-Isabel Morosini, Rosa del Campo, and Rafael Cantón, 2016: «Emergence of Cfr-Mediated Linezolid Resistance in a Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Epidemic Clone Isolated from Patients with Cystic Fibrosis.» *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; vol 60, no 3. P 1878–1882.
- [15] Eriksson, Jacob, Carmen Espinosa-Gongora, Inga Stamphøj, Anders Rhod Larsen, and Luca Guard Abassi, 2013: «Carriage Frequency, Diversity and Methicillin Resistance of *Staphylococcus aureus* in Danish Small Ruminants.» *Veterinary Microbiology*; Vol 163 no 1. P110–15.
- [16] Gibert, C., and J. L. Trouillet, 2001: «Traitement Des Infections À Staphylocoques Résistants À La Mécicilline: Optimisation Des Traitements Disponibles Ou Utilisation de Nouvelles Molécules ?» *Réanimation*, vol 10, no 3. p 329–335.
- [17] Grace, Delia, and Alexandra Fetsch, 2018: «*Staphylococcus aureus*—A Foodborne Pathogen: Epidemiology, Detection, Characterization, Prevention, and Control: An Overview.» In *Staphylococcus aureus*. Elsevier. P 3–10.
- [18] Haran, K. P., S. M. Godden, D. Boxrud, S. Jawahir, J. B. Bender, and S. Sreevatsan, 2012: «Prevalence and Characterization of *Staphylococcus Aureus*, Including Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*, Isolated from Bulk Tank Milk from Minnesota Dairy Farms.» *Journal of Clinical Microbiology*; Vol 50 no 3. P 688–95.
- [19] Institut Pasteur, 1983: Antibiogramme pasteur, détermination de la sensibilité aux agents antibactérien, abaques de lecture, 16p.
- [20] Kumba, L, 1999: Évaluation de l'activité bactérienne in-vitro de quelques plantes médicinales sur les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes aux antibiotiques courant à Kisangani. Mémoire inédit, fac. Sc., Unikis, 31p.

- [21] Mboyangawo, Y, 1997: Étude chimique et activité comparée de quelques plantes médicinales sur les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani. Mémoire inédit, Fac. SC., Unikis. 56P.
- [22] Belhaj O., I. El Abbadi, T. Ouchbani, 2016: Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine. 22p.
- [23] Otsuka, T., H. Zaraket, T. Takano, K. Saito, S. Dohmae, W. Higuchi, and T. Yamamoto, 2007: «Macrolide–lincosamide–streptogramin B Resistance Phenotypes and Genotype among *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates in Japan.» *Clinical Microbiology and Infection*; vol 13, no 3. P 325–27.
- [24] Wang, Dengfeng, Zhicai Wang, Zuoting Yan, Jianyong Wu, Tariq Ali, Jianjun Li, YanliLv, and Bo Han, 2015: «Bovine Mastitis *Staphylococcus Aureus*: Antibiotic Susceptibility Profile, Resistance Genes and Molecular Typing of Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive Strains in China.» *Infection, Genetics and Evolution*; vol, no 31. P 9–16.
- [25] Werckenthin, Christiane, Marisa Cardoso, Jean-Louis Martel, and Stefan Schwarz, 2001: «Antimicrobial Resistance in Staphylococci from Animals with Particular Reference to Bovine *Staphylococcus aureus*, Porcine *Staphylococcus Hyicus*, and Canine *Staphylococcus Intermedius*.» *Veterinary Research*, vol 32, no 3–4. P 341–362.
- [26] Yves, Le loir, and Gantier Michel, 2009: *Staphylococcus aureus*. Lavoisier. p 329–335.
- [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] 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.
- [30] Ades Okan 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] 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.
- [32] Delarras, C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Ed. EM inter, TEC&Doc. Lavoisier. 476P.
- [33] Monica. C. 2000. District laboratory practice in tropical countries part 2. Ed. Cambridge university press 435P.
- [34] Monica. C. 2014. District laboratory practice in tropical countries Second Edition. part 2. Ed. Cambridge university press, 434P.
- [35] Singleton, P., 2004. Bactériologie, Dunod, paris; 542P.
- [36] Sneath, PH. Mair, N.S. Sharpe, M.E., J.C., 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology. Willians and Wilkins, London.
- [37] Renaud, Hansen, W. et Bollet, C. 1994. Manuel de bactériologie Clinique, Volume 2, 2ème éd, Elsevier, collection Option Bio, Paris, 1053-1128.
- [38] Adams et Wilcok, 1968. Laboratory experiements in organic chemistry. 5e edition, The Macmillan, London, pp. 101-123.
- [39] 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.
- [40] Lokonga O., Kumbonyeki I., and Etobo K., 2020. 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) IN *International Journal of Innovation and Scientific Research* ISSN 2351-8014 Vol. 51 No. 2 Nov. 2020, pp. 61-74 © 2020 Innovative Space of Scientific Research Journals <http://www.ijisr.issr-journals.org/>.
- [41] Lokonga O., Kwembe K., and Osenge N. 2020. Screening chimique et etude de l'activite antibacterienne de cinq plantes médicinales (*Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Trema orientalis*, *Citruslimon* et *Ananas comosus*) sur les souches de *salmonella* antibioresistantes a kisangani (rd congo) in *International Journal of Innovation and Scientific Research* ISSN 2351-8014 Vol. 48 No. 2 May 2020, pp. 70-87. © 2020 Innovative Space of Scientific Research Journals <http://www.ijisr.issr-journals.org/>.
- [42] O. Lokonga and M. Dasangba 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) In *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 29 No. 4 Jul. 2020, pp. 1015-1026 © 2020 Innovative Space of Scientific Research Journals <http://www.ijias.issr-journals.org/>.
- [43] 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.
- [44] 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.
- [45] Morel, J.M, 1990. Évolution des concepts en physiothérapie in revue de phytothérapie pratique numéro 5, Ed. Amère, Paris, 4-5.