



Université d'Abomey-Calavi (Bénin)

Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Terre

Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie
des Viandes

Université de Liège (Belgique)

Faculté de Médecine Vétérinaire

Département des sciences des Denrées Alimentaires
Service d'Analyse des Denrées Alimentaires

EVALUATION DE L'IMPACT DES ANTIBIOTIQUES ET DES PESTICIDES UTILISES EN ELEVAGE ET EN AGRICULTURE SUR LA QUALITE SANITAIRE DE LA VIANDE BOVINE CONSOMMEE AU NORD-EST DU BENIN

EVALUATION OF THE IMPACT OF ANTIBIOTICS AND PESTICIDES USED IN LIVESTOCK AND AGRICULTURE ON THE SAFETY OF BOVINE MEAT CONSUMED IN THE NORTH-EAST OF BENIN

Sèmanou Robert DOGNON

Thèse en cotutelle présentée en vue de l'obtention du grade de :
Docteur de l'Université d'Abomey-Calavi, spécialité Normes et Contrôle de Qualité des Denrées Alimentaires
Docteur de l'Université de Liège, en Sciences Vétérinaires

Année académique 2018-2019



UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI (BENIN)
ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE ET DE LA
TERRE
LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE ANIMALE ET
TECHNOLOGIE DES VIANDES



UNIVERSITE DE LIEGE (BELGIQUE)
FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DES DENREES
ALIMENTAIRES
SERVICE D'ANALYSE DES DENREES ALIMENTAIRES

Evaluation de l'impact des antibiotiques et des pesticides utilisés en élevage et en agriculture sur la qualité sanitaire de la viande bovine consommée au Nord-Est du Bénin

Evaluation of the impact of antibiotics and pesticides used in livestock and agriculture on the safety of bovine meat consumed in the North-East of Benin

Sèmanou Robert DOGNON

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de :
Docteur en Normes et Contrôle de Qualité des Denrées Alimentaires (UAC)
Docteur en Sciences Vétérinaires (ULiège)

Année académique 2018-2019

Jury composé de :

Présidents : Professeur Mutien-Marie GARIGLIANY, ULiège, Belgique (*pour la défense privée*),
Professeur Souaïbou FAROUGOU, UAC, Bénin (*pour la défense publique*).

Promoteurs : Professeur Marie-Louise SCIPPO (ULiège, Belgique),
Professeur Issaka YOUSAO ABDOU KARIM (UAC, Bénin).

Rapporteurs : Professeur Guy Apollinaire MENSAH (INRAB, Bénin),
Professeur Nicolas ANTOINE-MOUSSIAUX (ULiège, Belgique),
Professeur Mahamadou DAHOUDA (UAC, Bénin),
Professeur Pascal GUSTIN (ULiège, Belgique).

Examineurs : Professeur Jean-Paul DEHOUX (UCLouvain, Belgique),
Professeur Marc KPODEKON (UAC, Bénin),
Professeur Jean-Luc HORNICK (ULiège, Belgique),
Professeur Frédéric ROLLIN (ULiège, Belgique).

Remerciements

Nos premiers remerciements s'adressent à ***l'Eternel Dieu tout puissant*** qui nous a donné la vie, nous guide et nous a inspiré pour la rédaction de cette thèse. Que son nom soit glorifié à jamais !

Nos sincères remerciements à nos promoteurs de thèse, le ***Professeur Issaka YOUSAO ABDOU KARIM*** (UAC, Bénin) et le ***Professeur Marie-Louise SCIPPO*** (ULiège, Belgique). Merci pour avoir accepté d'encadrer ce travail auquel vous avez contribué de toutes les manières pour sa réussite. Vos soutiens moraux, matériels, financiers et surtout académiques nous ont beaucoup aidés. Nous avons eu la chance et l'honneur d'être encadrés par vos précieuses mains de maître, que vous en soyez bénis !

Toutes nos gratitudeux aux membres de notre comité de thèse, ***Professeur Nicolas ANTOINE-MOUSSIAUX*** (ULiège), ***Professeur Pascal GUSTIN*** (ULiège), ***Professeur Mahamadou DAHOUDA*** (UAC), pour avoir accepté de nous suivre pendant notre cursus doctoral, merci.

Merci à nos ***honorables membres de jury*** pour l'attention particulière accordée à ce travail que vous avez accepté d'évaluer. Vos différentes observations ont beaucoup contribué à l'amélioration de cette thèse.

Nous remercions toutes les autorités et professeurs de l'UAC et de l'ULiège.

Une spéciale reconnaissance au Prof. ***Marie-Louise SCIPPO*** et à toute son équipe de travail qui nous a accueilli dans une famille de fraternité au Laboratoire d'Analyse des Denrées Alimentaires à Liège et a subi nos caprices quotidiens dans la réalisation de nos travaux. Toute notre gratitude à notre cher ami ***Guy DEGAND*** pour sa forte contribution active à nos travaux de laboratoire. Un merci particulier au ***Dr Caroline DOUNY*** pour ses soutiens hautement scientifiques à nos travaux. Nous nous en voudrions de ne pas citer nos amis ***François BROSE*** et ***Christine BAL*** et tous les autres membres du Département des Sciences des Denrées Alimentaires de l'ULiège. Merci à Madame ***Jacqueline DEGAND*** pour sa gentillesse et sa contribution à ce travail. Infiniment merci pour cet amour qui nous rend heureux tous les jours.

Merci au personnel du Laboratoire de Biotechnologie Animale et de Technologie des Viandes du Prof. ***Issaka YOUSAO ABDOU KARIM*** en l'occurrence ***Monsieur Serge AHOUNOU*** et le Dr ***Chakiratou SALIFOU*** pour vos sages conseils.

Merci au projet ***DREAM ACP*** et à la bourse de la Fondation ***Alice Seghers*** (Appui coopération Nord/Sud) du ***PACODEL*** (ULiège) pour avoir financé nos séjours à Liège.

Nos remerciements au ***Dr Philippe DELAHAUT*** et aux membres du groupe CER de Marloie pour les analyses par la CL-SM/SM.

Merci au ***Directeur du Campus Numérique Francophone de l'AUF à Cotonou*** et à tout son personnel pour avoir mis à notre disposition leur système de visioconférence pour la défense de notre thèse.

Merci aux éleveurs de bovins, aux agriculteurs, aux commerçants de produits vétérinaires, aux agents du développement rural des SCDA et aux interprètes pour leurs participations respectives à nos travaux d'enquête.

Nos sincères reconnaissances à l'endroit de notre cher papa **Cakpo DOGNON**, notre chère et brave maman **Marie TCHIKPE**, nos frères et sœurs spécialement **Justin**, **Reine** et **Agnès** pour vos différentes contributions à nos travaux. Nous n'oublions pas nos chers oncles **Parfait** et **Tanguy**, et nos chères tantes **Appoline** et **Sophie** pour vos soutiens quotidiens.

Nos hommages à notre chère et tendre épouse **Traoré Charlotte SABI N'GOYE** et à nos enfants **Cyprien** et **Mariel** pour le sacrifice quotidien. Soyez tous béni !

Un citateur de noms étant un candidat à l'oubli, nous remercions tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de cette thèse et qui n'ont pas été cités.

Liste des sigles et abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AFIP	Atmospheric Fate and Impact of Pesticides
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANOPER	Association Nationale des Organisations Professionnelles des Eleveurs de Ruminants au Bénin
ARN	Acide ribonucléique
C/UE	Conseil de l'Union Européenne
CE	Commission Européenne
CG-SM	Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse
CL-SM	Chromatographe en phase liquide couplé à un spectromètre de masse
CNAC	Comité National d'Agrément et de Contrôle des Produits Phytopharmaceutiques
CRE	Capacité de Rétention d'Eau
D/PA	Département des Productions Animales
D/PSA	Département de Production et Santé Animales
DDA	Département des sciences des Denrées alimentaires
DE	Direction de l'Elevage
EC	European Commission
EFSA	European Food Safety Authority
EISMV	École Inter-États des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPAC	Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi
ERB	Eaux et Rivières de Bretagne
ESI	Electrospray Ionization
EU	European Union
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FARAH	Fundamental and Applied Research for Animals and Health
FAST	Fast Antimicrobial Screen Test
FMV	Faculté de Médecine Vétérinaire
FSA	Faculté des Sciences Agronomiques
GAB	Groupement des Agriculteurs Biologiques de Vendée
GC-ECD	Gas Chromatography - Electron Capture Detector
GC-MS	Gas Chromatography - Mass Spectrometry
GDP	Gross Domestic Product
HPLC-MS	High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

HPLC-UV	High Performance Liquid Chromatography-Ultra Violet
IFSI	Institut de Formation en Soins Infirmiers
INSAE	Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique
JO	Journal Officiel
LADA	Laboratoire d'Analyse des Denrées Alimentaires
LBATV	Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes
LC-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
LMR	Limite Maximale de Résidus
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of quantification
MAEP	Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche
MDR	Ministère du Développement Rural
mNTPT	modified New Two Plates Test
MRM	Multiple Reaction Monitoring
NTPT	New Two Plates Test
NTPTm	“New Two Plates Test” modifié
ONS	Office National de Soutien des revenus agricoles
PAFILAV	Projet d'Appui aux Filières Lait et Viande
PANUPS	Pesticide Action Network Updates Service
PDA	Pôle de Développement Agricole
PE	Parlement Européen
PR	Présidence de la République
PSRSA	Plan Stratégique de Relance du Secteur Agricole
RGPH4	Quatrième Recensement Général de la Population et de l'Habitat
SAS	Statistical Analysis System Institute
SCDA	Secteur Communal pour le Développement Agricole
TSPA	Specialized Technician of Animal Production
TSPV	Specialized Technician of Vegetable Production
UAC	Université d'Abomey-Calavi
UE	Union Européenne
UEMOA	Union Economique et Monétaire Ouest-Africaine
ULiège	Université de Liège
UNEP	Programme des Nations Unies pour l'environnement
UPLC-MS/MS	Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
WAEMU	West African Economic and Monetary Union
WHO	World Health Organisation

Table des matières

Remerciements	ii
Liste des sigles et abréviations.....	iv
Table des matières	vi
Résumé - Abstract	1
Résumé	2
Abstract.....	4
Préambule général et objectifs de la thèse	6
Chapitre 1 : Introduction	10
1.1. Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin	12
1.2. Qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires	27
1.3. Revue sur les modes d'action, impacts et détection des pesticides utilisés en agriculture	50
SECTION EXPERIMENTALE	77
Chapitre 2 : Présentation du milieu d'étude : le Nord-Est du Bénin	78
2.1. Situation géographique	79
2.2. Caractéristiques naturelles	79
2.3. Caractéristiques démographiques	80
2.4. Activités économiques.....	81
Chapitre 3 : Les antibiotiques vétérinaires et leur impact sur la qualité sanitaire de la viande bovine consommée au Nord-Est du Bénin	84
3.1. Etude 1: L'utilisation des antibiotiques vétérinaires en élevage de bovins au Nord-Est du Bénin, inventaire des médicaments et pratiques à risque des éleveurs	85
3.2. Etude 2: Le « New Two Plates Test » modifié pour détecter les résidus d'antibiotiques du groupe des tétracyclines, bêta-lactames et sulfamidés dans le rein et le muscle de bovins abattus dans le Nord-Est du Bénin.....	106
3.2.1. <i>Information complémentaire à l'article Dognon et al. (2018c)</i>	120
3.3. Etude 3: Evaluation de la qualité des médicaments antibiotiques utilisés en élevage de bovins au Nord-Est du Bénin.....	121
Chapitre 4 : Les pesticides utilisés en agriculture et leur impact sur la qualité sanitaire de la viande bovine consommée au Nord-Est du Bénin.....	143
4.1. Etude 4: L'utilisation des pesticides en agriculture au Nord-Est du Bénin.....	144
4.2. Etude 5: Détection de résidus de glyphosate dans les eaux de pâturage et des résidus d'insecticides dans la viande bovine prélevées au Nord-Est du Bénin	164
Chapitre 5 : Discussion générale – Perspectives – Implications pour le développement et Conclusion générale	186

5.1. Discussion générale	187
5.2. Perspectives	198
5.3. Implications pour le développement.....	201
5.4. Conclusion générale et recommandations	201
Références bibliographiques	204
Valorisations scientifiques des résultats	232

Résumé - Abstract

Résumé

La présence de résidus d'antibiotiques et de pesticides dans les aliments peut être à l'origine de problèmes de santé pour les consommateurs. Pourtant, aucune étude n'avait quantifié les résidus d'antibiotiques vétérinaires et de pesticides dans les viandes de bovins massivement élevés au Nord du Bénin. C'est pourquoi l'objectif global de cette thèse est d'évaluer les impacts de l'utilisation des antibiotiques vétérinaires et des pesticides sur la qualité sanitaire des viandes bovines consommées au Nord-Est Bénin. Le premier chapitre est une compilation de trois articles de synthèse bibliographique qui sont respectivement titrés : « production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin » ; « qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires » et « revue sur les modes d'action, impacts et détection des pesticides utilisés en agriculture ». Dans le chapitre 2, une enquête a d'abord été menée auprès de 98 éleveurs répartis dans les communes de Banikoara, Kandi, Bembèrèkè et Kalalé situées au Nord-Est Bénin. Il ressort de cette première étude que les antibiotiques utilisés en élevage de bovins appartenaient aux groupes des tétracyclines, bêta-lactames, sulfamidés, aminoglycosides et macrolides, qui étaient respectivement employés par 100 ; 88 ; 56 ; 44 et 35 % des éleveurs de la zone d'étude. Cinquante-huit pourcents de ces éleveurs achetaient ces médicaments dans le marché illégal, 57 % parmi eux pratiquaient l'automédication et 93 % d'entre eux ne respectaient pas les délais d'attente des antibiotiques avant de mettre en consommation les denrées alimentaires issues des animaux traités. Ces pratiques à risque ont engendré la contamination des viandes bovines par des résidus d'antibiotiques, comme cela a été montré dans la deuxième étude. Les tissus rénal et musculaire de 50 carcasses bovines provenant de la ville de Parakou, au Nord-Est Bénin, ont fait l'objet d'une recherche de résidus d'antibiotiques (tétracyclines, bêta-lactames et sulfamidés), grâce à une méthode de screening semi-quantitatif adaptée du « *New Two Plates Test* » (NTPT) de Pham Kim *et al.* (2011). Ce NTPT modifié a permis de montrer que 60 % des 50 carcasses analysées contenaient des résidus de tétracyclines, de bêta-lactames et de sulfamidés. Les résultats positifs ont été confirmés par des analyses de chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse (CL-SM). Les teneurs maximales observées pour les résidus d'oxytétracycline, épi-oxytétracycline, tétracycline et épi-tétracycline dans le rein étaient respectivement de 1380, 350, 190 et 230 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Dans une des carcasses bovines, des niveaux très élevés de résidus de sulfaméthazine ont été trouvés : 3900 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dans le rein et 2220 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dans le muscle. Dans l'ensemble, 38 % des carcasses soumises aux analyses de confirmation par CL-SM présentaient des concentrations en résidus d'antibiotiques supérieures aux limites maximales de résidus (LMR) appliquées dans la législation européenne. La méthode NTPT modifiée a été ensuite utilisée pour l'évaluation de la qualité des médicaments antibiotiques vétérinaires utilisés en élevage de bovins dans la zone d'étude. Les résultats de cette troisième étude ont montré que les 28 produits analysés contenaient la matière active conformément à ce qui était indiqué sur l'emballage du médicament. Cependant, sur le plan quantitatif, seulement 61 % de ces médicaments

présentaient des teneurs en substances actives comprises dans une fourchette de 90 à 120 %, 90-115 % et ≥ 90 % des concentrations mentionnées sur les étiquettes (respectivement pour les produits à base d'oxytétracycline, de pénicilline G et de tylosine), et pouvaient donc être déclarés conformes aux exigences de l'USP (United States Pharmacopeia). Les résultats des études consignées dans ce chapitre 2 ont montré que les pratiques vétérinaires, résultant en la présence de résidus dans la viande, et la qualité médiocre des antibiotiques vétérinaires pourraient favoriser le développement de résistances bactériennes aux antibiotiques dans la zone d'étude. Le chapitre 3 présente les résultats des études 4 et 5. L'inventaire réalisé dans l'étude 4 (dont la méthode est similaire à celle de la première étude) a montré que 56 pesticides commerciaux (dont 21 herbicides et 35 insecticides) étaient utilisés en agriculture dans la zone d'étude correspondante. En ce qui concerne les matières actives contenues dans ces produits, 13 ont été recensées pour les herbicides et 14 pour les insecticides. Septante-huit pourcents des agriculteurs achetaient ces pesticides aussi bien dans le circuit illégal que dans les structures officielles de vente d'intrants agricoles. Seulement 53 % de ces producteurs maîtrisaient le mode d'emploi de ces produits dangereux. Ces pratiques ont induit une contamination des écosystèmes naturels et de la chaîne alimentaire en résidus de pesticides. En effet, l'étude 5 a révélé des traces de résidus de glyphosate dans les eaux de pâturage. De plus, 3 des 25 carcasses bovines dont les échantillons ont été soumis aux analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse présentaient des résidus d'insecticides tels que le bêta-endosulfan (98,6 à 139,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$) et le dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE) (4,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Dans l'ensemble, seul le bêta-endosulfan retrouvé dans deux carcasses présentait des concentrations supérieures à la LMR fixée par le Règlement Européen (CE) 396/2005. Enfin, le chapitre 4 présente une discussion générale des résultats obtenus dans les cinq études. En guise de conclusion générale et de recommandations, on peut dire que l'ensemble des pratiques vétérinaires et agricoles telles que décrites dans les études 1 et 4 impactent clairement la qualité sanitaire des viandes bovines consommées au Nord-Est du Bénin, et les résultats de ces études constituent des repères pour des actions de surveillance futures de la chaîne alimentaire au Bénin.

Mots clés : Antibiotiques, pesticides, résidus, viande, bovin, Bénin.

Abstract

The presence of antibiotic and pesticide residues in food can cause health problems for consumers. However, no study has quantified residues of veterinary antibiotics and pesticides in meat of cattle massively bred in North Benin. This is why the overall objective of this thesis is to evaluate the impact of the use of veterinary antibiotics and pesticides on the safety of cattle meat consumed in North-East of Benin. The first chapter is a compilation of three review papers that were titled, respectively: “production, importation and quality of meat consumed in Benin”; “quality of veterinary antibiotics used in West Africa and methods for detecting of their residues in foodstuffs” and “review on the modes of action, impacts and detection of pesticides used in agriculture”. In chapter 2, a survey was first conducted among 98 farmers in the communes of Banikoara, Kandi, Bembereke and Kalale located in North-East of Benin. This first study showed that the antibiotics used in cattle breeding belonged to the groups of tetracyclines, beta-lactams, sulphonamides, aminoglycosides and macrolides, which were used per 100; 88; 56; 44 and 35% of breeders, respectively, in the study area. Fifty-eight percents of these farmers bought these drugs in the illegal market, 57% of them practiced “self-medication” and 93% of them did not respect the withdrawal times for antibiotics before putting foodstuffs from treated animals on the market. These risky practices led to the contamination of cattle meat with antibiotic residues, as was shown in the second study. The kidney and muscle tissues of 50 cattle carcasses from the Parakou city, in north-east of Benin, were samples to determine antibiotic residues (tetracyclines, beta-lactams and sulfonamides), using a semi-quantitative screening method adapted from the New Two Plates Test (NTPT) of Pham Kim *et al.* (2011). This modified NTPT showed that 60 % of the 50 carcasses analyzed contained residues of tetracyclines, beta-lactams and sulfonamides. Positive results were confirmed by liquid chromatography - mass spectrometry (LC-MS) analyzes. The maximum levels observed for oxytetracycline, epi-oxytetracycline, tetracycline and epi-tetracycline residues in the kidney were 1380, 350, 190 and 230 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. In one of the bovine carcasses, very high levels of sulfamethazine residues were found: 3900 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in the kidney and 2220 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in the muscle. Overall, 38 % of the carcasses submitted to confirmation analyzes by LC-MS showed antibiotic residue levels that exceeded the maximum residue limits (MRLs) applied in the European legislation. The modified NTPT method was then used to evaluate the quality of veterinary antibiotic drugs used in cattle breeding in the study area. The results of this third study showed that the 28 products tested contained the active ingredient as indicated on the drug labels. However, quantitatively, only 61 % of these drugs contained active substance at levels ranging from 90 to 120 %, 90-115 % and ≥ 90 % of the concentrations mentioned on the labels (for oxytetracycline, penicillin G and tylosin drugs, respectively), and could therefore be declared compliant with the requirements of USP (United States Pharmacopeia). The results of the studies reported in this chapter 2 have shown that veterinary practices, resulting in the presence of residues in the meat, and the poor quality of veterinary antibiotics could promote the development of bacterial resistance to antibiotics in the study area. Chapter 3 presents the

results of studies 4 and 5. The inventory realized in study 4 showed that 56 commercial pesticides (including 21 herbicides and 35 insecticides) were used in agriculture in the study area. As regards the active ingredients contained in these products, 13 were herbicides and 14 were insecticides. Seventy-eight percents of farmers bought these pesticides both in the illegal circuit and in the official agricultural inputs selling structures. Only 53 % of these farmers knew the instructions for use of these dangerous products. These practices have led to the contamination of natural ecosystems and the food chain with pesticide residues. Indeed, study 5 revealed traces of glyphosate residues in pasture waters. In addition, three of 25 cattle carcasses that samples were subjected to the analyzes by gas chromatography - mass spectrometry, were contaminated with insecticide residues such as beta-endosulfan ($98.6\text{-}139.5\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$) and dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) ($4.6\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$). Overall, only beta-endosulfan found in two carcasses showed concentrations above the MRL established by European Regulation (EC) 396/2005. Finally, chapter 4 presents a general discussion of the results obtained in the five studies. As a general conclusion and recommendation, it can be said that all the veterinary and agricultural practices as described in studies 1 and 4 clearly impact the safety of cattle meat consumed in North-East of Benin, and the results of these studies are benchmarks for future monitoring of the food chain in Benin.

Key words: Antibiotics, pesticides, residues, meat, cattle, Benin.

Préambule général et objectifs de la thèse

Préambule général et objectifs de la thèse

Pour assurer une autosuffisance en matière de protéines animales à sa population estimée à 10.008.749 habitants résidents en 2013 (INSAE; 2015), le Bénin a adopté plusieurs politiques de développement de l'élevage dont le cheptel national comptait 2.420.898 têtes de bovins en 2015 (DE, 2016). Ce cheptel bovin assure 53 à 60 % de la production nationale de viande estimée à 70.327 tonnes en 2016 (CountryStat, 2015 ; DE, 2017). Ces résultats témoignent des différents efforts déployés pour améliorer les performances de production et de reproduction des races bovines élevées au Bénin (Youssao *et al.*, 2009; Farougou *et al.*, 2012).

Mais l'élevage des bovins est essentiellement de type rural et traditionnel, et consiste à faire paître le cheptel sur des espaces verdoyants à proximité des aires culturales, ou au contraire, à le parquer dans des champs de culture après récolte. Cette pratique expose inévitablement les animaux aux produits phytosanitaires massivement utilisés surtout dans les champs du cotonnier qui est la principale culture de rente occupant la quasi-totalité des paysans du nord-Bénin où se trouve plus de 80 % de l'effectif du cheptel bovin en élevage conventionnel (ANOPER, 2014 ; DE, 2016). Or, dans les écosystèmes naturels, les pesticides peuvent être dégradés en produits dérivés parfois plus toxiques et plus rémanents que les produits parents (Damalas et Eleftherohorinos, 2011). Ainsi, la santé des animaux dont les ruminants en élevage, est fortement menacée après pâturage (Gbaguidi *et al.*, 2011). De ce fait, la qualité sanitaire de leur viande est mise en cause.

Ces contaminations passives par les produits phytosanitaires par l'intermédiaire du couvert végétal et des plans d'eau viennent s'ajouter aux problèmes latents des antibiotiques sous forme d'additifs alimentaires ou de médicaments utilisés en médecine vétérinaire depuis plusieurs décennies. Ces molécules administrées aux animaux pour leur santé, passent dans les organes pour générer des résidus pendant une durée variable (Samandoulougou *et al.*, 2016). Le non-respect du délai d'attente spécifique à chaque médicament explique parfois la présence de leurs résidus en traces indésirables dans les denrées d'origine animale (Kimera *et al.*, 2015). Les familles d'antibiotiques utilisés en élevage sont les mêmes que celles employées en médecine humaine (Mensah *et al.*, 2014a). Ainsi, la présence de leurs résidus dans les aliments est un facteur amplificateur du phénomène d'antibiorésistance développé par beaucoup de souches bactériennes pathogènes pour l'homme (Chantziaras *et al.*, 2014). Au Bénin, des cas de multi-résistance aux antibiotiques (bêta-lactames, céphalosporines, sulfamidés, etc.) développée par *E. coli* ont été rapportés aussi bien dans le cas de souches isolées de carcasses bovines à l'abattoir de Cotonou/Porto-Novo (Ahouandjinou *et al.*, 2016) que de celles isolées de tissus humains dans trois centres hospitaliers de Cotonou (Anago *et al.*, 2015). De même, des souches de *S. aureus* et de *S. sciuri* résistantes aux bêta-lactames ont été isolées de patients souffrant d'infections nosocomiales au Centre Hospitalier Départemental du Zou et des Collines au Sud-Bénin (Ahoyo *et al.*, 2013). De plus, des cas

de patients béninois ayant développé des réactions allergiques aux bêta-lactames et aux macrolides ont été rapportés (Chauty *et al.*, 2011 ; Flatin *et al.*, 2018).

Malgré ces observations inquiétantes, très peu de contrôles s'exercent sur les circuits de distribution des produits pharmaceutiques vétérinaires dans la plupart des pays ouest-africains (Mensah *et al.*, 2014b) qui peinent à adopter des textes législatifs pouvant fixer des limites maximales de résidus dans les denrées alimentaires. En conséquence, le taux de prévalence des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale atteint 94% dans certains pays d'Afrique (Mensah *et al.*, 2014b). La situation est d'autant plus préoccupante au Bénin où le contrôle de la chaîne alimentaire ne prend pas encore en compte la détection des résidus de médicaments vétérinaires (Mensah *et al.*, 2014b). Cette situation présente un risque certain laissant entrevoir des conséquences potentiellement néfastes sur la santé des consommateurs béninois.

Pour pallier ces conséquences dans la zone septentrionale du Bénin, il s'avère indispensable de réaliser un état des lieux concernant les pratiques d'usage des antibiotiques vétérinaires et pesticides d'une part et d'évaluer la présence de leurs résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale. C'est pourquoi l'objectif global du présent travail est d'évaluer les impacts de l'utilisation des antibiotiques vétérinaires et des pesticides sur la qualité sanitaire des viandes de bovins élevés au Nord-Est du Bénin.

De façon spécifique, le premier objectif de cette thèse est d'inventorier les différents antibiotiques utilisés en élevage de bovins au Nord-Est du Bénin. La réalisation de cet inventaire a été accompagnée de l'évaluation des pratiques d'utilisation de ces médicaments par les acteurs de l'élevage de bovins afin de déterminer les comportements à risques susceptibles d'occasionner la contamination des viandes bovines par les résidus d'antibiotiques. Ces travaux ont fait l'objet de la première étude de la thèse alors que l'étude 2 a développé le deuxième objectif qui est d'évaluer le niveau de contamination des viandes bovines par les résidus de médicaments antibiotiques utilisés dans la zone d'étude. Pour atteindre cet objectif, une méthode de screening a été mise au point en s'inspirant du "New Two Plates Test" (NTPT) de Pham Kim *et al.* (2011), pour détecter les résidus d'antibiotiques des familles de tétracyclines, bêta-lactames et sulfamidés dans la viande de bovin. Cette méthode NTPT modifiée a servi pour atteindre, à travers l'étude 3, le troisième objectif qui est d'évaluer la qualité des antibiotiques vétérinaires commercialisés dans la zone d'étude. Ces trois études avec leurs objectifs respectifs sont développées dans le chapitre 2 de cette thèse.

Le quatrième objectif est de faire l'inventaire des différents pesticides utilisés en agriculture au Nord-Est du Bénin. Cet objectif a été développé dans l'étude 4 qui a également permis d'identifier les pratiques à risques susceptibles d'occasionner la contamination des viandes bovines par des résidus de pesticides. Enfin, le cinquième objectif de cette thèse a été développé dans l'étude 5. Il s'agit d'évaluer le niveau de contamination des viandes bovines par des résidus de pesticides dans la zone d'étude. L'évaluation

du niveau de contamination des eaux de pâturages des bovins par des résidus de glyphosate a permis l'atteinte de ce dernier objectif. Les études 4 et 5 sont développées dans le chapitre 3.

Chapitre 1

Introduction

Chapitre 1 : Introduction

Ce premier chapitre présente une revue bibliographique des travaux scientifiques dont les informations sont relatives au thème de la thèse. Il est subdivisé en trois parties dont chacune est rédigée sous forme d'un article de synthèse.

La première partie est intitulée **“Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin”**. Elle présente d'abord une synthèse concernant la production et l'importation de viande au Bénin. Ensuite, la notion de qualité de la viande est passée en revue avec les critères d'évaluation avant un résumé sur les indicateurs caractéristiques de la qualité organoleptique, nutritionnelle, hygiénique et technologique des viandes consommées au Bénin.

Quant à la deuxième partie, elle est intitulée **“Qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires”**. Cet article de synthèse passe en revue la qualité des antibiotiques vétérinaires et leur usage en Afrique de l'Ouest d'une part, et d'autre part les sources des résidus d'antibiotiques dans les aliments avec leurs conséquences sur la santé des consommateurs. Les méthodes de contrôle de qualité des médicaments antibiotiques et les méthodes de détection et de dosage de leurs résidus dans les aliments sont aussi passées en revue. Enfin, cette partie présente une synthèse sur la législation actuelle relative aux produits vétérinaires et à l'exercice de la profession vétérinaire dans l'espace Union Economique et Monétaire Ouest-Africaine.

Le troisième article de synthèse a pour titre **“Revue sur les modes d'action, impacts et détection des pesticides utilisés en agriculture”**. Cette partie présente une synthèse au sujet des pesticides, leur classification, leurs modes d'action sur les ravageurs et leur devenir après usage. Les impacts des pesticides sur la chaîne alimentaire, les écosystèmes et la santé humaine, de même que les méthodes analytiques de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires et dans l'environnement ont également été passés en revue.

Introduction

1.1. Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

Journal of Applied Biosciences (2018), 124: 12476-12487

S.R. Dognon^{1,2*}, C.F.A. Salifou¹, J. Dougnon³, M. Dahouda⁴, M-L. Scippo², A.K.I. Youssao¹

¹ Département de Production et Santé Animales, Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin

² Département des Sciences des Denrées Alimentaires, Laboratoire d'Analyse des Denrées Alimentaires, Faculté de Médecine vétérinaire, FARA-H-Veterinary Public Health, Université de Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgique

³ Département de Santé et Production Animales, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin.

⁴ Département des Productions animales, Faculté des Sciences agronomiques, Université d'Abomey-Calavi. BP526, Cotonou, République du Bénin.

*Auteur correspondant : robertdognon@yahoo.fr



Journal of Applied Biosciences 124: 12476-12487

ISSN 1997-5902

Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

REVIEW PAPER

S.R. Dognon^{1,2*}, C.F.A. Salifou¹, J. Dognon³, M. Dahouda⁴, M-L. Scippo², A.K.I. Youssao¹¹ Département de Production et Santé Animales, Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin² Département sciences des Denrées Alimentaires, Laboratoire d'Analyse des Denrées Alimentaires, Faculté de Médecine vétérinaire, FARA-Veterinary Public Health, Université de Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgique³ Département de Santé et Production Animales, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin.⁴ Département des Productions animales, Faculté des Sciences agronomiques, Université d'Abomey-Calavi. BP526, Cotonou, République du Bénin.*Auteur correspondant : robertdognon@yahoo.frOriginal submitted in on 2nd January 2018. Published online at www.m.elewa.org on 30th April 2018
<https://dx.doi.org/10.4314/jab.v124i1.9>

RESUME

La viande est une denrée alimentaire riche en protéines et très importante pour l'alimentation humaine. Sa qualité est l'ensemble des caractéristiques que lui confèrent ses propriétés organoleptiques, nutritionnelles, hygiéniques et technologiques. Cette revue a pour objectif principal de présenter la qualité des viandes consommées au Bénin. Cet article passe également en revue le point de la production et de l'importation de la viande dans ce pays. Les données sur la qualité des viandes ont été collectées à partir des publications scientifiques recherchées à l'aide du moteur de recherche spécialisé *Google Scholar* et des bases de données bibliographiques (*Collection ULg*, *CAB Abstracts* et *Medline*). Les informations relatives à la production et aux flux d'importation des viandes au Bénin ont été obtenues à partir des rapports annuels d'activité de la Direction de l'Élevage du Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche ; des bulletins trimestriels de l'Institut National de la Statistique et de l'Analyse Économique ; et de certaines bases de données en ligne (*Atlas mondial de données* et *CountryStat*). Il en résulte qu'au Bénin, la production locale de viande est estimée à 68.692 tonnes en 2015 et 70.327 tonnes en 2016. Les proportions de viande de bovin, de volaille, d'ovin/caprin et de porc étaient respectivement de 56,4 ; 19,3 ; 12,8 et 7,8 % de la production locale de viande en 2015. Les quantités de viande importées étaient de 187.627 tonnes en 2015 et 113.494 tonnes en 2016. Pour la qualité organoleptique, la viande de bovin est plus rouge que les viandes de porc local et de chèvre naine. La qualité nutritionnelle de la viande de bovin, de chèvre naine et de porc local révèle un taux moyen de matière sèche (MS) variant de 20,66 à 35,39 % ; un taux de protéines compris entre 85,8 et 96,37 % de MS et une proportion de matière grasse allant de 1,95 à 4,47 % de MS. Sur le plan technologique, le pH ultime de maturation des viandes de volaille est vite atteinte (24 h *post mortem*) que ceux des viandes de bovin, ovins et chèvre naine obtenu au moins 48 h après abattage. A la maturation, les viandes de volaille et

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

des ovins sont moins acides que celles des bovin, chèvre naine et porc local. Quant à la qualité hygiénique, les charges microbiennes des carcasses de bovin et de porc sont faibles aux abattoirs qu'aux boucheries. Aucune étude n'a quantifié les résidus d'antibiotique et de pesticide dans les viandes béninoises afin d'évaluer leur qualité sanitaire.

Mots clés : Viande, production, qualité, Bénin.

ABSTRACT

Meat is a food, which is rich in protein and is very important in human nutrition. Meat quality is based on its organoleptic, nutritional, hygienic and technologic proprieties. The main aim of this paper is to review on the quality of the meats consumed in Benin. It also reviews on the statistics of meat production and meat importation in this country. Data on the quality of meat were collected from scientific publication found with special search engine Google Scholar and bibliographic databases (Collection ULg, CAB Abstracts and Medline). Information about meat production and meat importation in Benin were obtained from annual activity reports of the Livestock Directorate of the Ministry of Agriculture, Livestock and Fisheries; from quarterly bulletins of the National Institute of Statistics and Economic Analysis; and from some online databases (*Atlas mondial de données* and CountryStat). The results showed that in Benin, local production of meat is estimated at 68,692 tons in 2015 and 70,327 tons in 2016. The ratios of the cattle, poultry, sheep/goat and pork meats were, respectively, 56.4 ; 19.3 ; 12.8 and 7.8 % of the local meat production of 2015. The quantities of the imported meats were 187,627 tons in 2015 and 113,494 tons in 2016. As for organoleptic quality, cattle meat is more red than the local pork and dwarf goat meats. Nutritional quality of the cattle, dwarf goat and local pork meats show a mean of dry matter (DM) rate ranging from 20.66 to 35.39 % ; a protein rate varying from 85.8 to 96.37 % of DM and a fat matter ratio varying from 1.95 to 4.47 % of DM. Technologically, ultimate pH of maturation of poultry meat was achieved fastest (24 hours *post mortem*) than that of the cattle, sheep and dwarf goat meats obtained at least 48 h after slaughtering. At the maturation, the poultry and sheep meats are less acid than the cattle, dwarf goat and local pork meats. As for the hygienic quality, microbial loads of cattle and pork carcasses are low at the slaughterhouses than at the butchers's shop. No study was performed in Benin to quantify antibiotic and pesticide residues in Beninese meats to assess their sanitary quality..

Keywords: Meat, production, quality, Benin.

INTRODUCTION

Situé dans la zone intertropicale, le Bénin est un pays de l'Afrique de l'Ouest dont la population a été estimée en 2013 à 10.008.749 habitants (INSAE, 2015a) sur une superficie de 112.620 km². Son économie est dominée par le secteur agricole qui représentait, en 2016, 26 % du Produit Intérieur Brut (PIB) (The World Bank, 2016). Pour assurer une autosuffisance alimentaire à cette population grandissante, plusieurs orientations stratégiques de développement ont été proposées pour dynamiser l'agriculture. C'est le cas du Plan Stratégique de Relance du Secteur Agricole (PSRSA) dont l'un des axes était le développement de l'élevage pour un accroissement quantitatif de la production de viande à partir des espèces conventionnelles et non conventionnelles. Ainsi, de 55 805 tonnes en 2008, la production locale de viande est passée à 64.968

tonnes en 2013 (CountryStat, 2015) puis à 70.327 tonnes en 2016 (DE, 2017). Cette production est assurée par un cheptel national composé d'espèces animales domestiques et non conventionnelles comme l'aulacode (DE, 2016). Dominé par les volailles, le cheptel national compte 2.420.898 têtes de bovins en 2015 qui assurent 57 % de la production locale de viande (CountryStat, 2015 ; DE, 2016). En plus de la quantité, la qualité est devenue un réel défi pour les producteurs et les transformateurs qui doivent satisfaire aux exigences locales et internationales. Pour cela, plusieurs travaux de recherche scientifiques ont été effectués pour évaluer et améliorer la qualité de la viande produite et consommée au Bénin. Les tous premiers travaux sur la qualité de la carcasse et celle de la viande au Bénin ont été réalisés sur le porc

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

(Youssao et al., 2004a et 2004b). Ces travaux ont abordé la composition corporelle, la qualité de la carcasse, les qualités technologiques, organoleptiques et nutritionnelles de la viande de porc. Plus tard, la qualité bactériologique de la viande de volailles (Ahouissi Dahouenon et al., 2008), de bovin (Dognon, 2010 ; Salifou et al., 2012)

et de porc (Kpodékon et al., 2013) a été étudiée. Plusieurs auteurs se sont également intéressés à la qualité organoleptique de la viande (Dahouda et al., 2009 ; Salifou et al., 2012, Salifou et al., 2013a). Cet article fait le point sur la production et l'importation de la viande au Bénin avant d'aborder la qualité de la viande produite et consommée dans ce pays.

VIANDE

Définition : La viande est le résultat de l'évolution *post mortem* du tissu musculaire squelettique (ou strié) et du tissu adipeux. Ainsi, elle est le produit de transformation du muscle après la mort de l'animal (Salifou et al., 2013a). Dans le contexte de la maîtrise de l'hygiène des aliments, la viande est définie comme étant constituée des parties comestibles des animaux (ongulés domestiques, volailles, lagomorphes, gibier) y compris le sang (PE et C/UE, 2004). En outre, la matière grasse adhérente aux muscles est aussi assimilée à de la viande (CE, 2001). Le muscle est alors une notion nutritionnelle

dont la définition peut varier selon le contexte. Il est composé de plusieurs éléments nutritifs présents à des teneurs variant d'un animal à l'autre et d'un muscle à l'autre chez le même animal (tableau 1). La viande est une source de protéine, lipide, vitamines et sels minéraux. En dehors de l'eau dont la teneur dans la viande est estimée à environ 75 %, les protéines sont les éléments nutritifs les plus représentées dans la viande avec une moyenne de 22 % de l'ensemble de ses constituants (Pereira et Vicente, 2013).

Tableau 1 : Composition nutritionnelle de 100 g de quelques morceaux de viande/muscle de certaines espèces animales (Pereira et Vicente, 2013)

Espèce/morceaux de viande crue	Valeur énergétique (kcal)	Protéine (g)	Matière grasse (g)	Matière grasse saturée (g)	Vitamine B12 (µg)	Na (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Zn (mg)
Boeuf									
Steak ou bifteck ou cuisse	122	20,9	4,3	1,8	2	60	169	1,4	3,6
Filet	114	21	3,3	1,4	2	60	145	1,5	3,6
Filet de veau	148	19,9	7,6	3,2	1,2	24	195	0,9	3
Porc									
Filet	131	22,2	4,7	1,6	1	53	221	0,6	1,6
Côte	355	17,3	31,8	10,9	1	61	189	1,3	1,7
Cuisse	152	21	7,5	2,6	1	86	167	0,7	2,7
Mouton									
Côte ou autre partie	124	19,7	5	2,2	2	64	220	1,7	3,8
Poulet									
Poitrine (sans la peau)	108	24,1	1,2	0,3	0,37	60	220	0,5	0,8
Poitrine	176	24,1	8,9	2,1	0,37	72	200	1	0,8
L'ensemble du poulet	110	22,9	2	0,5	0,72	77	204	0,9	1
Dinde									
Poitrine (sans la peau)	105	23,4	1,3	0,3	1	63	210	0,7	0,6
L'ensemble de la dinde (sans la peau)	137	20,5	6,1	2	2	49	210	2	1,6
Canard									
L'ensemble de canard (sans la peau)	133	19,3	6,2	1,6	3	92	202	2,4	1,9

Mécanisme de transformation du muscle en viande :

A la mort de l'animal, le muscle qui était initialement souple, subit de nombreuses transformations pour devenir viande. Ces transformations passent généralement par la phase de pantelance, la phase de rigidité cadavérique et la phase de maturation. La phase de pantelance ou l'état pantelant démarre par l'arrêt de la circulation sanguine qui supprime l'apport d'oxygène et de substrats énergétiques exogènes (glucose, acides aminés et acides gras). Le pouvoir d'oxydation cellulaire diminue très rapidement, et seules les réactions anaérobiques (dont essentiellement la glycolyse)

persistent (Lonergan et al., 2010 ; Pearce et al., 2011). Le glycogène est transformé en acide lactique. L'acidification progressive du muscle associée avec son durcissement (Figure 2) caractérise l'installation de la phase de la rigidité cadavérique encore appelée *rigor mortis* qui apparaît quelques heures après la mort chez les bovins dont la carcasse est soumise à la réfrigération (Salifou et al., 2013a). Quant à la maturation, elle est la phase d'évolution favorable de la tendreté (Figure 2) et résulte de la dégradation de certains éléments de la fibre musculaire (rupture des stries Z et allongement des sarcomères) ou du tissu conjonctif par des protéases

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

(Lonergan *et al.*, 2010 ; Pearce *et al.*, 2011). Au cours de cette dégradation progressive du muscle, divers facteurs (dont les précurseurs des arômes et de la saveur de la viande) responsables de la qualité organoleptique des viandes sont élaborés dans une suite de processus complexes (Cartier et Moevi, 2007 ; Coibion, 2008). De l'état pantelant à la maturation, la dureté musculaire s'augmente rapidement avant de chuter progressivement jusqu'à un niveau acceptable pour conférer à la viande de bonnes qualités organoleptiques.

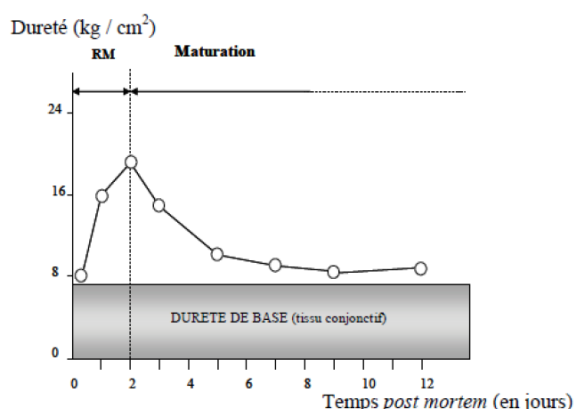


Figure 2 : Évolution de la dureté du muscle *post mortem* au cours du temps (Ouali, 1991). RM : phase de *rigor mortis*.

Production et importation de la viande au Bénin

Élevage au Bénin : La position géographique du Bénin lui confère un climat et une végétation favorables à l'élevage de plusieurs espèces animales. L'élevage constitue la seconde activité agricole du pays après les productions végétales et a contribué à 13,44 % du PIB agricole en 2016 (DE, 2017). Les systèmes traditionnels de production animale restent dominants. On y rencontre le système sédentaire et le système transhumant. Le cheptel national comprend des espèces animales domestiques (bovins, ovins, caprins, porcins, volaille, etc.) et aussi des espèces non conventionnelles comme l'aulacode (Youssao, 2015 ; CountryStat, 2015 ; DE, 2016). Le tableau 2 présente l'effectif du cheptel des espèces conventionnellement élevées dans chacun des départements du Bénin de 2012 à 2015. Il en ressort que l'élevage conventionnel est dominé par les volailles dont l'effectif était de 18.619.000 têtes d'animaux en 2015 (DE, 2016). La deuxième espèce la plus élevée est le bovin

avec un effectif de 2.420.898 têtes d'animaux en 2015 (DE, 2016). Ce cheptel national bovin est composé d'une diversité génétique constituée de races taurines (Borgou, Lagunaire et Somba) (31 %) et des Zébus (Yakanan, Goudali, Djeli et M'Bororo) (7,7 %) et des sujets issus de leur croisement (61,3%) (Youssao, 2015). La race N'Dama à la Ferme d'Élevage de l'Okpara était importée de la Guinée, du Sénégal et de la Côte d'Ivoire en 1952 alors que la race Girolando à la Ferme d'élevage de Kpinnou et de l'Okpara était importée du Brésil (Youssao, 2015). La rareté des opérations de recensement approfondi des ressources animales fait que les données relatives à la composition du cheptel national bovin ne sont pas régulièrement actualisées.

Production nationale de viande au Bénin : Le tableau 3 présente le détail de la production nationale de viande suivant les espèces animales, de 1999 à 2016. De 40.690 tonnes en 1999, la quantité de viande produite est passée à 70.327 tonnes en 2016 (DE, 2017). En général, la production de viande a augmenté d'année en année sauf en 2006 où elle a connu une baisse (53.506 tonnes en 2006 contre 55.670 tonnes en 2005). Cette diminution en 2006 est liée à la baisse de la production de viande de volaille cette même année (9.940 tonnes contre 13.255 tonnes en 2005). Dans l'ensemble, les quantités annuelles de viande de volaille produites évoluent en dent de scie contrairement aux viandes d'autres espèces dont les quantités sont croissantes d'une année à l'autre. En effet, peu d'importance est accordée à l'élevage des volailles au Bénin où les importations de produits congelés sont dominées par la viande de volaille (Atlas mondial de données, 2017). Globalement, la production nationale de viande est essentiellement assurée par le cheptel bovin qui contribue chaque année à 50 - 60 % de la viande localement produite (tableau 3). C'est pourquoi une importance particulière est accordée à l'élevage des bovins au Bénin. Par ailleurs, le système de collecte des données de production de viande nécessite d'être corrigé car la plupart des abattoirs et tueries au Bénin ne disposent pas d'équipement adéquat pour la pesée efficace des carcasses. La quantité annuelle de viande produite par espèce est alors estimée par le nombre de spécimens abattus et inspectés multiplié par le poids moyen de carcasse et abats par animal.

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin
Tableau 2 : Effectif du cheptel des espèces en élevage conventionnel au Bénin de 2012 à 2015

Zones/ Départements	Bovins			Ovins			Caprins			Porcins			Volailles		
	2012	2013	2015	2012	2013	2015	2012	2013	2015	2012	2013	2015	2012	2013	2015
Zone Nord Borgou-Alibori	1 337 040	1 366 100	1 459 168	385 744	394 284	407 860	354 367	368 010	383 600	23 000	23 670	30 090	2 848 186	2 961 986	3 067 550
Atacora-Donga	458 314	472 760	488 480	199 442	204 656	210 420	283 862	290 400	304 261	75 710	78 104	84 950	2 337 996	2 419 400	2 503 870
Zone Centre Zou-Collines	158 083	162 470	299 489	50 182	50 640	52 350	310 454	314 100	333 470	89 700	97 700	101 909	7 856 862	8 068 500	8 991 688
Zone Sud Mono-Couffo	20 818	22 680	25 223	73 236	73 980	78 410	316 721	322 290	336 720	47 850	48 980	55 610	388 950	396 950	410 190
Ouémé-Plateau	79 474	83 000	85 041	67 039	67 870	75 340	220 579	223 400	231 310	111 200	113 946	117 770	2 108 066	2 151 164	2 120 010
Atlantique- Littoral	57 271	58 990	63 497	66 357	68 570	71 620	192 017	197 800	206 040	50 540	51 600	58 031	1 400 940	1 485 000	1 525 692
Total	2 111 000	2 166 000	2 420 898	842 000	860 000	896 000	1 678 000	1 716 000	1 795 401	398 000	414 000	448 360	16 941 000	17 483 000	18 619 000
Taux de croît		2,61%	8,95%		2,14%	2,05%		2,26%	2,30%		4,02%	4,03%		3,20%	3,20%

NB : Le détail des effectifs des animaux élevés en 2014 n'est pas disponible par département. La composition du cheptel national en 2014 se présente comme suit : 2 222 000 têtes de bovins ; 878 000 têtes d'ovins ; 1 755 000 têtes de caprins ; 431 000 têtes de porcins et 18 042 000 têtes de volailles. Source : ANOPER (2014), DE (2014) et DE (2016).

Tableau 3 : Production nationale (Bénin) de viande suivant les espèces animales, de 1999 à 2016

Année	Viande bovine		Viande de volaille		Viande d'ovins et caprins		Viande de porc		Viande de lapin		Viande d'aulacode		Total annuel (T)
	Qté (T)	%	Qté (T)	%	Qté (T)	%	Qté (T)	%	Qté (T)	%	Qté (T)	%	
1999	24 480	60,2	7 319	18,0	5 891	14,5	3 000	7,4	-	-	-	-	40 690
2000	25 653	60,4	7 670	18,0	6 106	14,4	3 072	7,2	-	-	-	-	42 501
2001	27 183	58,9	9 525	20,7	6 224	13,5	3 192	6,9	-	-	-	-	46 124
2002	27 880	58,3	10 083	21,1	6 410	13,4	3 432	7,2	-	-	-	-	47 805
2003	28 560	53,2	14 300	26,6	6 563	12,2	3 444	6,4	-	-	864	1,6	53 731
2004	29 274	55,9	11 739	22,4	6 749	12,9	3 588	6,9	-	-	972	1,9	52 322
2005	29 971	53,8	13 255	23,8	6 819	12,2	3 672	6,6	969	1,7	984	1,8	55 670
2006	30 770	57,5	9 940	18,6	7 011	13,1	3 834	7,2	1 375	2,6	576	1,1	53 506
2007	31 569	57,1	10 525	19,0	7 133	12,9	3 936	7,1	1 500	2,7	624	1,1	55 287
2008	32 453	58,2	9 750	17,5	7 456	13,4	3 960	7,1	1 562	2,8	624	1,1	55 805
2009	33 218	58,2	10 009	17,5	7 405	13,0	4 248	7,4	1 562	2,7	624	1,1	57 066
2010	34 085	57,7	10 335	17,5	7 721	13,1	4 416	7,5	1 875	3,2	624	1,1	59 056
2011	34 986	56,8	11 677	18,9	7 888	12,8	4 596	7,5	1 875	3,0	624	1,0	61 646
2012	35 887	56,7	12 051	19,0	8 064	12,7	4 776	7,5	1 875	3,0	624	1,0	63 277
2013	36 822	56,7	12 436	19,1	8 243	12,7	4 968	7,6	1 875	2,9	624	1,0	64 968
2014*													66 700
2015	38 760	56,4	13 246	19,3	8 811	12,8	5 376	7,8	1 875	2,7	624	0,9	68 692
2016*													70 327

Qté : quantité ; T : tonne ; * : détail par espèce non disponible. Source : CountryStat (2015), DE (2016) et DE (2017).

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

Importation de viande au Bénin: Le Bénin importe de la viande depuis très longtemps, mais en quantités relativement faibles (~100 tonnes/an dans les années 60) (Atlas mondial de données, 2017). Le tableau 4 présente le schéma des importations de viande par le Bénin de 2001 à 2016. Il ressort que la quantité de viande importée a augmenté progressivement jusqu'à 88.107 tonnes en 2003 avant de connaître une baisse considérable jusqu'à 49.713 tonnes en 2005 (Tableau 4). A partir de cette année-là, la quantité de viande importée a augmenté de façon exponentielle jusqu'à 187.627 tonnes en 2015 (Tableau 4), soit près de trois (3) fois la production nationale de viande qui était de 68.692 tonnes en 2015 (tableau 3). Cette augmentation importante de quantité de viande importée par le Bénin s'explique par la commercialisation de cette denrée vers le Nigéria (Agritrade, 2014). Les données exactes sur la

consommation de viande au Bénin n'étant pas disponibles, la part de cette réexportation n'est pas connue. En 2016, l'importation de viande est tombée à 113.494 tonnes, ce qui peut s'expliquer par les difficultés de réexportation vers le Nigéria rencontrées en 2016 par le Bénin. Les viandes importées sont celles de volaille, de porcins, de bovins et d'autres. La viande de volaille domine le marché des importations avec au moins 98 % du total des viandes importées depuis 2004 (Tableau 4). Dans l'ensemble, la production nationale de viande ne couvre pas les besoins en consommation de la population béninoise. Ainsi, pour combler le déficit et assurer une sécurité alimentaire à la population surtout en ce qui concerne les protéines animales, le Bénin importe massivement de produits carnés. Pour renverser cette tendance, le Bénin devrait faire de grands efforts dans le domaine des productions animales.

Tableau 4 : Importations de viandes au Bénin de 2001 à 2012

Année	Viande de volaille		Viande porcine		Viande bovine		Autres viandes		Total
	Qté (T)	%	Qté (T)	%	Qté (T)	%	Qté (T)	%	
2001	51 999	88,8	143	0,2	41	0,1	6 353	10,9	58 536
2002	72 328	83,6	191	0,2	151	0,2	13 865	16,0	86 535
2003	71 104	80,7	284	0,3	35	0,0	16 684	18,9	88 107
2004	56 589	99,3	271	0,5	85	0,1	27	0,0	56 972
2005	49 048	98,4	528	1,1	199	0,4	58	0,1	49 833
2006	49 066	98,7	326	0,7	276	0,6	45	0,1	49 713
2007	57 209	98,9	560	1,0	47	0,1	56	0,1	57 872
2008	94 084	99,0	826	0,9	29	0,0	114	0,1	95 053
2009	114 550	98,6	1 232	1,1	330	0,3	62	0,1	116 174
2010	116 836	98,8	1 130	1,0	155	0,1	102	0,1	118 223
2011	152 102	97,9	2 336	1,5	879	0,6	113	0,1	155 430
2012	180 110	98,0	2 850	1,6	534	0,3	229	0,1	183 723
2013*									187 556
2014*									200 903
2015*									187 627
2016*									113 494

Qté : quantité ; T : tonne ; * : détail par espèce non disponible (INSAE, 2014 ; 2015b ; 2016c ; 2016d). Source : INSAE (2014, 2015b, 2016c, 2016d) et Atlas mondial de données (2017).

Qualité de la viande au Bénin

Définition de la qualité de viande : Selon Cartier et Moevi (2007), la qualité d'un aliment regroupe en général la qualité organoleptique ou sensorielle, la qualité nutritionnelle ou diététique, la qualité technologique, la qualité hygiénique ou sécurité sanitaire c'est-à-dire la maîtrise des dangers chimiques, biologiques et physiques associés à l'aliment. Ainsi, la qualité de la viande est

l'ensemble des caractéristiques que lui confèrent ses propriétés organoleptiques, nutritionnelles, hygiéniques et technologiques. La qualité de la viande est une notion extrêmement variable et évolutive à l'image de la transformation depuis l'animal vivant jusqu'à la carcasse puis la viande.

Critères d'évaluation de la qualité de la viande : L'évaluation de la qualité de la viande se base sur deux

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

types de critères à savoir les critères subjectifs et les critères objectifs. Les critères subjectifs de la qualité de la viande correspondent à des jugements que le consommateur porte sur la viande avant la décision d'achat et durant la consommation (Salifou et al., 2013a). Ces critères sont diversifiés et varient selon le comportement et les préférences du consommateur, selon sa communauté et son continent. Les plus importants critères d'appréciation de la qualité sont la couleur et le gras de couverture (Salifou et al., 2013a). Dans certaines communautés musulmanes ou juives, l'abattage selon les prescriptions *halal* ou *kasher* est le premier critère de qualité de la viande comme étant une garantie sur les conditions d'abattage. Quant aux critères objectifs, ils portent sur des paramètres techniquement mesurables (poids, pH, couleur, etc.) et utilisables en routine afin de pouvoir diagnostiquer les non-conformités en temps réel et d'engager, le cas échéant, des actions correctives (Salifou et al., 2013a). Ce sont aussi des critères tels que le sexe, l'âge et la race (FranceAgriMer, 2010). Pour l'évaluation de la qualité de la viande bovine, les critères objectifs utilisés sont : la qualité de la carcasse à travers sa conformation et sa composition (poids, rendement, composition, teneur en viande maigre) ; le classement de la carcasse suivant sa catégorie, la conformation et l'état d'engraissement de l'animal. De plus, la qualité de la viande bovine est aussi évaluée à travers la composition du muscle, la transformation du muscle en viande, sa qualité organoleptique (couleur, tendreté, flaveur et jutosité) et sa qualité technologique (pH et capacité de rétention en eau).

Qualité des viandes consommées au Bénin

Qualité organoleptique des viandes consommées au Bénin : La qualité organoleptique de la viande regroupe les propriétés sensorielles (couleur, tendreté, flaveur et jutosité) à l'origine des sensations de plaisir associées à sa consommation (Cartier et Moëvi, 2007). La couleur de la viande est un paramètre apprécié tant par observation visuelle que par des mesures spécifiques. Elle peut être déterminée par une méthode sensorielle qui consiste à juger la pigmentation ou l'altération de la couleur de manière visuelle en se basant sur des grilles de classement de couleur plus ou moins standardisées et officialisées (Blanc : rouge très clair ; Rosé clair : rouge clair ; Rosé : rouge vif et Rouge : rouge foncé) (Moevi, 2006). Elle peut être aussi déterminée par des méthodes physico-chimiques pour le dosage du fer héminique, des différentes formes de la myoglobine (myoglobine réduite ou non oxydée (Mb, Fe²⁺) et l'oxymyoglobine (MbO₂, Fe²⁺)), de l'hémoglobine et de l'hématocrite (Moevi,

2006). On peut aussi utiliser la spectrophotométrie pour évaluer les proportions de spectres d'absorbance ou de réflectance des différentes formes de la myoglobine pour déterminer la couleur de la viande (Salifou et al., 2013a). En outre, la couleur de la viande peut être aussi évaluée par la colorimétrie. Dans ce cas, les résultats sont exprimés dans un espace colorimétrique à trois dimensions (axes) : la clarté L* allant de 0 % pour le noir à 100 % pour le blanc ; l'indice de rouge a* (de - 60 pour le vert à + 60 pour le rouge) et l'indice de jaune b* (de - 60 pour le bleu à + 60 pour le jaune) (Moevi, 2006 ; Salifou et al., 2013a). La tendreté apprécie « la facilité avec laquelle la structure de la viande peut être désorganisée au cours de la mastication » (Salifou et al., 2013a). La méthode sensorielle classique la plus utilisée pour déterminer la tendreté de la viande, consiste à la soumettre à un jury d'au moins 10 à 18 membres, entraîné et assimilable à un instrument de mesure. Ce jury est chargé d'apprécier les échantillons de viande suivant une échelle variant de 1 à 5 (1 correspond à très dur, le 2 à dure, le 3 à acceptable, le 4 à tendre et le 5 à très tendre) (Salifou et al., 2013b). Le résultat final considéré est la moyenne des notes de tous les juges. La tendreté peut être aussi déterminée par des méthodes de mesure physique dont la plus répandue est la force de cisaillement exprimée en kg ou Newton. Celle-ci correspond à la contrainte nécessaire pour faire passer une arête tranchante à travers un morceau de viande perpendiculairement aux fibres musculaires (Salifou et al., 2013a). Quant à la flaveur de la viande, elle « correspond à l'ensemble des impressions olfactives et gustatives que l'on éprouve au moment de la dégustation » et peut être déterminée par la méthode sensorielle qui se base sur les résultats d'un jury (Salifou et al., 2013a). L'échelle d'appréciation varie de 1 à 5 : l'intensité de la flaveur est très faible (1), faible (2), acceptable (3), forte (4) et très forte (5) (Salifou et al., 2013b). Pour la jutosité encore appelée succulence, elle est la faculté que possède une viande à exsuder du jus lors de la mastication (Salifou et al., 2013a). Une évaluation sensorielle permet d'apprécier la jutosité sur une échelle de 1 à 5 : le 1 correspond à très sec, le 2 à sec, le 3 à acceptable, le 4 à moelleux et le 5 à très moelleux (Salifou et al., 2013b). Au Bénin, la viande de bovins (races Borgou, Lagunaire et Zébu Peulh) élevés sur pâturages naturels ont une flaveur de 2,30 à 2,60, une jutosité de 2,80 à 2,95 et une tendreté moyenne de 1,90 à 2,80 (Salifou et al., 2013b). La viande des bovins Lagunaire est plus tendre que celle des Borgou et Zébu (Salifou et al., 2013b ; Salifou et al., 2013c). Pour la couleur, la luminosité de la viande bovine produite au Bénin varie de 30,14 à 37,07 % (Salifou et al., 2013b). La

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

viande issue de zébus présente la plus faible indice de jaune (7,01 à 11,21) alors que la viande issue de la race Borgou présente les indices de jaune (9,90 à 12,99) les plus élevés (Salifou *et al.*, 2013b). Au jour d'abattage, l'indice de rouge (18,24) est plus faible pour la viande des zébus comparativement à celle des Lagunaire (21,82) et des Borgou (22,61) ; et la viande des Borgou est plus claire que celle des Lagunaire et des Zébu Peulh (Salifou *et al.*, 2013b). En ce qui concerne les ovins Djallonké et Sahélien élevés dans le système d'élevage traditionnel au Bénin, la force de cisaillement de leur viande est comprise entre 53 et 67 N (Djenontin *et al.*, 2017). Ces viandes ont une couleur caractérisée par une luminosité moyenne de 37,55 % ; une teinte rouge de 20,53 et une teinte jaune de 8,22 (Djenontin *et al.*, 2017). La viande de chèvre naine au Bénin, est caractérisée par une force de cisaillement moyenne de 77,40 à 95,90 N et une couleur 24 h *post-mortem* présentant une luminosité moyenne de 37,96 à 47,32 %, une teinte rouge de 11,16 à 12,85 et une teinte jaune de 4,99 à 8,18 (Idrissou *et al.*, 2017). Par ailleurs, la viande de porc local élevé au Bénin a une luminosité oscillant entre 45,9 et 49,2 %, une teinte rouge comprise entre 14,4 et 12,6 et une teinte jaune variant de 5,5 à 5,8 (Youssao *et al.*, 2004b). La viande de cuisses de poulets de chair (Hubbard, Cobb et Ross) élevés au Bénin ont en moyenne une tendreté de 3,16 à 4,00 ; une jutosité de 3,72 à 4,16 et une saveur de 3,50 à 3,94 (Tossou *et al.*, 2014). Pour les poulets locaux, leurs viandes ont une tendreté de 3,2 à 3,8 ; une jutosité de 3,0 à 3,5 et une flaveur de 2,9 à 3,2 (Youssao *et al.*, 2012).

Qualité nutritionnelle des viandes consommées au Bénin : La qualité nutritionnelle de la viande se rapporte à sa composition nutritionnelle qui inclut sa valeur énergétique et sa composition en macro et micronutriments (lipides, glucides, vitamines, oligoéléments, sels minéraux) (Bouvier *et al.*, 2006).

Au Bénin, le muscle *Longissimus thoracis* des bovins de races Lagunaire, Borgou et Zébu Peulh élevés sur pâturages naturels présente un taux de matière sèche variant de 20,66 à 22,91 % ; un taux de protéine brut de 94,34 à 96,37 % de matière sèche et le taux de matière grasse extraite d'éther était de 2,12 à 4,47 % de matière sèche (Salifou *et al.*, 2013c). Pour le collagène dans ce muscle bovin, sa concentration varie de 3,1 à 5,2 µg d'hydroxyproline /mg de matière sèche (Salifou *et al.*, 2013c). Quant aux acides gras, le *Longissimus thoracis* a un taux de 1,13 à 1,5 % de matière grasse totale (Salifou *et al.*, 2013c). De plus, les acides gras saturés avaient une proportion de 35,65 à 49,68 % de matière grasse totale (Salifou *et al.*, 2013c). Les acides gras majoritairement représentés dans le profil du muscle de

ces bovins étaient dans l'ordre décroissant de proportion : C18:1 cis-9 (27,2 à 27,95%), C18:0 (19,5 to 23,5%), acide palmitique C16:0 (14,5 à 22,4%) et C18:2n-6 (7,05 à 15,11%) dans la matière grasse totale (Salifou *et al.*, 2013c). Ces muscles bovins contiennent aussi une quantité non négligeable d'acides gras essentiels représentés par l'acide linoléique (n-6 : 10,18 à 20,27 % de matière grasse totale) et l'acide α-linolénique (n-3 : 4,64 à 7,65 % de matière grasse totale) qui sont les plus prépondérants des acides gras à chaînes polyinsaturées (Salifou *et al.*, 2013c). Ce profil d'acide gras confère une bonne qualité nutritive à la viande bovine. Quant à la chèvre naine élevée au Bénin, sa viande est caractérisée par un taux moyen de matière sèche variant de 24,38 à 35,39 % ; un taux de matière organique de 23,23 à 33,72 % ; un taux de gras de 2,25 à 3,19 % et une proportion en protéine de 20,98 et 30,41 % (Idrissou *et al.*, 2017). En outre, la viande du porc local a un taux de matière sèche estimé à environ 26,9 % (Youssao *et al.*, 2004b). Les lipides totaux dans les viandes fraîches du porc local étaient de 1,95 à 2,88 % (Youssao *et al.*, 2004b ; Youssao *et al.*, 2008) alors que le pourcentage de protéines dans la viande lyophilisée était compris entre 85,8 et 88,7 % (Youssao *et al.*, 2004b). Pour les acides gras saturés, la teneur en C12 :0 était de 0,15 à 1,18 % des acides gras totaux (soit 4,25, à 19,2 mg par 100 g de viande fraîche) et celle de C14 :0 était de 3,5 % des acides gras totaux ou 53,9 mg par 100 g de viande fraîche (Youssao *et al.*, 2004b). La teneur en acides gras C20:2 de la viande du porc local était de 0,47 % des acides gras totaux ou 7 mg par 100 g de viande fraîche (Youssao *et al.*, 2004b). Quant aux acides gras essentiels, les proportions en acide linoléique (C18:2) étaient de 12,26 à 15,25 % des acides gras totaux alors que celles en acide linolénique (C18:3) étaient de 0,47 et 0,55 % des acides gras totaux (Youssao *et al.*, 2004b). En somme, les viandes de bovins, de la chèvre naine et du porc local sont de bonnes sources d'éléments nutritifs nécessaires à la santé humaine. D'autres études similaires à celles de Youssao *et al.* (2004b) et Salifou *et al.*, (2013c) sont indispensables pour évaluer de façon approfondie la qualité nutritionnelle des viandes des espèces animales (autres que le porc et les bovins) élevées au Bénin.

Qualité technologique des viandes consommées au Bénin : La qualité technologique de la viande représente sa capacité à être transformée et conservée. Elle dépend du produit que l'on souhaite fabriquer (viande crue hachée et viande crue non hachée) et peut être exprimée principalement par le pH et par la capacité de rétention d'eau (CRE). La CRE se définit comme étant l'aptitude de

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

la viande à conserver la totalité ou une partie de son eau propre ou de l'eau qui lui est ajoutée (Salifou *et al.*, 2013a). Elle s'exprime en pourcentage et se détermine par la mesure des pertes de masse après application ou non de la pression physique ou thermique (Salifou *et al.*, 2013a). Pour les carcasses de bovins (Lagunaire, Borgou et Zébu peulh), le pH est compris entre 6,28 et 6,55 à l'abattage, et chute jusqu'à 5,61 à la maturation (Salifou *et al.*, 2013b). Chez les ovins Sahélien et Djallonké, le pH initial à l'abattage est de 6,67 à 6,85 avant d'atteindre les valeurs ultimes de 6,11 à 6,29 ; 48 h *post-mortem* (Djenontin *et al.*, 2017). La viande de la chèvre naine élevée au Bénin présente un pH de 5,72 à 5,88 une (01) heure après l'abattage et un pH de 5,55 à 5,65 à 48 h après l'abattage (Idrissou *et al.*, 2017). Pour le porc local élevé au Bénin, le pH de la carcasse 1h *post-mortem* était de 6,08 à 6,2. Ce pH chute jusqu'à 5,63 - 5,84 ; 24 h après l'abattage (Youssao *et al.*, 2004b). Quant aux viandes des poulets locaux (Savannah et Forest) et Label Rouge, le pH est de 6,5 pour les carcasses à chaud (1h après l'abattage) et 6,2 à 24h *post-mortem* (Youssao *et al.*, 2012). Sur les carcasses de pintades élevées au Bénin, le pH ultime (24h après l'abattage) est compris entre 5,7 et 5,9 (Dahouda *et al.*, 2009). En synthèse, le pH ultime des viandes de volaille est rapidement atteint. Ainsi, la maturation des viandes de volaille est vite atteinte que celle des viandes de bovins, ovins et chèvre naine. De plus à la maturation, les viandes de volaille et des ovins sont moins acides que celles des bovins, chèvre naine et porc local. La CRE des viandes bovines au Bénin varie de 41,73 à 46,43 % (Salifou *et al.*, 2013b) pendant que celle de la viande du porc local varie de 16,4 à 35,40 % (Youssao *et al.*, 2004b, Youssao *et al.*, 2008). Quant aux viandes ovines (Sahélien et Djallonké), la CRE a été de 53,46 % au jour d'abattage, 50,67 % et 52,70 %, respectivement à 2 et à 8 jours *post-mortem* (Djenontin *et al.*, 2017). La CRE de la viande de chèvre naine varie de 44,5 à 49,16 % (Idrissou *et al.*, 2017). Il ressort donc que la viande porcine perd moins d'eau par rapport aux autres viandes, pendant que les viandes ovines en perdent plus que les autres.

Qualité hygiénique des viandes consommées au Bénin : La qualité hygiénique ou sanitaire d'une denrée alimentaire est l'ensemble des propriétés et des caractéristiques qui lui confère des garanties de salubrité et de sécurité. La qualité hygiénique de la viande fait donc appel à la maîtrise des dangers chimiques, biologiques et physiques depuis les étapes de l'élevage de l'animal jusqu'à la consommation en passant par les processus d'abattage, de transformation et de distribution de l'aliment. Au Bénin, les carcasses de bovins abattus

aux abattoirs de Cotonou-Porto-Novo au sud-Bénin ont présenté en fin de la chaîne d'abattage, des charges microbiennes moyennes de 3,0 à 5,09 log UFC/cm² pour la flore aérobie mésophile (FAM) et 1,2 à 1,73 log UFC/cm² pour les Enterobacteriaceae (Salifou *et al.*, 2012). En milieu rural dans la commune de Banikoara, la contamination moyenne des carcasses bovines était de 7,61 log UFC/cm² pour la FAM et 4,1 log UFC/cm² pour les Enterobacteriaceae (Dognon, 2010). La présence de salmonelles a été suspectée sur 72 % de l'ensemble des carcasses analysées à Banikoara (Dognon, 2010). Par ailleurs, des carcasses de bovins abattus aux abattoirs de Cotonou-Porto-Novo avaient des charges en FAM de 5,99 log UFC/cm² à l'abattoir, 6,81 log UFC/cm² la chaîne du transport et 6,97 log UFC/cm² à la boucherie (Salifou *et al.*, 2013d). De même, la charge en entérobactéries était de 5,14 ; 5,77 ; 6,05 log UFC/cm² respectivement à l'abattoir, à la fin du transport et à la boucherie (Salifou *et al.*, 2013d). Il ressort donc que les carcasses de bovins abattus aux abattoirs de Cotonou-Porto-Novo sont d'une qualité hygiénique meilleure par rapport à celles des milieux ruraux. Aussi, la qualité hygiénique d'une carcasse bovine est meilleure à l'abattoir qu'à la boucherie car le circuit de distribution des viandes a un effet multiplicateur sur la charge microbienne des carcasses. Sur les carcasses porcines au Bénin, la FAM était estimée de 5,20 à 11 log UFC/cm² selon que la charge soit évaluée à l'abattoir de Cotonou-Porto-Novo ou dans les boucheries Cotonou (Kpodekon *et al.*, 2013). Les coliformes fécaux dénombrés dans ces viandes de porc variaient de 923 à 1255 CFU/g. Ces observations ne confèrent pas une bonne qualité hygiénique aux carcasses de porc en référence au règlement (CE) n°2073/2005 (UE, 2005) qui fixait le seuil de satisfaction à 1000 CFU de coliformes fécaux/g. Quant aux viandes de volaille congelées importées au Bénin, les ailerons de dinde et de cuisses de poulets dans les chambres froides des importateurs à Cotonou ont une charge en Streptocoques fécaux >420 UFC/g, levures et moisissures >11400 UFC/g, Coliformes totaux de 750 UFC/g et Streptocoques fécaux de 420 UFC/g. Dans les boutiques de vente de produits congelés, les Staphylocoques étaient de 490 UFC/g, les Levures et Moisissures étaient de 22.600 UFC/g, les Coliformes totaux de 1200 UFC/g et les Streptocoques fécaux de 1590 UFC/g (Ahouissi Dahouenon *et al.*, 2008). Ainsi, les viandes de volaille avaient une qualité hygiénique meilleure dans les chambres froides que dans les boutiques de vente de produits congelés à Cotonou. En dehors de la qualité bactériologique, des résidus de tetracyclines et d'aminoglycosides sont présents dans

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

respectivement 25,71 et 21,41 % des viandes de poules pondeuses au sud-Bénin (Mensah *et al.*, 2011). Les résidus de macrolides étaient présents dans 20 à 65,71 % de ces poulets suivant les localités de collecte. Utilisant une méthode de screening microbiologique, cette étude a manqué de quantifier les résidus d'antibiotique

dans ces carcasses de poulets. En général, aucune étude n'a quantifié les résidus d'antibiotique et de pesticide dans les viandes béninoises afin d'évaluer leur qualité sanitaire. D'autres études sont alors indispensables pour relever ce défi afin de préserver la santé des consommateurs au Bénin.

CONCLUSION

Au Bénin, la production de la viande est principalement assurée par le cheptel bovin dont la contribution est évaluée entre 53 et 60 %. Le reste de cette production est fourni par les volailles, les ovins-caprins, les porcins, etc. Les besoins en consommation de viandes sont compensés par des importations qui sont dominées par des viandes de volailles. L'étude de la qualité de la viande est complexe, extrêmement variable et évolutive dans le temps et dans l'espace. Elle est effectuée suivant plusieurs composantes relatives à des intérêts

spécifiques avec utilisation des critères subjectifs d'appréciation et objectifs de mesure. La qualité bactériologique des viandes est la plus étudiée au Bénin. Par contre, les résidus de pesticides et d'antibiotiques n'y sont presque pas étudiés. Au regard de la divergence comportementale des éleveurs et agriculteurs dans l'utilisation des produits bioactifs, il convient d'évaluer leur impact sur la qualité sanitaire des denrées alimentaires dont la viande.

CONFLIT D'INTÉRÊT

Les auteurs de l'article déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêts.

CONTRIBUTION DES AUTEURS

SRD : Conception de la thématique, recherche bibliographique, rédaction de l'article ;

CFAS, JD et MD : Correction de l'article et lecture de la version finale ;

M-LS et AKIY : Conception de la thématique, correction et lecture de la version finale de l'article.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agritrade, 2014. Le Bénin profite de la politique commerciale agricole du Nigeria. <http://agritrade.cta.int/fr/layout/set/print/Agriculture/Sujets/Accords-de-libre-echange-ACP/Le-Benin-profite-de-la-politique-commerciale-agricole-du-Nigeria>.
- Ahouissi Dahouenon E, Yehouenou B, Hounzangbe-Adote MS, Soumanou MM, Sohounhloue DCK, 2008. État de salubrité des viandes de volaille congelées importées dans la ville de Cotonou en République du Bénin. *Annales des Sciences Agronomiques du Bénin* 10 : 125-136.
- ANOPER (Association Nationale des Organisations Professionnelles des Éleveurs de Ruminants au Bénin), 2014. La situation actuelle de l'élevage et des éleveurs de ruminants au Bénin : Analyse et perspective. République du Bénin, 68 pp. http://www.inter-reseaux.org/IMG/pdf/DOS_ANNEXE_ANOPER-1.pdf
- Atlas mondial de données, 2017. Bénin-Commerce : Quantité d'importation – Viande de volaille. <http://knoema.fr/atlas/B%3a9nin/topics/Agriculture/Commerce-Quantit%3a9-dimportation/Viande>
- Bouvier C, Portet P, Favennec Y, Bussereau D, 2006. Filière de production et qualité nutritionnelle des aliments. Mission parlementaire du député de la Mayenne auprès du ministre de l'Agriculture et de la Pêche, tenue du février à août 2006, 77 pp. <http://www.uprt.fr/mesimages/fichiers-uprt/al-alimentation/al-p-production-et-qualite-nutritionnelle.pdf>
- Cartier P. et Moevi I, 2007. La qualité des carcasses et des viandes de gros bovins. Compte rendu final n° 17 05 32 022, Département Technique d'Élevage et Qualité, Service Qualité des Viandes, France. 70 p. www.agrireseau.qc.ca/.../qualite_carcasse_viande_bovin_2008.
- CE (Commission Européenne), 2001. Directive 2001/101/CE de la Commission du 26 novembre 2001 modifiant la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil relative au rapprochement des législations des États membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

- la publicité faite à leur égard. Journal Officiel de la Commission Européenne L310 : 19-21.
- Coibion L, 2008. Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : adaptation à la demande du consommateur. Mémoire pour l'obtention du grade de Docteur Vétérinaire. École Nationale Vétérinaire de Toulouse, 97 pp.
- CountryStat/Benin, 2015. Base de données statistiques. <http://countrystat.org/home.aspx?c=BENetta=053CPD050ettr=7>.
- Dahouda M, Toleba SS, Youssao AKI, Mama Ali AA, Ahounou S, Hornick J-L, 2009. Utilisation des cossettes et des feuilles de manioc en finition des pintades (*Numida meleagris*, L) : performances zootechniques, coûts de production, caractéristiques de la carcasse et qualité de la viande. Annale de Médecine Vétérinaire 153 : 82-87.
- DE (Direction de l'Élevage), 2011. Rapport annuel d'activités. République du Bénin. 109 pp.
- DE (Direction de l'Élevage), 2016. Rapport annuel 2015. République du Bénin. 106 pp.
- DE (Direction de l'élevage), 2017. Performance du sous-secteur élevage : quelques données de 2016. Rapport d'étape. République du Bénin. 5 pp.
- Djenontin J, Senou M, Salifou CFA, Ahounou GS, Issifou TM, Youssao AKI. 2017. Influence du type génétique sur la composition corporelle et la qualité de la viande des ovins élevés dans les systèmes d'élevage traditionnels. Archivos de Zootecnia 66 : 523-533.
- Dognon SR, 2010. Évaluation de la qualité hygiénique des carcasses de bovins fraîchement abattus en milieu rural : cas de la commune de Banikoara. Mémoire de Master en Normes, Contrôle de Qualité et Technologie Alimentaire, Université d'Abomey-Calavi (Bénin). 71 pp.
- France Agrimer, 2010. Le guide technique et réglementaire. 234 pp. www.office-elevage.fr/PCM-2010/Guide_du_classificateur_VD.pdf
- Idrissou N-D, Salifou CFA, Tougan U, Tamimou MI, Bonou GA, Mensah GA, Youssao AKI, 2017. Influence of castration and dressing mode on body composition and meat quality of the dwarf goat male in Benin. International Journal of Biosciences 11 : 159-170.
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Économique), 2014. Bulletin trimestriel – Quatrième trimestre 2013 – Statistiques du commerce extérieur. République du Bénin. 129 pp. <http://www.insae-bj.org/bulletin-commerce-exterieur.html>.
- INSAE, 2015a. RGPH4 : Que retenir des effectifs de population en 2013 ? République du Bénin. 35 pp.
- INSAE, 2015c. Bulletin trimestriel – Quatrième trimestre 2014 – Statistiques du commerce extérieur. République du Bénin. 104 pp. [Consulté le 19/12/2017] <http://www.insae-bj.org/bulletin-commerce-exterieur.html>.
- INSAE, 2016c. Bulletin trimestriel – Quatrième trimestre 2015 – Statistiques du commerce extérieur. République du Bénin. 95 pp. <http://www.insae-bj.org/bulletin-commerce-exterieur.html>.
- INSAE, 2016d. Bulletin trimestriel – Quatrième trimestre 2016 – Statistiques du commerce extérieur. République du Bénin. 89 pp. <http://www.insae-bj.org/bulletin-commerce-exterieur.html>.
- ISO 9000, 1994. Quality management and quality assurance standards-Vocabulary, International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland. 4 pp.
- Kpodekon MT, Goussanou JSE, Attakpa EY, Boko CK, Ahounou SG, Salifou CF, Tougan UP, Youssao IAK, 2013. Évaluation of macroscopic and microbiological hazards of indigenous pork consumption in south of Benin. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 2 : 98-109.
- Lonergan EH, Zhang W, Lonergan SM, 2010. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. Meat Science 86 : 184-195.
- MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche), 2011. Plan stratégique de relance du secteur agricole (version finale). République du Bénin. 116 pp.
- Mensah SEP, Ahissou HY, Koudande OD, Salifou S, Mensah GA, Abiola FA, 2011. Detection of antibiotics residues in meat of reformed and marketed laying hens in southern Benin. International Journal of Biological and Chemical Sciences 5 : 2195-2204.
- Moevi I, 2006. Le point sur la couleur de la viande bovine. Institut de l'élevage. http://www.agrireseau.qc.ca/bovinsboucherie/documents/couleur_v viande_bovine1.pdf.
- Ouali A, 1991. Conséquences des Traitements Technologiques sur la Qualité de la Viande. INRA Productions Animales 4 : 195-208.

Dognon et al., J. Appl. Biosci. 2018 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin

- PE (Parlement Européen) et C/UE (Conseil de l'Union Européenne), 2004. Règlement (CE) N°852/2004 du parlement européen et du conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires. Journal officiel de l'Union européenne L139 : 1-54.
- Pearce KL, Rosenvold K, Andersen HJ, Hopkins DL, 2011. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A review. *Meat Science* 84: 111-124.
- Pereira PMCC. and Vicente AFRB, 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. A review. *Meat Science* 93: 586-592.
- Salifou CFA, Youssao AKI, Ahounou GS, Tougan PU, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A, 2013a. Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine. *Annales de Médecine Vétérinaire* 157 : 27-44.
- Salifou CFA, Dahouda M, Boko KC, Kassa SK, Houaga I, Farougou S, Mensah GA, Salifou S, Toléba SS, Clinquart A, Youssao AKI, 2013b. Évaluation de la qualité technologique et organoleptique de la viande de bovins de races Borgou, Lagunaire et Zébu Peulh, élevés sur des pâturages naturels. *Journal of Applied Biosciences* 63 : 4736 – 4753.
- Salifou CFA, Dahouda M, Houaga I, Picard B, Hornick J-L, Micol D, Kassa SK, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A, Youssao AKI, 2013c. Muscle characteristics, meat tenderness and nutritional qualities traits of Borgou, Lagunaire and Zebu Fulani bulls raised on natural pasture in Benin. *International Journal of Animal and Veterinary Advances* 5 : 143-155.
- Salifou CFA, Boko KC, Attakpa YE, Agossa R, Ogbankotan I, Farougou S, Mensah GA, Salifou S, Clinquart A, Youssao AKI, 2013d. Évaluation de la qualité bactériologique de viande fraîche de bovins abattus aux abattoirs de Cotonou-Porto-Novo au cours de la chaîne de distribution. *Journal of Animal and Plant Science* 17 : 2567-2579.
- Salifou CFA, Youssao AKI, Salifou S, Kpodékon TM, Tougan PU, Ahounou GS, Boko C, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A, 2012. Évaluation du procédé d'abattage des bovins à l'abattoir de Cotonou-Porto-Novo (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 6 : 6049-6061.
- The World Bank, 2016. World Development Indicators : Structure of output. <http://wdi.worldbank.org/table/4.2>.
- Tossou ML, Houndonougbo MF, Abiola FA, Chrysostome CAAM, 2014. Comparaison des performances de production et de la qualité organoleptique de la viande de trois souches de poulets chair (Hubbard, Cobb et Ross) élevées au Bénin. *Revue CAMES* 2 : 30-35.
- UE (Union Européenne), 2005. Le règlement (CE) n° 2073/2005 de la commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. *Journal Officiel de la Commission Européenne* L338 : 1-26.
- Youssao AKI, Mourot J, Edenakpo A, Robin G, Mounier A, 2004a. Effet du mode d'élevage sur les caractéristiques de la carcasse et celles du muscle du porc local du Bénin. *Viande et produits carnés (hors-série)* : 153-154.
- Youssao AKI, Mourot J, Gbangboché BA, Adéhan R, Akoutey A, Edénakpo A, 2004b. Influence du régime alimentaire sur les performances de croissance et les caractéristiques de la carcasse du porc local au Bénin. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales* 2 : 31-36.
- Youssao AKI, Kpodékon TM, Koutinhoun GB, Adjapka A, Yacoubou A, Ahounou S, 2008. Influence de la castration des mâles sur les performances de croissance, les caractéristiques de la carcasse et les qualités de la viande du porc local du Bénin. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin* 61 : 17-24.
- Youssao IAK, Alkoiret IT, Dahouda M, Assogba MN, Idrissou N-D, Kayang BB, Yapi-Gnaoré V, Assogba HM, Houinsou AS, Ahounou SG, Tougan UP, Rognon X, Tixier-Boichard M, 2012. Comparison of growth performance, carcass characteristics and meat quality of Benin indigenous chickens and Label Rouge (T55×SA51). *African Journal of Biotechnology* 11 : 15569-15579.
- Youssao AKI, 2015. Programme National d'Amélioration Génétique. Projet d'Appui aux Filières Lait et Viande (PAFILAV). Cotonou, Bénin. 344 pp.

Erratum concernant l'article Dognon *et al.* (2018d)

Tableau 1.1 : Erratum concernant l'article « Dognon *et al.* (2018d) Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin. Journal of Applied Biosciences, 124: 12476-12487. DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/jab.v124i1.9> »

Page de la thèse	Page de l'article	Titre du paragraphe	Texte initial	Correction
13	12476	Résumé	Sur le plan technologique, le pH ultime de maturation des viandes de volaille est vite atteinte (24 h post mortem) que ceux des viandes de bovin, ovins et chèvre naine obtenu au moins 48 h après abattage.	Sur le plan technologique, le pH ultime de maturation est plus vite atteint (24 h post mortem) dans la viande de volaille que dans la viande de bovin, ovin et chèvre naine obtenu au moins 48 h après abattage.
14	12477	Résumé	...Quant à la qualité hygiénique, les charges microbiennes des carcasses de bovin et de porc sont faibles aux abattoirs qu'aux boucheries. Aucune étude n'a quantifié les résidus d' antibiotique et de pesticide dans les viandes....	...Quant à la qualité hygiénique, les charges microbiennes des carcasses de bovin et de porc sont plus faibles aux abattoirs qu'aux boucheries. Aucune étude n'a quantifié les résidus d' antibiotiques et de pesticide dans les viandes....
14	12477	Abstract	...Technologically, ultimate pH of maturation of poultry meat was achieved fastest	...Technologically, ultimate pH of maturation of poultry meat was achieved faster
14	12477	Abstract	...As for the hygienic quality, microbial loads of cattle and pork carcasses are low at the slaughterhouses	...As for the hygienic quality, microbial loads of cattle and pork carcasses are lower at the slaughterhouses
14	12477	Introduction	...Ainsi, de 55 805 tonnes en 2008...	...Ainsi, de 55.805 tonnes en 2008...
15	12478	Définion	...les protéines sont les éléments nutritifs les plus représentées dans la viande...	...les protéines sont les éléments nutritifs les plus représentés dans la viande...
15	12478	Tableau 1	L'ensemble de canard (sans la peau)	L'ensemble du canard (sans la peau)
16	12479	Mécanisme de transformation du muscle en viande	...De l'état pantelant à la maturation, la dureté musculaire s'augmente rapidement avant de chuter...	De l'état pantelant à la maturation, la dureté musculaire augmente rapidement avant de chuter...

Page de la thèse	Page de l'article	Titre du paragraphe	Texte initial	Correction
16	12479	Production nationale de viande au Bénin	...Dans l'ensemble, les quantités annuelles de viande de volaille produites évoluent en dent de scie...	...Dans l'ensemble, les quantités annuelles de viande de volaille produites évoluent en dents de scie...
18	12481	Importation de viande au Bénin	...le Bénin importe massivement de produits carnés.	...le Bénin importe massivement des produits carnés.
19	12482	Qualité organoleptique des viandes consommées au Bénin	...une échelle variant de 1 à 5 (1 correspond à très dur , le 2 à dure, le 3 à acceptable...	...une échelle variant de 1 à 5 (1 correspond à très dure , le 2 à dure, le 3 à acceptable...
20	12483	Qualité nutritionnelle des viandes consommées au Bénin	...Ce profil d' acide gras confère une bonne qualité nutritive à la viande bovine.	...Ce profil d' acides gras confère une bonne qualité nutritive à la viande bovine.
21	12484	Qualité technologique des viandes consommées au Bénin	...Ainsi, la maturation des viandes de volaille est vite atteinte que celle des viandes de bovins...	...Ainsi, la maturation des viandes de volaille est plus vite atteinte que celle des viandes de bovins...
21	12484	Qualité hygiénique des viandes consommées au Bénin	...Aussi, la qualité hygiénique d'une carcasse bovine est meilleure à l'abattoir qu' au boucherie...	...Aussi, la qualité hygiénique d'une carcasse bovine est meilleure à l'abattoir qu' en boucherie...
21	12484	Qualité hygiénique des viandes consommées au Bénin	...soit évaluée à l'abattoir de Cotonou-Porto-Novo ou dans les boucheries Cotonou (Kpodekon et al., 2013).	...soit évaluée à l'abattoir de Cotonou-Porto-Novo ou dans les boucheries de Cotonou (Kpodekon et al., 2013).

Introduction

1.2. Qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires

Journal of Animal & Plant Sciences (2018), 36 (2): 5858-5878

S.R. Dognon^{1,2*}, C. Douny², C.F.A. Salifou¹, G.S. Ahounou¹, J. Dougnon³, P. Sessou⁴, A.K.A. Youssao⁵, A.K.I. Youssao¹, M-L. Scippo²

¹ Département de Production et Santé Animales, Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin

² Département des Sciences des Denrées Alimentaires, Laboratoire d'Analyse des Denrées Alimentaires, Faculté de Médecine vétérinaire, FARA-H-Veterinary Public Health, Université de Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgique

³ Département de Santé et Production Animales, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin.

⁴ École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Unité de Recherche en Biotechnologie de la Production et Santé Animales, Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin

⁵ Unité de Recherche en Ecotoxicologie et Étude de Qualité, Laboratoire de Recherche en Chimie Appliquée, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi 01BP2009 Cotonou, République du Bénin.

*Auteur correspondant : E-mail : robertdognon@yahoo.fr ; Tél : (+229) 97 22 09 97



Qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires

Sèmanou Robert Dognon^{1,2*}, Caroline Douny², Chakirath Folakè Arikè Salifou¹, Gbènanngnon Serge Ahounou¹, Jacques Dognon³, Philippe Sessou⁴, Alassane Youssao Abdou Karim⁵, Issaka Youssao Abdou Karim¹, Marie-Louise Scippo²

¹ Département de Production et Santé Animales, Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin

² Département sciences des Denrées Alimentaires, Laboratoire d'Analyse des Denrées Alimentaires, Faculté de Médecine vétérinaire, FARAH-Veterinary Public Health, Université de Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgique

³ Département de Santé et Production Animales, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin.

⁴ École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Unité de Recherche en Biotechnologie de la Production et Santé Animales, Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin

⁵ Unité de Recherche en Écotoxicologie et Étude de Qualité, Laboratoire de Recherche en Chimie Appliquée, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi 01BP2009 Cotonou, République du Bénin.

*Auteur correspondant : E-mail : robertdognon@yahoo.fr; Tél : (+229) 97 22 09 97

Mots clés : médicament vétérinaire, résidus d'antibiotique, qualité, santé publique, Afrique de l'Ouest.

Keywords : veterinary pharmaceutical, antibiotic residues, quality, public health, West Africa.

1 RESUME

L'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire pour la prophylaxie, métaphylaxie et des traitements thérapeutiques a beaucoup favorisé l'intensification de la production animale au cours des dernières décennies. Mais, la mauvaise utilisation de ces antibiotiques vétérinaires surtout de qualité douteuse en Afrique de l'Ouest occasionne la présence de leurs résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale et crée ainsi des problèmes de santé publique. Cet article passe en revue la qualité des antibiotiques vétérinaires et leur usage en Afrique de l'Ouest d'une part, et d'autre part les sources des résidus d'antibiotiques dans les aliments avec leurs conséquences sur la santé des consommateurs. Les méthodes de contrôle de qualité des médicaments d'antibiotiques et les méthodes de détection et de dosage de leurs résidus dans les aliments sont aussi passées en revue avant une synthèse sur la législation en vigueur dans l'espace Union Économique et Monétaire Ouest-Africaine sur les produits vétérinaires et l'exercice de la profession vétérinaire. Il en résulte que beaucoup de médicaments vétérinaires commercialisés sur le marché ouest-africain sont de mauvaise qualité. Le non-respect des exigences d'utilisation de ces médicaments engendre la présence de leurs résidus dans les aliments d'origine animale et peut occasionner des effets délétères sur la santé des consommateurs. Des dépistages et des méthodes analytiques physico-chimiques basées sur la chromatographie en phase liquide sont utilisés pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale. Enfin, les pays de l'UEMOA ne disposent qu'un arsenal juridique limité en législation réglementant les médicaments vétérinaires et leurs résidus dans les aliments.



Quality of veterinary antibiotics used in West Africa and detecting methods of their residues in foods

ABSTRACT

The use of veterinary antibiotics for prophylaxis, metaphylaxis and therapeutic treatments has favoured intensification of animal farming during last decades. However, the misuse of these veterinary antibiotics, especially of poor quality in West Africa, causes the presence of their residues in foodstuffs of animal origin and thus creates public health problems. This article reviews the quality of veterinary antibiotics and their use in West Africa, on the one hand, and the sources of antibiotic residues in foods with their consequences on the health of consumers. The legislation of West African Economic and Monetary Union about veterinary medicine and veterinary profession was also reviewed. As a result, many veterinary drugs marketed in the West African market are of poor quality. Failure to meet the requirements for use of these drugs results in the presence of their residues in foods of animal origin and can have deleterious effects on the health of consumers. Screening and physico-chemical analytical methods based on liquid chromatography are used for the detection of antibiotic residues in foods of animal origin. Finally, WAEMU countries have a restricted legislation regulating veterinary drugs and their residues in foods.

2 INTRODUCTION

L'intensification de la production animale au cours des dernières décennies a été favorisée par l'emploi des médicaments vétérinaires, en particulier les antibiotiques en élevage (Giguère *et al.*, 2013). Ces derniers constituent la principale classe de médicaments utilisés en médecine vétérinaire. En élevage, les antibiotiques sont généralement utilisés pour la prophylaxie (traitements préventifs), la thérapie (traitements curatifs des animaux malades) et la métaphylaxie (traitements de contrôle) (Mensah *et al.*, 2014a). Les antibiotiques sont aussi utilisés comme additifs alimentaires ou promoteur de croissance chez les animaux (Nickell et White, 2010). A partir de la libéralisation de la profession vétérinaire en Afrique, les États ouest-africains ont cédé la commercialisation des produits vétérinaires aux structures privées (Abiola, 2001) qui importent la majorité de ces produits pharmaceutiques depuis l'Europe (Soumana, 2013). Parallèlement au circuit officiel de distribution, de faux médicaments de contrefaçon et de la contrebande provenant surtout du Nigéria sont commercialisés dans les pays ouest-africains (Messomo Ndjana, 2006). Ainsi, ces pays enregistrent des taux élevés de médicaments vétérinaires non-conformes qui sont des produits prohibés dont l'usage est dangereux non seulement aux animaux traités mais aussi à l'homme (Mensah *et al.*, 2014a). En outre, l'utilisation de ces médicaments vétérinaires est source de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. Plusieurs études scientifiques ont

mis en relief les effets secondaires drastiques que pourraient engendrer ces résidus d'antibiotiques sur la santé humaine. Il s'agit de problèmes d'allergies et surtout le développement de bactéries résistantes responsables des échecs des antibiothérapies chez l'animal et chez l'homme (Chopra et Roberts, 2001; Sander *et al.*, 2011). Au regard de ces observations, le monde scientifique a développé plusieurs stratégies accompagnées de textes législatifs pour contrôler le circuit de distribution des antibiotiques vétérinaires, leur qualité et l'évaluation de l'exposition de l'homme à leurs résidus. Des méthodes d'analyse ont aussi été développées pour la détection des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. Cet article passe d'abord en revue la qualité des antibiotiques vétérinaires et leurs utilisations en Afrique de l'Ouest avant d'aborder les sources de leurs résidus dans les aliments ainsi que les conséquences de la présence de ces résidus sur la santé des consommateurs. Les méthodes de contrôle de la qualité des médicaments d'antibiotiques et de détection et de dosage de leurs résidus dans les denrées alimentaires sont ensuite présentées. Enfin, une attention a été portée sur la législation en vigueur dans l'espace UEMOA (Union Économique et Monétaire Ouest-Africaine) sur les produits vétérinaires et l'exercice de la profession vétérinaire.



3 MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES À BASE D'ANTIBIOTIQUES

3.1 Définition de médicament vétérinaire et d'antibiotique : Un médicament vétérinaire est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger voire modifier ses fonctions organiques (Tano, 2005). Il peut être composé d'un ou de plusieurs principes actifs associés à un ou plusieurs excipients. Le principe actif est la molécule dont les propriétés pharmacologiques sont responsables de l'effet thérapeutique du médicament alors que les excipients désignent les substances qui accueillent le principe actif. Les médicaments vétérinaires se présentent sous formes solides (les poudres, les bolus, les comprimés, les granulés), liquides (les collyres, les solutions injectables), pâteuses (les pommades, les pâtes dermiques) et gazeuses (les sprays) (Messomo Ndana, 2006). Selon la cible et la fonction de la matière active, on en distingue plusieurs classes thérapeutiques tels que les trypanocides (diminazène, isométiamidum), antiparasitaires comme les anthelminthiques et / endectocides (albendazole, lévamisole, ivermectine), antibiotiques (oxytétracycline, pénicilline), vaccins. Quant aux antibiotiques, ce sont toutes substances d'origine naturelle (fabriquées par des champignons, bactéries et rarement par des végétaux), ou encore des substances de synthèse capables de détruire des bactéries (bactéricides) ou d'arrêter leur multiplication (bactériostatiques) (Chardon et Brugere, 2014). Ils agissent sur des cibles (les bactéries) variées.

3.2 Grandes familles d'antibiotiques utilisés en élevage : En médecine vétérinaire, une gamme très variée d'antibiotiques est utilisée contre diverses maladies pour améliorer le rendement de production des animaux. Il s'agit des β -lactames, macrolides, aminoglycosides, tétracyclines, (fluoro)

quinolones, sulfamidés, lincosamides, phénicolés (Giguère *et al.*, 2013). Les sulfamidés sont des dérivés substitués du sulfamide (amine sulfurique) (figure 1a), les tétracyclines possèdent une structure chimique commune composée de quatre cycles hexacarbonés fusionnés en ligne (noyau naphtacène-carboxamide) (Figure 1b), les molécules de la famille des β -lactames sont caractérisées par un cycle β -lactame présent dans leur structure chimique (Figure 1c), les aminoglycosides contiennent dans leur structure des groupes aminés et hydroxyles (Figure 1d), les macrolides (Figure 1e) sont des antibiotiques à haut poids moléculaire composés d'une partie non sucrée (aglycone ou génine) et d'une partie sucrée (sucre aminé et sucre neutre) (Repère médical, 2016). Les β -lactames, les (fluoro) quinolones et la plupart des aminoglycosides et glycopeptides sont des bactéricides alors que les tétracyclines, les phénicolés et les macrolides sont des bactériostatiques (capables de stopper la multiplication bactérienne). Les principales classes d'antibiotiques utilisés en Afrique de l'Ouest sont les tétracyclines, les sulfamides, les macrolides et les β -lactames (Mensah *et al.*, 2014b ; Dognon *et al.*, 2018). Outre leur usage à but thérapeutique, les antibiotiques sont également utilisés en élevage comme facteurs de croissance (sous forme d'additifs alimentaires), en agriculture comme agents de protection des plantes et aussi en aquaculture (Pham Kim, 2011).

3.3 Mode d'action des antibiotiques : Le tableau 1 décrit les modes d'action de chacune des familles d'antibiotique utilisées en élevage. Les mécanismes d'action des antibiotiques diffèrent d'une famille à une autre. Les principaux modes d'action des antimicrobiens sont l'inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne, la perturbation des fonctions de la membrane cellulaire, l'inhibition de la synthèse ou de la fonction de l'ADN et l'inhibition de la synthèse des protéines.

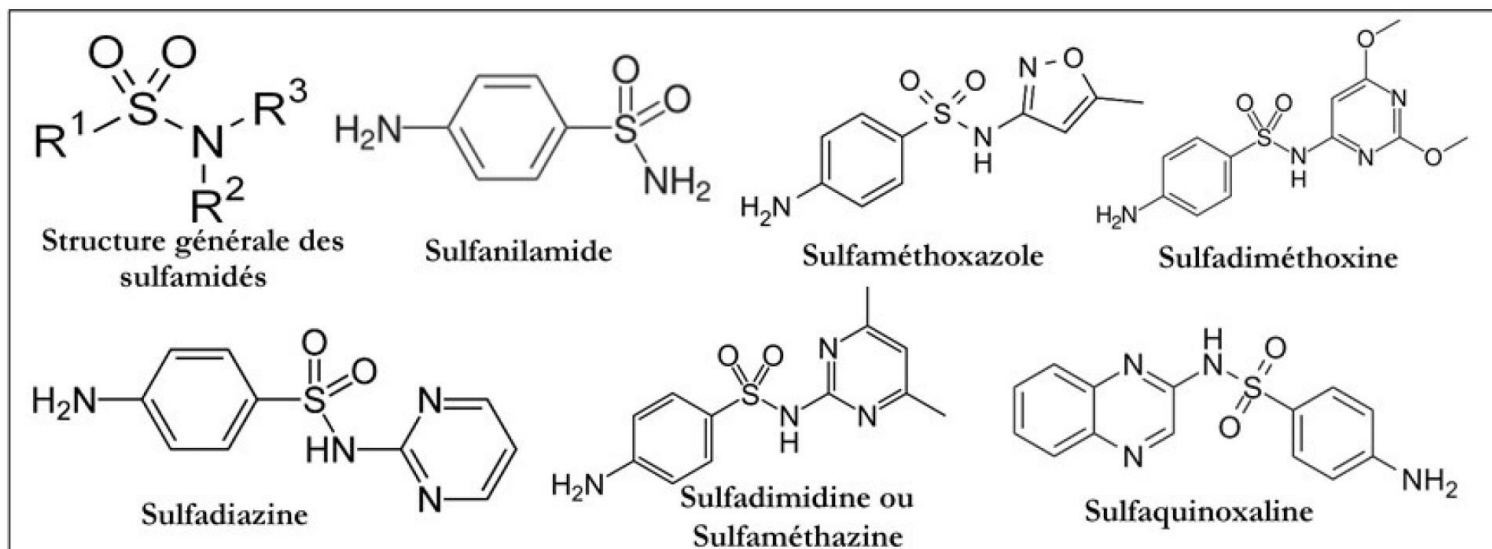


Figure 1a : Structure chimique des sulfamidés

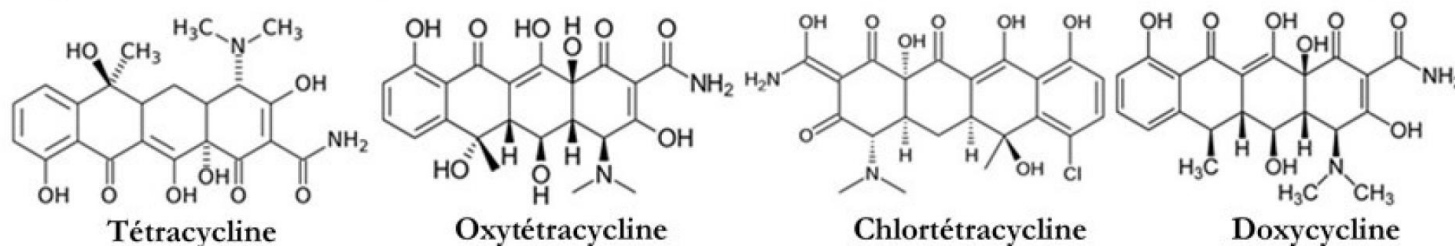
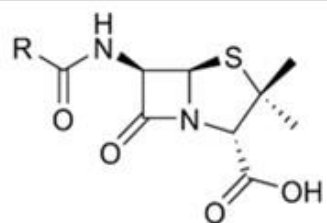
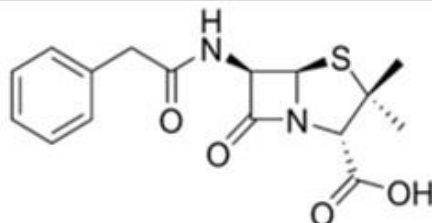
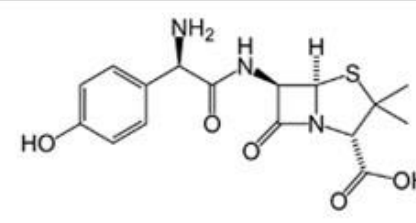
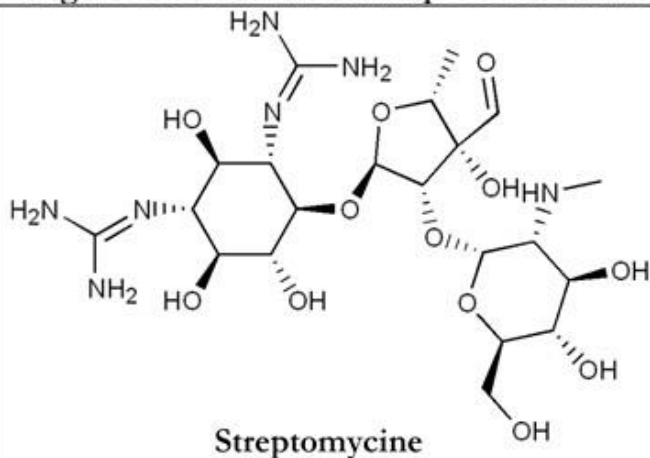


Figure 1b : Structure chimique des tétracyclines

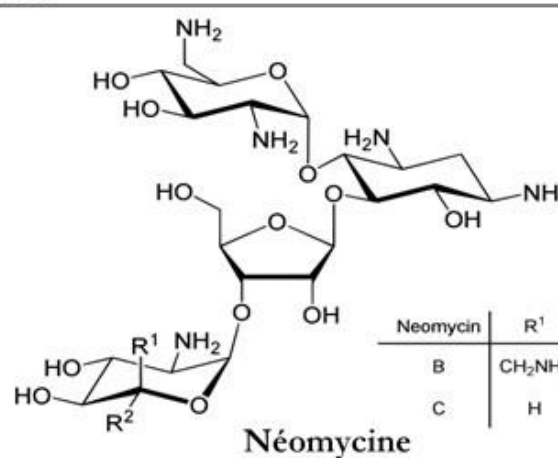
Structure générale des
bêta-lactaminesBenzylpénicilline ou
Pénicilline G

Amoxicilline

Figure 1c : Structure chimique des bêta-lactamines



Streptomycine



Néomycine

Neomycin	R ¹	R ²
B	CH ₂ NH ₂	H
C	H	CH ₂ NH ₂

Figure 1d : Structure chimique des Aminoglycosides

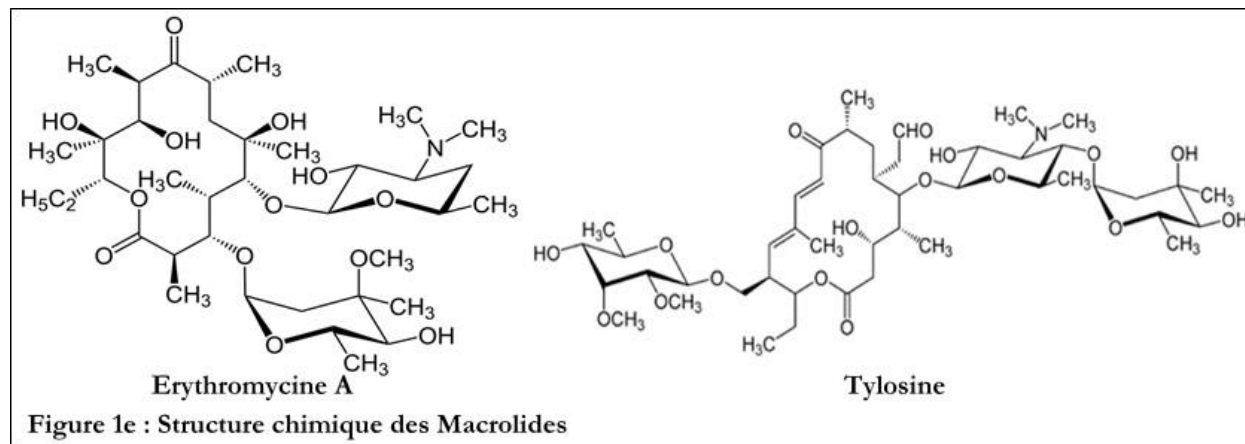


Figure 1 : Structures chimiques de quelques familles d'antibiotiques (Dognon, 2016)

Tableau 1 : Mode d'action des principales classes et molécules d'antibiotiques (UE, 2010 ; Mensah *et al.*, 2014b)

Classes	Molécules	Mode d'action antibactérien	Spectre d'activité
Sulfamidés	Toutes les substances appartenant au groupe des sulfamidés*	Ils inhibent la synthèse des folates par l'action des inhibiteurs compétitifs de la dihydroptéroate synthétase	Cocci à Gram positif
Quinolones	Acide oxolinique, difloxacin, sarafloxacin, danofloxacin, enrofloxacin*, flumequin*, marbofloxacin	Ils inhibent la gyrase de l'ADN bactérien ou la topoisomérase IV, et par conséquent inhibent la réplication et la transcription de l'ADN	Large spectre sur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (fluoroquinolones, en combinaison avec d'autres antimycobactériens)
Bêta-lactamines	Amoxicilline*, ampicilline, benzylpénicilline*, céfalexine, céfacytrile, céfalonium, céfapirine, céfapéradone, céfquinone, céftiofur, céfazoline, cloxacilline, céfopérazone, pénéthamate, dicloxacilline, nafcilline, oxacilline	Ils perturbent la synthèse de la couche de peptidoglycane des parois cellulaires bactériennes en se liant aux protéines contribuant à cette synthèse	Cocci à Gram positif Bactéries à Gram positif et Gram négatif, <i>Treponema pallidum</i> , <i>Borrelia</i>

Journal of Animal & Plant Sciences, 2018. Vol.36, Issue 2: 5858-5877

Publication date 30/05/2018, <http://www.m.elewa.org/IAPS>; ISSN 2071-7024



Classes	Molécules	Mode d'action antibactérien	Spectre d'activité
Tétracyclines	Chlortétracycline*, doxycycline*, oxytétracycline**, tétracycline*	Ils se lient aux sous-unités ribosomales 30S en inhibant la liaison de l'aminocyl-ARNt au complexe ARNm-ribosome	<i>Treponema pallidum</i> , <i>Chlamydia</i> , <i>Borrelia</i> , <i>Rickettsie</i> , <i>Plasmodium falciparum</i>
Aminoglycosides	Dihydrostreptomycine*, gentamicine, kanamycine, néomycine*, streptomycine, paromomycine, apramycine, spectinomycine	Ils se lient à la sous-unité 30S du ribosome bactérien (certains se lient à la sous-unité 50S) en inhibant la translocation du peptidyl-ARNt du site A au site P et en causant une lecture erronée de l'ARNm	Bactéries à Gram positif et Gram négatif (comportant <i>Pseudomonas aeruginosa</i>), <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Phénolés	Thiamphénicol, florfenicol	Ils se lient aux sous-unités 50S du ribosome en empêchant la formation de la liaison peptidique	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Salmonella Typhi</i>
Macrolides	Erythromycine*, spiramycine*, tylosine*, tilmicosine, gamithromycine, tulathromycine, tylvalosine, tildipirosine	Ils se lient réversiblement aux sous-unités 50S du ribosome de la bactérie en inhibant la translocation du peptidyl-ARNt	Cocci à Gram positif, <i>Treponema pallidum</i> , pathogènes intracellulaires, <i>Mycoplasma</i> , <i>Plasmodium falciparum</i>
Lincosamides	Lincomycine, pirlimycine	Ils se lient aux sous-unités 50S du ribosome en inhibant la transpeptidation/translocation	Cocci à Gram positif, anaérobies (clindamycine), <i>Plasmodium falciparum</i> (clindamycine)
Polypeptides	Bacitracine, colistine, tyrothricine	Ils réagissent fortement sur les phospholipides membranaires et perturbent le fonctionnement et la perméabilité de ces membranes	Bactéries à Gram positif et Gram négatif, <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
Orthosomycines	Avilamycine		Bactéries à Gram positif
Rifamycines	Rifamycine SV, rifaximine, rifampicine	Ils bloquent la synthèse des ARN-messagers	Coques à Gram positif et à Gram négatif, bacilles à Gram positif large spectre
Ionophores	Salinomycine, monensin		Bactéries à Gram positif, coccidiostatique
Novobiocine	Novobiocine	Ils inhibent la réplication de l'ADN	Coques à Gram positif et à Gram négatif, bacilles à Gram positif, <i>Haemophilus</i> , <i>Pasteurella</i>
Pleuromutilines	Tiamuline, valnemuline	Ils inhibent la synthèse protéique au niveau de l'unité 50S des ribosomes	Large spectre

* Molécule homologuée au Bénin

** Molécule homologuée dans l'Union économique et monétaire ouest-africaine et au Bénin



3.4 Approvisionnement et distribution des antibiotiques vétérinaires en Afrique de l'Ouest :

Au départ, l'importation des médicaments vétérinaires était assurée par des structures étatiques dans la plupart des pays ouest-africains (Messomo Ndjana, 2006). Avec la libéralisation de la profession vétérinaire, les États ont transféré l'activité de distribution des produits vétérinaires aux structures privées. Officiellement, les pays de l'Afrique de l'Ouest importent la majorité des produits pharmaceutiques vétérinaires depuis les pays de l'Union Européenne (UE) dont la France en particulier (Soumana, 2013). Une part du marché pharmaceutique vétérinaire africain est alimentée par des produits provenant d'Amérique du Nord (Canada), d'Amérique latine (Brésil), d'Asie (Inde, Pakistan, Chine) et d'Afrique (Nigeria, Ghana) (Soumana, 2013 ; Mensah *et al.*, 2014a). La mise en place des médicaments vétérinaires en Afrique de l'Ouest est assurée à la fois par les grossistes, les semi-grossistes et les détaillants qui sont des docteurs vétérinaires, des pharmaciens, des ingénieurs, des agents techniques d'élevage, des groupements d'éleveurs et des commerçants autorisés (Soumana, 2013). La distribution en détail est principalement assurée par des pharmacies et cabinets vétérinaires sous la responsabilité des docteurs vétérinaires assermentés. En plus de ce circuit officiel, il existe des marchés parallèles pour la vente illicite des produits vétérinaires dans la plupart des pays ouest-africains (Samandoulougou *et al.*, 2016 ; Dognon *et al.*, 2018). Les animateurs de ces marchés parallèles sont des techniciens et auxiliaires d'élevage, des ingénieurs d'élevage, des commerçants, des vendeurs ambulants et des éleveurs (Samandoulougou *et al.*, 2016). Les médicaments vétérinaires commercialisés dans ce circuit parallèle proviennent d'une part du marché officiel et du marché de la contrefaçon, et des contrebandes d'autre part (Dognon *et al.*, 2018). Ce dernier est majoritairement alimenté par des produits des laboratoires africains (Nigeria, Égypte, Soudan, Mauritanie, etc.) et asiatiques (Inde, Pakistan, Chine) (Messomo Ndjana, 2006 ; Dognon, 2016). Le coût de cession relativement faible de ces produits ainsi que les lacunes législatives des textes réglementaires en vigueur dans les pays ouest-africains favorisent ce marché. De plus, la difficulté du marché officiel à couvrir les

zones enclavées des pays ouest-africains renforce cette situation.

3.5 Utilisation des antibiotiques en élevage en Afrique de l'Ouest : En Afrique de l'Ouest, les soins aux animaux sont souvent délégués aux techniciens d'élevage, aux éleveurs, aux bergers et aux vendeurs ambulants des médicaments vétérinaires (Samandoulougou *et al.*, 2016 ; Dognon *et al.*, 2018). Plusieurs causes sont à l'origine de ce phénomène. Il s'agit surtout de l'absence de vétérinaires praticiens dans les campagnes à cause de leurs effectifs insuffisants dans la plupart des pays et des éleveurs qui ont rarement la possibilité de payer les honoraires dus aux vétérinaires (Dognon, 2016). Or en élevage, l'usage des antibiotiques est soumis à des prescriptions vétérinaires selon le peu de textes législatifs régissant ce secteur dans ces pays (PR, 2004 ; MRA-Niger, 2004). Ces mêmes textes renseignent que ces médicaments doivent être utilisés par les vétérinaires. Pourtant, les vétérinaires privés se font généralement aider par des assistants le plus souvent non qualifiés et auxquels ils confient la tâche d'administrer les soins aux animaux (Messomo Ndjana, 2006). Ces pratiques ne respectent pas la déontologie de la profession du vétérinaire.

3.6 Qualité des produits vétérinaires distribués en Afrique de l'Ouest : La qualité désigne l'« Ensemble des caractéristiques d'un produit ou service qui lui confère l'aptitude à répondre à des besoins, attentes explicites et implicites d'un client » (ISO 9000, 1994). Rapporté aux médicaments, il s'agit de la qualité à atteindre pour répondre aux besoins des malades initialement décrits dans le dossier d'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) (Chardon et Brugere, 2014). Plusieurs indicateurs sont souvent utilisés pour apprécier la qualité des médicaments vétérinaires. Il s'agit de : l'étiquetage (présentant lisiblement le nom de la spécialité, sa composition qualitative et quantitative, le nom du fabricant, son pays d'origine, le numéro de lot, la date de fabrication, la date d'expiration et les principales indications), la composition (nature et quantité des principes actifs et des excipients), le numéro de lot (un élément de traçabilité), la durée de vie, la date de fabrication, la date d'expiration, conditions de stockage et conservation et le laboratoire fabricant (Tano, 2005). Le pays d'origine du laboratoire fabricant



peut donner une indication sur la qualité du médicament vétérinaire. Par exemple, le Nigéria est reconnu comme l'un des pays de production et de distribution de produits vétérinaires de contrefaçon (Mensah *et al.*, 2014a ; Dognon, 2016). En Afrique de l'Ouest, la présence de produits vétérinaires prohibés sur le marché ne date pas d'aujourd'hui. Des sondages ont révélé que 48 % des médicaments vétérinaires au Bénin et au Togo étaient non-conformes (Abiola, 2001). Ce taux était de 43 % (Abiola, 2002), 59 % (Abiola, 2002), 47 % (Abiola, 2001) et 61 % (Abiola, 2005) respectivement au Mali, en Mauritanie, au Cameroun et au Tchad. Au Cameroun, le taux de non-conformité des produits à base d'oxytétracycline était passé à 69 % en 2006 (Messomo Ndjana, 2006) alors qu'au Mali, ce taux était de 11 % (Dicko, 2010). Ces mêmes auteurs renseignent que les non-conformités retrouvées concernaient aussi bien les produits illégaux que les médicaments officiels. Il en résulte que beaucoup de médicaments vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest sont de mauvaise qualité. L'emploi de tels produits n'offre aucune garantie pour la guérison des maux dont souffrent les animaux traités. De plus, les denrées alimentaires issues de ces animaux occasionnent des effets délétères sur la santé du consommateur (Mensah *et al.*, 2014a).

3.7 Méthodes de contrôle des médicaments vétérinaires : Plusieurs méthodes qualitatives et

quantitatives sont utilisées dans les laboratoires pour le contrôle de la qualité des médicaments vétérinaires suivant les indicateurs de qualité. La plupart des méthodes qualitatives se basent sur des observations directes des produits à l'œil nu et la vérification de certains paramètres. Ces paramètres sont le plus souvent l'emballage, la couleur, l'étanchéité, l'aspect des conditionnements et le volume nominal (Dicko, 2010). D'autres paramètres évalués sont la limpidité, le pH et la densité pour les solutions injectables ; l'uniformité de masse pour les poudres, granulés, comprimés et bolus ; l'aptitude au délitement pour les bolus et comprimés ; le temps de dissolution pour les granulés et poudres destinés à la préparation de solutions injectables (Dicko, 2010). Quant à l'identification et le dosage des principes actifs constituant les médicaments, des méthodes analytiques physico-chimiques basées soit sur la chromatographie sur couche mince ou la chromatographie liquide couplée à un détecteur ultra-violet ou à la spectrométrie de masse (UPLC-MS/MS, HPLC-UV) sont utilisées (Dicko, 2010 ; Phu *et al.*, 2015). En Afrique de l'Ouest, les pays ne disposent pas suffisamment d'outils scientifiques de contrôle pour s'assurer de la validité des données fournies par le demandeur. Ainsi, peu de contrôles adéquats sont opérés sur les circuits de distribution des produits pharmaceutiques vétérinaires (Mensah *et al.*, 2014a).

4 RÉSIDUS D'ANTIBIOTIQUES

4.1 Sources des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires : Le règlement UE n°470/2009 définit les résidus de médicaments vétérinaires comme étant « toutes substances pharmacologiquement actives, exprimées en mg/kg ou µg/kg sur la base du poids frais, qu'il s'agisse de substances actives, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que leurs métabolites restant dans les aliments produits à partir d'animaux auxquels le médicament vétérinaire en question a été administré » (PE et CE, 2009). Les résidus sont donc des traces indésirables de médicaments ou métabolites qui restent dans le produit final (denrée alimentaire) suite au traitement de l'animal par des médicaments vétérinaires (Darwish *et al.*, 2013). Théoriquement, l'utilisation de substances antimicrobiennes en médecine vétérinaire peut engendrer la présence de leurs résidus dans les

produits d'origine animale. Cela est surtout favorisé par le non-respect des délais d'attente recommandés avant l'abattage des animaux traités et/ou la consommation des produits provenant de ces animaux (Mensah *et al.*, 2011 ; Samandoulougou *et al.*, 2016). Des résidus peuvent également provenir des erreurs de traitements, du surdosage ou de l'utilisation fautive et abusive des produits autorisés ou des substances prohibées. Par ailleurs, l'usage des promoteurs de croissance à travers l'alimentation animale est aussi une source de résidus de médicaments dans la chaîne alimentaire.

4.2 Conséquences ou effets indésirables liés à l'utilisation des antibiotiques en élevage

4.2.1 Phénomène d'antibiorésistance : En raison de son ampleur et de ses conséquences néfastes sur le traitement des infections chez l'homme et les animaux, le phénomène de



résistance bactérienne suscite de sérieuses inquiétudes à travers le monde car les médecines humaine et vétérinaire utilisent les mêmes familles d'antibiotiques (Sanders *et al.*, 2011, Mensah *et al.*, 2014b). Une espèce bactérienne est dite résistante à un antibiotique si les concentrations minimales inhibitrices vis-à-vis de la majorité de ses souches sont supérieures aux concentrations moyennes atteintes dans le milieu d'infestation par l'antibiotique en cours d'un traitement efficace pour éliminer l'infection (Sander *et al.*, 2011). Plusieurs auteurs ont mis en évidence la résistance développée par beaucoup de souches bactériennes pathogènes de l'homme, suite à l'utilisation des antibiotiques (Chopra et Roberts, 2001 ; Chadha, 2012). C'est le cas des bactéries *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Serratia spp.*, qui ont été isolées chez des hommes ayant suivi des traitements à base des tétracyclines (Chopra et Roberts, 2001). En réalité, tout traitement antibiotique crée une pression de sélection favorable au développement des bactéries résistantes. Cette pression de sélection s'exerce essentiellement sur les bactéries présentes dans le tube digestif qui sont en très grand nombre dans la partie terminale de l'intestin (Sander *et al.*, 2011). La figure 2 détaille le mécanisme d'acquisition de résistance des bactéries gram négatives aux antibiotiques. Cette acquisition de résistance se fait soit par mutation du génome bactérien soit par acquisition de gènes de résistance à partir de souches déjà résistantes (Sander *et al.*, 2011). La surconsommation d'antibiotiques en production animale et la présence dans la nature de ces composés potentiellement offensifs contre les bactéries sont favorables au développement rapide de ce phénomène d'antibiorésistance bactérienne (Allen *et al.*, 2010). Des microbes résistants peuvent passer de l'animal à l'homme via la chaîne alimentaire ou par contact direct. Ce dernier mode peut résulter d'une mutation génétique des bactéries animales en présence répétée d'antibiotiques, ou par transfert de plasmides entre les bactéries contaminantes présentes dans l'aliment d'origine animale (Delahaut, 2016) (Figure 3).

4.2.2 Risques d'allergie : En médecine humaine, l'allergie est une réaction immunologique délétère/exagérée contre un antigène (Epaulard, 2015). Elle est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particulier des β -lactames dont la

pénicilline. Ce dernier est l'antibiotique le plus allergisant parmi les plus utilisés et a causé des réactions anaphylactiques graves chez des consommateurs (Comte *et al.*, 2012). L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole, l'érythromycine, la streptomycine, la néomycine, les nitrofuranes, la spiramycine, la novobiocine et la tétracycline sont d'autres molécules mises en cause pour des cas d'allergies chez l'homme (Pham Kim, 2011). La majorité de ces antibiotiques étant également utilisés en production animale, le risque potentiel de réaction allergique en cas d'ingestion d'une denrée alimentaire d'origine animale contenant un de ces antibiotiques est réel.

4.2.3 Risques de toxicité et autres conséquences : Les autres risques liés à la présence de substances antibiotiques dans les aliments sont relatifs à leur toxicité. Les nitrofuranes sont soupçonnés de tératogénicité, donc capables de provoquer des anomalies ou des déformations fœtales. Certains sulfamidés sont tératogènes à forte dose. Ces molécules passent dans le lait maternel et sont toxiques pour des nourrissons de moins d'un mois. Par ailleurs, l'oxytétracycline et la chlortétracycline peuvent, à une certaine concentration, perturber la stéroïdogénèse avec des effets significatifs sur la production de la testostérone et l'estradiol par des cellules humaines (H295R) (Kyunghye *et al.*, 2010). Sur le plan de la transformation agro-alimentaire, la présence de résidus d'antibiotiques dans les matières premières comme le lait, peut inhiber la croissance des cultures starters et interférer dans les procédés de fabrication des produits fermentés (Epp, 2016).

4.2.4 Effets des antibiotiques sur l'environnement : Suite à un traitement au moyen d'antibiotiques, l'homme et les animaux sont susceptibles de rejeter une grande quantité de résidus et de bactéries résistantes dans leurs fèces. A travers l'utilisation de ces matières fécales comme engrais en agriculture et par divers phénomènes (ruissellements, cultures, etc.), les pâturages et les retenues d'eau de surface peuvent être contaminés non seulement par des bactéries résistantes mais aussi par des résidus de médicaments (Chadha, 2012). La faune aquatique est ainsi exposée aux conséquences liées aux résidus d'antibiotiques. Les pâturages infestés seront aussi des réserves de bactéries résistantes qui pourront par la suite être



transmises aux humains et autres animaux (Kumar *et al.*, 2005).

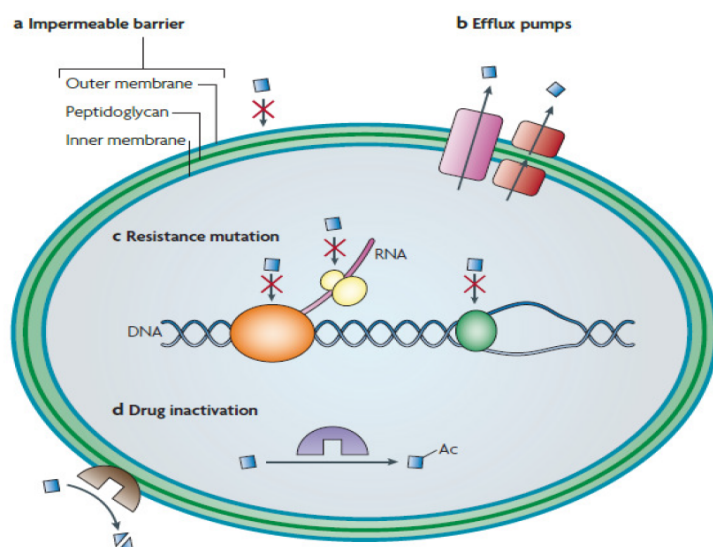
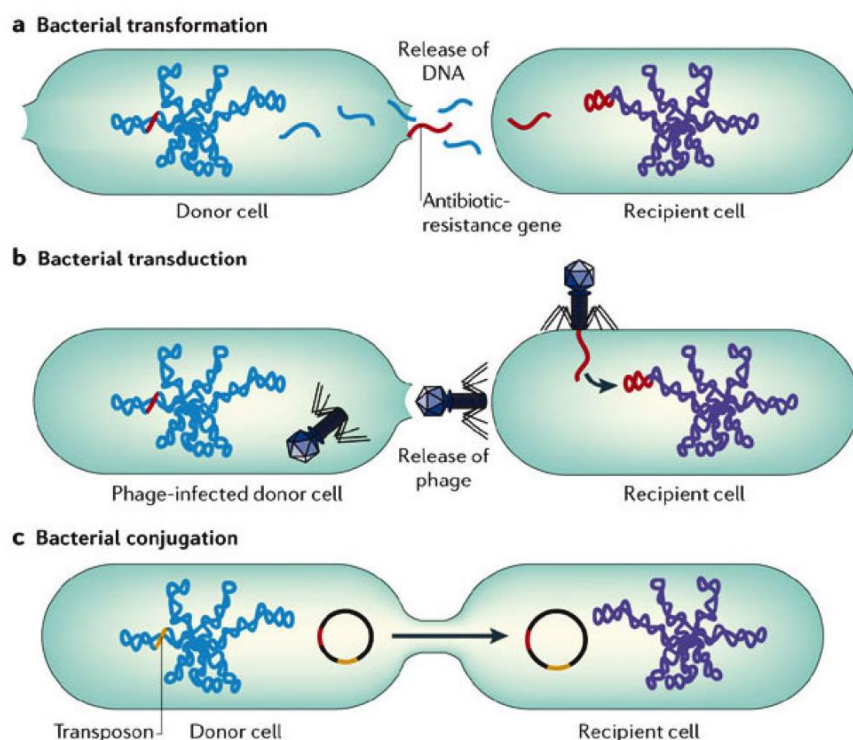


Figure 2: Mécanismes de résistance des bactéries gram négatives aux antibiotiques (Allen *et al.*, 2010).

Légende : (a) Barrières imperméables. Certaines bactéries sont résistantes à certains antibiotiques (représentés par des carrés bleus) parce qu'elles ont des membranes imperméables ou ne sont pas des cibles de ces antibiotiques. (b) Multi résistance pompes à efflux. Ces pompes rejettent les antibiotiques de la cellule par des transporteurs (en rose) qui pompent directement les antibiotiques à l'extérieur pendant que d'autres (en rouge) les excrètent dans le périplasme. (c) Résistance par mutations en modifiant la protéine cible (par exemple, en désactivant le site de liaison aux antibiotiques et laissant la fonction cellulaire de la protéine intacte). Des exemples spécifiques comprennent des mutations dans le gène codant pour la gyrase (en vert), qui provoquent une résistance aux (fluoro)quinolones, dans la sous-unité B d'ARN polymérase (en orange), qui provoquent une résistance à la rifampicine, et dans la sous-unité ribosomique 30S (en jaune), qui provoquent une résistance à la streptomycine. (d) Inactivation des antibiotiques par sa modification covalente, tel que celui catalysé par l'acétyltransférase (en violet) agissant sur les aminosides, ou par dégradation de l'antibiotique, tel que celui catalysé par la β -lactamase (en marron) qui agit contre les β -lactames ; Ac est un groupe acétyle.



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Microbiology

Figure 3 : Mécanisme de transmission de gène de résistance entre bactéries (Delahaut, 2016)

Légende : La résistance bactérienne aux antibiotiques peut être facilement transmise par: a) Transformation bactérienne: les fragments d'ADN présents dans l'environnement avec des gènes de résistance peuvent s'introduire dans les bactéries; b) Transduction bactérienne: des gènes de résistance sont transférés d'une bactérie à une autre par des bactériophages; c) Conjugaison bactérienne: transfert de plasmides de résistance entre bactéries.

4.3 Méthodes de détection et de dosage des antibiotiques dans les denrées alimentaires : La présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires préoccupe de plus en plus les chercheurs qui ont développé plusieurs méthodes pour leur détection. L'identification, la confirmation et la quantification des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires passent souvent par des étapes complexes et coûteuses. Pour la détection des résidus d'antibiotiques, des méthodes de screening utilisées varient selon la famille d'antibiotique recherchée et suivant la matrice à analyser. Ainsi, on dénombre des tests spécifiques rapides de type récepteurs essais, généralement présentés sous forme de tigettes. Il s'agit, entre autres, des kits β -STAR (NEOGEN, USA) TETRASENSOR ou le TWINSENSOR (UNISENSOR, Belgique), SNAP Béta et le SNAP Tétr (IDEXX, USA), CHARM ROSA (CHARM

Sciences, USA) qui ont été développés pour des dépistages rapides des β -Lactames et des Tétracyclines. Il en existe aussi pour dépister les résidus de sulfamidés. Ces kits indiquent l'absence ou la présence des molécules recherchées à des seuils supérieurs aux Limites Maximales de Résidus (LMRs) en vigueur. De plus, il existe des tests d'inhibition microbiologique sous plusieurs formats: tests sur boîtes de Pétri, en tube et en plaques multi-puits (Stead *et al.*, 2004; Pham Kim *et al.*, 2011). Le tableau 2 présente la synthèse des différentes méthodes microbiologiques validées pour la détection des résidus d'antibiotiques dans le rein et la viande de bovin en Belgique (AFSCA, 2012). Il s'agit, entre autres, du FAST (Fast Antimicrobial Screen Test), NAT (Nouws Antibiotic Test), PREMITEST, NTPT (New Two-Plates Test), etc. Pour augmenter la sensibilité du screening, certains auteurs couplent avec ces tests,



des méthodes d'extraction des matrices à analyser (Stead *et al.*, 2004 ; Pham Kim *et al.*, 2011). Ces méthodes ont de larges spectres de détection des résidus d'antibiotiques mais ne sont pas toutes spécifiques. Pham Kim *et al.* (2011) ont développé le NTPT qui, en plus du screening, utilise des solutions d'hydroxyde de sodium (pour l'identification des tétracyclines par réduction de sensibilité et des (fluoro)quinolones par augmentation de sensibilité) et l'acide para-aminobenzoïque comme antagoniste naturel pour identifier les sulfamidés. Le tableau 3 présente d'autres facteurs utilisés pour l'identification des résidus d'antibiotiques. Les méthodes développées pour le screening ont le mérite d'être non seulement rapides mais aussi moins coûteuses, accessibles et faciles dans leurs applications (Stead *et al.*, 2004 ; Pham Kim *et al.*, 2011). Les échantillons dépistés positifs sont soumis aux méthodes de confirmation pour l'identification et la quantification du composé responsable de ce résultat positif. Il s'agit des méthodes analytiques physico-chimiques basées sur

la chromatographie en phase liquide (LC) couplée à divers détecteurs (absorption ultra-violet (UV), fluorescence, spectrométrie de masse (MS)) (Merten, 2010 ; Pham Kim *et al.*, 2011). En Europe, seules les méthodes incluant la MS sont officiellement valables pour les analyses de confirmation de résidus d'antibiotiques (CE, 2002). Dans la plupart des pays développés, la stratégie d'analyse des résidus d'antibiotiques passe par le « screening », post-screening et confirmation par une méthode physico-chimique (Figure 4). En Afrique de l'Ouest, la plupart des études relatives à la recherche de résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale ont utilisé des méthodes de dépistage qualitatives (Aning *et al.*, 2007 ; Fagbamila *et al.*, 2010, Donkor *et al.*, 2011 ; Mensah *et al.*, 2011 ; Mensah *et al.*, 2014c). Peu d'études ont utilisé des méthodes de confirmation (Abiola *et al.*, 2005 ; Olatoye et Basiru, 2013). Ceci se justifie par la difficulté d'accès aux méthodes d'analyse physico-chimiques dans la sous-région et leurs coûts relativement élevés.

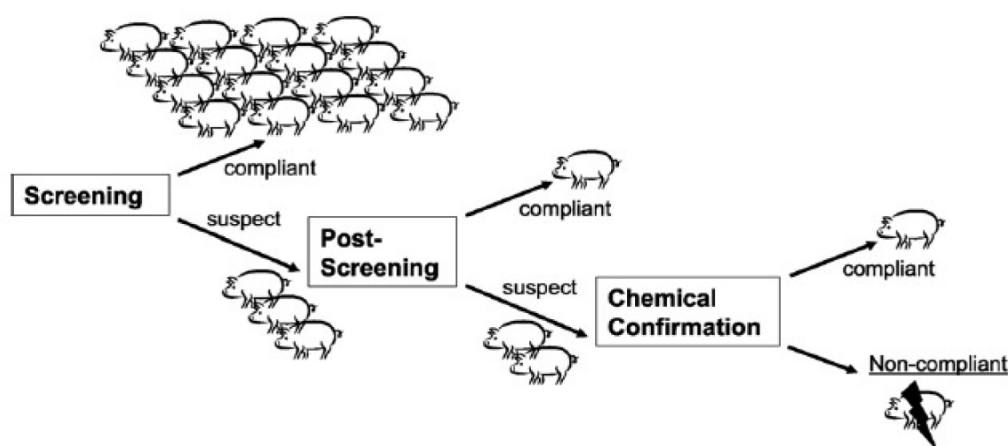


Figure 4 : Plan d'analyses des résidus d'antibiotique dans des produits d'origine animale (Merten, 2010).

Journal of Animal & Plant Sciences, 2018. Vol.36, Issue 2: 5858-5877

Publication date 30/05/2018, <http://www.m.elewa.org/IAPS>; ISSN 2071-7024



Tableau 2: Exemples de tests de screening pour la détection de résidus d'antibiotiques dans la viande, le jus de viande ou un extrait de viande (AFSCA, 2012)

Test	Organisme utilisé par le test	vol échant.	pH milieu	Incubation	disque/puits	Cut-off	Groupe
Test rénal (One-Plate Screening Test)	<i>Bacillus subtilis</i> BGA	80 µL	7,0	18-24h - 30 °C	12,7 mm	15 mm	
FAST (Fast Antimicrobial Screen Test)	<i>Bacillus megaterium</i>	25 µL		7h (6-18h)			
KIS visual (Kidney Inhibition Swab)	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	100 µL		3-3,5h - 64 °C			
EXPLORER	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	100 µL		3,5-4h - 64 °C			
PREMITEST visual	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	100 µL		3-4h - 64 °C			
PREMITEST scanner	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	100 µL		3-4h - 64 °C			
PREMITEST after solvent extr.	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	100 µL*		3-4h - 64 °C			
NAT (Nouws Antibiotic Test) plate 1	<i>Bacillus cereus</i> ATCC11778	100 µL	6,0	16-18h - 30 °C	14 mm	15 mm	T
NAT (Nouws Antibiotic Test) plate 2	<i>Kocuria rhizophila</i> ATCC9341	100 µL	8,0	16-18h - 37 °C	14 mm	15 mm	B&M
NAT (Nouws Antibiotic Test) plate 3	<i>Yersinia ruckeri</i> NCIM13282	100 µL	6,5	16-18h - 30 °C	14 mm	15 mm	Q
NAT (Nouws Antibiotic Test) plate 4	<i>Bacillus pumilus</i> CN607	100 µL	7,0	16-18h - 37 °C	14 mm	15 mm	S
NAT (Nouws Antibiotic Test) plate 5	<i>Bacillus subtilis</i> BGA	100 µL	8,0	16-18h - 37 °C	14 mm	15 mm	A
EU-Four Plate Test plate 1	<i>Bacillus subtilis</i> BGA		6,0		6 mm		
EU-Four Plate Test plate 2	<i>Bacillus subtilis</i> BGA		7,2		6 mm		
EU-Four Plate Test plate 3	<i>Bacillus subtilis</i> BGA		8,0		6 mm		
EU-Four Plate Test plate 4	<i>Kocuria rhizophila</i> ATCC9341		8,0		6 mm		
STAR plate 1	<i>Bacillus cereus</i> ATCC11778	meat slice	6,0	18h - 30 °C	8 mm	12 mm	T
STAR plate 2	<i>Escherichia coli</i> ATCC11303	meat slice	8,0	18h - 37 °C	8 mm	12 mm	Q
STAR plate 3	<i>Bacillus subtilis</i> BGA	meat slice	8,0	18h - 30 °C	8 mm	12 mm	A
STAR plate 4	<i>Kocuria rhizophila</i> ATCC9341	meat slice	8,0	24h - 37 °C	8 mm	12 mm	M
STAR plate 5	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> ATCC10149	meat slice	7,4	15-16h - 55 °C	8 mm	16 mm	B&S
New Two-Plate Test plate 1	<i>Bacillus subtilis</i> BGA	50 µL*	6,0	18h - 30 °C	12,7 mm	15,7 mm	
New Two-Plate Test plate 2	<i>Bacillus subtilis</i> BGA	50 µL*	7,5	18h - 30 °C	12,7 mm	15,7 mm	
TetraSensor Tissue	####	200 µL		15 min			T

tétracycline (T), bêta-lactames (B), macrolides (M), quinolones (Q), sulfonamides & diaminopyrimidines (S), aminoglycosides (A) ; vol échant. = volume de jus de viande ou d'extrait de viande (*).

Journal of Animal & Plant Sciences, 2018. Vol.36, Issue 2: 5858-5877

Publication date 30/05/2018, <http://www.m.elewa.org/IAPS>; ISSN 2071-7024



Tableau 3 : Exemples de bactéries et de milieux utilisés pour l'identification des résidus d'antibiotiques (Pham Kim, 2011)

Bactérie/milieu/substance chimique	Propriété utilisée pour l'identification
Pénicillinase	Blocage de l'action des pénicillines
PABA (Para-aminobenzoic Acid)	Blocage de l'action des sulfamidés
Triméthoprim	Effet synergique avec les sulfamidés
MgSO ₄	Blocage de l'action de la tétracycline
Cystéine	Blocage de l'action de la streptomycine
<i>B. cereus</i> K 250	Résistance à la tétracycline
<i>M. luteus</i> ATCC 9341a	Résistance à la dihydrostreptomycine et à la streptomycine
<i>M. luteus</i> ATCC 15957	Résistance à l'érythromycine, la lincomycine et la spiramycine
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	Résistance à la Chlortétracycline et l'oxytétracycline
Staphylococcus spp. ATTC 12715	Résistance à la chlortétracycline et l'oxytétracycline
<i>E. coli</i> ATCC 128	Détection sélective des (fluoro)quinolones
Diminution du pH (8 → 6)	Augmentation de l'activité de la tétracycline et de la céphalexine
Augmentation du pH (6 → 8)	Augmentation de l'activité des aminoglycosides, des macrolides, des fluoroquinolones, du triméthoprim, de la sulfadoxine et de la sulfadiazine



5 Réglementations sur les médicaments vétérinaires dans l'espace UEMOA : A partir de 2006, les pays de l'UEMOA ont opté pour une politique d'harmonisation des réglementations afin d'assurer le contrôle de qualité des produits vétérinaires. Ainsi, pour donner le pouvoir de décision à la commission de l'UEMOA en matière de réglementation, d'AMM et d'organisation du contrôle de la qualité des produits vétérinaires, une base juridique composée de quatre règlements et une directive a été adoptée par le Conseil des ministres de l'UEMOA le 23 mars 2006. Il s'agit du :

Règlement n°01/2006/CM/UEMOA portant création et modalités de fonctionnement d'un comité vétérinaire au sein de l'UEMOA qui précise aussi la procédure d'AMM des produits vétérinaires. Règlement n°02/2006/CM/UEMOA établissant des procédures communautaires pour l'AMM et la surveillance des médicaments vétérinaires et instituant un Comité Régional du Médicament Vétérinaire. Ce texte est la base de la législation pharmaceutique vétérinaire des États membres de l'UEMOA. Il définit le cadre réglementaire, les procédures et les dispositifs institutionnels, nécessaires au fonctionnement du système centralisé d'AMM des médicaments vétérinaires, à l'organisation de leur contrôle et à la surveillance du marché du médicament vétérinaire. L'application de ce règlement a été détaillée par la Directive n° 07/2006/CM/UEMOA relative à la pharmacie vétérinaire.

Règlement n°03/2006/CM/UEMOA instituant des redevances dans le domaine des médicaments vétérinaires au sein de l'UEMOA. Ce texte précise aussi les différents types d'autorisations et de services pour lesquels une redevance est payée.

Règlement n°04/2006/CM/UEMOA instituant un réseau de laboratoires chargés du contrôle de la qualité des médicaments vétérinaires dans la zone UEMOA.

En 2010, les dispositions de l'article 49 du Règlement N° 02/2006/CM/UEMOA ont été modifiées par le Règlement n°08/2010/CM/UEMOA (UEMOA, 2010). Deux ans plus tard, la Directive N°01/2012/CM/UEMOA relative à la libre

circulation et à l'établissement des docteurs vétérinaires ressortissants des états de l'UEMOA a été prise.

Jusqu'en 2017, l'UEMOA ne dispose que de six textes législatifs (quatre Règlements et deux Directives) réglementant le secteur de la médecine vétérinaire. Aucun texte juridique fonctionnel de recherche des résidus médicamenteux dans les aliments d'origine animale n'y existe encore (CEMAC-UEMOA, 2017).

En outre, chaque État membre de l'UEMOA dispose d'une procédure d'AMM des médicaments vétérinaires, mais l'arsenal juridique réglementant le secteur de la médecine vétérinaire y est très limité.

Au Bénin, l'importation des médicaments vétérinaires est réglementée par l'arrêté interministériel N°425 du 07 octobre 1998 pendant que les modalités d'exercice de la profession vétérinaire sont fixées par le décret N°2004-292 du 20 mai 2004. Récemment, le décret N°2014-352 du 02 juin 2014 portant régime des médicaments vétérinaires a été pris.

Au Niger, après la Loi N° 70-19 du 18 septembre 1970 portant Code de l'Élevage avec ses arrêtés et décrets d'application, la Loi n° 2004-048 du 30 juin 2004 portant loi cadre relative à l'élevage (MRA-Niger, 2004) est le principal texte de la réglementation vétérinaire de l'exercice de la médecine vétérinaire. Contrairement au Niger, la législation vétérinaire au Mali a été récemment actualisée par la Loi n°2016-004 du 12 février 2016 (abrogeant la Loi n°01-062 de 2001) régissant la pharmacie vétérinaire (ECOLEX, 2016).

Au Sénégal, il a fallu attendre 2008 avant que l'exercice de la profession de la médecine et de la pharmacie vétérinaires ne soit réglementé par la loi n°2008/07 du 24 janvier 2008 (JO, 2008).

En synthèse, l'Afrique de l'Ouest est pauvre en législation réglementant le marché des médicaments vétérinaires contrairement à l'Union européenne riche en textes réglementaires sur les antibiotiques vétérinaires et leurs résidus dans les denrées alimentaires. Il est indispensable que les pays de l'Afrique de l'Ouest se dotent de textes réglementaires pour limiter le taux des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires.



6 CONCLUSION

Somme toute, les médicaments d'antibiotiques sont indispensables pour le développement de l'élevage. Mais leur usage engendre plusieurs conséquences dont la présence de résidus de médicaments dans les aliments d'origine animale qui est responsable de cas d'allergie et surtout du développement de la résistance bactérienne aux antibiotiques. En absence d'un mécanisme régulier et efficace de contrôle du circuit de distribution des médicaments vétérinaires renforcé par une législation

relativement limitée, beaucoup de médicaments vétérinaires prohibés sont commercialisés sur le marché ouest-africain. Ceci expose à des risques sanitaires à la fois les animaux traités et les consommateurs des denrées alimentaires qui en sont issues. Il est donc indispensable que les États de l'Afrique de l'Ouest renforcent leur arsenal juridique relatif au secteur de la médecine vétérinaire pour mieux préserver la santé des consommateurs.

7 CONFLIT D'INTÉRÊT

Les auteurs de l'article déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêts.

8 CONTRIBUTION DES AUTEURS

SRD : Conception de la thématique, recherche bibliographique, rédaction de l'article ;

CD, CFAS, GSA, JD, PS et AYAK : Correction de l'article et lecture de la version finale ;

IYAK et M-LS : Conception de la thématique, correction et lecture de la version finale de l'article.

9 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abiola FA, Diop MM, Teko-Agbo A, Delepine B, Biaou FC, Roudaut B, Gaudin V. et Sanders P : 2005. Résidus d'antibactériens dans le foie et le gésier de poulets de chair dans les régions de Dakar et de Thiès (Sénégal). *Revue de Médecine Vétérinaire* 156 : 264-268.

Abiola FA : 2001. Le marché mondial des médicaments vétérinaires. Acte du séminaire sur l'utilisation des médicaments vétérinaires en Afrique Subsaharienne. Tenu à Dakar, École inter-états des sciences et médecine vétérinaires de Dakar (EISMV) du 6 au 9 février 2001. 45-45.

Abiola FA : 2002. Qualité des anthelminthique et des trypanocides en Mauritanie (étude préliminaire par un sondage limité). Rapport d'expertise, EISMV, Dakar (Sénégal). 13 pp.

Abiola FA : 2005. Qualité des médicaments vétérinaires prélevés au Tchad. Rapport d'expertise, EISMV, Dakar (Sénégal). 13 pp.

AFSCA (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire) : 2012. Avis 25-2012 portant sur Examen bactériologique des viandes et recherche de résidus de

substances à effet bactériostatique lors d'abattages d'urgence et lors d'autres abattages lorsque c'est indiqué (dossier Sci Com 2011/09). Avis approuvé par le Comité scientifique le 14/09/2012. 14 pp.

Allen KH, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J. and Handelsman J : 2010. Call of the wild : antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews, Microbiology* 8: 251-259.

Aning KG, Donkor ES, Omore A, Nurah GK, Osafo ELK. and Staal S : 2007. Risk of Exposure to Marketed Milk with Antimicrobial Drug Residues in Ghana. *The Open Food Science Journal* 1 : 1-5.

CE (Commission Européenne) : 2002. Décision de la Commission Européenne 2002/657/CE du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats. *Journal Officiel de la Commission Européenne* L6 : 38-39.

CEMAC-UEMOA : 2017. Les Bulletins Officiels de l'Union Économique et Monétaire Ouest-africaine (UEMOA).



- <http://www.izf.net/pages/les-bulletins-officiels-lunion-conomique-et-mon-taire-ouest-africaine-uemoa>.
- Chadha V : 2012. Antibiotic Resistant Genes in Natural Environment. *Agrotechnol* 1:104. doi:10.4172/2168-9881.1000104
- Chardon H. et Brugere H : 2014. Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. *Cahiers Sécurité Sanitaire Santé Animale du Centre d'Information des Viandes*. 36 p. <http://www.civ-viande.org/wp-content/uploads/2014/04/CIV-cahier-d%C3%A9f-internet-BD.pdf>
- Chopra I. and Roberts M : 2001. Tetracycline Antibiotics : Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 65 : 232-260. DOI : 10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001.
- Comte D, Petitpierre S, Spertini F. et Bart PA : 2012. Allergie aux β -lactamines. *Revue Médicale Suisse* 8 : 836-42.
- Daré I : 2007. Harmonisation de l'enregistrement et du contrôle des médicaments vétérinaires en Afrique ; l'exemple de l'Union économique et monétaire ouest-africaine (UEMOA). 17ème conférence de la commission régionale de l'O.I.E pour l'Afrique, tenue du 26 février au 1 mars 2007, Asmara, Erythrée. 133-147.
- Darwish WS, Eldaly EA, El-Abbasy MT, Ikenaka Y, Nakayama S. and Ishizuka M : 2013. Antibiotic residues in food : the African scenario. *Japanese Journal of Veterinary Research* 61(Supplement) : S13-S22.
- Delahaut P : 2016. Antibiotic, antibioresistance, method of detection : a challenge for the vet. Groupe CER Marloie. Personal Communication to congrès of EVERI (les vétérinaires de l'Enseignement, de la Recherche et de l'Industrie), held on Jun 2, 2016. 37 slides.
- Dicko SAA : 2010. La qualité en 2009 des Oxytétracyclines injectables à usage vétérinaire disponibles au Mali. Thèse de doctorat en pharmacie de la Faculté de Médecine de l'Université de Bamako (Mali). 49 pp.
- Dognon SR, Antoine-Moussiaux N, Douny C, Gustin P, Moula N, Scippo ML. and Youssao AKI : 2018. The use of antibiotics in cattle in North-East Benin : pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders. *Tropical Animal Health and Production*. DOI : <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1612-9>
- Dognon SR : 2016. Impact des traitements vétérinaires sur la qualité sanitaire des viandes bovines consommées au nord du Bénin : inventaire des antibiotiques utilisés et recherche de leurs résidus dans le rein et muscle de bovins. Mémoire de Formation doctorale, Faculté de Médecine Vétérinaires de l'Université de Liège (Belgique), 103 pp.
- Donkor ES, Newmana MJ, Tay SCK, Dayie NTKD, Bannerman E. and Olu-Taiwo M : 2011. Investigation into the risk of exposure to antibiotic residues contaminating meat and egg in Ghana. *Food Control* 22: 869-873.
- ECOLEX : 2016. Le portail au droit de l'environnement. <https://www.ecolex.org/fr/details/legislation/loi-n2016-004-du-12-fevrier-2016-regissant-la-pharmacie-veterinaire-lex-faoc155341/>.
- Epaulard O : 2015. Les allergies aux anti-infectieux. Cours des maladies infectieuses du CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier. http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/enseignement/du-grenoble/2015-DUTAI-Gre_allergies_OEpaulard.pdf
- Epp M : 2016. 13 ways to avoid medicine residues in milk. <http://m2-magazine.org>
- Fagbamila I, Kabir J, Abdu P, Omeiza G, Ankeli P, Ngulukun S, Muhammad M. and Umoh J: 2010. Antimicrobial Screening of Commercial Eggs and Determination of Tetracycline Residue Using Two



- Microbiological Methods. International Journal of Poultry Science 9: 959-962.
- Giguère S, Prescott JF. and Dowling PM: 2013. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. Wiley Blackwell (Editor), 5th Edition, Ames, Iowa, USA. 675 pp.
- ISO 9000: 1994. Quality management and quality assurance standards-Vocabulary, International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland. 4 pp.
- JO (Journal Officiel sénégalais): 2008. Loi n° 2008-07 du 24 janvier 2008 organisant la profession et la pharmacie vétérinaires au Sénégal. J.O. N° 6402 du Samedi 19 avril 2008. <http://www.jo.gouv.sn/spip.php?article6631>.
- Kumar K, Gupta SC, Chander Y. and Singh AK: 2005. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment. Advances in Agronomy 87: 1-54.
- Kyunghee J, Kyungho C, Sangwoo L, Saerom P, Jong SK, Eun-Hye J, Kyunghee C, Xiaowei Z. and John PG: 2010. Effects of sulfathiazole, oxytetracycline and chlortetracycline on steroidogenesis in the human adrenocarcinoma (H295R) cell line and freshwater fish *Oryzias latipes*. Journal of Hazardous Materials 182: 494-502.
- Mensah SEP, Ahissou HY, Koudandé OD, Salifou S, Mensah GA. and Abiola FA: 2011. Detection of antibiotics residues in meat of reformed and marketed laying hens in southern Benin. International Journal of Biological and Chemical Sciences 5 : 2195-2204.
- Mensah SEP, Laurentie M, Salifou S, Sanders P, Mensah GA, Abiola FA. and Koudandé OD : 2014a. Usage des antibiotiques par les éleveurs au Centre du Bénin, quels risques pour la santé publique ? Bulletin de Recherches Agronomiques du Bénin 75 : 1-16.
- Mensah SEP, Koudandé OD, Sanders P, Laurentie M, Mensah GA. and Abiola FA : 2014b. Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : risques de santé publique. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics) 33 : 975-986.
- Mensah SEP, Aboh AB, Salifou S, Mensah GA, Sanders P, Abiola FA. and Koudandé OD: 2014c. Risques dus aux résidus d'antibiotiques détectés dans le lait de vache produit dans le centre Benin. Journal of Applied Biosciences 80 : 7102 – 7112.
- Merten C : 2010. Résidus d'antibiotiques dans la viande de zébus élevés et abattus en République Islamique de la Mauritanie. Mémoire de Master Complémentaire en Médecine vétérinaire à l'Université de Liège (Belgique). 75 pp.
- Messomo Ndjana F: 2006. Étude de la distribution et de la qualité des médicaments vétérinaires au Cameroun. Thèse de Docteur vétérinaire de l'EISMV de Dakar (Sénégal). 114 pp.
- MRA-Niger (Ministère des ressources animales du Niger) : 2004. Loi N° 2004-048 du 30 juin 2004 portant Loi cadre relative à l'élevage. République du Niger. 22 pp.
- Nickell JS. and White BJ. 2010. Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice 26: 285–301.
- Olatoye OI. and Basiru A: 2013. Antibiotic Usage and Oxytetracycline Residue in African Catfish (*Clarias gariepinus* in Ibadan, Nigeria). World Journal of Fish and Marine Sciences 5: 302-309.
- PE (Parlement Européen) et CE (Conseil Européen) : 2009. Règlement (CE) N° 470/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 6 mai 2009 établissant des procédures communautaires pour la fixation des limites de résidus des substances pharmacologiquement actives dans les aliments d'origine animale, abrogeant le règlement (CEE) no 2377/90 du Conseil et modifiant la



- directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil et le règlement (CE) N° 726/2004 du Parlement européen et du Conseil. Journal Officiel de la Commission Européenne L152: 11-22.
- Pham Kim D, Degand G, Douny C, Ton DV, Maghuin-Rogister G. and Scippo M-L: 2011. Optimisation of a new two-plate screening method for the detection of antibiotic residues in meat. International Journal of Food Science and Technology 46: 2070-2076.
- Pham Kim D: 2011. Étude de l'utilisation d'antibiotiques et de la présence de leurs résidus dans les produits d'origine animale commercialisés dans la région du Delta du Fleuve Rouge au Vietnam. Thèse de doctorat de l'Université de Liège (Belgique). 220 pp.
- Phu TM, Phuong NT, Scippo M-L. and Dalsgaard A: 2015. Quality of Antimicrobial Products Used in Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Aquaculture in Vietnam. PLoS ONE 10: e0124267. doi:10.1371/journal.pone.0124267.
- PR (Présidence de la République) : 2004. Décret N°2004-292 du 20 mai 2004 fixant modalités d'exercice de la profession vétérinaire. République du Bénin. 8 pp.
- Repère médical : 2016. Liste des articles du n° 47, les macrolides. <http://www.repere-medical.com/article-231.html>.
- Samandoulougou S, Ilboudo AJ, Sanon/Ouédraogo G, Tindano K, Compaore H, Ouedraogo A, Savadogo A. and Traore AS: 2016. Utilisation de médicaments vétérinaires en production bovine et aviaire et sécurité sanitaire des aliments d'origine animale au Burkina Faso. The International Journal of Multi-disciplinary Sciences 4 : 50-79.
- Sanders P, Bousquet-Melou A, Chauvin C. et Toutain PL : 2011. Utilisation des antibiotiques en élevages et enjeux de santé publique. INRA Productions Animales 24: 199–204.
- Soumana BA : 2013. Étude de la distribution des médicaments vétérinaires et aspect réglementaire de la pharmacie vétérinaire au Niger. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire à l'EISMV de Dakar (Sénégal). 135 pp.
- Stead S, Sharman M, Tarbin JA, Gibson E, Richmond S, Stark J. and Geijp E: 2004. Meeting maximum residue limits : an improved screening technical for the rapid detection of antimicrobial residues in animal food products. Food Additives and Contaminants 21: 216-221.
- Tano L : 2005. Indicateurs de qualité des médicaments vétérinaires. Communication à l'Atelier de sensibilisation sur la qualité des médicaments vétérinaires au Mali. Tenu du 22 au 25 février 2005 à Bamako, 7 pp.
- UE (Union Européenne) : 2010. Règlement (UE) N° 37 / 2010 de la Commission du 22 Décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale. Journal Officiel de la Commission Européenne L15 : 1–72.
- UEMOA : 2010. Règlement n°08/2010/CM/UEMOA portant modification du règlement n°02 /2006/CM/UEMOA établissant des procédures communautaires pour l'autorisation de mise sur le marché et la surveillance des médicaments vétérinaires et instituant un comité régional du médicament vétérinaire, 3 pp. <http://www.izf.net/pages/les-bulletins-officiels-lunion-conomique-et-mon-taire-ouest-africaine-uemoa>.

Erratum concernant l'article Dognon *et al.* (2018b)

Tableau 1.2 : Erratum concernant l'article « Dognon *et al.* (2018b) Qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires. Journal of Animal & Plant Sciences, 36 (2), 5858-5878 »

Page de la thèse	Page de l'article	Titre du paragraphe	Texte initial	Correction
28	5858	1 Résumé	...Mais, la mauvaise utilisation de ces antibiotiques...	...Mais la mauvaise utilisation de ces antibiotiques...
28	5858	1 Résumé	...Les méthodes de contrôle de qualité des médicaments d'antibiotiques et...	...Les méthodes de contrôle de qualité des médicaments antibiotiques et...
28	5858	1 Résumé	...Enfin, les pays de l'UEMOA ne disposent qu'un arsenal...	...Enfin, les pays de l'UEMOA disposent d'un arsenal...
29	5859	2 Introduction	...qui sont des produits prohibés dont l'usage est dangereux non seulement aux animaux traités mais aussi à l'homme...	...qui sont des produits prohibés dont l'usage est dangereux non seulement pour les animaux traités mais aussi pour l'homme...
29	5859	2 Introduction	...Les méthodes de contrôle de la qualité des médicaments d'antibiotiques et de détection...	...Les méthodes de contrôle de la qualité des médicaments antibiotiques et de détection...
36	5866	3.6 Qualité des produits vétérinaires distribués en Afrique de l'Ouest	...alors qu'au Mali, ce taux était de 11 % Dicko (2010).	...alors qu'au Mali, ce taux était de 11 % (Dicko, 2010).
37	5867	4.2.1 Phénomène d'antibiorésistance	...(Sander <i>et al.</i> , 2011).	...(Sanders <i>et al.</i> , 2011).
38	5868	4.2.4 Effets des antibiotiques sur l'environnement	...(Kumar <i>et al.</i> , 2005).	...(Kumar <i>et al.</i> , 2005).
39	5869	4.3 Méthodes de détection et de dosage des antibiotiques dans les denrées alimentaires	...varient selon la famille d'antibiotique recherchée...	...varient selon la famille d'antibiotiques recherchée...
39	5869	4.3 Méthodes de détection et de dosage des antibiotiques dans	...Pour augmenter la sensibilité du screening, certains auteurs couplent avec ces tests, des méthodes d'extraction...	...Pour augmenter la sensibilité du screening, certains auteurs couplent avec ces tests des méthodes d'extraction...

Page de la thèse	Page de l'article	Titre du paragraphe	Texte initial	Correction
		les denrées alimentaires		
44	5874	6 Conclusion	Somme toute, les médicaments d'antibiotiques...	Somme toute, les médicaments antibiotiques...

Introduction

1.3. Revue sur les modes d'action, impacts et détection des pesticides utilisés en agriculture

*Projet d'article de synthèse à soumettre dans "International
Journal of Biological and Chemical Sciences"*

**S.R. Dognon^{1,2*}, A.K.A. Youssao³, M.A.N. Gbaguidi³, P. Sessou⁴, G.S. Ahounou¹,
A.K.I. Youssao¹, M-L. Scippo²**

¹ Département de Production et Santé Animales, Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP2009 Cotonou, République du Bénin

² Département des Sciences des Denrées Alimentaires, Laboratoire d'Analyse des Denrées Alimentaires, Faculté de Médecine vétérinaire, FARA-H-Veterinary Public Health, Université de Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgique

³ Unité de Recherche en Ecotoxicologie et Etude de Qualité, Laboratoire de Recherche en Chimie Appliquée, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi 01BP2009 Cotonou, République du Bénin

⁴ Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Unité de Recherche en Biotechnologie de la Production et Santé Animales, Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin

*Auteur correspondant : E-mail : robertdognon@yahoo.fr ; Tél : (+229) 97 22 09 97

RESUME

Les pesticides sont des substances chimiques ou biologiques largement utilisées en agriculture et en santé publique pour lutter contre les ravageurs des cultures, les adventices et autres nuisibles. Leur usage en agriculture permet de réduire ou de limiter les pertes de production au champ et les pertes post-récoltes. L'objectif de cet article est de présenter une synthèse sur les pesticides, leur classification, leur mode d'action sur les ravageurs et leur devenir après usage. Les impacts des pesticides sur la chaîne alimentaire, les écosystèmes et la santé humaine, de même que les méthodes analytiques de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires et matrices environnementales ont également été passés en revue. Les pesticides sont classés en fonction des organismes cibles, de leur structure chimique et du niveau de toxicité aiguë sur les mammifères. Les herbicides perturbent principalement des réactions de la photosynthèse pour nuire aux végétaux alors que la plupart des insecticides agissent sur le système nerveux et les mécanismes de régulations hormonales pour détruire les organismes cibles. Après usage, les pesticides se retrouvent dans tous les compartiments environnementaux et contaminent aussi la chaîne alimentaire. Les pesticides volatils sont recherchés par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse ou à un détecteur à capture d'électrons alors que les méthodes de chromatographie liquide couplée soit à un spectromètre de masse soit à un détecteur ultra-violet sont utilisées pour la détection des résidus de pesticides non volatils. Les méthodes ELISA sont également utilisées pour la recherche de résidus de pesticides.

Mots clés : Pesticides, résidus, mécanisme d'action, effets toxiques, détection de pesticide.

Review on the modes of action, impacts and detection of pesticides used in agriculture

ABSTRACT

Pesticides are chemical or biological substances widely used in agriculture and public health to control crop pests, weeds and other pests. Their use in agriculture reduces or limits agricultural production losses and post-harvest losses. This article aim is to present a summary of pesticides, their classification, their mode of action on pests and their fate after use. The impacts of pesticides on the food chain, ecosystems and human health, as well as analytical methods for detecting their residues in food and environmental matrices were also reviewed. Pesticides are classified according to the target organisms, their chemical structure and the level of acute mammalian toxicity. Herbicides mainly disrupt photosynthesis reactions to harm plants while most insecticides act on the nervous system and hormonal regulation mechanisms to destroy target organisms. After use, pesticides are found in all environmental compartments and also contaminate the food chain. The volatile pesticides are researched by gas chromatography in tandem with a mass spectrometer or to an electron capture detector whereas the methods of liquid chromatography coupled to either a mass spectrometer or an ultraviolet detector are used for the detection of non-volatile pesticide residues. ELISA methods are also used to search for pesticide residues.

Key words: Pesticides, residues, mechanism of action, toxic effects, pesticide detection.

INTRODUCTION

Les pesticides sont largement utilisés en agriculture pour prévenir et maîtriser la pression parasitaire des ravageurs, des adventices et autres pathogènes des végétaux afin de réduire ou de limiter les pertes de production au champ et d'obtenir des denrées alimentaires d'origine végétale de bonne qualité (Damalas et Eleftherohorinos, 2011). Dans le contexte actuel des pratiques agricoles, si l'utilisation des pesticides est abandonnée en agriculture, le monde pourrait enregistrer des pertes pouvant dépasser 80 % de la production mondiale agricole (Sarwar and Salman, 2015). Ainsi, l'agriculture conventionnelle avec usage de pesticides chimiques est indispensable pour garantir les besoins en aliments humains afin d'assurer la sécurité alimentaire. La lutte contre la faim dans un monde caractérisé par une rapide croissance démographique a engendré une intensification de l'agriculture (Tschamntke *et al.*, 2012). Par conséquent, une augmentation rapide de la quantité mondiale des pesticides de synthèse utilisés en agriculture a été observée pendant les dernières décennies qui ont connu la synthèse de nouvelles molécules (Pretty *et al.*, 2011; Sarwar and Salman, 2015).

En raison de leur nuisance envers des organismes vivants non-cibles, de leur rémanence dans les écosystèmes naturels où des phénomènes de résistances multiformes ont été observés chez les ravageurs cibles au fil du temps, le monde agricole a adopté un usage en alternance et simultané de plusieurs groupes de pesticides depuis des décennies (Abreu-Villaça et Levin, 2018). En effet, les organochlorés, qui ont été les premiers pesticides les plus commercialisés et les plus utilisés en agriculture et en santé publique pendant des décennies à partir des années 1940s, ont été interdits d'usage dans plusieurs pays du monde entre 1970 et 1980 (Casida et Quistad, 1998 ; Costa, 2015). Ainsi, les organochlorés ont été largement remplacés par des organophosphorés qui ont été surtout développés après la deuxième guerre mondiale (Abreu-Villaça et Levin, 2018). Ceux-ci étant très toxiques pour l'homme, les carbamates ont été introduits ensuite (à partir des années 1960s) suivis des pyréthréinoïdes (Abreu-Villaça et Levin, 2018). D'autres groupes de pesticides ont été par la suite introduits et sont actuellement utilisés en agriculture et en santé publique. Il s'agit entre autre des néonicotinoïdes, kétoénols, diamides ou benzenedicarboxiamides et avermectines.

Chacune de ces familles de pesticides possède un mécanisme d'action propre sur les ravageurs cibles en liaison avec leur mode de vie. Il n'est pas exclu que des molécules de la même famille de pesticides possèdent différents modes d'action. En fonction de ces actions sur les ravageurs cibles, on distingue les herbicides, les insecticides, les acaricides, les fongicides, etc.

Malheureusement, les effets nocifs des pesticides ne se limitent pas seulement à leurs cibles. Ils sont toxiques pour d'autres organismes non-cibles dont l'homme chez qui ces molécules dangereuses peuvent provoquer des maladies neurologiques, néphrotiques, des malformations néonatales et peuvent être cancérogènes (Torres-Sánchez *et al.*, 2013 ; Jayasumana *et al.*, 2014, 2015a, 2015b ; Ibrahim, 2015; Herath *et al.*, 2017). Pour ces raisons, la présence de résidus de pesticides et dérivés dans

l'environnement et les aliments a beaucoup préoccupé les chercheurs qui ont développé beaucoup de méthodes pour leur détection.

Cet article de revue présente une synthèse sur les pesticides, leur classification, leur mode d'action sur les ravageurs et leur devenir après usage. Les impacts des pesticides sur la chaîne alimentaire, les écosystèmes et la santé humaine, de même que les méthodes analytiques de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires et matrices environnementales ont également été passés en revue.

1. Définition et utilité des pesticides

Le pesticide désigne toute substance ou préparation destinée à prévenir, détruire, attirer, repousser ou lutter contre tout élément nuisible (plante ou insecte ou acarien) pendant la production, l'entreposage, le transport, la distribution et la transformation de denrées alimentaires, de produits agricoles ou d'aliments pour les animaux (Eldridge, 2008; Damalas et Eleftherohorinos, 2011; Sarwar et Salman, 2015). Ils peuvent être des produits chimiques (mélanges de principes actifs et d'adjuvants) ou des agents biologiques (virus et bactéries).

En agriculture, les pesticides sont utilisés pour protéger les cultures contre les organismes nuisibles (plantes adventices, insectes et autres parasites indésirables). Ils favorisent un gain de temps sur les opérations culturales (cas des herbicides) (Chauhan *et al.*, 2012; Bajwa, 2014). Leur usage a donc permis d'améliorer considérablement les rendements des cultures agricoles et de satisfaire à la demande nutritionnelle liée à l'accroissement démographique (Sarwar et Salman, 2015). En effet, les adventices, insectes/acariens et les maladies occasionnent une perte annuelle estimée jusqu'à 40 % du potentiel mondial de production des cultures par an (Sarwar et Salman, 2015). Le taux de ces pertes pourrait être doublé si l'usage des pesticides était abandonné (Sarwar et Salman, 2015). Par conséquent, l'immense succès des pesticides dans les applications agricoles afin d'optimiser la productivité des cultures a entraîné un développement rapide de leur production et une diversification de leur utilisation.

2. Classification des pesticides utilisés en agriculture

La classification des pesticides utilisés en agriculture est réalisée soit en fonction des cibles visées par la substance ou en fonction de leur structure chimique. Ces deux classifications sont complémentaires entre elles.

2.1. Classification des pesticides en fonction du groupe cible

Suivant les ravageurs ou nuisibles à détruire, on distingue plusieurs groupes de pesticides dont les plus utilisés sont les herbicides, les insecticides et les fongicides. Le tableau 1 présente la classification des pesticides en fonction de leur cible. Les herbicides sont utilisés pour détruire les végétaux

chlorophylliens indésirables. On y distingue des herbicides non-sélectifs (herbicides totaux) et des herbicides sélectifs. Le tableau 2 présente quelques herbicides et leur catégorie. Les herbicides totaux sont nuisibles à tous les végétaux en contact sans distinction alors que les herbicides sélectifs sont utilisés pour protéger des familles ou des espèces végétales à qui ils ne sont pas nocifs, mais ils sont toxiques aux autres groupes de végétaux.

Les insecticides sont utilisés pour lutter contre les insectes et leurs chenilles alors que les fongicides sont employés pour tuer les champignons et parfois les virus. D'autres groupes de pesticides existent. Ils sont entre autres les acaricides, les mollucides, les nématicides, les rodenticides, etc. (Eldridge, 2008).

Le tableau 1 Classification des pesticides en fonction de leur cible (Eldridge, 2008)

N°	Pesticide	Nuisibles cibles / Fonction
1	Acaricide	Acariens, Tiques
2	Algicide	Algues
3	Anticoagulant	Rongeurs
4	Attractif	Attrape les insectes ou oiseaux
5	Avicide	Oiseaux
6	Bactéricide	Bactéries
7	Défoliant	Feuilles des plantes
8	Déshydratant	Perturbe l'équilibre hydrique chez les arthropodes
9	Fongicide	Champignons
10	Herbicide	Adventices
11	Insecticide	Insectes
12	Mollucide	Mollusques, Escargot
13	Nématicide	Nématode
14	Piscicide	Poisson
15	Prédacide	Prédateurs des vertébrés
16	Régulateurs de croissance	Régule la croissance des insectes et des plantes
17	Repoussant	Repousse les vertébrés ou les arthropodes
18	Rodenticide	Rongeurs
19	Silvicide	Végétaux ligneux

Tableau 2 : Quelques types d'herbicides couramment utilisés (Bajwa, 2014)

Herbicide	Type	Doses couramment utilisées (g/ha)	Temps de demi- vie (semaines)
Glyphosate	Non-sélectif	250 - 1000	4 - 8
Paraquat	Non-sélectif	560 - 840	50
Atrazine	Sélectif, mais utilisé aussi comme non-sélectif	1500 - 4500	10 - 50
Alachlor	Sélectif	1700 - 4000	4 - 5
Bromoxynil	Sélectif	280 - 450	1 - 2
2,4-D	Sélectif	280 - 1000	1 - 4
Dicamba	Sélectif	100 - 400	2 - 6

2.2. Classification des pesticides en fonction des structures chimiques

Sur le plan chimique, les pesticides dont les molécules contiennent du carbone sont qualifiés de pesticides organiques qui sont plus complexes que les pesticides inorganiques (composés simples sans carbone) (Eldridge, 2008). Les pesticides organiques peuvent être subdivisés en deux groupes : pesticides organiques naturels (produit par les plantes, bactéries, etc.) et les pesticides organiques synthétiques qui sont des produits de synthèse chimique.

En fonction de leur groupement fonctionnel ou de leur similitude de structure, les pesticides organiques sont classés dans plusieurs familles différentes. La figure 1 présente les structures chimiques de quelques molécules de pesticides organiques utilisés en agriculture. On y distingue les triazines, urées, aminophosphates, organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes, etc.

- ✓ Les triazines sont couramment utilisées en agriculture comme des herbicides sélectifs. Elles sont des composés organiques constitués d'un hétérocycle aromatique de six atomes, dont trois de carbone et trois d'azote (Dognon, 2008). L'atrazine et la prométrine sont deux composés de cette famille. Certaines molécules de cette famille comme l'atrazine, sont très persistantes dans l'environnement (Salazar-Ledesma *et al.*, 2018).
- ✓ Les urées sont des composés organiques dérivés de l'urée ou carbamide de formule chimique CON_2H_4 (Mizuno *et al.*, 2000). Certains herbicides comme le diuron se trouvent dans ce groupe (Brignon et Gouzy, 2007).
- ✓ Les aminophosphates constituent une famille de molécules chimiques à laquelle appartiennent des herbicides non-sélectifs dont le glyphosate et le glufosinate (Bridi *et al.*, 2017 ; Dennis *et al.*, 2018).
- ✓ Les organochlorés sont des hydrocarbures chlorés représentant l'un des tout premiers pesticides de synthèse. Les molécules de DDT (Dichlorodiphényltrichloroethane), endosulfan, chlordane,

dièldrine et lindane sont des pesticides de ce groupe (Abreu-Villaça et Levin, 2018 ; Zhang *et al.*, 2018). Suite à des cas multiples d'intoxication alimentaire imputés aux organochlorés surtout l'endosulfan, et des problèmes de résistance développée par les ravageurs contre ces molécules, la plupart des pesticides organochlorés ont été interdits d'usage (Abreu-Villaça et Levin, 2018). Ainsi, de nouvelles molécules ont été introduites en alternative aux organochlorés.

- ✓ Les organophosphorés dont le chlorpyrifos, malathion et parathion sont des pesticides dérivés d'acide phosphorique (Upadhyay et Dutt, 2017). Ces pesticides ont un large spectre d'action sur beaucoup de ravageurs qui par la suite ont développé une résistance à ces molécules. Ainsi, des produits alternatifs ont été développés et leur utilisation a été considérablement réduite (Eldridge, 2008).
- ✓ Les carbamates sont des pesticides à structures chimiques similaires à celles des organophosphorés (Upadhyay et Dutt, 2017). Ils sont des dérivés d'acide carbamique et regroupent les molécules telles que le carbaryl et le propoxur. Ils sont utilisés comme rodenticides et insecticides, mais certains d'entre eux sont des herbicides (Fattahi *et al.*, 2012).
- ✓ Les pyréthrinoïdes sont des insecticides chimiques dérivés de l'acide chrysanthémique et ayant des structures moléculaires similaires aux molécules du groupe des Pyréthrine qui sont produites par les fleurs des espèces végétales du genre *Chrysanthemum* (Eldridge, 2008 ; Upadhyay et Dutt, 2017 ; Abreu-Villaça et Levin, 2018). Ils sont subdivisés en deux sous-groupes : les Pyréthrinoïdes de type I contenant des molécules (alléthrine, bifenthrine, perméthrine, etc.) dont les structures ne possèdent pas le groupement cyano en position α et les Pyréthrinoïdes de type II caractérisés par des molécules (deltaméthrine, cyperméthrine, cyhalotrine, fenvalérate, etc.) possédant le groupement cyano (Soderlund, 2012 ; Syed *et al.*, 2018). La plupart des molécules de pyréthrinoïdes ne sont pas persistantes dans l'environnement et se dégradent rapidement sous l'effet de la lumière solaire (Eldridge, 2008).
- ✓ Les néonicotinoïdes sont de nouvelles classes de pesticides à structures chimiques semblables à celle de la nicotine (Tomizawa et Casida, 2005). Ils peuvent être classés dans l'un des trois groupes chimiques suivants : les N-nitroguanidines (imidaclopride, thiaméthoxame, clothianidine et dinotéfurane), les nitrométhylènes (nitenpyrame) et les N-cyanoamidines (acetamiprid and thiacloprid) (Kundoo *et al.*, 2018). Les néonicotinoïdes se distinguent des autres insecticides par leur action sélective sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) des insectes pour lesquels ils sont très toxiques.

Au départ, les organochlorés étaient les plus utilisés en agriculture au Bénin avant les organophosphorés (Zoumenou *et al.*, 2015). Mais aujourd'hui, les produits insecticides utilisés au Bénin sont pour la plupart des binaires acaricides ou aphicides constitués soit de pyréthrinoïdes et organophosphorés ou de pyréthrinoïdes et néonicotinoïdes (Zoumenou *et al.*, 2015 ; Hinson *et al.*, 2015). D'autres nouveaux

groupes de pesticides sont également utilisés : les kétoénols (spirotetramate), les diamides ou benzenedicarboxiamides (flubendiamide), les avermectines (emamectine), etc. (Agbohessi *et al.*, 2012 ; Hinson *et al.*, 2015).

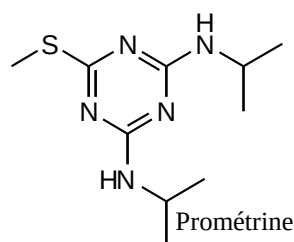
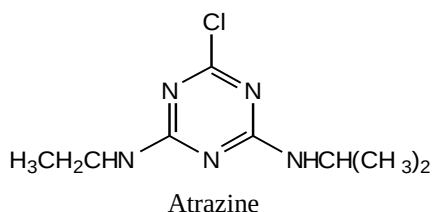


Figure 1A : Structures moléculaires des pesticides du groupe des triazines (Dognon, 2008)

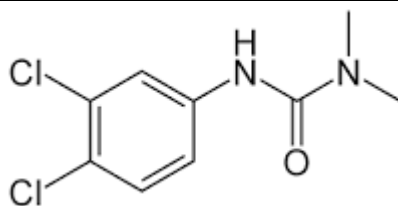
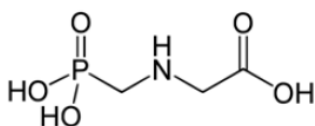
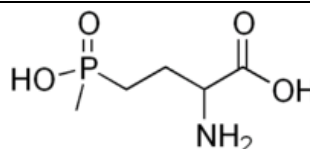


Figure 1B : Structure chimique du diuron (famille des Urées) (Brignon et Gouzy, 2007)



Glyphosate (Jayasumana *et al.*, 2014 ; Ibrahim, 2015)



Glufosinate (ChemSpider, 2015)

Figure 1C : Structure chimique des molécules du groupe des aminophosphates

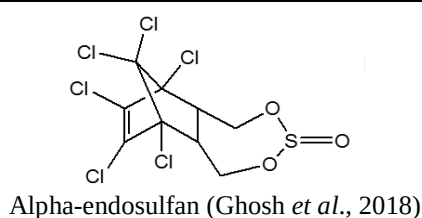
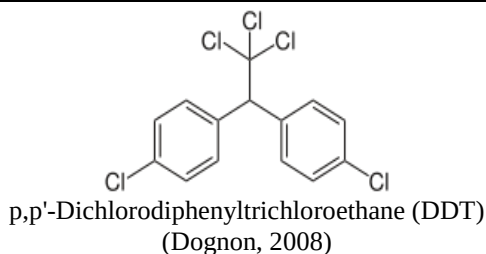
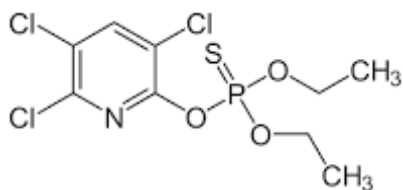
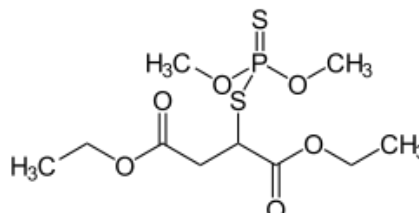


Figure 1D : Structures moléculaires des pesticides du groupe des organochlorés

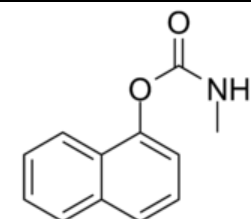


Chlorpyrifos-ethyl (Brignon et Gouzy, 2006)

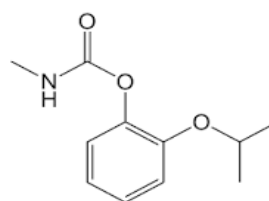


Malathion (INERIS, 2011)

Figure 1E : Structures moléculaires des pesticides du groupe des organophosphorés



Carbaryl (NCBI, 2018a)



Propoxur (NCBI, 2018b)

Figure 1F : Structures moléculaires des pesticides de la famille des carbamates

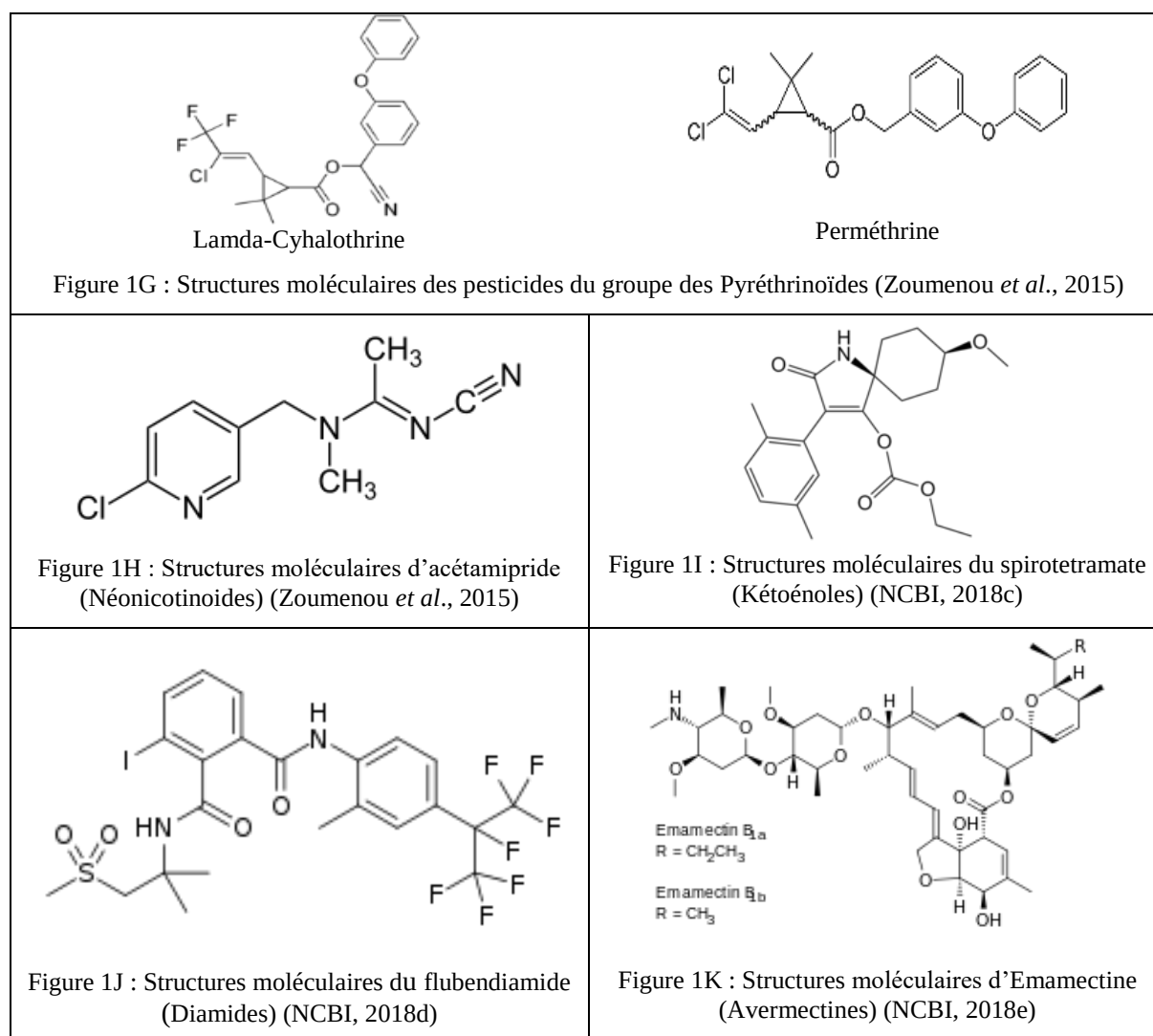


Figure 1 : Structures chimiques de quelques pesticides

2.3. Classification des pesticides selon leur toxicité

Les pesticides sont également classés en fonction du niveau de leur toxicité. Pour évaluer le degré de cette toxicité sur la santé humaine, plusieurs tests sont réalisés généralement sur des animaux de laboratoire comme le rat, le lapin et le chien. Ces tests portent sur les produits de métabolisme du pesticide, ses toxicités aiguë, sub-chronique et chronique, son effet cancérogène, sa génotoxicité, son effet tératogène, sa capacité à irriter la peau et l'œil (Matthews, 2006). Les différents tests de toxicité exigés par l'Agence américaine de protection de l'environnement (Damalas et Eleftherohorinos, 2011 ; EPA, 2017) pour évaluer le risque sanitaire d'un pesticide sur l'homme sont :

- Le test de toxicité aiguë qui évalue les effets à court terme d'une simple dose du pesticide sur des sujets soumis à une exposition orale, dermale et respiratoire du pesticide. La capacité à irriter les yeux et la peau, la sensibilité de la peau et la neurotoxicité sont autant d'effets qui sont évalués. A travers ce test, il est également déterminé la dose létale moyenne (LD₅₀) qui est la

dose du produit (par unité du poids vif) capable de tuer la moitié de la population des animaux soumis au test. On distingue des LD₅₀ orale, dermale ou respiratoire lorsqu'il s'agit respectivement d'une exposition par voie buccale, contact avec la peau ou par inhalation respiratoire. Ces différents paramètres sont utilisés pour classifier les pesticides selon leur niveau de toxicité (Tableaux 3, 4 et 5).

- Le test de toxicité sub-chronique qui évalue les effets sur une période de 30 à 90 jours après des expositions intermédiaires et répétées des sujets au pesticide.
- Le test de toxicité chronique qui évalue les effets à long terme des doses d'un pesticide sur des sujets soumis aux expositions répétées pendant presque toute la durée de leur vie afin de pouvoir déterminer les effets d'une exposition prolongée et répétée de ces animaux d'essai au produit (effets cancérigènes chroniques ou non).
- Les tests de reproduction pour évaluer les effets potentiels du pesticide sur le fœtus en cas d'une exposition du sujet au produit pendant la période de gestation. Ces tests permettent également d'évaluer l'influence du pesticide sur la capacité des animaux d'essai à se reproduire avec succès.
- Les tests de mutagénicité ou de génotoxicité pour évaluer la capacité du pesticide à affecter le patrimoine génétique des animaux.
- Le test de perturbation endocrinienne pour évaluer le potentiel du pesticide à perturber le système de production hormonale.

Tableau 3 : Toxicité aiguë des pesticides selon la classification de l'OMS (WHO, 2010; Damalas et Eleftherohorinos, 2011)

Classe	Classification	LD ₅₀ pour le rat (mg/kg de poids vif)			
		Exposition par voie orale		Exposition par voie dermique	
		Solides	Liquides	Solides	Liquides
Ia	Extrêmement dangereux	< 5	< 20	< 10	< 40
Ib	Hautement dangereux	5 - 50	20 - 200	10 - 100	40 - 400
II	Modérément dangereux	50 - 500	200 - 2000	100 - 1000	400 - 4000
III	Faiblement dangereux	> 501	> 2001	> 1001	> 4001
U	Ne présentant pas de danger aigu	> 2000	> 3000	-	-

LD₅₀ : dose létale pour 50% de la population.

Tableau 4 : Toxicité aiguë des pesticides selon la classification de l'Agence américaine de protection de l'environnement (Damalas et Eleftherohorinos, 2011 ; EPA, 2017)

Classe	Mots-clés	Toxicité aiguë pour le rat		
		LD ₅₀ par voie orale (mg/kg)	LD ₅₀ par voie dermique (mg/kg)	LC ₅₀ par inhalation (mg/L)
I	Danger	< 50	< 200	< 0,2
II	Avertissement	5 - 500	200 - 2000	0,2 - 2
III	Précaution	500 - 5000	2000 - 20000	2 - 20
IV	Précaution (optionnelle)	> 5000	> 20000	> 20

LD₅₀ : dose létale pour 50% de la population. LC₅₀ : concentration létale pour 50% de la population.

Tableau 5 : Toxicité aiguë des pesticides suivant leurs effets sur l'œil et la peau, selon la classification de l'Agence américaine de protection de l'environnement (Damalas et Eleftherohorinos, 2011 ; EPA, 2017)

Classe	Mots-clés	Toxicité aiguë pour le rat	
		Effets sur les yeux	Effets sur la peau
I	Danger	Opacité non réversible de la cornée pendant 7 jours	Corrosif
II	Avertissement	Irritation persistante pour pendant 7 jours	Irritation sévère pendant 72 h
III	Précaution	Irritation réversible jusqu'à 7 jours	Irritation modérée pendant 72 h
IV	Précaution (optionnelle)	Pas d'irritation	Irritation moyenne ou faible pendant 72 h

3. Mode d'action des pesticides sur les espèces cibles et non cibles

Le mécanisme d'action des pesticides sur les êtres vivants est fortement lié au mode de vie des nuisibles. Les herbicides sont destinés à nuire aux végétaux alors que les insecticides développent leur nuisance contre les arthropodes et autres espèces assimilées.

3.1. Mode d'action des herbicides

Les herbicides du groupe des triazines tel que l'atrazine inhibent la production photosynthétique de dioxygène en bloquant le transfert des électrons au niveau du photosystème II de la photosynthèse (Rutherford et Krieger-Liszkay, 2001). Ainsi, l'efficacité du photosystème II est dramatiquement réduite chez la plante qui peut en mourir (Alberto *et al.*, 2017). Cette même activité phytocide caractérise le diuron, un herbicide du groupe des urées substituées (Hasenbein *et al.*, 2017).

Dans le groupe des aminophosphates, le glyphosate est reconnu comme l'un des herbicides les plus mondialement utilisés en agriculture. Il est le seul herbicide dont le mécanisme d'action (Figure 2) bloque l'activité de l'enzyme énoypyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) (Ibrahim, 2015). En effet, une fois en contact et assimilé par la plante, le glyphosate se lie à l'enzyme EPSPS se situant au début de la voie de l'acide shikimique qui est un processus biochimique de synthèse de certains acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine qui sont indispensables pour la survie des végétaux et de certaines bactéries et champignons (Jayasumana *et al.*, 2014 ; Ibrahim, 2015). L'enzyme EPSPS ainsi inhibée et piégée, ne pourra plus être transportée dans le chloroplaste pour catalyser la réaction conduisant à la formation de ces acides aminés aromatiques essentiels. Ces réactions successives et simultanées au niveau de tous les organes de réserve de la plante peuvent provoquer sa mort (Ibrahim, 2015). Cette voie de synthèse biochimique étant absente chez les animaux (Jayasumana *et al.*, 2014), le glyphosate était supposé être non toxique pour les espèces animales. Quant au glufosinate, un autre aminophosphate, son mode d'action est différent de celui du glyphosate. Une fois dans la plante à travers ses feuilles et autres organes verts, le glufosinate inhibe l'activité de l'enzyme glutamine synthétase qui est responsable de la synthèse de la glutamine à partir du glutamate et de l'ammoniaque (Wild et Wendler, 1991). Il en résulte une accumulation de l'ammoniaque dans les cellules, provoquant ainsi une perturbation du métabolisme de l'hydrogène chez la plante (Ganie et Jhala, 2017).

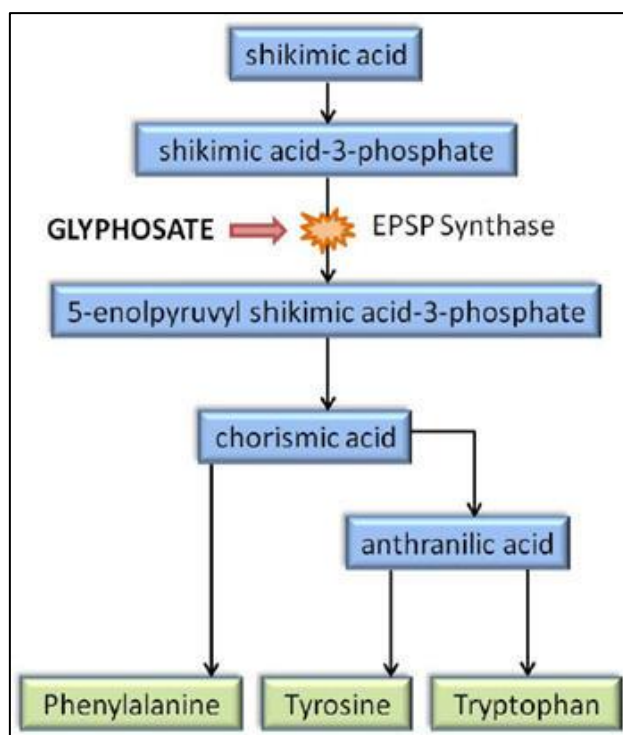


Figure 2 : Mécanisme d'action du glyphosate. Source : ITFG (2013)

3.2. Mode d'action des insecticides

En ce qui concerne les insecticides, leurs mécanismes d'action sont résumés dans le tableau 6. En général, les organochlorés ont principalement deux actions chez les insectes. En effet, le DDT et les composés assimilés bloquent les canaux sodiques des systèmes nerveux central et périphérique pour provoquer des agitations et augmenter la fréquence de mouvements spontanés chez l'insecte (Costa, 2015 ; Abreu-Villaça et Levin, 2018). Ces convulsions répétées peuvent provoquer une mort éventuelle de l'animal (Costa, 2015 ; Upadhyay et Dutt, 2017). Les organochlorés hexachlorocyclohexanes (lindane) et cyclodiènes (aldrine, dieldrine, endosulfan, etc.) se fixent quant à eux, sur les récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique (AGAB) en les empêchant d'ouvrir le canal de chlorure en réponse à la fixation de l'AGAB (Abreu-Villaça et Levin, 2018). Ce canal étant un régulateur nerveux, l'absence de ses actions provoque une hyperstimulation de l'animal qui décède suite à des mouvements de convulsions sévères (Abreu-Villaça et Levin, 2018 ; Ghosh *et al.*, 2018).

Le principal mode d'action des pesticides organophosphorés est l'inhibition irréversible de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) qui catalyse la réaction de dégradation de l'acétylcholine (ACh) en acétate et choline dans le système nerveux des insectes (Upadhyay et Dutt, 2017 ; Abreu-Villaça et Levin, 2018). Par conséquent, l'inhibition de l'AChE induit une accumulation de l'ACh qui provoque la mort de l'insecte par une hyperstimulation des récepteurs d'AChE (Casida et Durkin, 2013).

Comme les organophosphorés, les carbamates bloquent aussi l'enzyme AChE pour tuer l'insecte dans les mêmes conditions que les précédentes. Mais contrairement au lien irréversible organophosphoré-AChE, la liaison carbamates-AChE est rapidement réversible (Abreu-Villaça et Levin, 2018). Ainsi, des

concentrations régulièrement insuffisantes du pesticide pourraient favoriser le développement du phénomène de la résistance des cibles face à ces produits.

Quant aux pyréthrinoïdes, ils sont des poisons axoniques du système nerveux périphérique et central des insectes (Li-Ming, 2008 ; Soderlund, 2012 ; Zoumenou *et al.*, 2015). En effet, les pyrethrinoïdes de types I et II inhibent la fermeture ou activent l'ouverture des canaux sodiques voltage-dépendant de la membrane des cellules nerveuses (Soderlund, 2012). Ils perturbent ainsi la conduction nerveuse, ce qui conduit à la cessation de l'alimentation, la perte de contrôle musculaire, la paralysie et la mort éventuelle de l'insecte (Li-Ming, 2008 ; Soderlund, 2012 ; Zoumenou *et al.*, 2015). D'autres actions telles que l'activation des canaux de calcium voltage-dépendant et le blocage des canaux de chlorure voltage-dépendant sont attribuées aux deux types de pyréthrinoïdes (Burr et Ray, 2004 ; Clark et Symington, 2012). Particulièrement, les pyréthrinoïdes de type II ont aussi la faculté de bloquer les récepteurs de l'AGAB, ce qui conduit à une hyperstimulation de l'animal qui meure (Clark et Symington, 2012).

Contrairement aux organophosphorés, carbamates et pyréthrinoïdes, la classe des néonicotinoïdes est composée des molécules d'insecticides qui ont un mode d'action unique sur les cibles (Kundoo *et al.*, 2018). En effet, ils se lient seulement aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) et imitent l'action de l'acétylcholine par l'ouverture des canaux ioniques qui permettent l'entrée de Na^+ et Ca^{2+} dans les cellules (EFSA, 2014 ; Zoumenou *et al.*, 2015 ; Kundoo *et al.*, 2018). L'activation des nAChRs présents sur les neurones du système nerveux central se traduit souvent par une augmentation de Ca^{2+} libre intracellulaire, tandis que leur suractivation génère un blocage engendrant une paralysie mortelle de l'insecte (Zoumenou *et al.*, 2015 ; Kundoo *et al.*, 2018). Les nAChRs sont spécifiques seulement aux néonicotinoïdes et ne présentent aucune réaction croisée avec les autres insecticides, ce qui renforce l'effet sélectif des néonicotinoïdes avec un risque limité de résistance chez la cible (Kundoo *et al.*, 2018).

Le mécanisme d'action des insecticides de la famille des diamides sur les insectes est présenté par la figure 3. Les molécules de ce groupe d'insecticides activent les récepteurs de ryanodine (RyR) et provoquent une augmentation de Ca^{2+} libre intracellulaire (Isaacs *et al.*, 2012). La mort éventuelle de l'insecte survient suite à des contractions musculaires provoquées par ces ions (Isaacs *et al.*, 2012).

En somme, le mécanisme d'action des pesticides est non seulement lié au mode de vie de la cible nuisible mais aussi au type de molécule. Ce mécanisme diffère d'un groupe de pesticide à un autre et même parfois entre les molécules d'une même famille de pesticides.

Tableau 6: Principales classes d'insecticides et leur mécanisme d'action classique sur les insectes et autres espèces non cibles (Isaacs *et al.*, 2012 ; Abreu-Villaça et Levin, 2018 ; Kundoo *et al.*, 2018)

Classes/molécules d'insecticides	Cibles	Action
Organochlorés		
DDT	Canal sodique voltage-dépendant	Blocage
Les Hexachlorocyclohexanes (lindane) et les Cyclodiènes (aldrine, dieldrine, endosulfan, etc.)	Récepteur de l'acide γ -aminobutyrique	Blocage
Organophosphorés	Acétylcholinestérase	Inhibition
Carbamates	Acétylcholinestérase	Inhibition
Pyréthrinoïdes		
Pyréthrinoïdes de types I et II*	Canal sodique voltage-dépendant	Activation/blocage
Pyréthrinoïdes de types I et II*	Canaux de calcium voltage-dépendant	Activation
Pyréthrinoïdes de types I et II*	Canaux de chlorure voltage-dépendant	Blocage
Pyréthrinoïdes de type II*	Récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique	Blocage
Néonicotinoïdes	Récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine	Activation
Diamides	Récepteurs de Ryanodine	Activation

* : Les Pyréthrinoïdes de type I regroupent les molécules telles que alléthrine, bifenthrine, perméthrine, etc. alors que les Pyréthrinoïdes de type II regroupent les molécules de deltaméthrine, cyperméthrine, fenvalérate, etc.

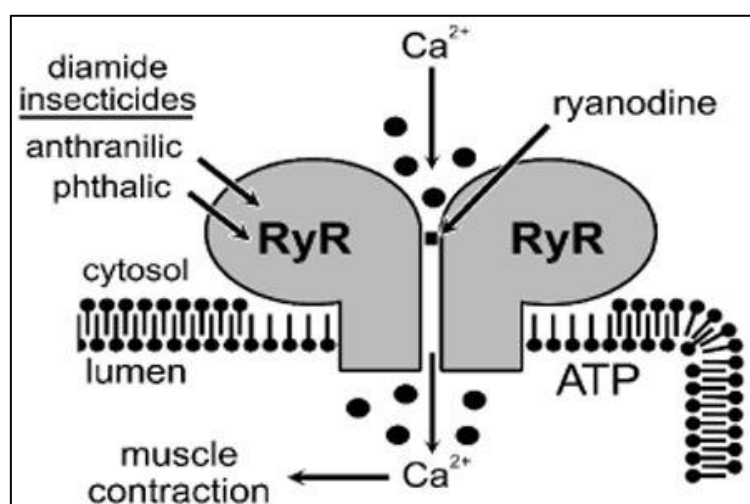


Figure 3: Mécanisme d'action des diamides sur les insectes cibles. RyR = récepteurs de ryanodine.

Source : Isaacs *et al.* (2012)

4. Devenir des pesticides après usage

La majeure partie des pesticides utilisés pour protéger les cultures se déversent dans les écosystèmes naturels (Delauney *et al.*, 2010). En effet, la part des produits phytosanitaires qui rentre en contact avec les organismes cibles après traitement est très minime et est estimée à moins de 0,3 % (Colin, 2000). Le reste se disperse dans l'air, le sol et aussi les eaux après des précipitations pluvieuses suivies de ruissellement (Colin, 2000 ; Gbaguidi *et al.*, 2011 ; Aïkpo *et al.*, 2015). Les propriétés physico-chimiques des substances et les conditions environnementales sont des facteurs qui interviennent dans la dispersion de ces pesticides (Aubertot *et al.*, 2005). La figure 4 décrit les différents mécanismes de dispersion des pesticides dans la nature après leur application.

5. Impacts des pesticides utilisés en agriculture sur la chaîne alimentaire

L'usage des pesticides en agriculture n'est pas sans conséquence sur la chaîne alimentaire (Jadhav et Waskar, 2011). En effet, une fois présentes à travers plusieurs mécanismes de dispersion dans la nature, les molécules de pesticides sont assimilées par des êtres vivants présents dans ces écosystèmes. Ainsi, des résidus de pesticides peuvent se retrouver dans les tissus animaux, d'où la contamination de la chaîne alimentaire par des pesticides, à travers les aliments d'origine animale comme les poissons (Ezemonye *et al.*, 2015), la viande de bovins (Darko et Acquah, 2007), la viande de volaille, de lapin et de lièvre (Shehata *et al.*, 2014 ; Krüger *et al.*, 2014), etc. Les produits végétaux ne sont pas non plus épargnés par cette contamination. C'est l'exemple de résidus de pesticides retrouvés dans les racines de manioc au Bénin (Aïkpo *et al.*, 2016), les jus de fruits (Khrolenko et Wieczorek, 2005), les produits dérivés de soja (Ehling et Reddy, 2015), etc.

Par ailleurs, les eaux de boisson obtenues à partir des eaux de surface des zones agricoles contiennent parfois de résidus de pesticides (Adam *et al.*, 2010).

En somme, l'usage des produits phytosanitaires en agriculture est une source potentielle de contamination des denrées alimentaires par des résidus de pesticides. En conséquence, la consommation de tels aliments expose l'organisme humain aux pesticides dont les résidus envahissent les tissus vitaux (Krüger *et al.*, 2014).

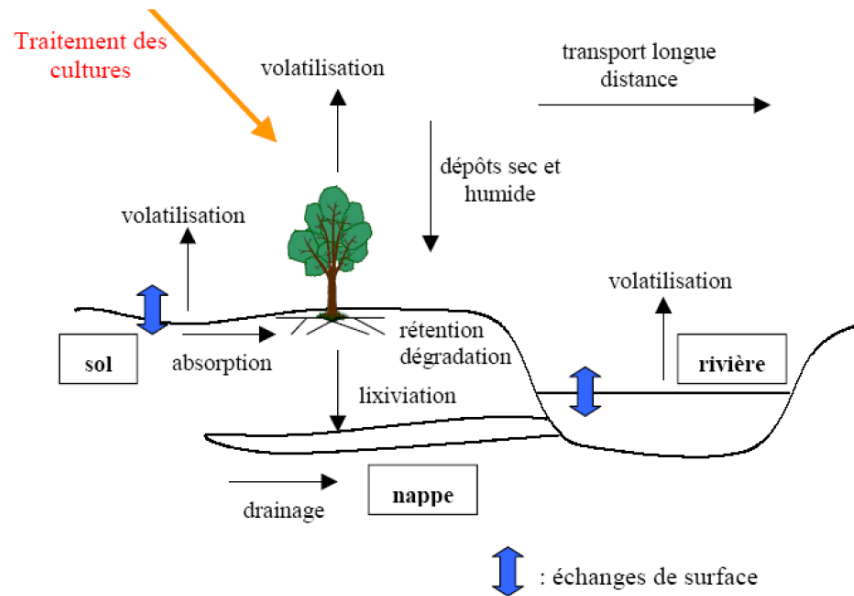


Figure 4 : Devenir des pesticides dans l'environnement après application (Vigouroux-Villard, 2006)

6. Effets des pesticides sur l'environnement

Bien que les pesticides soient nécessaires pour l'augmentation des productions agricoles, ils ont une influence négative sur l'environnement (contamination de l'eau, l'air et le sol, effet toxique sur les êtres vivants, etc.) (Damalas et Eleftherohorinos, 2011). En effet, une fois dans les écosystèmes naturels, ils entrent en compétition avec des organismes vivants qui peuvent subir des effets néfastes dus à ces pesticides. Particulièrement, l'utilisation inappropriée des pesticides en agriculture et en santé publique engendre des : (i) effets néfastes sur des organismes non cibles (réduction de la population des espèces utiles), (ii) contaminations des eaux par des molécules de pesticides et dérivés, (iii) contaminations de l'air par des pesticides volatils, (iv) dommages sur des végétaux non ciblés par des herbicides et dérivés, (v) dommages sur des cultures en rotation par des résidus d'herbicides rémanents dans le champ, (vi) dommages sur des cultures à cause des mauvaises pratiques d'utilisation des pesticides (Eleftherohorinos, 2008). Ainsi, l'utilisation accumulée de pesticides provoque une dégradation lente et progressive de la biodiversité des sols agricoles (Bajwa, 2014). En dehors de la biodiversité des sols, les insectes pollinisateurs dont les abeilles sont fortement perturbés par les pesticides, surtout les insecticides y compris les néonicotinoïdes qui sont neurotoxiques pour ces espèces utiles (Damalas et Eleftherohorinos, 2011).

Par ailleurs, il a été prouvé que certaines formulations commerciales de pesticides sont au moins 100 fois plus toxiques que leurs matières actives prises isolément (Mesnage *et al.*, 2014). Ainsi, les niveaux de toxicité théorique reconnue pour les matières actives des produits de pesticides commercialisés ne devraient plus être considérés comme les réels repères pour prédire l'intensité des dégâts après l'usage de ces produits.

7. Effets des pesticides sur la santé humaine

Les facteurs d'exposition de l'être humain aux pesticides et dérivés sont généralement la consommation d'aliments contaminés, la respiration d'air pollué ou le contact direct du produit avec la peau. Plusieurs études ont mis en évidence la toxicité des pesticides pour l'homme et les animaux (Dawson *et al.*, 2010 ; Mesnage *et al.*, 2014). Ils sont cytotoxiques, neurotoxiques, embryotoxiques, mutagènes, néphrotoxiques, tératogènes ou carcinogènes (Damalas et Eleftherohorinos, 2011 ; Jayasumana *et al.*, 2014, 2015a, 2015b ; Ibrahim, 2015; Herath *et al.*, 2017 ; Abreu-Villaça et Levin, 2018).

En effet, l'utilisation accrue du glyphosate en riziculture au Sri-Lanka, a engendré des maladies néphrotiques chroniques chez les riziculteurs (Jayasumana *et al.*, 2014, 2015a, 2015b ; Herath *et al.*, 2017). En réalité, lorsque le glyphosate est combiné avec de l'eau dure riche en calcium et contenant des métaux lourds comme le cadmium et l'arsenic, il devient extrêmement toxique pour les reins (Jayasumana *et al.*, 2014, 2015a, 2015b). L'exposition prolongée aux organochlorés est à la base de nombreux dysfonctionnements du système nerveux humain qui s'expriment entre autres par la diminution du développement mental et psychomoteur chez l'enfant (Eskenazi *et al.*, 2006). Des malformations congénitales et des altérations importantes des composantes cognitives de la mémoire ont été liées aux effets des organochlorés chez l'homme (Torres-Sánchez *et al.*, 2013). Les molécules de la famille des carbamates ont chez l'homme des actions cholinergiques similaires à celles des pesticides organochlorés (Abreu-Villaça, 2018), alors que les organophosphorés agissent principalement sur le système nerveux pour induire des convulsions semblables à celles provoquées sur les insectes (Upadhyay and Dutt, 2017). Quant aux pesticides du groupe des pyréthrinoïdes, ils sont aussi neurotoxiques avec la faculté de bloquer les récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique chez les mammifères; provoquant une hyperstimulation musculaire (Clark et Symington, 2012 ; Syed *et al.*, 2018). Contrairement aux pesticides précédents, les molécules du groupe des néonicotinoïdes ne présentent presque pas de danger pour l'homme (Kundoo *et al.*, 2018).

En somme, malgré leur utilité, la plupart des pesticides utilisés en agriculture et en santé humaine constituent des dangers pour l'homme et son environnement. Il est donc nécessaire de modérer et de contrôler l'utilisation de ces substances.

8. Méthodes d'analyse des résidus de pesticides dans l'environnement et les aliments

En raison de leur toxicité, la présence des pesticides dans l'environnement et les denrées alimentaires est une préoccupation majeure des scientifiques qui ont développé plusieurs méthodes analytiques pour effectuer leur dosage dans des matrices variées. Pour obtenir des résultats scientifiquement acceptables, ces méthodes varient en fonction des caractéristiques physico-chimiques des molécules recherchées (Zoumenou *et al.*, 2015).

En effet, pour la recherche des résidus de pesticides volatils et thermo-stables tels que les organophosphorés et pyréthrinoïdes, les méthodes par chromatographie gazeuse couplée à la

Spectrométrie de Masse (GC-MS) (Darko et Acquaaah, 2007 ; Adam *et al.*, 2010 ; Aïkpo *et al.*, 2015 ; Aïkpo *et al.*, 2016) et la chromatographie gazeuse en tandem avec un détecteur à capture d'électrons (GC-ECD) (Ezemonye *et al.*, 2015) sont les plus utilisées.

Quant aux molécules de pesticides peu volatils et à faible thermolabilité comme les néonicotinoïdes, leur recherche est souvent effectuée par la Chromatographie Liquide ou la Chromatographie Liquide à Haute Performance couplée soit à la Spectrométrie de masse (LC-MS ou HPLC-MS ou HPLC-MS/MS) (Ehling et Reddy, 2015 ; Zoumenou *et al.*, 2015), ou à un détecteur Ultra-Violet en tandem (HPLC-UV) (Khrolenko et Wieczorek, 2005).

En outre, des méthodes ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) sont aussi utilisées pour la recherche des pesticides volatils ou non, thermolabiles ou non. C'est le cas du glyphosate détecté dans les aliments d'origine animale (Shehata *et al.*, 2014 ; Krüger *et al.*, 2014), des pyréthriinoïdes, des aminophosphates et des triazines détectés dans l'eau de surface et les sédiments (Byer *et al.*, 2008 ; Gbaguidi *et al.*, 2011).

Avant les analyses proprement dites par chacune de ces méthodes sus-citées, le traitement des échantillons (aliments et matrices environnementales) passe par des étapes d'extraction, de purification, de concentration et de dérivation.

CONCLUSION

Les pesticides sont des produits dangereux mais dont l'utilisation est incontournable dans le contexte actuel de l'agriculture conventionnelle pour garantir la sécurité alimentaire des humains. Ils sont utilisés pour gagner du temps de travail et pour protéger non seulement les cultures en production, mais aussi les récoltes pendant leur stockage et leur conservation.

Malheureusement, la majeure partie des produits phytosanitaires utilisés en agriculture et en santé publique se retrouve dans les écosystèmes naturels où ils exercent leurs effets nocifs sur d'autres catégories d'organismes vivants. De plus, la chaîne alimentaire est aussi contaminée par des résidus de pesticides. Ainsi, en plus des autres mécanismes d'exposition des hommes aux pesticides (contact direct par la peau, respiration d'air pollué), la consommation de denrées alimentaires contaminées par ces substances n'est pas garante d'un bon état de santé.

Il conviendrait donc d'avoir recours à une utilisation modérée et contrôlée des produits phytosanitaires afin de limiter les risques d'exposition des êtres vivants pour sauvegarder la santé humaine et la biodiversité qui sont fortement menacées par ces substances nocives.

CONFLIT D'INTÉRÊT

Les auteurs de l'article déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêts.

CONTRIBUTION DES AUTEURS

SRD : Conception de la thématique, recherche bibliographique, rédaction de l'article ;

AYAK, MANG, PS et GSA : Correction de l'article et lecture de la version finale ;

IYAK et M-LS : Conception de la thématique, correction et lecture de la version finale de l'article.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abreu-Villaça Y, Levin ED. 2018. Chapter 40 : Developmental Neurobehavioral Neurotoxicity of Insecticides. Handbook of Developmental Neurotoxicology (Second Edition), pp 453–466. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809405-1.00040-7>
- Adam S, Etorh PA, Totin H, Koumolou L, Amoussou E, Aklikokou K, Boko M. 2010. Pesticides et métaux lourds dans l'eau de boisson, les sols et les sédiments de la ceinture cotonnière de Gogounou, Kandi et Banikoara (Bénin). International Journal of Biological and Chemical Sciences 4(4): 1170-1179.
- Agbohessi PT, Imorou Toko I, Attakpa EY, Kestemont P. 2012. Synthèse des caractéristiques physico-chimiques et effets écotoxicologiques du Tihan 175 O-TEQ utilisé dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. Article de synthèse. International Journal of Biological and Chemical Sciences 6(5) : 2280-2292.
- Aïkpo FH, Agbandji L, Chabi CB, Koumolou L, Houssou CS, Etorh PA. 2016. Evaluation de la contamination des tubercules de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) par les pesticides dans la zone cotonnière de Djidja (Bénin). International Journal of Innovation and Applied Studies 14(3): 744-749.
- Aïkpo FH, Chabi CB, Ayi V, Koumolou L, Houssou CS, Etorh PA. 2015. Evaluation de la contamination des eaux du fleuve Couffo dans la zone cotonnière de Djidja (Bénin) par les pesticides. International Journal of Biological and Chemical Sciences 9(3): 1725-1732.
- Alberto D, Couée I, Sulmon C, Gouesbet G. 2017. Root-level exposure reveals multiple physiological toxicity of triazine xenobiotics in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Plant Physiology 212: 105–114.
- Aubertot JN, Barbier JM, Carpentier A, Gril JJ, Guichard L, Lucas P, Savary S, Savini I, Voltz M. 2005. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport INRA et Cemagref. INRA-Cemagref, Espagne. 64 p.
- Bajwa AA. 2014. Sustainable weed management in conservation agriculture. Crop Protection 65: 105-113.

- Bridi D, Altenhofen S, Gonzalez JB, Reolon GK, Bonan CD. 2017. Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish. *Toxicology* 392: 32–39.
- Brignon JM, Gouzy A. 2006. Chlorpiryphos (Chlorpiryphos-ethyl). INERIS - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 14 p. <https://substances.ineris.fr/fr/substance/getDocument/2558>
- Brignon JM, Gouzy A. 2007. Diuron. INERIS - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 35 p. <https://substances.ineris.fr/fr/substance/getDocument/2570>
- Burr SA, Ray DE. 2004. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. *Toxicological Sciences* 77(2): 341–346.
- Byer JD, Struger J, Klawunn P, Todd A, Sverko E. 2008. Low Cost Monitoring of Glyphosate in Surface Waters Using the ELISA Method: An Evaluation. *Environmental Science & Technology* 42: 6052–6057.
- Casida JE, Durkin KA. 2013. Anticholinesterase insecticide retrospective. *Chemico-Biological Interactions* 203(1): 221–225.
- Casida JE, Quistad GB. 1998. Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Annual Review of Entomology* 43(1): 1–16.
- Chauhan BS, Singh RG, Mahajan G. 2012. Ecology and management of weeds under conservation agriculture: a review. *Crop Protection* 38, 57-65.
- ChemSpider. 2015. Search and share chemistry. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4630.html>
- Clark JM, Symington S. 2012. Advances in the mode of action of pyrethroids. In: Matsuo N, Mori T, (eds.) *Pyrethroids*. Heidelberg: Springer : 49–72, Berlin.
- Colin F. 2000. Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires : cas de l’atrazine dans le bassin versant du Sousson (Gers, Espagne). Thèse de doctorat de l’Université Montpellier et de Cemagref-ENGREF. 255 p.
- Costa LG. 2015. The neurotoxicity of organochlorine and pyrethroid pesticides. In Marcello L, Margit LB, (eds.) *Handbook of Clinical Neurology* 131. Elsevier: 135–148 [Chapter 9].
- Damalas CA, Eleftherohorinos IG. 2011. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8: 1402-1419. doi:10.3390/ijerph8051402
- Darko G, Acquah SO. 2007. Levels of organochlorine pesticides residues in meat. *International Journal of Environmental Science and Technology* 4(4): 521-524.

- Dawson AH, Eddleston M, Senarathna L, Mohamed F, Gawarammana I, Bowe SJ, Manuweera G, Buckley NA. 2010. Acute Human Lethal Toxicity of Agricultural Pesticides: A Prospective Cohort Study. *PLOS Medicine* 7(10), e1000357. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000357>
- Delauney T, Gourdeau J, Hulin A, Monteirck S, Pernot P. 2010. Atmospheric measurements of pesticides in France by the air quality monitoring networks. *Pollution Atmospherique* 208: 437-452.
- Dennis PG, Kukulies T, Forstner C, Orton TG, Pattison AB. 2018. The effects of glyphosate, glufosinate, paraquat and paraquat-diquat on soil microbial activity and bacterial, archaeal and nematode diversity. *Scientific Reports* 8:2119. DOI:10.1038/s41598-018-20589-6
- Dognon SR. 2008. Devenir des produits phytopharmaceutiques utilisés en agriculture dans la Commune de Savalou : Inventaire et dosage de résidus de pesticides dans les eaux de la rivière Agbado par la technique ELISA en phase liquide. Mémoire d'ingénieur des travaux, option : Aménagement et protection de l'environnement. Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi (Bénin). 64 p.
- EFSA (European Food Security Authority). 2014. Reasoned opinion on the modification of the existing MRL for acetamiprid in bananas. *EFSA Journal* 12(9): 3824.
- Ehling S, Reddy TM. 2015. Analysis of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Nutritional Ingredients and Milk by Derivatization with Fluorenylmethyloxycarbonyl Chloride and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63 : 10562–10568.
- Eldridge BF. 2008. Pesticide application and safety training for applicators of public health pesticides. Training manual, category A. California Department of Public Health Information, University of California, 122 p. http://westnile.ca.gov/special/category_a/
- Eleftherohorinos IG. 2008. Weed Science: Weeds, Herbicides, Environment, and Methods for Weed Management; AgroTypos: Athens, Greece.
- EPA (United States - Environmental Protection Agency). 2017. Series 870 - Health Effects Test Guidelines. Available online: <https://www.epa.gov/test-guidelines-pesticides-and-toxic-substances/series-870-health-effects-test-guidelines> (accessed on 3 March 2018)
- Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, Fenster L, Johnson C, Barr DB, Jewell NP. 2006. In utero exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and dichlorodiphenyldi-chloroethylene (DDE) and neurodevelopment among young Mexi-can American children. *Pediatrics* 118(1): 233–241.
- Ezemonye LI, Ogbeide OS, Tongo I, Enuneku AA, Ogbomida E. 2015. Pesticide contaminants in *Clarias gariepinus* and *Tilapia zilli* from three rivers in Edo State, Nigeria; implications for human exposure. *International Journal of Food Contamination*. 2:3. DOI 10.1186/s40550-015-0009-z

- Fattahi E, Jorsaraei SGA, Gardaneh M. 2012. The effect of Carbaryl on the pituitary-gonad axis in male rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 10(5) : 419-424.
- Ganie ZA, Jhala AJ. 2017. Interaction of 2,4-D or Dicamba with Glufosinate for Control of Glyphosate-Resistant Giant Ragweed (*Ambrosia trifida* L.) in Glufosinate-Resistant Maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Plant Science* 8:1207. doi: 10.3389/fpls.2017.01207
- Gbaguidi MAN, Soclo HH, Issa YM, Fayomi B, Dognon R, Agagbe A, Bonou C, Youssao A, Dovonou LF, Sanni A. 2011. Evaluation quantitative des résidus de pyréthrinoides, d'aminophosphate et de triazines en zones de production de coton au Bénin par la méthode ELISA en phase liquide : cas des eaux de la rivière Agbado. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 5(4) : 1476-1490.
- Ghosh K, Chatterjee B, Jayaprasad AG, Kanade SR. 2018. The persistent organochlorine pesticide endosulfan modulates multiple epigenetic regulators with oncogenic potential in MCF-7 cells. *Science of the Total Environment* 624: 1612–1622.
- Hasenbein S, Peralta J, Lawler SP, Connon RE. 2017. Environmentally relevant concentrations of herbicides impact non-target species at multiple sublethal endpoints. *Science of the Total Environment* 607–608: 733–743
- Herath C, Jayasumana C, De Silva PMCS, De Silva PHC, Siribaddana S, De Broe ME. 2017. Kidney Diseases in Agricultural Communities: A Case Against Heat-Stress Nephropathy. *Kidney International Reports* (in press). <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2017.10.006>
- Hinson AV, Lawin H, Gounongbe F, Dossou F, Fayomi B. 2015. Attitudes, Practices of farmers exposed to pesticides at Banikoara Township (Republic of Benin). *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 1(2): 1-5. DOI: 10.15436/ 2378-6841.15.013
- Ibrahim YA. 2015. A regulatory perspective on the potential carcinogenicity of glyphosate. *Journal of Toxicology and Health* 2:1. doi: 10.7243/2056-3779-2-1
- INERIS. 2011. Malathion - N° Cas 121-75-5. Normes de Qualité Environnementale. 20 p. <https://substances.ineris.fr/fr/substance/getDocument/3056>
- Isaacs AK, Qi S, Sarpong R, Casida JE. 2012. Insect Ryanodine Receptor : Distinct But Coupled Insecticide Binding Sites for [N-C3H3]Chlorantraniliprole, Flubendiamide, and [3H]Ryanodine. *Chemical Research in Toxicology* 25(8): 1571–1573. doi:10.1021/tx300326m.
- ITFG (Industry Task Force on Glyphosate). 2013. Glyphosate Facts: Transparency on safety aspects and use of glyphosate-containing herbicides in Europe. <http://www.glyphosateeu.fr/le-glyphosate-son-mecanisme-daction>

- Jadhav VJ, Waskar VS. 2011. Public Health Implications of Pesticide Residues in Meat. *Reviews. Veterinary World* 4(4):178-182.
- Jayasumana C, Gunatilake S, Senanayake P. 2014. Glyphosate, Hard Water and Nephrotoxic Metals: Are They the Culprits Behind the Epidemic of Chronic Kidney Disease of Unknown Etiology in Sri Lanka? *International Journal of Environmental Research and Public Health* 11: 2125-2147. doi:10.3390/ijerph110202125
- Jayasumana C, Gunatilake S, Siribaddana S. 2015a. Simultaneous exposure to multiple heavy metals and glyphosate may contribute to Sri Lankan agricultural nephropathy. *BMC Nephrology* 16:103. DOI 10.1186/s12882-015-0109-2
- Jayasumana C, Paranagama P, Agampodi S, Wijewardane C, Gunatilake S, Siribaddana S. 2015b. Drinking well water and occupational exposure to Herbicides is associated with chronic kidney disease, in Padavi-Sripura, Sri Lanka. *Environmental Health* 14:6. <http://www.ehjournal.net/content/14/1/6>
- Khrolenko MV, Wieczorek PP. 2005. Determination of glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid in fruit juices using supported-liquid membrane preconcentration method with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. *Journal of Chromatography A* 1093: 111–117.
- Krüger M, Schledorn P, Schrödl W, Hoppe HW, Lutz W, Shehata AA. 2014. Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology* 4:2. doi: 10.4172/2161-0525.1000210.
- Kundoo AA, Dar SA, Mushtaq M, Bashir Z, Dar MS, Gul S, Ali MT, Gulzar S. 2018. Role of neonicotinoids in insect pest management: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6(1): 333-339
- Li-Ming H, John T, Albert W, Kean G. 2008. Environmental Chemistry, Ecotoxicity and Fate of Lambda-Cyhalothrin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 100: 71-91.
- Matthews GA. 2006. *Pesticides: Health, Safety and the Environment*; Blackwell Publishing : Oxford, UK.
- Mesnager R, Defarge N, Spiroux de Vendômois J, Séralini G-E. 2014. Major Pesticides Are More Toxic to Human Cells Than Their Declared Active Principles. *BioMed Research International* ID 179691. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/179691>
- Mizuno T, Kino T, Ito T, Miyata T. 2000. Synthesis of Aromatic Urea Herbicides by the Selenium-assisted Carbonylation using Carbon Monoxide With Sulfur. *Synthetic Communications* 30(9) : 1675-1688.

- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018a. Carbaril. U.S. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/carbaryl#section=Top>
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018b. Propoxur. U.S. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/propoxur#section=Top>
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018c. Spirotetramat. U.S. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Spirotetramat#section=Top>
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018d. Flubendiamide. U.S. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/flubendiamide>
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018e. Eamectin benzoate. U.S. National Library of Medicine. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eamectin_benzoate#section=Top
- Pretty J, Toulmin C, Williams S. 2011. Sustainable intensification in African agriculture. *International Journal of Agricultural Sustainability* 9(1): 5-24. <https://doi.org/10.3763/ijas.2010.0583>
- Rutherford AW, Krieger-Liszkay A. 2001. Herbicide-induced oxidative stress in photosystem II. *Trends in Biochemical Sciences* 26 : 648–653. [http://dx.doi.org/10.1016/S0968-0004\(01\)01953-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0968-0004(01)01953-3).
- Salazar-Ledesma M, Prado B, Zamora O, Siebe C. 2018. Mobility of atrazine in soils of a wastewater irrigated maize field. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 255: 73-83.
- Sarwar M, Salman M. 2015. The Paramount Benefits of Using Insecticides and Their Worldwide Importance in Food Production. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering* 1(3), 359-365. <http://www.aiscience.org/journal/ijbbe>
- Shehata AA, Schrödl W, Schledorn P, Krüger M. 2014. Distribution of Glyphosate in Chicken Organs and its Reduction by Humic Acid Supplementation. *Journal of Poultry Science* 51: 333-337.
- Soderlund DM. 2012. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Archives of Toxicology* 86(2) : 165–181.
- Syed F, Awasthi KK, Chandravanshi LP, Verma R, Rajawat NK, Khanna VK, Johna PJ, Soni I. 2018. Bifenthrin-induced neurotoxicity in rats: involvement of oxidative stress. *Toxicology Research* 7, 48-58. DOI: 10.1039/c7tx00205jrsc.li/toxicology-research
- Tomizawa M, Casida JE. 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 45(1): 247–268.
- Torres-Sánchez L, Schnaas L, Rothenberg SJ, Cebrián ME, Osorio-Valencia E, Hernández MDC, García-Hernández RM, López-Carrillo L. 2013. Prenatal p,p'-DDE exposure and neurodevelopment among children 3.5–5 years of age. *Environmental Health Perspectives* 121(2): 263–268.

- Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J, Whitbread A. 2012. Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological Conservation* 151, 53–59.
- Upadhyay LSB, Dutt A. 2017. Microbial Detoxification of Residual Organophosphate Pesticides in Agricultural Practices. In: Patra J, Vishnuprasad C, Das G. (eds) *Microbial Biotechnology*. Springer, Singapore: 225-242 [Chapter 10]. DOI https://doi.org/10.1007/978-981-10-6847-8_10
- Vigouroux-Villard A. 2006. Niveau d'imprégnation de la population générale aux pesticides : sélection des substances à mesurer en priorité. Master professionnel évaluation et gestion des risques sanitaires liés à l'environnement de l'AFSSET. 69 p.
- WHO (World Health Organization). 2010. International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides: Guidelines for the Registration of Pesticides; World Health Organization: Rome, Italy.
- Wild A, Wendler C. 1991. Effect of glufosinate (phosphinothricin) on amino acid content, photorespiration, and photosynthesis. *Pesticide Sciences* 30: 422–424.
- Zhang Q, Huang W, Zhu X, Song Q, Fan Z. 2018. Residues and sources of organochlorine pesticides in soils of elementary schools and communities in Wenchuan 5.12 Earthquake-affected areas. *Environmental Geochemistry and Health* 1-15. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0060-1>
- Zoumenou B, Aïna MP, Agbohessi P, Imorou Toko I, Scippo M-L. 2015. Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. Article de synthèse. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9(4): 2184-2199.

Section expérimentale

Chapitre 2

Présentation du milieu d'étude :

le Nord-Est du Bénin

2.1. Situation géographique

Dans le cadre des études menées dans cette thèse, les travaux d'enquête et de collecte d'échantillons de viandes et des eaux de surface ont été réalisés dans les départements de l'Alibori et du Borgou au Nord-Est du Bénin. L'ensemble du territoire de ces deux départements constituant la zone d'étude de cette thèse est limité au Nord par les Républiques du Burkina-Faso et du Niger, au Sud par les départements des Collines et de la Donga, à l'Est par la République Fédérale du Nigéria, et à l'Ouest par le département de l'Atacora (Figure 2.1).

Situé entre 11°19' de latitude Nord et 2°55' de longitude Est, le département de l'Alibori est réparti en six (6) communes (Malanville, Karimama, Ségbana, Gogounou, Banikoara et Kandi), subdivisées en 41 arrondissements et 229 villages et quartiers de villes (INSAE, 2016a). Le département du Borgou est subdivisé en huit (8) communes. Il s'agit de Kalalé, N'Dali, Pèrèrè, Nikki, Sinendé, Bembèrèkè, Parakou et Tchaourou. Ces communes sont subdivisées en 43 arrondissements et 310 villages et quartiers de ville (INSAE, 2016b).

Selon les nouvelles réformes ayant conduit à l'élaboration du Plan Stratégique de Développement du Secteur Agricole 2025 (finalisé en 2017), l'ensemble du territoire des départements de l'Alibori et du Borgou a été réparti dans trois (3) Pôles de Développement Agricole (PDA) (Figure 2.1). Il s'agit du :

- PDA N°1 (Vallée du Niger) regroupant les communes de Karimama et Malanville ;
- PDA N°2 (Alibori Sud, Borgou Nord et 2KP) qui regroupe sept (7) communes situées dans la zone d'étude (Kandi, Banikoara, Gogounou, Ségbana, Sinendé, Bembèrèkè et Kalalé) et les trois (3) communes de la région 2KP (Kérou, Kouandé et Péhunco) ;
- PDA N°4 (Borgou Sud, Donga et Collines) qui regroupe cinq (5) communes de la zone d'étude (N'Dali, Nikki, Pèrèrè, Parakou et Tchaourou), les communes des départements de la Donga et des Collines et la commune de Djidja située dans le département du Zou (MAEP, 2017).

Chaque PDA est administré par une "Agence Territoriale de Développement Agricole" avec un statut d'établissement public (MAEP, 2017).

2.2. Caractéristiques naturelles

Le Département de l'Alibori a une superficie de 26.242 km² (23 % du territoire national) (INSAE, 2016a). Le climat évolue du type soudanien dans sa partie Sud vers le type soudano-sahélien dans sa partie Nord. La température annuelle moyenne varie de 25 à 33 °C, avec une forte variabilité (Djohy *et al.*, 2015). Ce climat est caractérisé par une seule saison de pluie de 5 à 6 mois (mai à octobre) avec une pluviosité annuelle qui varie entre 700 et 1.200 mm (Adam et Boko, 1993 ; INSAE, 2016a). Sur le plan pédologique, le territoire du département de l'Alibori est dominé par les sols ferrugineux sur socle cristallin, les sols alluviaux très fertiles de la vallée du Niger et les sols argileux ou limoneux noirs très fertiles des bas-fonds, marécages et forêts galeries (INSAE, 2016a). Ces caractéristiques pédologiques

et pluviométriques ont donné naissance à deux types de végétation dans ce département. Il s'agit d'une savane arbustive clairsemée et dominée par des épineux dont *Acacia seyal* et *Acacia siebenona* au Nord ; et une savane arborée herbeuse fortement dégradée au Sud où se trouvent des arbres d'intérêt socio-économique tels que *Parkia biglobosa* (néré), *Vitellaria paradoxa* (karité) et *Adansonia digitata* (baobab) qui sont des essences protégées. Les galeries forestières peuplées de *Khaya Senegalensis* (caïllédrat), *Khaya grandifolia* (faux acajou) et *Azelia africana* (linguê) longent les cours d'eau et les vallons (INSAE, 2016a). Les principaux cours d'eau qui arrosent ce département sont les rivières Alibori, Mékrou et Sota qui sont les affluents du fleuve Niger du côté béninois. Le relief est formé de plateaux parfois modelés dans une série sédimentaire du crétacé ou de plateaux couronnés de buttes cuirassées qui descendent vers le fleuve Niger et de collines de grès ferrugineux (INSAE, 2016a). Ce département offre des atouts touristiques fournis par le parc W du Niger et la zone cynégétique de la Djona où l'on peut chasser et photographier une faune variée pendant la saison touristique.

Quant au département du Borgou, il couvre une superficie de 25.856 km² et le climat est de type soudanien avec une pluviosité annuelle qui oscille entre 900 et 1.300 mm (Adam et Boko, 1993 ; INSAE, 2016b). Une seule saison pluvieuse de sept (7) mois environ (avril à octobre) caractérise ce territoire où la température moyenne annuelle est de 26 °C environ avec un maximum de 35 °C en mars et minimum de 23 °C en décembre-janvier. L'humidité relative varie entre 30 et 70 % (INSAE, 2016b). Les principaux types de sols rencontrés dans ce département sont les sols ferrugineux tropicaux, les sols ferrallitiques, les sols sablonneux argileux ou argilo sableux et les sols granito gneissiques (INSAE, 2016b). Ces sols abritent dans cette zone une végétation de savane à physionomie diversifiée où la densité des arbres diminue vers le Nord. On y distingue quatre (4) types de végétation qui se rencontrent dans toutes ses communes. Il s'agit de la savane herbeuse où les bois sont rares et qui est dominée par des herbes *Hyparhenia*, *Loudetia*, *Andropogon*, *Pennisetum*, *Rubiacees*, etc. ; la savane arborée et arbustive où la densité des arbres est plus élevée ; la savane boisée contenant des espèces comme *Parkia biglobosa*, *Isobertinia doka* et des herbes *Andropogon*, *Hyparhenia*, *Panicum*, etc. ; et la forêt galerie composée des espèces comme *Anogeissus leiocarpus*, *Bombax costatum*, *Adansonia digitata* avec des herbes plus ou moins sciaphyles longeant les fleuves et rivières. Le bassin fluvial du Borgou est composé des rivières Alibori et Sota qui arrosent le Nord du département ; et du fleuve Ouémé et ses affluents qui arrosent le sud du département (INSAE, 2016b). Le relief est formé d'une série de plaines sédimentaires.

2.3. Caractéristiques démographiques

D'une population estimée à 521.093 habitants en février 2002, le département de l'Alibori comptait 867.463 habitants résidents (8,7% de la population nationale) dont 436.106 femmes en 2013 (INSAE, 2015). Le taux moyen d'accroissement annuel de la population de l'Alibori est donc de 4,61 % entre 2002 et 2013. En se référant à sa superficie de 26.242 km², la densité de population dans ce département

est alors de 33 habitants au km². Les ethnies couramment rencontrées sont : les *Bariba* et apparentés (37,1 % de la population), les *Peulh* (26,5 % de la population) ; les *Dendi* et apparentés (20,1 % de la population) (INSAE, 2016a). Sur le plan religieux, l'Islam vient en tête avec 81,3 % de la population, suivi du Catholicisme (8,6 %) (INSAE, 2016a).

La population du département du Borgou est passée de 724.171 habitants en 2002 à 1.214.249 habitants (12,1 % de la population nationale) dont 607.013 hommes contre 607.236 femmes en 2013 (INSAE, 2015). Comme l'Alibori, le Borgou est un département à fort taux de croissance, soit 4,68 % entre 2002 et 2013 contre 3,52 % pour le taux de croissance national. En référence à sa superficie de 25.856 km², la densité moyenne de la population est passée de 28 habitants au km² en 2002 à 47 habitants au km² en 2013. Les groupes sociolinguistiques les plus rencontrés sont : les *Bariba* et apparentés (37,6 % de la population), les *Peulh* (33 %) et dans une moindre mesure les *Gua* ou *Otamari* et apparentés (7,6 %) (INSAE, 2016b). Du point de vue de la pratique religieuse, l'Islam est plus pratiqué (69,8 %), suivi de la religion catholique (15 %) (INSAE, 2016b).

2.4. Activités économiques

Dans le département de l'Alibori, plusieurs activités économiques sont exercées dont principalement celles du secteur agricole (agriculture, pêche et chasse) qui occupent 84 % de cette population. Les activités du secteur de commerce, restauration et hébergement sont exercées par 6,5 % de la population alors que 3 % des résidents se consacrent à l'industrie manufacturière. Le secteur du transport et communication occupe 1,5 % de cette population (INSAE, 2016a).

Dans le département du Borgou, le secteur agricole (agriculture, pêche et chasse) et le secteur de commerce, restauration et hébergement occupent respectueusement 65,8 et 13 % de la population. L'industrie manufacturière et le secteur du transport et communication sont les branches d'activités respectives de 7,2 et 3,4 % de la population du Borgou (INSAE, 2016b).

Dans ces deux départements, l'agriculture est de type familial et l'élevage y est très développé. En 2015, on y dénombre 1.459.168 têtes de bovins (60,3 % du cheptel national bovin en élevage conventionnel), 407.860 têtes d'ovins (45,52 % du cheptel national des ovins), 383.600 têtes de caprins (21,4 % du cheptel national des caprins), 30.090 têtes de porcins (6,7 % du cheptel national des porcins) et 3.067.550 têtes de volailles (16,5 % du cheptel national des volailles) (Dognon *et al.*, 2018d). Selon les nouvelles réformes intervenues dans le secteur agricole et qui ont abouti à la répartition du territoire béninois en sept (7) Pôles de Développement Agricole (PDA), les filières riz, maraîchage et élevage (de bovin, d'ovin, de caprin et de volaille) sont retenues pour être promues dans les communes du PDA N°1 (MAEP, 2017). Le cotonnier (culture locomotive), le maïs, le sorgho, le soja, l'élevage intensif de bovin et les élevages d'ovin, de caprin et de volaille sont les filières phares en pleine promotion dans les communes du PDA N°2 alors que dans les communes du PDA N°4, les filières à promouvoir sont : l'anacardier et le cotonnier comme cultures locomotives, le maïs, le riz, le niébé, le soja, l'arachide, le

manioc, l'igname, le manguier et les élevages intensifs de bovin, d'ovin, de caprin et de volaille (MAEP, 2017).

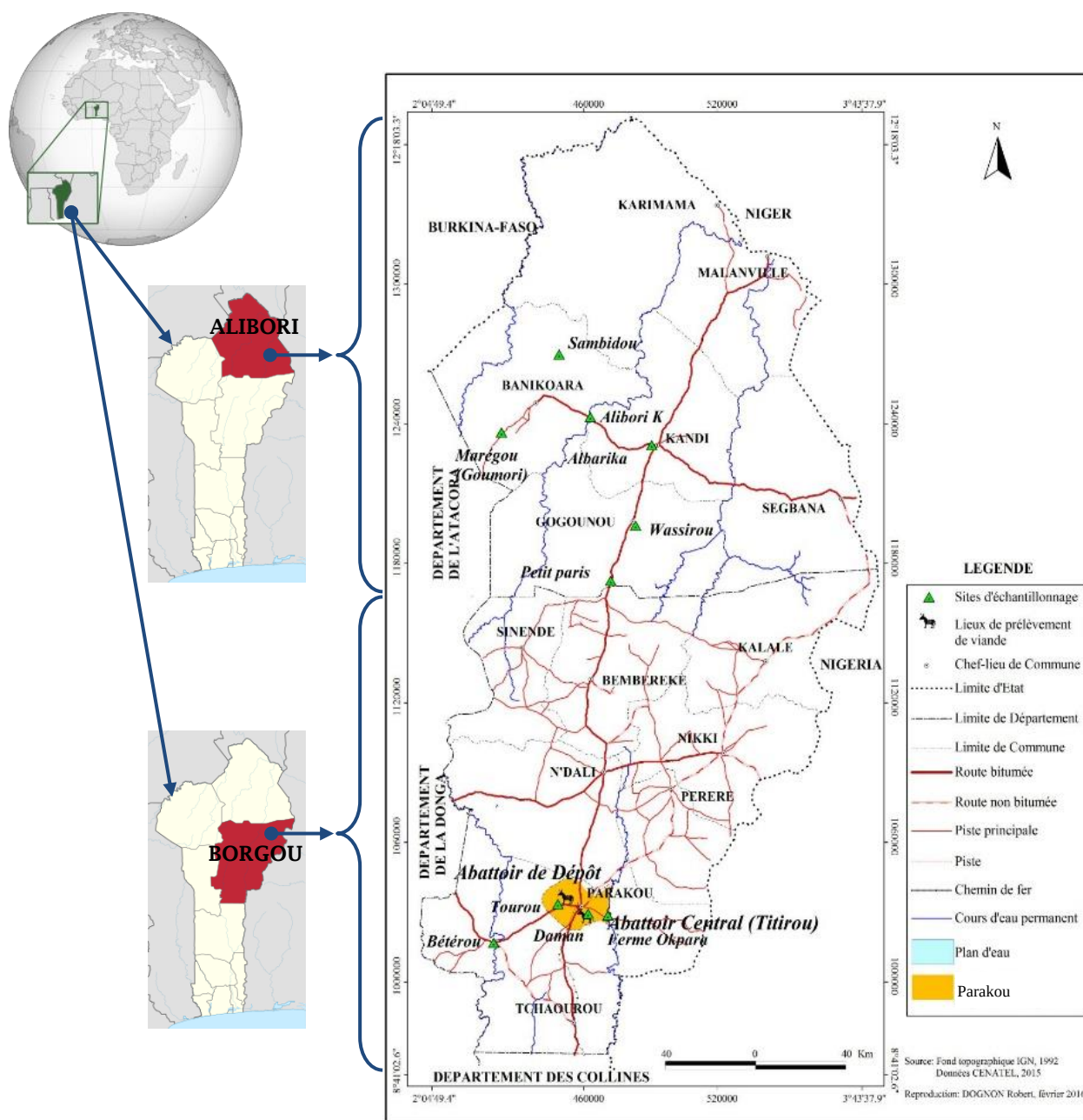


Figure 2.1 : Localisation des départements de l'Alibori et du Borgou au Nord-Est du Bénin

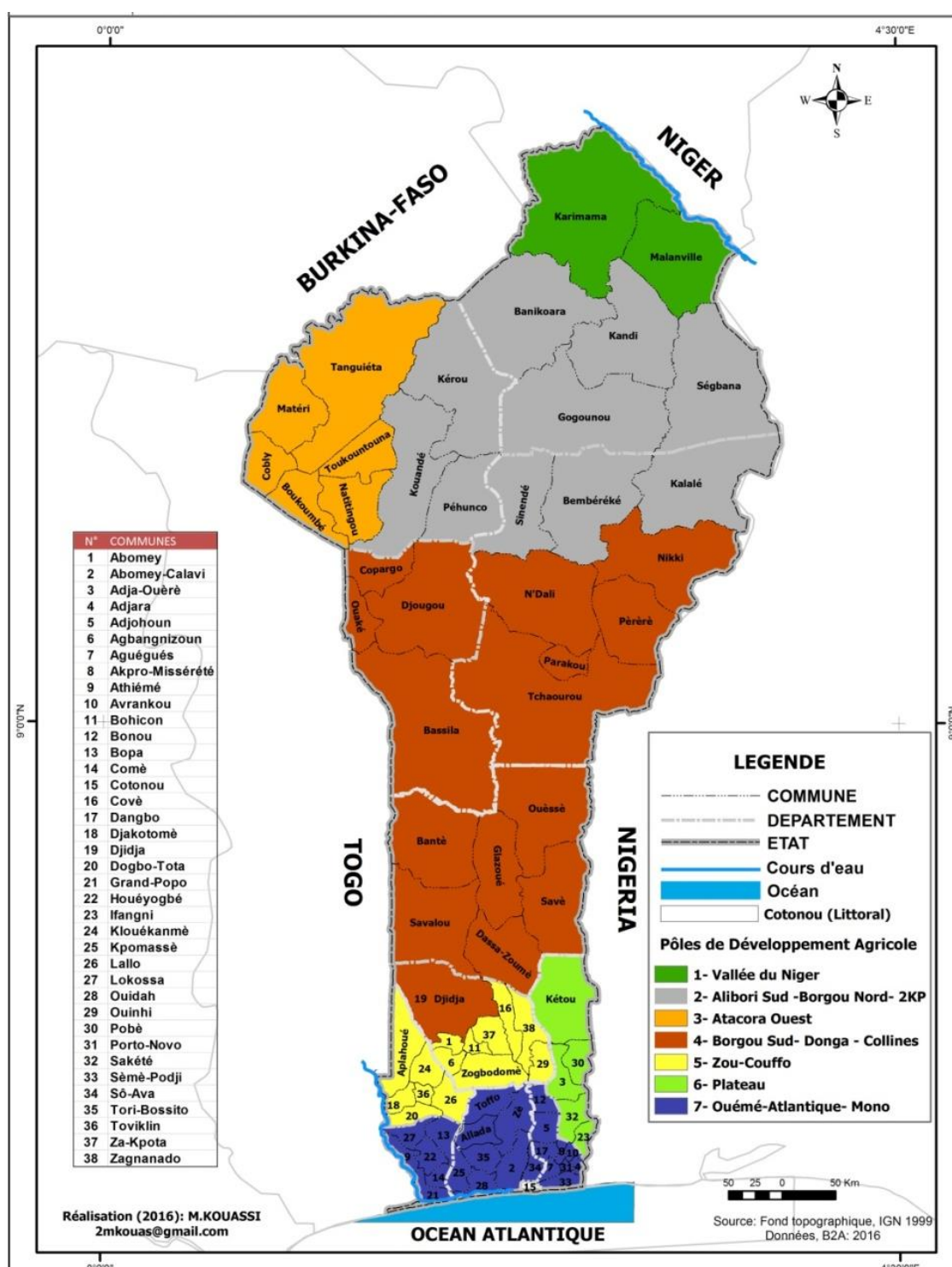


Figure 2.2 : Localisation des Pôles de Développement Agricole du Bénin (MAEP, 2017)

Chapitre 3

Les antibiotiques vétérinaires et leur impact
sur la qualité sanitaire de la viande bovine
consommée au Nord-Est du Bénin

Chapitre 3 : Etude 1

L'utilisation des antibiotiques vétérinaires en élevage de bovins au Nord-Est du Bénin, inventaire des médicaments et pratiques à risque des éleveurs

3.1. Etude 1: L'utilisation des antibiotiques vétérinaires en élevage de bovins au Nord-Est du Bénin, inventaire des médicaments et pratiques à risque des éleveurs

Le Bénin est un pays de la zone intertropicale dont le climat est favorable à l'élevage, qui est le deuxième sous-secteur d'activités agricoles occupant le plus la population après l'agriculture. En termes d'effectif des animaux conventionnellement élevés au Bénin, les bovins viennent en deuxième position après les volailles. Mais de ces animaux, le cheptel bovin est le premier contributeur à l'économie nationale en assurant 57 % du total des viandes produites localement par an (CountryStat, 2015).

Sur le plan sanitaire, le bien-être de ces grands ruminants est assuré par des soins vétérinaires utilisant principalement les antibiotiques qui sont des médicaments à usage réglementé. La mauvaise utilisation de ces derniers peut être source de nuisance tant chez l'animal que chez l'homme. Bien que ces produits soient utilisés depuis plusieurs décennies, il a fallu attendre 2014 avant qu'une première étude scientifique n'évalue les pratiques des utilisateurs de ces médicaments en élevage des bovins au Bénin (Mensah *et al.*, 2014a). Cette première étude s'était cependant limitée au centre Bénin. Ainsi, la partie septentrionale qui est la zone d'élevage par excellence du pays et abrite plus de 80 % du cheptel national des bovins, souffre malheureusement de l'absence d'informations scientifiques relatives aux pratiques d'usage des antibiotiques vétérinaires en élevage bovin.

Pour combler en partie ce vide d'information scientifique, cette étude a été menée dans les communes de Banikoara, Kandi, Bembèrèkè et Kalalé au Nord-Est du pays où 98 éleveurs de bovins ont été interviewés. Ces travaux d'enquête ont permis de faire le point concernant les antibiotiques vétérinaires utilisés en élevage de bovins et les pratiques des éleveurs.

De cette étude, on peut retenir que les tétracyclines, bêta-lactames, sulfamidés, aminoglycosides et macrolides sont les cinq familles d'antibiotiques utilisées pour soigner les bovins au Nord-Est du Bénin. Ces produits sont massivement distribués à travers un circuit illégal (non autorisé) utilisant au bout de la chaîne les marchés de bétail et marchés locaux comme sites de vente. Plusieurs mauvaises pratiques ont également été relevées chez les éleveurs pour le traitement des bovins.

Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'un article publié dans la revue “***Tropical Animal Health and Production***”.

Chapitre 3 : Etude 1

The use of antibiotics in cattle livestock in North-East Benin, pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders

Tropical Animal Health and Production (2018), 50(7): 1683-1699. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1612-9>

S.R. Dognon^{1,2*}, N. Antoine-Moussiaux³, C. Douny¹, P. Gustin⁴, N. Moula³, M.L. Scippo¹, A.K.I. Youssao²

¹ Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, Fundamental and Applied Research for Animals & Health (FARAH), Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

² Department of Animal Production and Health, Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

³ Tropical Veterinary Institute, Fundamental and Applied Research for Animals & Health (FARAH), Sustainable Animal Production, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liege, bât. B43, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

⁴ Department of Functional Sciences, Unit of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Bât. B41 Pharmacologie, pharmacothérapie et toxicologie, Avenue de Cureghem 5-5D, 4000 Liège, Sart-Tilman, Belgium

***Correspondent e-mail : robertdognon@yahoo.fr**



The use of antibiotics in cattle in North-East Benin: pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders

S. R. Dognon^{1,2} · N. Antoine-Moussiaux³ · C. Douny¹ · P. Gustin⁴ · N. Moula³ · M. L. Scippo¹ · A. K. I. Youssao²

Received: 5 January 2018 / Accepted: 27 April 2018 / Published online: 7 May 2018
© Springer Science+Business Media B.V., part of Springer Nature 2018

Abstract

This study's aim is to inventory antibiotics used in cattle in North-East Benin and assess risk practices that could be the cause of both food chain contamination by antibiotic residues and selection of antibiotic-resistant bacteria in animals and humans. A survey was conducted among 98 cattle breeders in the districts of Banikoara, Kandi, Bembereke, and Kalale in North Benin. Semi-structured interviews were conducted, covering breeder status, breeding system, and antibiotic use. Multiple correspondence analysis and hierarchical classification analysis were conducted to establish a breeder typology. Breeders mainly belonged to the Fulani ethnic group ($71.4 \pm 8.9\%$) and almost all of them received "no formal education" ($96.9 \pm 3.4\%$). Cattle herds were mainly composed of a single breed, the Borgou ($76.4 \pm 8.1\%$) or the Fulani Zebu ($16.0 \pm 7.0\%$). Some herds were mixed. Antibiotics groups used in cattle breeding were tetracyclines, beta-lactams, sulfonamides, aminoglycosides, and macrolides, used by respectively 100%, $69.4 \pm 9.1\%$, $56.1 \pm 9.8\%$, $44.9 \pm 9.8\%$, and $34.7 \pm 9.4\%$ of breeders. These drugs were purchased in local markets ($59.0 \pm 15.4\%$) and veterinary pharmacy ($41.0 \pm 15.4\%$). They were mainly used against respiratory diseases, lameness, mastitis, omphalitis and neonatal enteritis, and skin diseases. Only $49.0 \pm 9.9\%$ of breeders seek veterinary services to treat animals and $92.9 \pm 5.1\%$ of them did not respect antibiotic withdrawal times. These practices suggest that both contamination of bovine meat with antibiotic residues and selection of resistant bacteria are to be expected, resulting in adverse health effects on consumers.

Keywords Survey · Cattle breeders · Antibiotics · Bacterial resistance · Benin

Introduction

World consumption of antimicrobials in food animal production was estimated at $63,151 \pm 1560$ tons in 2010 and is projected to rise by 67% ($105,596 \pm 3605$ tons) by 2030 (Van Boeckel et al. 2015). Increasing use of antibiotic drugs in the veterinary sector was due to both the growing number of animals raised for food production and a shift in farming practices toward intensive farming systems where antimicrobials are used routinely at subtherapeutic doses for disease prevention and growth promotion, rather than for disease treatment (Van Boeckel et al. 2015). Thus, the intensification of animal production in recent decades is partially linked to the use of veterinary antibiotic drugs.

Benin is a West-African country of around 10 million inhabitants (INSAE 2015). To improve national production of animal protein, the government supports the development of a livestock sector that is still dominated by traditional production systems. In 2016, agriculture accounted for 26% of the national gross domestic product (GDP), of which 6% was for

✉ S. R. Dognon
robertdognon@yahoo.fr

¹ Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, Fundamental and Applied Research for Animals & Health (FARAH), Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgium

² Department of Animal Production and Health, Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01 BP 2009, Cotonou, Benin

³ Tropical Veterinary Institute, Fundamental and Applied Research for Animals & Health (FARAH), Sustainable Animal Production, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Bât. B43, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgium

⁴ Department of Functional Sciences, Unit of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Bât. B41 Pharmacologie, pharmacothérapie et toxicologie, Avenue de Cureghem 5-5D, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgium

livestock (The World Bank 2016). The national cattle herd was estimated at 2,420,898 animals in 2015 (DE 2016). These are composed of a genetic diversity consisting of the following breeds: Lagunaire, Somba, Borgou, and Zebu (Fulani Zebu, White Fulani, Red M'Bororo, and Goudali) (Youssao 2015). Some breeds such as N'Dama and Girolando were imported and are still bred in the state farms (Youssao et al. 2013). In 2013, bovine livestock has contributed to 57% of the 64,968 tons of locally produced meat (CountryStat 2015). These results reflect various efforts to improve not only the production and reproduction performances of different breeds but also the productivity of these animals (Youssao et al. 2009; Mensah et al. 2014a).

Since the veterinary profession is dominated by the private sector in Benin as in most of Sub-Saharan countries, controls are not implemented on the distribution chain of veterinary pharmaceuticals (Mensah et al. 2014b). Antibiotic groups used in animal production are similar to those used in human medicine (Page and Gautier 2012). Thus, the overuse or misuse of antibiotics in livestock facilitates the rapid development of bacterial resistance to antibiotics in animals, contributing to the phenomenon in human through the food chain or the environment (Kumar and Gupta 2018).

Despite this public health concern, North Benin, which harbors over 80% of the conventional national herd of cattle (ANOPER 2014; DE 2016), has never been subject to a scientific survey of the antibiotic drugs used in cattle. Only Mensah et al. (2014a) studied antibiotics and their use in cattle breeding in Center Benin where many informal and not recommended practices were found. These last authors showed that tetracyclines, penicillins, macrolides, and sulfonamides were the most common families of substances, being used by respectively 89, 34, 12, and 6% of the farmers in Center Benin (Mensah et al. 2014a). These drugs were purchased from illegal markets by 57% of the cattle farmers (Mensah et al. 2014a). So, this study aim is to inventory different antibiotics used in cattle in North Benin and assess risk practices that could be the cause of both food chain contamination by antibiotic residues and selection of antibiotic-resistant bacteria in animals and humans.

Materials and methods

Study area

The study area is shown on the map of Fig. 1. A survey was conducted in the departments of Borgou and Alibori in the North-East Benin (Fig. 1). The department of Alibori is located in the extreme North of Benin. It is bounded on the East by the Federal Republic of Nigeria, to the North by Burkina Faso and Niger Republics, to the South by the department of Borgou, and to the West by the department of Atacora. It

has an area of 26,242 km² (23% of national territory) and a human population estimated at 8.7% of the national human population in 2013 (INSAE 2015). The climate is Sudano-Sahelian and the annual rainfall varies between 700 and 1000 mm (INSAE 2016a). Familial agriculture mainly based on the use of the family labor and the restricted means of production is the main activity of the population. Livestock is very developed with 1,432,986 fowl (8.0% of the national total poultrys), 720,100 bovine heads (33.2% of the national cattle conventionally bred), 212,284 sheep (24.7% of the total ovine herd), 209,210 goats (12.2% of the national caprine herd), and 9680 pigs (2.3% of the total of porcine heads) in 2013 (ANOPER 2014).

The department of Borgou covers an area of 25,856 km². It is bounded to the North by the department of Alibori, South by the departments of Collines and Donga, in the East by the Federal Republic of Nigeria, and West by the department of Atacora. Its human population is estimated at 1,214,249 inhabitants (12.1% of the human national population). The climate is of Sudanese type and the annual rainfall varies between 900 and 1300 mm (INSAE 2016b). As in the Alibori department, familial agriculture is the main activity of the population. The breeding is very developed with 1,529,000 fowl (8.7% of the national total poultrys), 646,000 bovine heads (29.8% of the national total account of cattle conventionally bred), 182,000 sheep (21.2% of the total ovine herd), 158,800 goats (9.2% of the national caprine herd), and 13,990 pigs (3.4% of the total of porcine heads) in 2013 (ANOPER 2014).

Interviews

Choice of the sampled districts

Following the data of distribution of cattle population available in the activity reports of the Regional Agricultural Centre for Rural Development of the departments of Borgou and Alibori, the two districts which had the highest population of cattle were chosen in each department. These are the districts of Banikoara and Kandi in the department of Alibori, and Bembereke and Kalale in the department of Borgou (Fig. 1).

Choice of surveyed breeders

The criterion of inclusion of breeders in the survey was to own at least a herd containing a minimum of 10 cattle heads. The breeders were selected according to a respondent-driven process. The first respondents were selected with the help of the services of Communal Sector for Agricultural Development (SCDA) of each district where the Specialized Technician of Animal Production

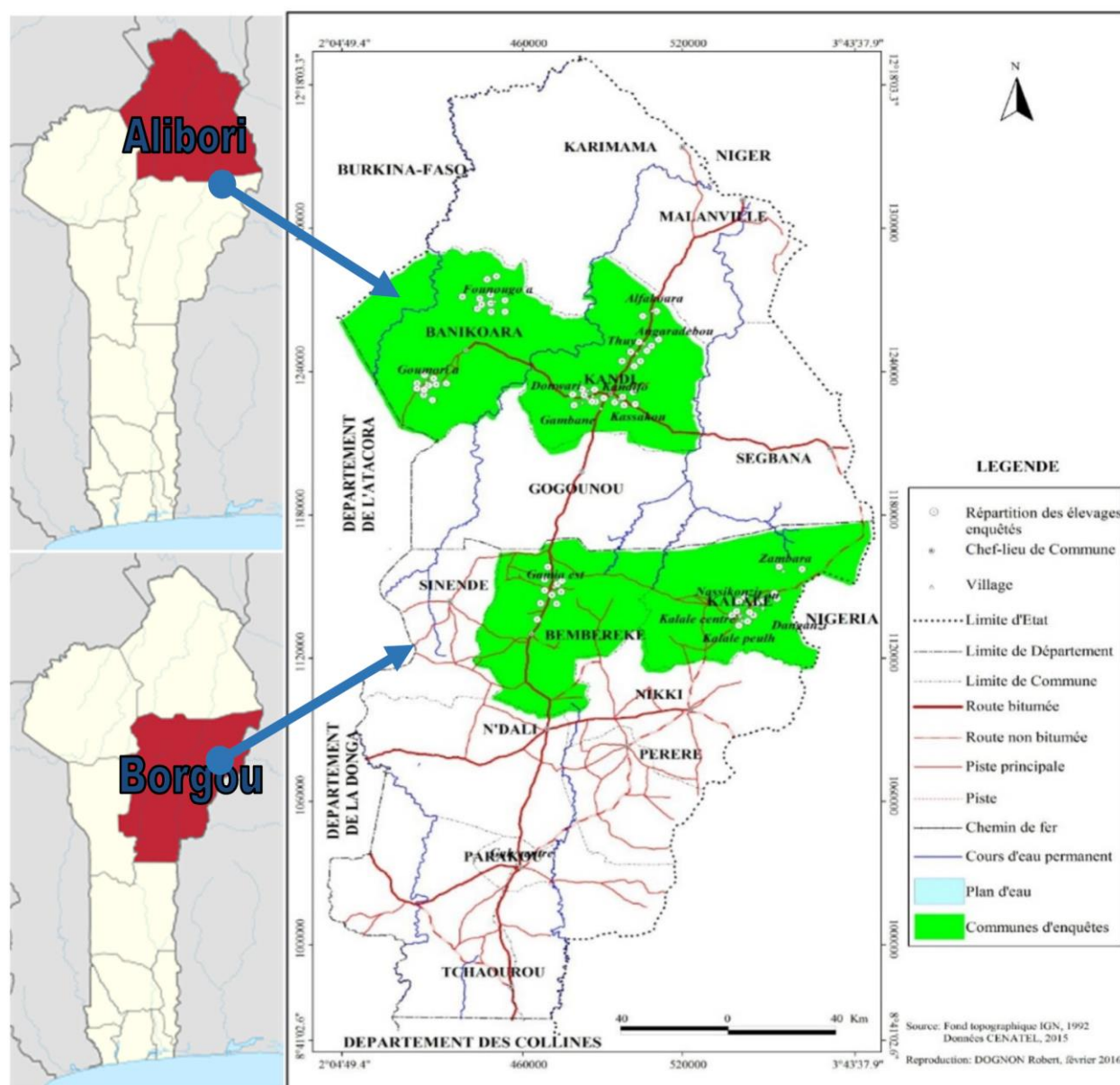


Fig. 1 Repartition of surveyed breeders in the departments of Borgou and Alibori

(TSPA) was questioned as key informant. In fact, based on the list of advised breeders get from each SCDA, the TSPA of each district indicated at least five breeders according to their accessibility and their ability to be interviewed. These selected breeders were met in their respective homes if possible after an appointment by phone call. Each of these respondents gave then the names of other potential interviewees among which a choice was made according to a criteria of profile diversification. The sample size was firstly fixed to 100 breeders with equal repartition of 25 respondents by district. A total of 109 breeders were contacted, of which 98 have completely answered to the questions: 23 in Kalale

and 25 in each of the three other districts. Also, 6 traders of veterinary drugs were met for general information.

Data collection

From September to November 2015, semi-structured interviews were conducted in face to face with each of the selected breeders. With the help of a translator, interviews were conducted in local languages. These interviews focused on:

- The breeder status in relation to their ages, ethnic groups, instruction level, religion and activities practiced.

- The farming system, i.e., husbandry practices, frequency of pasture and the use of supplement feed. Cattle herds were then visited for identification of breeds of animals and counting of their numbers.
- The description of the pathological syndromes motivating breeders to use antibiotics.
- The breeder practices about antibiotic use in relation to the pharmaceutical sources, advice sources for purchasing drugs and treating animals, frequency of veterinary

treatments, person in charge of these treatments, and respect of antibiotic withdrawal times.

The vials of antibiotic drugs purchased by the breeders were also collected during the visit to record information from bottle labels and identify the substances used. During this inspection, breeders gave purchase source of each antibiotic drug. These information were systematically recorded to be analyzed quantitatively.

Table 1 Codes of variables and modalities used for the MCA and the HCA

Variables	Modalities	Code
Districts	Bembereke	bke
	Kandi	kdi
	Banikoara	bnk
	Kalale	kal
Instruction level	No formal education	instruct0
	Primary school	instruct1
	Secondary school	instruct2
Local language literate	No	language0
	Yes	language1
Annual frequency of veterinary treatments	Occasional	frequency1
	Twice	frequency2
	Three times	frequency3
	More than three times	frequency4
Objective of the treatments	Curative therapy	treatmentC
	Curative and preventive therapy	treatmentCP
Sources of antibiotic purchase	Local market	sourceM
	Veterinarian	sourceV
	Veterinary pharmacy	sourceP
Advice sources before purchasing antibiotics	No advise	adviseP0
	Veterinarian	adviseP1
	Antibiotic seller	adviseP2
	Fellow breeder	adviseP3
Advice sources before injecting antibiotics to animals	No advise	adviseInj0
	Veterinarian	adviseInj1
	Antibiotic seller	adviseInj2
	Fellow breeder	adviseInj3
First attitude toward a diseased animal	Veterinarian calling	attitudeV
	Self-medication	attitudeS
Principal responsible of veterinary treatments	Breeder	respo0
	Veterinarian	respo1
	Breeder's family member or friend	respo2
Estimating of cattle weight before veterinary treatments	No	estimate0
	Yes	estimate1
	Yes sometimes	estimate2
Management of empty bottles after treatment	No disposal precaution	bottle0
	Burn	bottle1
	Recycle for use	bottle2
Respect of the antibiotic withdrawal times	No	withdrawal0
	Yes	withdrawal1

Data analysis

Data from semi-structured survey were translated in a structured form in MS Excel 2013 to perform descriptive statistics. Confidence intervals (CI) at 95% were determined for the breeder proportions (p) using the formula $CI = 1.96 * \sqrt{p(100-p)} / n$ (n = total number in the sampled population). These CI helped to perform comparisons between proportions.

In the database, surveyed breeders were numbered from 1 to 98 following the interview rank. Bembereke breeders were numbered from 1 to 25, those of Kandi 26 to 50, those of Banikoara 51 to 75, and those of Kalalé 76 to 198.

R software version 3.2.5 (package FactoMineR, functions MCA and hierarchical clustering) was used as described by Husson et al. (2017) to perform multiple correspondence analysis (MCA) and hierarchical classification analysis (HCA) of variables related to risk practices in the use of antibiotics by breeders. MCA is a statistical method to analyze the pattern of relationships between a set of qualitative variables. This method projects the variable modalities on maps based on their correlations. MCA results were interpreted as described by Abdi and Valentin (2007). This interpretation was based upon proximities between points in a low-dimensional map. Proximities are meaningful only between points from the same set (Abdi and Valentin 2007). Thus, affinity between modalities linked to risk practices was established using MCA. As for the HCA, it based on the MCA results in order to project each of the breeders according to their modalities on an area map defined by virtual axis. This algorithmic approach allowed defining hierarchically discrete groups (clusters) following the branches of a dendrogram. HCA interpretation is based on similar modalities of breeders included in the same cluster.

In this study, 13 variables with 39 modalities were used (Table 1) in order to establish a typology of cattle breeders

according to their practices. Statistical comparisons were performed between clusters by determining CIs at 95% for the breeder proportions for the different modalities. Each breeder cluster was then classified according to the risk group using an assessment grid of practices able to cause contamination of food products (Table 2 adapted from Mensah et al. (2014a)). This assessment grid was based on modalities linked to good practices of antibiotic use. In relation to each of these modalities, the risk was considered as high, medium, and low if the proportion of associate breeders was lower than 20%, between 20 and 50%, and above 50% of the total cluster breeders, respectively (Table 2). The risk level of each cluster was taken as the highest rate presented by the cluster across the grid.

Results

Breeder status

Out of 109 contacted breeders, 98 breeders responded to the questionnaires for a rate of survey acceptance estimated to 89.9% of breeders. Table 3 shows the proportions of breeders according to their status and the results of dependence tests between the final proportions of breeders' answers and the districts. All 98 interviewed breeders were men whose age varied from 26 to 76 years. The proportion of breeders aged 30 to 59 years ($67.3 \pm 9.3\%$) was significantly higher than those over 60 years old ($28.6 \pm 8.9\%$) and under 30 years old ($4.1 \pm 3.9\%$) ($p < 0.001$). Breeders were mostly of the Fulani ethnic group ($71.4 \pm 8.9\%$) ($p < 0.001$), which was fairly distributed in the four districts. The other ethnics were Gando, Bariba, and Monkole in variable proportions (Table 3). These breeders mostly did not receive any formal education ($96.9 \pm 3.4\%$) ($p < 0.001$) with a rate of literacy in local languages of $25.5 \pm 8.6\%$. Islam was the only religion of

Table 2 Assess grid of the risk level of practices able to cause contamination of foods from treat animals by antibiotic residues (Adapted from Mensah et al. (2014a))

Variable (good modality with low risk)	Percentages of breeders who respect the modality with low risk		
	Proportion lower than 20% of breeders	Proportion between 20 and 50% of breeders	Proportion higher than 50% of breeders
Annual frequency of veterinary treatment of herds (occasional)	High	Medium	Low
Advice sources before purchasing antibiotics (veterinarian)	High	Medium	Low
Advice sources before injection antibiotics to animals (veterinarian)	High	Medium	Low
Respect of the antibiotic withdrawal times (yes)	High	Medium	Low
Source of antibiotic drugs (veterinary pharmacy)	High	Medium	Low
First attitude toward a diseased animal (veterinary calling)	High	Medium	Low
Principal responsible of veterinary treatments (veterinarian)	High	Medium	Low

High, high-risk able to cause contamination of foods from treat animal by antibiotic residues; *Medium*, medium-risk able to cause contamination of foods from treat animal by antibiotic residues; *Low*, low-risk able to cause contamination of foods from treat animal by antibiotic residues

Table 3 Proportions of breeders according to their status modalities

Variables and modalities	Breeder number (<i>n</i> = 98)	Proportion (% ± CI)	Distribution in districts (% ± CI)			
			<i>Bnk</i>	<i>Kdi</i>	<i>Bke</i>	<i>Kal</i>
Ages (years)						
Age < 30	4	4.1 ± 3.9 ^c	75.0 ± 42.4 ^e	25.0 ± 42.4 ^f	0.0 ^f	0.0 ^f
30 ≤ Age ≤ 59	66	67.3 ± 9.3 ^a	25.8 ± 10.6 ^{ef}	21.2 ± 9.9 ^{ef}	33.3 ± 11.4 ^e	19.7 ± 9.6 ^f
Age ≥ 60	28	28.6 ± 8.9 ^b	17.9 ± 14.2 ^{ef}	35.7 ± 17.7 ^e	10.7 ± 11.5 ^f	35.7 ± 17.7 ^e
Ethnic groups						
Fulani	70	71.4 ± 8.9 ^a	30.0 ± 10.7 ^e	22.9 ± 9.8 ^e	22.9 ± 9.8 ^e	24.2 ± 10.0 ^e
Gando	20	20.4 ± 8.0 ^b	0.0 ^h	25.0 ± 19.0 ^f	45.0 ± 21.8 ^e	30.0 ± 20.1 ^{ef}
Bariba	6	6.1 ± 4.7 ^c	66.7 ± 37.7 ^e	33.3 ± 37.7 ^{ef}	0.0 ^f	0.0 ^f
Mokole	2	2.1 ± 2.8 ^c	0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^e	0.0 ^f	0.0 ^f
Instruction level						
No formal education	95	96.9 ± 3.4 ^a	25.3 ± 8.7 ^e	25.3 ± 8.7 ^e	26.3 ± 8.9 ^e	23.1 ± 8.5 ^e
Primary school	1	1.0 ± 2.0 ^b	0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^e	0.0 ^f	0.0 ^f
Secondary school	2	2.1 ± 2.8 ^b	50.0 ± 69.3 ^e	0.0 ^e	0.0 ^e	50.0 ± 69.3 ^e
Local language literate						
No	73	74.5 ± 8.6 ^a	27.4 ± 10.2 ^e	24.6 ± 9.9 ^e	28.8 ± 10.4 ^e	19.2 ± 9.0 ^e
Yes	25	25.5 ± 8.6 ^b	20.0 ± 15.7 ^{ef}	28.0 ± 17.6 ^{ef}	16.0 ± 14.4 ^f	36.0 ± 18.8 ^e
Religion						
Islam	93	94.9 ± 4.4 ^a	26.9 ± 9.0 ^e	25.8 ± 8.9 ^e	24.7 ± 8.8 ^e	22.6 ± 8.5 ^e
Non-religious	5	5.1 ± 4.4 ^b	0.0 ^e	20.0 ± 35.1 ^e	40.0 ± 42.9 ^e	40.0 ± 42.9 ^e
Principal activities						
Breeding	71	72.4 ± 8.8 ^a	29.6 ± 10.6 ^e	22.5 ± 9.7 ^e	21.1 ± 9.5 ^e	26.8 ± 10.3 ^e
Agriculture	21	21.4 ± 8.1 ^b	19.0 ± 16.8 ^f	42.9 ± 21.2 ^e	38.1 ± 20.8 ^{ef}	0.0 ^f
Cattle trade	4	4.1 ± 3.9 ^c	0.0 ^f	0.0 ^f	0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^e
Other	2	2.1 ± 2.8 ^c	0.0 ^f	0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^e	0.0 ^f
Secondary activities						
Agriculture	63	64.3 ± 9.5 ^a	28.6 ± 11.2 ^e	23.8 ± 10.5 ^e	23.8 ± 10.5 ^e	23.8 ± 10.5 ^e
Breeding	29	29.6 ± 9.0 ^b	17.2 ± 13.7 ^e	31.1 ± 16.8 ^e	34.5 ± 17.3 ^e	17.2 ± 13.7 ^e
Cattle trade	6	6.1 ± 4.7 ^c	33.3 ± 37.7 ^{ef}	16.7 ± 29.8 ^{ef}	0.0 ^f	50.0 ± 40.0 ^e

Letters a, b, and c were used to notify significant difference between proportions of modalities about the same variable; Letters e, f, and h were used to notify significant difference between proportions of the same modality in different districts

Bnk, Banikoara; *Kdi*, Kandi; *Bke*, Bembereke; *Kal*, Kalale; *CI*, confidence interval at 95%

94.9 ± 4.4% of these breeders. The rest of the breeders sampled (5.1 ± 4.4%) did not practice any specific religion. The proportion of farmers with breeding as the main activity (72.4 ± 8.8%) was significantly higher than that of farmers who practiced agriculture (21.4 ± 8.1%) and animal trade (4.1 ± 3.9%) ($p < 0.001$).

Characteristics of livestock

Table 4 shows the characteristics of the herds of the surveyed breeders and the results of comparison tests between the breeder proportions according to the district. Ninety of the 98 breeders have one herd of cattle each while eight breeders have two herds of cattle each, for a total of 106 studied herds of cattle of which 76.4 ± 8.1% were composed of Borgou

cattle breed and 16.0 ± 7.0% of Fulani Zebu breed; 7.6 ± 5.0% of herds were composed of a mix of these two breeds. The history of the composition of these animal herds showed several types of acquisition, the main of which was legacy. Purchasing and entrusting were the other cattle acquisition modes with varying proportions (Table 4).

Modalities of cattle rearing system are shown in Table 5, which presents also the results of dependence tests between the final proportions of breeders' answers and the district. Two systems were used for breeding these animals. The sedentary livestock system was dominant, being practiced by 82.6 ± 7.5% of breeders. Transhumance was only practiced in Kandi and represented 13.3 ± 6.7% of breeders. Daily, these animals go to pasture once (25.5 ± 8.6% of breeders), twice (33.7 ± 9.4%) or all day (40.8 ± 9.7%). They received food

Table 4 Characteristics of the studied livestock

Variables and modalities	Breeder or herd number	Proportion (% $\pm$ CI)	Distribution in districts (% $\pm$ CI)			
			<i>Bnk</i>	<i>Kdi</i>	<i>Bke</i>	<i>Kal</i>
Number of herds by breeder						
1	90 [#]	91.8 $\pm$ 5.4 ^a	24.4 $\pm$ 8.9 ^e	26.7 $\pm$ 9.1 ^e	25.6 $\pm$ 9.0 ^e	23.3 $\pm$ 8.7 ^e
2	8 [#]	8.2 $\pm$ 5.4 ^b	37.5 $\pm$ 33.5 ^e	12.5 $\pm$ 22.9 ^e	25.0 $\pm$ 30.0 ^e	25.0 $\pm$ 30.0 ^e
Total	98 [#]	100.0	25.5 ^e	25.5 ^e	25.5 ^e	23.5 ^e
Cattle number class per herd						
10 $\leq$ cattle number $\leq$ 25	22 ^{##}	20.7 $\pm$ 7.7 ^{bc}	27.3 $\pm$ 18.6 ^{ef}	22.7 $\pm$ 17.5 ^{ef}	36.4 $\pm$ 20.1 ^e	13.6 $\pm$ 14.3 ^f
25 < cattle number $\leq$ 50	43 ^{##}	40.6 $\pm$ 9.3 ^a	20.9 $\pm$ 12.2 ^e	32.6 $\pm$ 14.0 ^e	27.9 $\pm$ 13.4 ^c	18.6 $\pm$ 11.6 ^e
50 < cattle number $\leq$ 75	25 ^{##}	23.6 $\pm$ 8.1 ^b	28.0 $\pm$ 17.6 ^{ef}	16.0 $\pm$ 14.4 ^f	20.0 $\pm$ 15.7 ^{ef}	36.0 $\pm$ 18.8 ^e
Cattle number > 75	16 ^{##}	15.1 $\pm$ 6.8 ^c	37.5 $\pm$ 23.7 ^e	18.8 $\pm$ 19.1 ^{ef}	12.5 $\pm$ 16.2 ^f	31.2 $\pm$ 22.7 ^{ef}
Total	106 ^{##}	100.0	26.4 ^e	24.5 ^e	25.5 ^e	23.6 ^e
Cattle breed in herds						
Borgou	81 ^{##}	76.4 $\pm$ 8.1 ^a	22.2 $\pm$ 9.1 ^e	24.7 $\pm$ 9.4 ^e	25.9 $\pm$ 9.5 ^e	27.2 $\pm$ 9.7 ^e
Zebu Fulani	17 ^{##}	16.0 $\pm$ 7.0 ^b	41.2 $\pm$ 23.4 ^e	23.5 $\pm$ 20.2 ^{ef}	23.5 $\pm$ 20.2 ^{ef}	11.8 $\pm$ 15.3 ^f
Borgou and Zebu Fulani	8 ^{##}	7.6 $\pm$ 5.0 ^c	37.5 $\pm$ 33.5 ^e	25.0 $\pm$ 30.0 ^e	25.0 $\pm$ 30.0 ^e	12.5 $\pm$ 22.9 ^e
Total	106 ^{##}	100.0	26.4 ^e	24.5 ^e	25.5 ^e	23.6 ^e
Acquisition of bovines						
Legacy	53 [#]	54.1 $\pm$ 9.9 ^a	28.3 $\pm$ 12.1 ^e	26.4 $\pm$ 11.9 ^e	18.9 $\pm$ 10.5 ^e	26.4 $\pm$ 11.9 ^e
Legacy and purchase	25 [#]	25.5 $\pm$ 8.6 ^b	8.0 $\pm$ 10.6 ^f	24.0 $\pm$ 16.7 ^f	52.0 $\pm$ 19.6 ^e	16.0 $\pm$ 14.4 ^f
Purchase	14 [#]	14.3 $\pm$ 6.9 ^c	42.9 $\pm$ 25.9 ^e	21.4 $\pm$ 21.5 ^{ef}	14.3 $\pm$ 18.3 ^f	21.4 $\pm$ 21.5 ^{ef}
Entrusting	3 [#]	3.1 $\pm$ 3.4 ^d	33.3 $\pm$ 53.3 ^{ef}	0.0 ^f	0.0 ^f	66.7 $\pm$ 53.3 ^e
Legacy and entrusting	2 [#]	2.0 $\pm$ 2.8 ^d	0.0 ^f	100.0 $\pm$ 0.0 ^e	0.0 ^f	0.0 ^f
Legacy and donation	1 [#]	1.0 $\pm$ 2.0 ^d	100.0 $\pm$ 0.0 ^e	0.0 ^f	0.0 ^f	0.0 ^f
Total	98 [#]	100.0	25.5 ^e	25.5 ^e	25.5 ^e	23.5 ^e

Letters a, b, c, and d were used to notify significant difference between proportions of modalities about the same variable; Letters e and f were used to notify significant difference between proportions of the same modality in different districts

Bnk, Banikoara; *Kdi*, Kandi; *Bke*, Bembereke; *Kal*, Kalale; *CI*, confidence interval at 95%; # breeder number; ##, herd number;

supplements mainly composed of cooking salt (83.7 $\pm$ 7.3%) and crop residues (67.3 $\pm$ 9.3%). These were legumes, cereals, and cottonseed oil cake.

Antibiotics and purchasing sites

Table 6 shows the characteristics of different antibiotic drugs used in cattle breeding in the study zone. During the survey, 39 different antibiotic pharmaceuticals were recorded among breeders, in veterinary pharmacies, and on cattle markets. According to the bottle labels, the active chemicals in these medicines were tetracycline (oxytetracycline), sulfonamide (sulfamethazine or sulfadimidine or sulfadimerazine, and sulfadimethoxine), macrolide (tylosin), beta-lactams (penicillin G), and aminoglycoside (streptomycin) antibiotic groups. Some drugs were composed of a mix of penicillin G and streptomycin (5.1 $\pm$ 6.9%). Thus, tetracyclines (64.1 $\pm$ 15.1%) dominated the other antibiotics ($p < 0.001$). Aminoglycosides group had the least percentage.

Some pharmaceuticals (41.0 $\pm$ 15.4%) were found on veterinary pharmacies and local markets, while 59.0 $\pm$ 15.4% solely from local markets. The proportion of tetracyclines found on local markets (64.0 $\pm$ 18.8%) was higher ($p < 0.05$) than that found in veterinary pharmacies and markets (36.0 $\pm$ 18.8%). These drugs were injectable solutions except two of them that were powders for injectable preparations.

The use of antibiotics by breeders is presented in Table 7, which also shows the results of dependence tests between the final proportions of breeders' answers and the district. All breeders used tetracyclines with a significant difference ($p < 0.01$) compared to beta-lactams, aminoglycosides, and sulfonamides, which were used by 69.4 $\pm$ 9.1%, 56.1 $\pm$ 9.8%, and 44.9 $\pm$ 9.8% of the breeders, respectively. Macrolides were the least group used by 34.7 $\pm$ 9.4% of breeders.

The purchase sites of antibiotic drugs according to the breeders are shown in Table 8. The two main supplying sources of veterinary antibiotics were veterinary pharmacies and local cattle markets that provided antibiotics to 38.8 $\pm$ 9.6% and 58.2 $\pm$ 9.8% of breeders, respectively, with a

Table 5 Modalities of cattle breeding system

Variables and modalities	Breeder number (<i>n</i> = 98)	Proportion (% ± CI)	Distribution in districts (% ± CI)			
			<i>Bnk</i>	<i>Kdi</i>	<i>Bke</i>	<i>Kal</i>
Breeding system						
Sedentary	81	82.6 ± 7.5 ^a	30.9 ± 10.1 ^e	14.8 ± 7.7 ^f	25.9 ± 9.5 ^e	28.4 ± 9.8 ^e
Transhumant	13	13.3 ± 6.7 ^b	0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^e	0.0 ^f	0.0 ^f
Sedentary and transhumant	4	4.1 ± 3.9 ^c	0.0 ^f	0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^e	0.0 ^f
Daily frequency pasture						
Once a day	25	25.5 ± 8.6 ^b	20.0 ± 15.7 ^f	80.0 ± 15.7 ^e	0.0 ^h	0.0 ^h
Twice a day	33	33.7 ± 9.4 ^{ab}	6.1 ± 8.1 ^f	15.1 ± 12.2 ^f	72.7 ± 15.2 ^e	6.1 ± 8.1 ^f
The whole day	40	40.8 ± 9.7 ^a	45.0 ± 15.4 ^e	0.0 ^f	2.5 ± 4.8 ^f	52.5 ± 15.5 ^e
Food supplements after pasture						
Cooking salt	82	83.7 ± 7.3 ^a	29.3 ± 9.8 ^e	14.6 ± 7.7 ^f	29.3 ± 9.8 ^e	26.8 ± 9.6 ^e
Crop residues	66	67.3 ± 9.3 ^b	34.9 ± 11.5 ^e	24.2 ± 10.3 ^e	7.6 ± 6.4 ^f	33.3 ± 11.4 ^e
Fodder reserves	28	28.6 ± 8.9 ^c	14.3 ± 13.0 ^f	46.4 ± 18.5 ^e	7.2 ± 9.6 ^f	32.1 ± 17.3 ^e
Cotton oil cake	17	17.3 ± 7.5 ^d	23.5 ± 20.2 ^f	70.6 ± 21.7 ^e	0.0 ^h	5.9 ± 11.2 ^h
Types of crop residues						
Cereals	97	99.0 ± 2.0 ^a	24.7 ± 8.6 ^e	25.8 ± 8.7 ^e	25.8 ± 8.7 ^e	23.7 ± 8.5 ^e
Legumes	92	93.9 ± 4.7 ^b	26.1 ± 9.0 ^e	23.9 ± 8.7 ^e	26.1 ± 9.0 ^e	23.9 ± 8.7 ^e
Cotton	86	87.8 ± 6.5 ^b	29.1 ± 9.6 ^e	29.1 ± 9.6 ^e	23.2 ± 8.9 ^{ef}	18.6 ± 8.2 ^f

Letters a, b, c, and d were used to notify significant difference between proportions of modalities about the same variable; Letters e, f, and h were used to notify significant difference between proportions of the same modality in different districts

Bnk, Banikoara; *Kdi*, Kandi; *Bke*, Bembereke; *Kal*, Kalale; *CI* confidence interval at 95%

significant difference ($p < 0.01$). In total, $46.9 \pm 9.9\%$ of breeders had a single source for supplying veterinary medicines and $53.1 \pm 9.9\%$ of them had mixed sources.

Reasons of antibiotic use

Figure 2 details the antibiotics used following the syndromes described by the surveyed breeders. The main purpose of the use of these medications was curative. This practice was strictly followed by $87.8 \pm 6.5\%$ of breeders while $12.2 \pm 6.5\%$ of them used antibiotics for curative and preventive treatments. Breeders were compelled to use antibiotics against several syndromes, the most dominant of which were respiratory diseases reported by $94.9 \pm 4.4\%$ of these breeders ($p < 0.001$). Others syndromes were skin diseases, neonatal enteritis, lameness, mastitis, and omphalitis.

Advice sources of breeders and veterinary care for cattle

Cattle breeders had many sources of advice both for purchasing and injecting of medication to cattle (Table 9). To purchase antibiotic products according to the pathological symptoms, $37.8 \pm 9.6\%$ of breeders took advice from veterinarians, $32.7 \pm 9.3\%$ had been helped by their fellow breeders, $22.4 \pm 8.3\%$ solely relied on their own experience, and $7.1 \pm 5.1\%$ were

advised by drug traders. As for advice for the cattle treatments, veterinarians were consulted by $34.7 \pm 9.4\%$ of breeders and $24.5 \pm 8.5\%$ of them used their own knowledge. Fellow breeders and antibiotic sellers intervened for advising $35.7 \pm 9.5\%$ and $5.1 \pm 4.4\%$ of breeders, respectively.

The proportion of the breeders who practice self-medication by injecting drugs to animals by themselves ($76.5 \pm 8.4\%$) is significantly higher ($p < 0.05$) than the percentages of the breeders who solicited the veterinarian services ($18.4 \pm 7.7\%$) and their colleagues ($5.1 \pm 4.4\%$) (Table 9).

In $77.6 \pm 8.3\%$ of treatments, cattle weight was never estimated before injecting drugs (Table 9). Self-medication was practiced by $57.1 \pm 9.8\%$ of breeders who called veterinarians only after treatment failure. Ninety-three percent of surveyed breeders never respected withdrawal time of antibiotics before consumption or marketing of milk or meat from treated animals.

After antibiotic use, empty bottles were mostly discarded in the environment without disposal precautions ($87.8 \pm 6.5\%$ of breeders).

Typology of breeders according to risky practices

Multiple correspondence analysis

Three axes were retained for interpreting the results of the multiple correspondence analysis (MCA). The analysis of

Table 6 Characteristics of different antibiotic drugs used in cattle breeding in the study zone

Antibiotics	Conc.	Nature	Drug number (n = 39)	Prop. (% ± CI)	Repartition according to purchase sites (% ± CI)	
					Vet. phar. and local market	Local market**
Tetracyclines						
Oxytetracycline	5%	Inj. sol.	16	41.0 ± 15.4	12.5 ± 16.2 ^b	87.5 ± 16.2 ^a
Oxytetracycline	10%	Inj. sol.	3	7.7 ± 8.4	66.7 ± 53.3 ^a	33.3 ± 53.3 ^a
Oxytetracycline ^{LA}	20%	Inj. sol.	6	15.4 ± 11.3	83.3 ± 29.8 ^a	16.7 ± 29.8 ^b
Subtotal			25	64.1 ± 15.1	36.0 ± 18.8 ^b	64.0 ± 18.8 ^a
Sulfonamides						
Sulfadimidine [#]	33.3%	Inj. sol.	3	7.7 ± 8.4	33.3 ± 53.3 ^a	66.7 ± 53.3 ^a
Sulfadimidine [#]	33%	Inj. sol.	1	2.6 ± 5.0	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ^b
Sulfadimethoxin	33%	Inj. sol.	1	2.6 ± 5.0	0.0 ^b	100.0 ± 0.0 ^a
Subtotal			5	12.8 ± 10.5	40.0 ± 42.9 ^a	60.0 ± 42.9 ^a
Beta-lactams						
Penicillin G	68.7%*	Pow. for sol.	2	5.1 ± 6.9	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ^b
Subtotal			2	5.1 ± 6.9	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ^b
Aminoglycosides						
Streptomycin	100%	Pow. for sol.	1	2.6 ± 5.0	0.0 ^b	100.0 ± 0.0 ^a
Subtotal			1	2.6 ± 5.0	0.0 ^b	100.0 ± 0.0 ^a
Beta-lactams + aminoglycosides						
Penicillin G + streptomycin	20% + 25%	Inj. sol.	1	2.6 ± 5.0	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ^b
Penicillin G + streptomycin	12% + 20%	Inj. sol.	1	2.6 ± 5.0	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ^b
Subtotal			2	5.1 ± 6.9	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ^b
Macrolides						
Tylosin	20%	Inj. sol.	4	10.3 ± 9.5	25.0 ± 42.4 ^b	75.0 ± 42.4 ^a
Subtotal			4	10.3 ± 9.5	25.0 ± 42.4 ^b	75.0 ± 42.5 ^a
Total			39	100 ± 0.0	41.0 ± 15.4 ^a	59.0 ± 15.4 ^a

Letters a and b were used to notify significant difference between proportions about the same drug according to the purchase site

Conc., concentration; Prop., proportion; CI, confidence interval at 95%; Inj. sol., injectable solution; Pow. for sol., powder for injectable solution

^{LA} Long acting

[#] Sulfadimidine is also named sulfamethazine or sulfadimerazine

*3.6 g of powder contain 0.6 g of penicillin G and 3 g of penicillin procaine

**Exclusively in the local markets

Table 7 Repartition of breeders according to the used antibiotic groups

Antibiotic groups	Breeder number (n = 98)	Proportion (% ± CI)	Distribution in districts (% ± CI)			
			Bnk	Kdi	Bke	Kal
Tetracyclines (oxytetracycline)	98	100.0 ± 0.0 ^a	25.5 ± 8.6 ^e	25.5 ± 8.6 ^e	25.5 ± 8.6 ^e	23.5 ± 8.6 ^e
Beta-lactams (penicillin G)	68	69.4 ± 9.1 ^b	22.1 ± 9.9 ^e	35.3 ± 11.4 ^e	22.1 ± 9.9 ^e	20.6 ± 9.6 ^e
Sulfonamides (sulfadimidine, sulfadimethoxin)	55	56.1 ± 9.8 ^{bc}	7.3 ± 6.9 ^f	27.3 ± 11.8 ^e	30.9 ± 12.2 ^e	34.5 ± 12.6 ^e
Aminoglycosides (streptomycin)	44	44.9 ± 9.8 ^c	22.7 ± 12.4 ^e	34.1 ± 14.0 ^e	25.0 ± 12.8 ^e	18.2 ± 11.4 ^e
Macrolides (tylosin)	34	34.7 ± 9.4 ^c	35.3 ± 16.1 ^e	35.3 ± 16.1 ^e	26.5 ± 14.8 ^e	2.9 ± 5.7 ^f

Letters a, b, and c were used to notify significant difference between proportions of antibiotic groups while letters e and f were used to notify significant difference between proportions of the same antibiotic group in different districts

Bnk, Banikoara; Kdi, Kandi; Bke, Bembereke; Kal, Kalale; CI, confidence interval at 95%

Table 8 Repartition of breeders according to the purchase sites of antibiotic pharmaceuticals

Antibiotic purchase sites	Breeder number (<i>n</i> = 98)	Proportion (% ± CI)	Distribution in districts (% ± CI)			
			<i>Bnk</i>	<i>Kdi</i>	<i>Bke</i>	<i>Kal</i>
Market	18	18.4 ± 7.7 ^a	11.1 ± 14.5 ^h	33.3 ± 21.8 ^f	44.5 ± 23.0 ^e	11.1 ± 14.5 ^h
Pharmacy	17	17.3 ± 7.5 ^a	47.1 ± 23.7 ^e	29.4 ± 21.7 ^e	0.0 ^f	23.5 ± 20.2 ^e
Veterinarian and market	16	16.3 ± 7.3 ^a	0.0 ^f	12.5 ± 16.2 ^f	68.8 ± 22.7 ^e	18.8 ± 19.1 ^f
Pharmacy and market	15	15.3 ± 7.1 ^{ab}	80.0 ± 20.2 ^e	13.3 ± 17.2 ^f	0.0 ^f	6.7 ± 12.6 ^f
Pharmacy and veterinarian	13	13.3 ± 6.7 ^{ab}	23.1 ± 22.9 ^{ef}	38.4 ± 26.4 ^e	7.7 ± 14.5 ^f	30.8 ± 25.1 ^{ef}
Veterinarian	11	11.2 ± 6.2 ^{ab}	0.0 ^f	18.2 ± 22.8 ^{ef}	45.4 ± 29.4 ^e	36.4 ± 28.4 ^e
Pharmacy and veterinarian and market	8	8.2 ± 5.4 ^b	0.0 ^f	37.5 ± 33.5 ^e	0.0 ^f	62.5 ± 33.5 ^e

Letters a and b were used to notify significant difference between proportions of antibiotic purchase sites while letters e and f were used to notify significant difference between proportions of the same antibiotic purchase site in different districts

Bnk, Banikoara; *Kdi*, Kandi; *Bke*, Bembereke; *Kal* Kalale; *CI*, confidence interval at 95%;

the indicator matrix showed respectively for the axes 1, 2, and 3 a value of 14.4%, 12.7%, and 8.9% of the total inertia (Figs. 3 and 4).

The component 1 opposes the district of Banikoara, associated to modalities of breeders who took advice from their colleagues or from the drug traders before buying and injecting of antibiotics to animals (negative coordinates, Fig. 3), to the district of Bembereke, where breeders relied on their own experience to purchase antibiotics and treat cattle (positive coordinates, Fig. 3). Likewise, axis 1 opposes modalities of “veterinary pharmacies as medicine purchase sites,” “no estimate of cattle weight before injection of drugs,” and “burning of empty bottles of drugs” (negative coordinates, Fig. 3) to the modality group relative to “breeders who purchased drugs among veterinarians,” “estimate of animal weight before veterinary treatment,” and “recycling empty medicine bottles for other purposes” (positive coordinates, Fig. 3).

The component 2 discriminates the group of modalities related to breeders and districts of Kandi and Kalale where veterinarians were antibiotic suppliers and advice sources (positive coordinates, Fig. 3) to other groups of breeders in Banikoara on the one hand and Bembereke on the other hand (negative coordinates, Fig. 3).

As for the component 3, it opposes the local cattle market to the veterinary pharmacy as sources of supply of antibiotics.

Hierarchical classification analysis and description of classes

Figure 4 shows the projection of individual breeders on the plane of the factorial axes 1 and 2, which allowed observing the affinity groups in three clusters, holding 50% of the total variability between groups. Table 10 shows the distribution of breeders in the three classes according to all modalities of which the most relevant by breeder class are presented in Table 11.

Cluster 1 counted 23 breeders (23.5 ± 8.4% of total breeders) from Banikoara district. They were characterized by the annual frequency of antibiotic treatments (more than three times). In this group, breeders were in charge of antibiotic treatments without estimating cattle weight. They mostly took tips for purchasing and injecting medications among their fellows (Table 11).

Cluster 2 was composed of 50 ± 9.9% of the breeders (25 breeders from Kandi, 21 in Kalale, 2 in Banikoara, and 1 in Bembereke) (Table 10). Several breeders of this group rely on veterinarians for advice to get (89.2 ± 10.0% of breeders of cluster 2) and use (97.1 ± 5.7% of breeders of cluster 2) antibiotics. Breeders who have followed a local language literacy program were in this group (Table 11). The intervention of veterinarians for animal care leads to consider this class as a lower-risk group.

Fig. 2 Proportion of breeders according to the antibiotics used against the claimed diseases. *T* tetracyclines, *B-L* beta-lactams, *S* sulfonamides, *M* macrolides, *A* aminoglycosides, *Feet diseases* lameness. See Table 1 for the meaning of variable codes

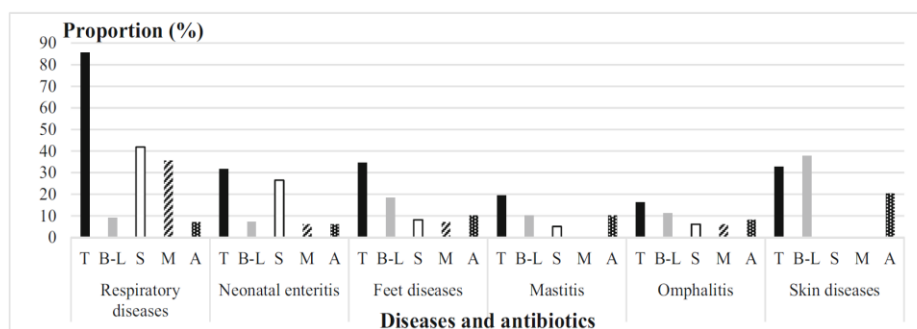


Table 9 Some modalities for risky practices which could cause contamination of the food chain by residues of antibiotic used for the cattle care

Variables and modalities	Breeder number (<i>n</i> = 98)	Proportion (% ± CI)	Distribution in districts (% ± CI)			
			<i>Bnk</i>	<i>Kdi</i>	<i>Bke</i>	<i>Kal</i>
Advice sources before purchasing antibiotics						
Veterinarian	37	37.8 ± 9.6 ^a	8.1 ± 8.8 ^h	32.4 ± 15.1 ^f	10.8 ± 10.0 ^h	48.7 ± 16.1 ^e
Fellow breeder	32	32.7 ± 9.3 ^a	50.0 ± 17.3 ^e	37.5 ± 16.8 ^e	9.4 ± 10.1 ^f	3.1 ± 6.0 ^f
No advise	22	22.4 ± 8.3 ^b	4.5 ± 8.7 ^f	4.5 ± 8.7 ^f	72.7 ± 18.6 ^e	18.2 ± 16.1 ^f
Antibiotic seller	7	7.1 ± 5.1 ^c	71.4 ± 33.5 ^e	0.0 ^f	28.6 ± 33.5 ^{ef}	0.0 ^f
Advice sources before injection antibiotics to animals						
Fellow breeder	35	35.7 ± 9.5 ^a	42.9 ± 16.1 ^e	37.1 ± 16.0 ^e	11.4 ± 10.5 ^f	8.6 ± 9.3 ^f
Veterinarian	34	34.7 ± 9.4 ^a	5.9 ± 7.9 ^h	32.3 ± 15.7 ^f	5.9 ± 7.9 ^h	55.9 ± 16.7 ^e
No advise	24	24.5 ± 8.5 ^b	12.5 ± 13.2 ^f	4.2 ± 8.0 ^f	79.2 ± 16.2 ^e	4.2 ± 8.0 ^f
Antibiotic seller	5	5.1 ± 4.4 ^c	100.0 ± 0.0 ^e	0.0 ^f	0.0 ^f	0.0 ^f
Annual frequency of veterinary treatments						
Occasional	25	25.5 ± 8.6 ^a	4.0 ± 7.7 ^f	0.0 ^f	88.0 ± 12.7 ^e	8.0 ± 10.6 ^f
Twice	15	15.3 ± 7.1 ^b	13.3 ± 17.2 ^f	60.0 ± 24.8 ^e	13.3 ± 17.2 ^f	13.3 ± 17.2 ^f
Three times	30	30.6 ± 9.1 ^a	3.3 ± 6.4 ^f	53.3 ± 17.9 ^e	3.3 ± 6.4 ^f	40.0 ± 17.5 ^e
More than three times	28	28.6 ± 8.9 ^a	75.0 ± 16.0 ^e	0.0 ^h	0.0 ^h	25.0 ± 16.0 ^f
First attitude toward a diseased animal						
Self-medication	56	57.1 ± 9.8 ^a	25.0 ± 11.3 ^{ef}	19.6 ± 10.4 ^f	19.6 ± 10.4 ^f	35.7 ± 12.5 ^e
Veterinarian calling	42	42.9 ± 9.8 ^b	26.2 ± 13.3 ^e	33.3 ± 14.3 ^e	33.3 ± 14.3 ^e	7.1 ± 7.8 ^f
Principal responsible of veterinary treatments						
Breeder	75	76.5 ± 8.4 ^a	29.3 ± 10.3 ^e	22.7 ± 9.5 ^e	18.7 ± 8.8 ^f	29.3 ± 10.3 ^e
Veterinarian	18	18.4 ± 7.7 ^b	11.1 ± 14.5 ^f	33.3 ± 21.8 ^e	50.0 ± 23.1 ^e	5.6 ± 10.6 ^f
Breeder's family member or friend	5	5.1 ± 4.4 ^c	20.0 ± 35.1 ^e	40.0 ± 42.9 ^e	40.0 ± 42.9 ^e	0.0 ^e
Estimating of cattle weight before veterinary treatment						
No	76	77.6 ± 8.3 ^a	31.6 ± 10.5 ^e	21.0 ± 9.2 ^f	17.1 ± 8.5 ^f	30.3 ± 10.3 ^{ef}
Yes	12	12.2 ± 6.5 ^b	8.3 ± 15.6 ^f	41.7 ± 27.9 ^e	50.0 ± 28.3 ^e	0.0 ^f
Yes sometime	10	10.2 ± 6.0 ^b	0.0 ^f	40.0 ± 30.4 ^e	60.0 ± 30.4 ^e	0.0 ^f
Management of empty bottles after treatments						
No disposal precaution	86	87.8 ± 6.5 ^a	22.1 ± 8.8 ^e	29.1 ± 9.6 ^e	24.4 ± 9.1 ^e	24.4 ± 9.1 ^e
Recycle for use	7	7.1 ± 5.1 ^b	71.4 ± 33.5 ^e	0.0 ^f	0.0 ^f	28.6 ± 33.5 ^f
Burn	5	5.1 ± 4.4 ^b	20.0 ± 35.1 ^f	0.0 ^f	80.0 ± 35.1 ^e	0.0 ^f
Respect of antibiotic withdrawal times#						
No	91	92.9 ± 5.1 ^a	25.3 ± 8.9 ^e	26.4 ± 9.1 ^e	26.4 ± 9.1 ^e	21.9 ± 8.5 ^e
Yes	7	7.1 ± 5.1 ^b	28.6 ± 33.5 ^e	14.3 ± 25.9 ^e	14.3 ± 25.9 ^e	42.8 ± 36.7 ^e

Letters a, b, and c were used to notify significant difference between proportions of modalities about the same variable while letters e, f, and h were used to notify significant difference between proportions of the same modality in different districts

Bnk, Banikoara; *Kdi*, Kandi; *Bke*, Bembereke; *Kal*, Kalale; *CI*, confidence interval at 95%; #, respect of antibiotic withdrawal times before consumption or sale of feed from the treated animal

As for the cluster 3, it contained 24 breeders from Bembereke and two in Kalalé (26.5 ± 8.7% of total breeders). These breeders were characterized by occasional antibiotic treatment of cattle. They used their own experience to purchase medicines and treat bovines.

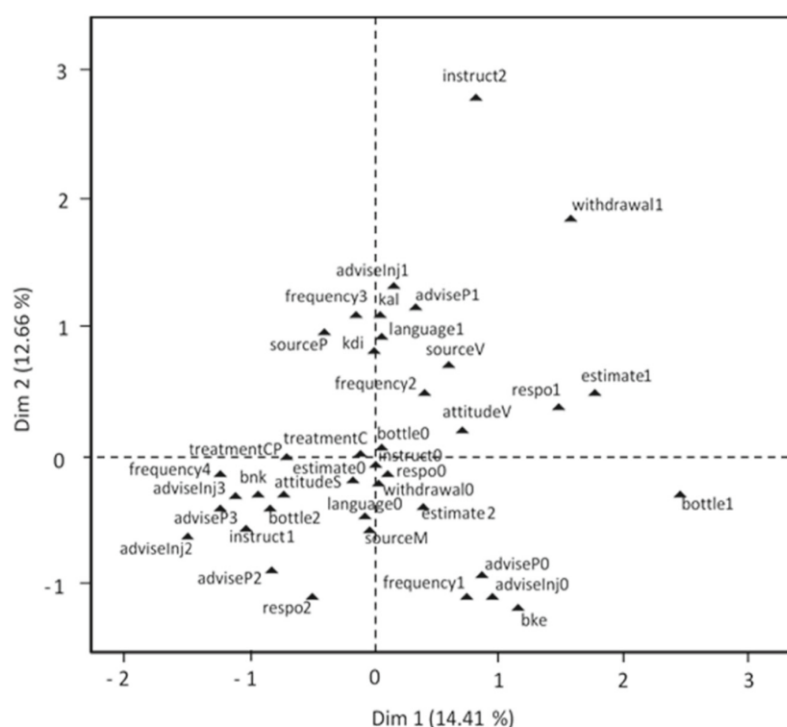
The variables “annual frequency of veterinary treatment of herds” and “advice sources before purchasing and injection antibiotics to animals” (Table 11), together with an assessment grid of the risk level of practices (Table 2), allowed identifying

clusters 1, 2, and 3 as high-risk, lower-risk, and medium-risk classes, respectively.

Discussion

This survey among cattle breeders showed the wide use of antibiotic drugs in livestock in the North-East Benin where over 60% of the conventional national herd of cattle were

Fig. 3 Graphic representation of modalities on the factorial axes 1 and 2. The numbers correspond to the breeders



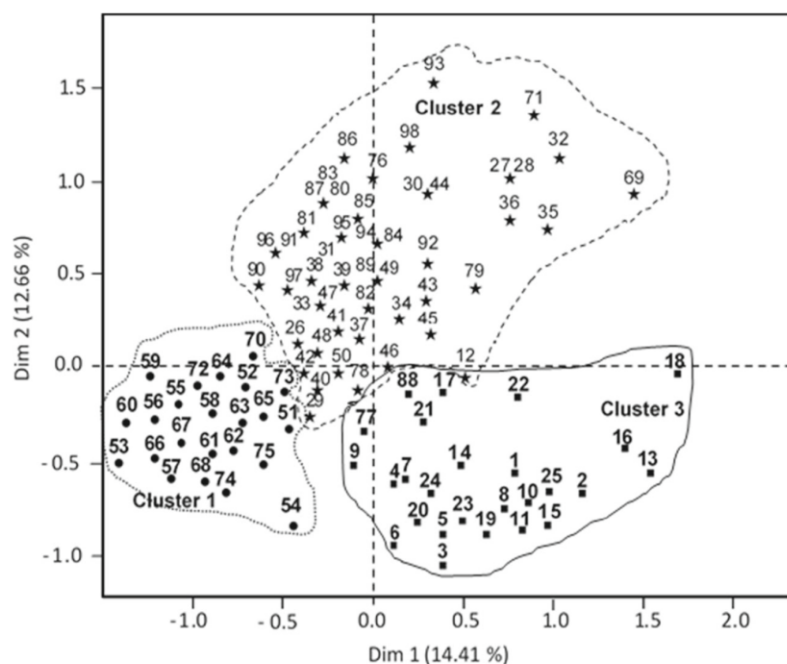
See table 1 for the meaning of variable codes

raised (DE 2016). To conduct this study, a breeder sample was uniformly selected in four districts. Because of the lack of recent data about cattle breeder population in the surveyed districts, a randomized sampling was not possible. Also, the sampling size could not be based on the total breeder

population size as recommended (Krejcie and Morgan 1970). Therefore, all statistical tests conducted on this sample may be considered as preliminary.

Interviewed breeders were predominantly from the Fulani ethnic group, were Muslims, and did not receive any formal

Fig. 4 Graphic representation of breeder clusters on the factorial axes 1 and 2



The numbers correspond to the breeders

Table 10 Distribution of breeders in the three classes according to the whole modalities

Variables/modalities	Breeder number (<i>n</i> = 98)	Proportions of breeder distribution in clusters (% ± CI)		
		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
District				
Bembereke	25	0.0 ± 0.0 ^b	4.0 ± 7.7 ^b	96.0 ± 7.7 ^a
Kandi	25	0.0 ± 0.0 ^b	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^b
Banilkoara	25	92.0 ± 10.6 ^a	8.0 ± 10.6 ^b	0.0 ± 0.0 ^b
Kalale	23	0.0 ± 0.0 ^b	91.3 ± 11.5 ^a	8.7 ± 11.5 ^b
Instruction level				
No formal education	95	24.2 ± 8.6 ^b	48.4 ± 10.0 ^a	27.4 ± 9.0 ^b
Primary school	1	0.0 ± 0.0 ^a	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^a
Secondary school	2	0.0 ± 0.0 ^a	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^a
Local language literate				
No	73	27.4 ± 10.2 ^a	41.1 ± 11.3 ^a	31.5 ± 10.7 ^a
Yes	25	12.0 ± 12.7 ^b	76.0 ± 16.7 ^a	12.0 ± 12.7 ^b
Annual frequency of antibiotic treatments of herds				
Occasional	25	4.0 ± 7.7 ^b	8.0 ± 10.6 ^b	88.0 ± 12.7 ^a
Twice	15	0.0 ± 0.0 ^b	80.0 ± 20.2 ^a	20.0 ± 20.2 ^b
Three times	30	3.3 ± 6.4 ^b	93.3 ± 8.9 ^a	3.3 ± 6.4 ^b
More than three times	28	75.0 ± 16.0 ^a	25.0 ± 16.0 ^b	0.0 ± 0.0 ^c
Objective of treatment				
Curative therapy	87	21.8 ± 8.7 ^b	49.4 ± 10.5 ^a	28.7 ± 9.5 ^b
Curative and preventive therapy	11	36.4 ± 28.4 ^{ab}	54.5 ± 29.4 ^a	9.1 ± 17.0 ^b
Sources of antibiotics				
Local market	57	24.6 ± 11.2 ^b	42.1 ± 12.8 ^a	33.3 ± 12.2 ^{ab}
Veterinarian	24	4.2 ± 8.0 ^c	66.7 ± 18.9 ^a	29.2 ± 18.2 ^b
Veterinary pharmacy	17	47.1 ± 23.7 ^a	52.9 ± 23.7 ^a	0.0 ± 0.0 ^b
Advice sources before purchasing of antibiotics				
No advise	22	4.5 ± 8.7 ^b	13.6 ± 14.3 ^b	81.8 ± 16.1 ^a
Veterinarian	37	2.7 ± 5.2 ^b	89.2 ± 10.0 ^a	8.1 ± 8.8 ^b
Product sellers	7	71.4 ± 33.5 ^a	0.0 ± 0.0 ^b	28.6 ± 33.5 ^{ab}
Fellow breeders	32	50.0 ± 17.3 ^a	40.6 ± 17.0 ^a	9.4 ± 10.1 ^b
Advice sources before injection antibiotics to animals				
No advise	24	12.5 ± 13.2 ^b	4.2 ± 8.0 ^b	83.3 ± 14.9 ^a
Veterinarian	34	0.0 ± 0.0 ^b	97.1 ± 5.7 ^a	2.9 ± 5.7 ^b
Product sellers	5	100.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^b	0.0 ± 0.0 ^b
Fellow breeders	35	42.9 ± 16.4 ^a	42.9 ± 16.4 ^a	14.3 ± 11.6 ^b
First attitude toward a diseased animal				
Veterinarian calling	42	21.4 ± 12.4 ^b	47.6 ± 15.1 ^a	31.0 ± 14.0 ^{ab}
Self-medication	56	25.0 ± 11.3 ^b	51.8 ± 13.1 ^a	23.2 ± 11.1 ^b
Principal responsible veterinary treatments				
Breeder	75	29.3 ± 10.3 ^b	50.7 ± 11.3 ^a	20.0 ± 9.1 ^b
Veterinarian	18	0.0 ± 0.0 ^b	50.0 ± 23.1 ^a	50.0 ± 23.1 ^a
Breeder's family member or friend	5	20.0 ± 35.1 ^a	40.0 ± 42.9 ^a	40.0 ± 42.9 ^a
Estimating of cattle weight before veterinary treatment				
No	76	30.3 ± 10.3 ^b	50.0 ± 11.2 ^a	19.7 ± 8.9 ^b
Yes	12	0.0 ± 0.0 ^b	50.0 ± 28.3 ^a	50.0 ± 28.3 ^a
Yes sometimes	10	0.0 ± 0.0 ^b	50.0 ± 31.0 ^a	50.0 ± 31.0 ^a
Management of empty bottles after treatment				
No disposal precaution	86	20.9 ± 8.6 ^b	53.5 ± 10.5 ^a	25.6 ± 9.2 ^b

Table 10 (continued)

Variables/modalities	Breeder number (<i>n</i> = 98)	Proportions of breeder distribution in clusters (% ± CI)		
		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Burn	5	0.0 ± 0.0 ^b	20.0 ± 35.1 ^b	80.0 ± 35.1 ^a
Recycle for use	7	71.4 ± 33.5 ^a	28.6 ± 33.5 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^b
Respect of the antibiotics withdrawal times				
No	91	25.3 ± 8.9 ^b	47.3 ± 10.3 ^a	27.5 ± 9.2 ^b
Yes	7	0.0 ± 0.0 ^b	85.7 ± 25.9 ^a	14.3 ± 25.9 ^b
Total	98	23.5 ± 8.4 ^b	50.0 ± 9.9 ^a	26.5 ± 8.7 ^b

Letters a, b, and c were used to notify significant difference between proportions of modalities about in clusters

CI, confidence interval at 95%

Table 11 Distribution of breeders in the three classes according to the most relevant modalities (percentage of modalities compared to the breeder number in each cluster)

Modalities	Proportions of modalities in clusters (% ± CI)		
	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Specific modalities			
District: Banikoara	100.0 ± 0.0 ^a	4.1 ± 5.5 ^b	0.0 ± 0.0 ^b
Estimating of cattle weight before veterinary treatment: no	100.0 ± 0.0 ^a	77.6 ± 11.7 ^b	57.7 ± 19.0 ^b
Principal responsible of veterinary treatments: breeder	95.7 ± 8.3 ^a	77.6 ± 11.7 ^b	57.7 ± 19.0 ^b
Annual frequency of veterinary treatment of herds: more than three times	91.3 ± 11.5 ^a	14.3 ± 9.8 ^b	0.0 ± 0.0 ^c
Advice sources before purchasing antibiotics: fellow breeders	69.6 ± 18.8 ^a	26.5 ± 12.4 ^b	11.5 ± 12.3 ^b
Advice sources before injection antibiotics to animals: fellow breeders	65.2 ± 19.5 ^a	30.6 ± 12.9 ^b	19.2 ± 15.1 ^b
Advice sources before purchasing antibiotics: veterinarian	4.3 ± 8.3 ^b	67.3 ± 13.1 ^a	11.5 ± 12.3 ^b
Advice sources before injection antibiotics to animals: veterinarian	0.0 ± 0.0 ^b	67.3 ± 13.1 ^a	3.8 ± 7.4 ^b
Annual frequency of veterinary treatment of herds: three times	4.3 ± 8.3 ^b	57.1 ± 13.9 ^a	3.8 ± 7.4 ^b
District: Kandi	0.0 ± 0.0 ^b	51.0 ± 14.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^b
District: Kalale	0.0 ± 0.0 ^b	42.9 ± 13.9 ^a	7.7 ± 10.2 ^b
Local language literate: yes	13.0 ± 13.8 ^b	38.8 ± 13.6 ^a	11.5 ± 12.3 ^b
District: Bembereke	0.0 ± 0.0 ^b	2.0 ± 4.0 ^b	92.3 ± 10.2 ^a
Annual frequency of veterinary treatment of herds: occasional	4.3 ± 8.3 ^b	4.1 ± 5.5 ^b	84.6 ± 13.9 ^a
Advice sources before injection antibiotics to animals: no advise	13.0 ± 13.8 ^b	2.0 ± 4.0 ^b	76.9 ± 16.2 ^a
Advice sources before purchasing antibiotics: no advise	4.3 ± 8.3 ^b	6.1 ± 6.7 ^b	69.2 ± 17.7 ^a
Common modalities			
Instruction level: no formal education	100.0 ± 0.0 ^a	93.9 ± 6.7 ^a	100.0 ± 0.0 ^a
Respect of the antibiotics withdrawal times: no	100.0 ± 0.0 ^a	87.8 ± 9.2 ^b	96.2 ± 7.4 ^{ab}
Local language literate: no	87.0 ± 13.8 ^a	61.2 ± 13.6 ^b	88.5 ± 12.3 ^a
Objective of treatment: curative therapy	82.6 ± 15.5 ^a	87.8 ± 9.2 ^a	96.2 ± 7.4 ^a
Management of empty bottles after treatment: no disposal precaution	78.3 ± 16.9 ^a	93.9 ± 6.7 ^a	84.6 ± 13.9 ^a
Source of antibiotic purchase: local livestock market	60.9 ± 19.9 ^{ab}	49.0 ± 14.0 ^b	73.1 ± 17.0 ^a
First attitude toward a diseased animal: self-medication	60.9 ± 19.9 ^a	59.2 ± 13.8 ^a	50.0 ± 19.2 ^a
First attitude toward a diseased animal: veterinarian calling	39.1 ± 19.9 ^a	40.8 ± 13.8 ^a	50.0 ± 19.2 ^a
Source of antibiotic purchase: veterinary pharmacy	34.8 ± 19.5 ^a	18.4 ± 10.8 ^a	0.0 ± 0.0 ^b
Annual frequency of veterinary treatment of herds: twice	0.0 ± 0.0 ^b	24.5 ± 12.0 ^a	11.5 ± 12.3 ^{ab}
Principal responsible of veterinary treatments: veterinarian	0.0 ± 0.0 ^b	18.4 ± 10.8 ^a	34.6 ± 18.3 ^a

Letters a, b, and c were used to notify significant difference between proportions of modalities about in clusters

CI, confidence interval at 95%

education. This confirms the results of Youssao et al. (2013) who reached the same conclusions in characterizing *Borgou* breed farmers in North Benin. Cattle acquisition mode for composing the herds was mainly the legacy ($54.1 \pm 9.9\%$ of herds), which would justify the low percentage of surveyed breeders under 30 years old. As pointed by Mensah et al. (2014a), cattle counting is not accepted in Fulani environment. Bovine count was then here limited to class headcount estimated by the breeders. The modal class was that with headcount between 25 and 50 bovines. The presence of a factory of cotton ginning in Banikoara and Kandi justified the use of cotton oil cake as supplement feed for cattle in these districts.

Tetracyclines (TCs) were the main antibiotics used in the study area. In addition to TCs, sulfonamides, beta-lactams, and macrolides, which were also used by cattle breeders in Center Benin (Mensah et al. 2014a), aminoglycosides were shown in this study to be used in cattle farming in North-East Benin. These same antibiotics were used in other African countries such as Burkina Faso (Samandoulougou et al. 2016) and Tanzania (Caudell et al. 2017).

The use of antibiotics for therapeutic purposes was common to all surveyed breeders who used these drugs for the healing of multiple diseases. These were mainly (in order of decreasing importance) respiratory diseases, neonatal enteritis, feet diseases, mastitis, and omphalitis. These syndromes were also the main motivations for antibiotic use in cattle breeding in Center Benin (Mensah et al. 2014a). Except macrolides (tylosin), all antibiotic drugs intervened in the treatment of mastitis. The control of these diseases by the use of antibiotic drugs helped producing bovine milk and meat in order to satisfy human food need. Therefore, the use of veterinary antibiotic drugs contributed to food security.

As the dominant antimicrobial, oxytetracycline (OTC) was the most used by all breeders against each of the above diseases. Penicillin G was the second antibiotic used by breeders against feet pathologies and omphalitis. Tylosin (macrolides) was the least used antibiotic in the treatment of diseases, except respiratory diseases for which it was the third. A study of Mensah et al. (2014a) confirmed the same rank in rates of use of TCs and beta-lactams employed by 89 and 34% of breeders respectively; in Center Benin, contrary to the present study, sulfonamides were least used antibiotic (6% of breeders) after macrolides (12%).

The use of OTC by all the surveyed breeders can be justified by its broad-spectrum action against gram-negative and gram-positive bacteria and also against other pathogens that are not sensitive to other antibiotics (Griffin et al. 2011). This is also testified by its predominance in the composition of the veterinary drugs sold in the study area. Likewise, OTC was by far the most common antimicrobial used in livestock in Burkina Faso (Samandoulougou et al. 2016) and in North Tanzania (Caudell et al. 2017). In addition, tetracyclines are

highly predominant veterinary antibiotics in Africa, and represent 41% of all antibiotic drugs, followed by β -lactams at 18% (Darwish et al. 2013).

The dominance of local cattle markets as sources of antibiotic purchase ($58.2 \pm 9.8\%$ of breeders) was also observed in Center Benin where this source provided veterinary drugs to 57% of cattle breeders (Mensah et al. 2014a). All pharmaceuticals found in veterinary pharmacies were also present in the local market, but $59.0 \pm 15.4\%$ of these drugs were only found in local cattle markets according to breeders (Table 6). This shows that both veterinary pharmacies and the smuggling from various uncontrolled sources supplied local cattle markets. This requires to be deepened by early survey in further study of veterinary drugs sold in the local cattle markets. Despite the existence of laws regulating importation and distribution of drugs for veterinary use in Benin (PR 2014; MDR 1998), local markets as illegal sources hold a very important share of the veterinary antibiotic trade. This is justified by the insufficient number of veterinary pharmacies in the surveyed districts. In fact, many districts of the study area had a limited number (one, two, or three) of veterinary pharmacies, usually installed in the administrative centers of the district. Thus, several breeders had a difficult access to recommended antibiotics. In addition, smuggled drugs in local cattle markets is a potential driver for the practices linked to antibiotic use as described in the study area. These previous reasons reinforce the local cattle markets as important sources of veterinary antibiotics.

The typology of the cattle breeders in North-East Benin as described in this study is similar to that established in Center Benin where breeders were ranked in low-, medium-, and high-risk groups (Mensah et al. 2014a). Despite their easy access to pharmaceutical deposits in the survey villages (Founougo and Goumori villages), the practices of antibiotic use were not adequate in Banikoara district according to the description of cluster 1. So, Banikoara is the district harboring the largest cattle population in Benin. The high number of breeders together with the limited number of veterinary officers justifies the high-risk practices observed in this district. Thus, the unavailability of veterinarians to cover all breeders is to develop illegal practices of drug use. Cluster 2 counted most of breeders. It differs from the other classes by the intervention of veterinary for the advice especially. However, it is important to recall that none of the three classes displays the minimum conditions for ensuring food safety. In fact, breeder behaviors in these classes could cause contamination of cattle milk and meat by antibiotic residues because of some common practices (such as the lack of observance of post-treatment withdrawal periods, the purchase of antibiotic drugs on illegal markets, the practice of self-medication as a first reaction, and breeders being in charge of veterinary treatments) were observed in the three breeder groups (Tables 2 and 11).

Outside the use of antibiotics for therapeutic purposes (prophylaxis, metaphylaxis, and treatment) in order to control bacterial diseases, these drugs are also used as growth promoter and for the management of some non-bacterial illnesses among animals (Page and Gautier 2012). This is the case of some surveyed breeders who used antibiotics against skin diseases, of which listed syndromes were similar to viral disease (contagious nodular dermatitis) and fungal illness (dermatophytosis). The high proportion of breeders who mainly were illiterate ($74.5 \pm 8.6\%$) and not formally educated ($96.9 \pm 3.4\%$) favored this situation. These breeders ignored medication dosage and used antibiotic drugs for improper purposes. Several studies proved inappropriate use of antibiotics against viral illnesses such as foot and mouth disease among ruminants in Tanzania (Caudell et al. 2017), Gumboro and Newcastle disease among poultry in Ghana (Boamah et al. 2016), and epidemic of PRRS (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome) among pigs in Vietnam (Pham Kim et al. 2013).

In addition to these bad practices in the veterinary sector of Benin and several other African countries (Eltayb et al. 2012; Mensah et al. 2014a; Boamah et al. 2016; Caudell et al. 2017), a shift in farming practices toward intensive farming systems where antimicrobials are used routinely in subtherapeutic doses for disease prevention and growth promotion increase the use of antibiotics in livestock (Van Boeckel et al. 2015).

The widespread use of antimicrobials in livestock under current conditions characterized by poor practices described in this study can have several consequences for organisms and environment. The direct impact is the contamination of environment and food chain (milk and meat from cattle bred in the study area) by antibiotic residues, which reinforce the spread of drug-resistant pathogens in both livestock and humans (Tang et al. 2017; Kumar and Gupta 2018). Therefore, the potential impact with poor use of antibiotics is the development of antimicrobial resistance (AMR) in the environment and organisms. Although direct causality is difficult to establish because of the ecological nature of antibiotic selection pressure, Vieira and co-workers (2011) showed a close association between the prevalence of livestock-associated antibiotic-resistant bacteria (ARBs) in animals and in humans. In addition, a strong correlation between consumption levels for eight classes of antimicrobials and the prevalence of AMR commensal *Escherichia coli* in pigs, poultry, and cattle was established in seven European countries (Chantziaras et al. 2014). Moreover, the development of AMR can be favored in the study area by (i) the early release for consumption of milk and meat from recently treated cattle, hence not respecting post-treatment withdrawal periods; (ii) the lack of disposal precaution for the management of the empty bottles that could contribute to the presence of antibiotic residues in natural ecosystems (Pham Kim et al. 2015); and (iii) the absence of regulation setting and controlling maximum residue limits

(MRL) for antibiotics in food in Benin (Mensah et al. 2011). This could contribute to the emergence of ARBs in both livestock and humans in North-East Benin and could pose a significant public health threat such as failure of antibiotic-therapy through this area.

In conclusion, the observed practices in the purchase and use of the antibiotic drugs for the cattle farming in North-East Benin appear as a public health issue. Thus, it is necessary to study the modalities of the restructuring of the distribution chain of veterinary drugs in Benin. This could call for an assessment of the expected impact of a minimal regulation of antibiotic use in this country. However, the reinforcement of the breeding legislation and its observance among breeders are essential for the well-being of animals and animal food consumers. It is also necessary to assess the impact of the present practices on the food chain by evaluating the contamination level of antibiotic residues in animal foods in the study area, as well as the prevalence of resistance among bacteria in animals and animal products.

Acknowledgements The authors are grateful to the cattle breeders, traders of veterinary drugs, rural development officers of Communal Sectors for the Agricultural Development of the study area, and speaker translators for their respective interests in the investigation.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Abdi, H. and Valentin, D., 2007. Multiple correspondence analysis. In: Neil Salkind (Ed.). Encyclopedia of measurement and statistics
- ANOPER (Association Nationale des Organisations Professionnelles des Eleveurs de Ruminants au Bénin), 2014. La situation actuelle de l'élevage et des éleveurs de ruminants au Bénin : Analyse et perspective, (Rapport non publié, République du Bénin)
- Boamah, V.E., Agyare, C., Odoi, H. and Dalsgaard, A., 2016. Practices and factors influencing the use of antibiotics in selected poultry farms in Ghana. *Journal of Antimicrobial Agents*, 2, 120. doi: <https://doi.org/10.4172/2472-1212.1000120>
- Caudell, M.A., Quinlan, M.B., Subbiah, M., Call, D.R., Roulette, C.J., Roulette, J.W., Roth, A., Matthews, L. and Quinlan, R.J., 2017. Antimicrobial use and veterinary care among agro-pastoralists in Northern Tanzania. *PLoS ONE*, 12(1), e0170328. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170328>
- Chantziaras, I., Boyen, F., Callens, B., Dewulf, J., 2014. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(3):827–834
- CountryStat/Benin, 2015. Base de données statistiques. Disponible en ligne <http://countrystat.org/home.aspx?c=BENetta=053CPD050ettr=7> (Consulté le 11 décembre 2015).
- Darwish, W.S., Eldaly, E.A., El-Abbasy, M.T., Ikenaka, Y., Nakayama, S. and Ishizuka M., 2013. Antibiotic residues in food: the African scenario. *Japanese Journal of Veterinary Research* 61(Supplement), S13-S22.

- DE (Direction de l'Élevage), 2016. Rapport annuel 2015, (Rapport d'activité non publié, République du Bénin)
- Eltayb, A., Barakat, S., Marrone, G., Shaddad, S., Stalsby Lundborg, C., 2012. Antibiotic use and resistance in animal farming: A quantitative and qualitative study on knowledge and practices among breeders in Khartoum, Sudan, *Zoonoses Public Health*, 59, 330–338. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01458>.
- Griffin, M.O., Ceballos, G. and Villarreal, F.J., 2011. Tetracycline compounds with non-antimicrobial organ protective properties: possible mechanisms of action, *Pharmacological Research*, 63, 102–107
- Husson, F., Josse, J., Le, S. and Mazet, J., 2017. Multivariate exploratory data analysis and data mining: package 'FactoMineR'. 96 p. Available online <http://mirror.its.sfu.ca/mirror/CRAN/web/packages/FactoMineR/FactoMineR.pdf>. Accessed 10 March 2017 (Accessed 13 March 2018)
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique), 2015. RGPH 4 : Que retenir des effectifs de population en 2013 ?, (Rapport de recensement non publié, République du Bénin)
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique), 2016a. Cahier des villages et quartiers de ville, Département de l'Alibori (RGPH-4, 2013), (Rapport de recensement non publié, République du Bénin)
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique), 2016b. Cahier des villages et quartiers de ville, Département du Borgou (RGPH-4, 2013), (Rapport de recensement non publié, République du Bénin)
- Krejcie, R.V. and Morgan, D.W., 1970. Determining sample size for research activities, *Educational and Psychological Measurement*, 30, 607–610
- Kumar, V. and Gupta, J., 2018. Prevailing practices in the use of antibiotics by dairy farmers in Eastern Haryana region of India, *Veterinary World*, 11(3), 274–280
- MDR (Ministère du Développement Rural), 1998. Ministère de la Santé Publique, Ministère des Finances, Ministère du Commerce, de l'Artisanat et du Tourisme. Arrêté Interministériel, année 1998, N°425/MDR/MSP/MF/MCAT/DC/SG/CC/CP portant réglementation de l'importation des médicaments vétérinaires, Vaccins vétérinaires et produits médicamenteux à usage vétérinaire, (Arrêté non publié, République du Bénin)
- Mensah, S.E.P., Ahissou, H.Y., Koudandé, O.D., Salifou, S., Mensah, G.A. and Abiola, F.A., 2011. Detection of antibiotics residues in meat of reformed and marketed laying hens in southern Benin, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5, 2195–2204
- Mensah, S.E.P., Laurentie, M., Salifou, S., Sanders, P., Mensah, G.A., Abiola, F.A. et Koudandé, O.D., 2014a. Usage des antibiotiques par les éleveurs au Centre du Bénin, quels risques pour la santé publique ?, *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*, 75, 1–16
- Mensah, S.E.P., Koudandé, O.D., Sanders, P., Laurentie, M., Mensah, G.A. et Abiola FA. 2014b. Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : risques de santé publique, *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 33, 975–986
- Page, S.W. and Gautier, P., 2012. Use of antimicrobial agents in livestock, *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 31 (1), 145–188
- Pham Kim, D., Degand, G., Douny, C., Pierret, G., Delahaut, P., Ton, V.D., Granier, B. and Scippo, M-L., 2013. Preliminary evaluation of antimicrobial residue levels in marketed pork and chicken meat in the Red River Delta Region of Vietnam, *Food and Public Health*, 3, 267–276, DOI: <https://doi.org/10.5923/j.fph.20130306.02>
- Pham Kim, D., Chu, J., Do, N.T., Brose, F., Degand, G., Delahaut, P., De Pauw, E., Douny, C., Nguyen, K.V., Vu, T.D., Scippo, M-L. and Wertheim, H.F.L., 2015. Monitoring antibiotic use and residue in freshwater aquaculture for domestic use in Vietnam, *Ecohealth*, 12, 480–489, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10393-014-1006-z>
- PR (Présidence de la République), 2014. Décret N°2014-352 du 02 juin 2014 portant régime des médicaments vétérinaires en République du Bénin, (Décret non publié, République du Bénin)
- Samandoulougou, S., Ilboudo, A.J., Sanon/Ouedraogo, G., Tindano, K., Compaore, H., Ouedraogo, A., Savadogo, A. and Traore, A.S., 2016. Utilisation de médicaments vétérinaires en production bovine et aviaire et sécurité sanitaire des aliments d'origine animale au Burkina Faso, *The International Journal of Multi-disciplinary Sciences*, 4, 50–79
- Tang, K.L., Caffrey, N.P., Nóbrega, D.B., Cork, S.C., Ronksley, P.E., Barkema, H.W., Polachek, A.J., Ganshorn, H., Sharma, N., Kellner, J.D. and Ghali, W.A., 2017. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis, *Lancet Planet Health*, 1, e316–27
- The World Bank, 2016. World development indicators: structure of output. Available online <http://wdi.worldbank.org/table/4.2> (Accessed 11 Jul 2017)
- Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., Teillant, A. and Laxminarayan R., 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), 5649–5654
- Vieira, A.R., Collignon, P., Aarestrup, F.M., McEwen, S.A., Hendriksen, R.S., Hald, T. and Wegener, H.C., 2011. Association between antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from food animals and blood stream isolates from humans in Europe: an ecological study, *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(12), 1295–1301
- Youssao, A.K.I., 2015. Programme National d'Amélioration Génétique. Projet d'Appui aux Filières Lait et Viande (PAFILAV), (Rapport de consultation non publié, Cotonou au Bénin)
- Youssao, A.K.I., Koutinhouin, G.B., Kpodekon, T.M., Agnandjo, H., Toure, Z. et Ahissou, A., 2009. Influence d'une sélection phénotypique sur les performances de croissance et les caractères de développements musculaire et squelettique de jeunes bovins de race Borgou à la Ferme d'Élevage de l'Okpara (Bénin), *Annales de Médecine Vétérinaire*, 153, 105–111
- Youssao, A.K.I., Dahouda, M., Attakpa, E.Y., Koutinhouin, G.B., Ahounou, G.S., Toleba, S.S. et Balogoun, B.S., 2013. Diversité des systèmes d'élevages de bovins de race bovine Borgou dans la zone soudanienne du Bénin, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7, 125–146

Erratum concernant l'article Dognon *et al.* (2018a)

Table 3.1: Erratum about “Dognon *et al.* (2018a) The use of antibiotics in cattle in North-East Benin: pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders. Tropical Animal Health and Production, 50(7): 1683-1699. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1612-9>”

Thesis page	Paper page	Title of the paragraph	Initial content	Correction
92	1687	Data analysis	$CI = 1.96 * \sqrt{p(100 - p)/n}$	$CI = 1.96 * \sqrt{p(100 - p)/n}$
95	1690	Reasons of antibiotic use	... Others syndromes were skin diseases...	... Other syndromes were skin diseases...
97	1692	Fig. 2	Proportion of breeders according to the antibiotics used against the claimed diseases. <i>T</i> tetracyclines, <i>B-L</i> beta-lactams, <i>S</i> sulfonamides, <i>M</i> macrolides, <i>A</i> aminoglycosides, <i>Feet diseases lameness. See Table 1 for the meaning of variable codes</i>	Proportion of breeders according to the antibiotics used against the claimed diseases. <i>T</i> tetracyclines, <i>B-L</i> beta-lactams, <i>S</i> sulfonamides, <i>M</i> macrolides, <i>A</i> aminoglycosides

Chapitre 3 : Etude 2

Le « New Two Plates Test » modifié pour détecter les résidus d'antibiotiques du groupe des tétracyclines, bêta-lactames et sulfamidés dans le rein et le muscle de bovins abattus dans le Nord-Est du Bénin

3.2. Etude 2: Le « New Two Plates Test » modifié pour détecter les résidus d'antibiotiques du groupe des tétracyclines, bêta-lactames et sulfamidés dans le rein et le muscle de bovins abattus dans le Nord-Est du Bénin

L'utilisation des antibiotiques vétérinaires a amélioré les performances de production des animaux. Utilisés dans certaines conditions, ces médicaments se retrouvent en tant que résidus dans les aliments d'origine animale. Les antibiotiques vétérinaires étant des mêmes familles que ceux utilisés en médecine humaine, leur présence dans la chaîne alimentaire peut conduire à des cas de réactions allergiques chez le consommateur. La préoccupation majeure est cependant la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques.

La présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments préoccupe la communauté scientifique depuis plusieurs décennies. Malgré ce défi international, les premières études qui se sont intéressées aux résidus d'antibiotiques vétérinaires dans les denrées alimentaires au Bénin n'ont été réalisées que récemment (Mensah *et al.*, 2011 ; 2014c). Limités au sud et au centre du Bénin, ces travaux ont porté sur des dépistages préliminaires de résidus d'antibiotiques dans la viande de volaille et le lait de vache. En ce qui concerne la viande bovine massivement produite au Nord du pays et qui occupe 57 % des viandes consommées localement (CountryStat, 2015), aucune donnée pertinente relative à sa qualité sanitaire n'était disponible. Or, les travaux de la première étude de cette thèse ont révélé l'utilisation abusive d'antibiotiques vétérinaires par les éleveurs de bovins du Nord-Est du Bénin. La présente étude a donc pour but d'évaluer le niveau de contamination des viandes bovines produites dans cette région par les résidus d'antibiotiques.

Pour atteindre ce but, la méthode de screening appelée “*New Two Plates Test*” (NTPT) de Pham Kim *et al.* (2011) a été modifiée pour réaliser un dépistage (ou screening) semi-quantitatif, dans le rein et le muscle de 50 carcasses bovines (prélevées dans la ville de Parakou au Nord-Est du Bénin), des résidus de tétracyclines, bêta-lactames et sulfamidés qui sont les familles d'antibiotiques les plus utilisées dans la zone d'étude (Dognon *et al.*, 2018a). Après ce screening, les échantillons de rein et de muscle de 13 des 50 carcasses bovines ont été soumis à une analyse de confirmation par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (CL-SM) pour les résidus de tétracyclines et de sulfamidés.

Les analyses de screening ont montré que la majorité des carcasses (60%) contenaient de résidus d'antibiotiques. Les molécules d'oxytétracycline, épi-oxytétracycline, tétracycline et épi-tétracycline et sulfaméthazine ont été confirmées dans 8 des 13 carcasses, dont 38 % étaient non-conformes car présentant des concentrations de résidus d'antibiotiques supérieures aux limites maximales de résidus appliquées dans la législation européenne. Ces résultats ont fait l'objet d'un article publié dans la revue “*Food Analytical Methods*”.

Chapitre 3 : Etude 2

The modified New Two Plates Test for detecting tetracycline, beta-lactam and sulfonamide antibiotic residues in kidney and muscle of cattle slaughtered in North-East Benin

Food Analytical methods (2018), 11(12): 3406-3416. DOI : <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1322-y>

S.R. Dognon^{1,2}, G. Degand¹, C. Douny^{*1}, P. Delahaut³, A. Igout⁴, M. Dahouda⁵, A. K. I. Youssao², M.L. Scippo¹

¹ Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, FARA-H-Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

² Department of Animal Production and Health, Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

³ Health Department, CER Groupe, Marloie, Belgium

⁴ Department of biomedical and preclinical sciences, Faculty of Medicine, University of Liège, Bât. B23 Quartier Hôpital, Avenue Hippocrate 13, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

⁵ Department of Animal Production, Faculty of Agronomic Science, University of Abomey-Calavi, 01 BP 526, Republic of Benin

*Corresponding author: Caroline Douny, e-mail: cdouny@uliege.be



The Modified New Two Plates Test for Detecting Tetracycline, Beta-Lactam, and Sulfonamide Antibiotic Residues in Kidney and Muscle of Cattle Slaughtered in North-East Benin

S. R. Dognon^{1,2} · G. Degand¹ · C. Douny¹ · P. Delahaut³ · A. Igout⁴ · M. Dahouda⁵ · A. K. I. Youssao² · M. L. Scippo¹

Received: 22 March 2018 / Accepted: 1 July 2018 / Published online: 7 July 2018
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2018

Abstract

In Benin, veterinary antibiotics are widely used for cattle breeding. This livestock contributes to 57% of the locally produced meat. The aim of this study was to assess the impact of the large use of antibiotics by determining the contamination level with antibiotic residues in bovine meat, in North Benin. Kidney and muscle samples taken from 50 bovine carcasses in the 2 main slaughterhouses of Parakou were analyzed for the presence of antibiotic residues by a screening method modified from the “New Two Plates Test” (NTPT), to identify tetracyclines, sulfonamides, and beta-lactam groups of antibiotics. Thirteen kidney and muscle samples were subjected to liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry analysis for the confirmation of tetracycline and sulfonamide residues. After modified NTPT screening, tetracycline residues were identified in 54% of cattle carcasses while beta-lactam and sulfonamide residues were present, respectively, in 2 and 6% of sampled animals. The LC-MS/MS analysis confirmed the presence in the kidney tissue of oxytetracycline, epi-oxytetracycline, tetracycline, and epi-tetracycline at maximum levels, respectively, of 1380, 350, 190, and 230 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Sulfamethazine residues were confirmed in one of cattle carcass at very high levels of 3900 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in kidney and 2220 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in muscle. Antibiotic residue levels were found above the maximum residue limit applied in the European legislation in 38% of the carcasses subjected to the LC-MS/MS analysis. These high levels of contamination with antibiotic residues are a potential threat for the health of consumers, and are of concern regarding the selection of antibiotic-resistant bacteria in animals and humans.

Keywords Screening · Cattle meat · Antibiotic residues · Benin

✉ C. Douny
cdouny@uliege.be

S. R. Dognon
robertdognon@yahoo.fr

P. Delahaut
p.delahaut@cergroupe.be

A. Igout
aigout@uliege.be

M. Dahouda
dahouda2605@hotmail.com

A. K. I. Youssao
iyoussao@yahoo.fr

M. L. Scippo
mlscippo@uliege.be

¹ Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, FARA-H-Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgium

² Department of Animal Production and Health, Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01BP, 2009 Cotonou, Benin

³ Health Department, CER Groupe, Marche-en-Famenne, Belgium

⁴ Department of Biomedical And Preclinical Sciences, Faculty of Medicine, University of Liège, Bât. B23 Quartier Hôpital, Avenue Hippocrate 13, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgium

⁵ Department of Animal Production, Faculty of Agronomic Science, University of Abomey-Calavi, 01BP, 526 Cotonou, Benin

Introduction

Many antibiotic groups such as tetracyclines, beta-lactams, aminoglycosides, sulfonamides, and macrolides are used worldwide in cattle breeding for therapeutic, prophylactic, and metaphylactic purposes (Sarmah et al. 2006; Van Boeckel et al. 2015), resulting in the possible presence of residues in tissues and food coming from treated animals, especially if withdrawal times are not respected (Darwish et al. 2013; Mensah et al. 2014). These antibiotic residues in food may have serious consequences on the health of consumers such as allergy or other general toxicity (Nisha 2008; Vishnuraj et al. 2016). Another negative consequence of this large use of antibiotics in food-producing animals is the emergence of resistant bacteria (Marshall and Levy 2011; Landers et al. 2012; Founou et al. 2016; Granados-Chinchilla and Rodríguez 2017). According to Mensah and co-workers (2014), in Benin, many antibiotics are used in food-producing animals, and particularly tetracyclines, beta-lactams, and sulfonamides. In addition, a study performed in 2011 showed that antibiotic residues were present in most of the milk samples collected in the center of the country (Mensah et al. 2011).

Screening methods developed to detect antibiotic residues in food from animal origin have the merit to be fast and cheap, accessible, and easy to use (Cháfer-Pericás et al. 2010). They vary according to the searched antibiotic groups and the matrix to be analyzed and can be more or less specific. They consist mainly as lateral flow assays using antibodies or receptors (Sajid et al. 2015; Ahmed et al. 2017), mainly developed for milk (Abouzied et al. 2012; Naik et al. 2017) and microbiological inhibition tests, mainly developed for food (Stead et al. 2004; Pikkemaat et al. 2009; Pham Kim et al. 2010, 2011). Emerging screening methods are based on biosensors and especially whole cells biosensors (Virolainen and Karp 2014; Chen et al. 2017; Gaudin, 2017; Majdinasab et al. 2017).

Microbiological inhibition assays are based on various bacterial strains, such as *Bacillus subtilis*, *B. stearothermophilus*, *B. cereus*, *Kocuria rhizophila*, *B. pumilus*, *Yersinia ruckeri*, *Escherichia coli*, *Streptococcus thermophilus*, or *Sarcina lutea* (Cháfer-Pericás et al. 2010; Virolainen and Karp 2014). To increase the sensitivity of the screening, some authors applied an extraction method to the analyzed matrices before applying these tests (Stead et al. 2004; Pham Kim et al. 2011).

Although these microbiological methods display broad spectra of antibiotic residues detection, most of them are not specific. A “New Two Plates Test” (NTPT), which was adapted from the Belgian Kidney Test (AM 1995), and which uses *B. subtilis* was developed (Pham Kim et al. 2010). The NTPT is not only a screening test but also allows the identification of antibiotic groups using specific chemical, such as sodium hydroxide, which decreases the sensitivity of *B. subtilis* to tetracyclines and increases its sensitivity to

(fluoro)quinolones; or para-aminobenzoic acid (PABA), which is a natural antagonist of sulfonamides. Beta-lactam residues identification was based on the pH of the culture medium.

The aim of this study was to develop a simple, cheap, and easy method for assessing the impact of the large use of antibiotics in cattle breeding in North Benin on the contamination level of bovine meat with antibiotic residues. For this purpose, the NTPT was adapted for the determination of residues of tetracyclines, beta-lactams, and sulfonamides, which are those mostly used by the cattle farmers in the studied area. Selected samples screened positive for tetracycline and sulfonamide residues were analyzed using a liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry confirmatory method.

Materials and Methods

Sample Collection

Parakou is the main town where cattle raised in the departments of Borgou and Alibori in North-East Benin are usually slaughtered. In November 2015, kidney and gluteal muscle samples were collected on the right half carcasses from 50 animals (including 15 males and 35 females) selected in the two main slaughterhouses of Parakou. Animals numbered 5, 11, 25, 33, and 41 showed recent and visible injection sites on the buttock. The purpose of the injections was not determined. Samples were kept with cold accumulator in ice-boxes during their transport from Parakou to the laboratory where they were stored at -20°C until analysis.

Chemicals

Antibiotic salts (penicillin G, tetracycline, chlortetracycline, oxytetracycline, sulfadimethoxine, sulfamethoxazole, sulfadiazine, sulfamethazine, sulfanilamide, and sulfaquinolaxin) and other chemicals such as trimethoprim (TMP), penicillinase, 4-aminobenzoic acid (PABA), glucose solution 45%, bovine serum albumin (BSA), and lysozyme were provided by Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Individual stock solutions (1 mg mL^{-1}), standard intermediate ($20\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$), and final antibiotic solutions ($0.05\text{--}4\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) were prepared in methanol. An exception was made for penicillin G, which was prepared in phosphate buffer (10 mM, pH 6) considering that methanol rapidly degrades penicillins into their corresponding penicilloic acid esters (Boison 1995). For sulfonamides, they were first dissolved in 100 μL of hydrochloric acid (HCl) 2 N before adding methanol.

PABA solutions 1 mg mL^{-1} and $20\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ were prepared in methanol and TMP 1 mg mL^{-1} was diluted in normal saline (NaCl, 0.9%) at final concentrations of 20 and $1\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Penicillinase was dissolved at 30 UI mL^{-1} in phosphate buffer

(10 mM pH 6) containing BSA 0.1%. Lysozyme standard solutions at 2 and 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ were prepared in water.

Sodium hydroxide of 0.1 N (0.4%) was prepared in water. All solutions were kept at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ excepted penicillin G and NaOH solutions which were kept at $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ and room temperature, respectively.

Culture Media and Strain

Test Agar pH 6 (Merck, Darmstadt, Germany) and Iso-Sensitest Broth pH 7.4 (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) were used as culture media for the growing of the *B. subtilis* (BGA) strain suspension (Merck, 10^7 spores mL^{-1}). Iso-Sensitest solid medium was prepared by adding 0.8% of Agar Bacteriological (Agar No.1, Oxoid) to the broth.

Culture media were sterilized at $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 45 min and cooled down to $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ before adding *B. subtilis* strain at 10^4 spores mL^{-1} . Glucose was added at a concentration of 0.6%. TMP ($20\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) was added to Iso-Sensitest medium to a final concentration of $0.03\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. After homogenization, 8 mL of culture medium were poured in each Petri dish of 9 cm of diameter. Dishes containing test agar culture medium at pH 6 were named “plate A” and the others containing Iso-Sensitest culture medium at pH 7.4 were named “plate B.” These plates were kept at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ for a maximum of 7 days, before use.

Sample Extraction

The extraction method was adapted from Stead and co-workers (2004) and Pham Kim and co-workers (2011). Five grams of meat sample were extracted with 5 mL of acetonitrile/acetone mixture (70/30, v/v). After vortexing for 5 min and centrifuging at 2750 g for 15 min, the supernatant was evaporated to dryness at $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ under a nitrogen flow. The dry extracts were dissolved in 300 μL of methanol and centrifuged again at 2750 g for 5 min. The supernatant was then used for the microbiological screening, for which 50 μL of this extract (containing the residues coming from 0.83 g of meat) were loaded per paper disc (see next section).

Microbiological Test and Results Interpretation

Sample extracts were poured on cellulose discs (Fiers, Kuurne, Belgium) of 12.7 mm diameter. Figure 1 shows the modified new two plate tests (mNTPT) format. Each disc d1 and d2 on plate A (pH 6), and d3 on plate B (pH 7.4) were loaded with 50 μL of sample extract. The disc d4 was loaded first with 100 μL of phosphate buffer 0.1 M pH 7.5 and was dried in an oven at $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 1 h before being loaded with 20 μL of TMP ($1\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) and 50 μL of the sample extract.

Discs d1 and d3 were placed on the left side of each plate. On plate A, disc d2 was juxtaposed with both the disc loaded with 50 μL of penicillinase 30 UI mL^{-1} (P) (on the upper side)

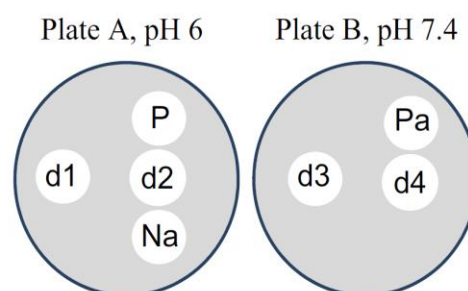


Fig. 1 Modified NTPT format. d1, d2, and d3: paper discs loaded with 50 μL of sample extract; d4: loaded with 100 μL of phosphate buffer (100 mM pH 7.5), dried at $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ before to be loaded with 20 μL of TMP ($1\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) and 50 μL of sample extract; P = 50 μL of penicillinase at 30 UI mL^{-1} in phosphate buffer (10 mM pH 6, 0.1% of BSA); Na = 50 μL of NaOH 0.1 N, 0.4%; Pa = 50 μL of PABA at $20\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Culture medium in plate B contained TMP at $0.03\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$

and that with 50 μL of NaOH 0.1 M (Na) (on the lower side). On plate B, disc d4 was juxtaposed to the disc loaded with 50 μL of PABA $20\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ (Pa) (on the upper side) (Fig. 1). As a compromise between time and performance, the two plates were then incubated at $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 16–18 h instead of 18–24 h. Reading plates was performed by measuring the radius of the inhibition zone (mm) around each disc using a caliper (Globaltronics and Co, KG, DE) allowing the measurement of widths as low as 0.1 mm.

Results were interpreted according to the width of the inhibition zone around each individual disc, and taking into account of the changes in the inhibition zone width around the identification discs. Discs loaded with NaOH (Na) and penicillinase (P) allow the identification of tetracycline and beta-lactam antibiotic residues, respectively (a decreased of the width of the inhibition zone is expected), while the inhibition zone caused by sulfonamide should be reduced by the PABA (Pa) disc (Table 1).

A sample was qualified as “suspected” to be *non-compliant* if the width of the inhib zone around one of the four discs (d1, d2, d3, or d4) was at least 2 mm (referring to the positivity threshold established in the Belgian kidney ²⁵).

In each series, quality control plates were performed as well. Discs d1 and d2 were loaded with 50 μL of tetracycline solution at a concentration of $20\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ($1\text{ }\mu\text{g}$ per disc) as positive control for plate A, while sulfadiazine (50 μL of a $20\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ solution added with 10 μL TMP $10\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) was loaded on discs d3 and d4, as positive control for plate B. For negative controls, d1, d2, d3, and d4 were loaded with 50 μL of methanol instead of sample extract.

Standard and Matrix-Matched Calibration Curves and Determination of the Minimal Inhibitory Quantities

Calibration curves were first performed using standard solutions, with antibiotic concentrations ranging from 25 to 200 ng

Table 1 Screening results interpretation

Plate A				Plate B			Conclusion (possible presence of)
Disc d1	Disc d2			Disc d3	Disc d4		
	<i>Free/S</i>	<i>P/S</i>	<i>Na/S</i>		<i>Free/S</i>	<i>Pa/S</i>	
–	–	–	–	–	–	–	Negative
+	+	– or ↓	+	+ or –	+ or –	+ or –	β-lactams
+	+	+	– or ↓	– or +	– or +	– or +	Tetracyclines
–	–	–	–	– or +	+ or ↑	– or ↓	Sulfonamides
–	–	–	–	+	+	+	Positive (Not identified)
+	+	+	+	–	–	–	Positive (Not identified)
+	+	+	+	+	+	+	Positive (Not identified)

Free/S free side of the disc, *P/S* side juxtaposed to the disc of penicillinase, *Na/S* side juxtaposed to the disc loaded with NaOH, *Pa/S* side juxtaposed to the disc loaded with PABA

–: no inhibition or radius of the inhibition zone is less than 2 mm

+: radius of the inhibition zone is equal to or more than 2 mm

↑: increase of the inhibition zone compared to others areas on the same plate

↓: decrease of the inhibition zone compared to others areas on the same plate

per 50 µL (i.e., per disc) for tetracyclines and sulfonamides (tested on plate A and plate B, respectively), and from 2.5 to 50 ng per 50 µL for penicillin G (tested on plate A). Calibrations curves were repeated four times. Linear regression ($y = a \cdot \ln(x) + b$) was established between the radius of the inhibition zones (mm), and the logarithm of the antibiotic concentration.

The minimum inhibitory quantity (MIQ) (i.e., the quantity of antibiotic per 50 µL able to produce an inhibition zone around the disc of at least 2 mm) was determined from the corresponding regression equation. For MIQ that were lower than the first calibration point (2.5 ng/disc for penicillin G and 25 ng/disc for tetracyclines and sulfonamides), standards at concentrations giving approximately the theoretical MIQ were prepared to verify this value by additional inhibition tests.

Matrix-matched calibration curves were established by spiking “blank” kidney and muscle samples coming from organic bovine meat sold on the Belgian market, which were first checked to not contain any antibiotic residue. Standard solutions of oxytetracycline (5 µg mL⁻¹), penicillin G (1 µg mL⁻¹), and sulfamethazine (5 µg mL⁻¹) were added to these blank samples to a final concentration of 0.5, 1, and 1.5 times the MRL. According to the European regulation (EC) No 37/2010, the MRL of penicillin G and sulfamethazine in both muscle and kidney are 50 and 100 µg kg⁻¹ respectively; for oxytetracycline, the MRL (for the sum of oxytetracycline and its 4-epimer metabolites) is 100 µg kg⁻¹ in muscle and 600 µg kg⁻¹ in kidney (EU 2010). After an overnight storage at +4 °C, spiked samples were subjected to the same extraction protocol as the real samples and analyzed using the modified NTPT as described above.

The MIQ were extrapolated from the calibration curves, when the MIQ was higher than the first point of the working range, or estimated from independent solution. MIQ were expressed in ng/disc.

The regression equations of these matrix-matched calibration curves were used to estimate the antibiotic residue concentration in real samples.

LC-MS/MS Determination of Tetracycline and Sulfonamide Residues in Bovine Muscle and Kidney

Kidney and muscle samples from 13 carcasses were subjected to liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) for the confirmation and the quantification of antibiotic residues. The method used has been developed and validated to analyze 16 sulfonamide, 8 tetracycline, and 2 trimethoprim compounds in bovine meat. These analyses were performed using the protocol described by Pham Kim and co-workers (2013).

Briefly, 5 g of tissue were spiked with methacycline (from Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany) used as internal standard. The sample was extracted with a mixture of 25 mL of succinate buffer 0.05 M pH 4 containing 20 mg of EDTA and 15 mL of hexane, to remove fat. The mixture was vortexed vigorously before centrifugation. Hexane was removed and the aqueous phase was transferred into a new tube. This extraction was reproduced a second time without hexane.

Both aqueous supernatants were pooled and loaded on a pre-conditioned solid-phase extraction column (OASIS hydrophobic lipophilic-balanced (HLB), 6 mL, 200 mg, Waters

Corp, Milford, MA, USA). Twenty milliliters of water/methanol (95/5, v/v) were used to wash the column which was defatted with 5 mL of hexane. The tetracycline and sulfonamide residues were eluted with 5 mL of methanol. The extract was evaporated to dryness at 45 °C under a flow of nitrogen. The dry residue was then dissolved in 1 mL of water/methanol (70/30, v/v).

The final separation and detection of antibiotic residues was performed by LC–MS/MS using a Quattro Ultima tandem mass spectrometer coupled to a HPLC 2690 separation module system and integrated autosampler (Micromass, Manchester, UK). The residues were analyzed with positive electrospray ionization (ESI) in multiple reaction monitoring (MRM) acquisition mode. For the chromatographic separation, a Sunfire C18 column (150 mm × 2.1 mm, 5.0 µm particle size) (Waters, Milford, MA, USA) was used.

Residue levels were determined using matrix-matched calibration curves established with concentrations ranging from 25 to 250 µg kg⁻¹.

Results

Calibration Curve and Determination of the Minimal Inhibitory Quantity in the Modified NTPT

Figure 2 shows the calibration curves for penicillin G, oxytetracycline, and sulfamethazine solutions while Table 2 shows the regression equation of each antibiotic calibration curve, with their minimal inhibitory quantity (MIQ). There was a linear positive relationship between the logarithm of the antibiotic concentration and the response.

Matrix-matched calibration curves are shown in Fig. 3. As it can be seen on Fig. 3, it was not possible to obtain inhibition zones larger than 2 mm for sulfamethazine.

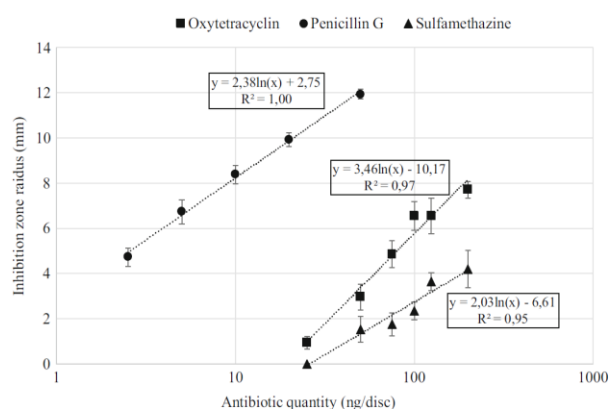


Fig. 2 Dose–response curves of antibiotic standard solution analyzed in the modified NTPT. Responses are expressed as the average inhibition zone radius (mm) from four replicates

Analysis of Bovine Muscle and Kidney Samples with the Modified NTPT

Kidney and muscle tissues were sampled from 50 bovine carcasses, in 2 slaughterhouses of North Benin. From these 50 bovine carcasses, 30 carcasses (i.e., 60%) showed a positive result in the modified NTPT and antibiotic residues were identified in 28 out of these 30 carcasses (Table 3). Twenty-six percent of the positive carcasses (13 animals) were from the slaughterhouse of Depot district and 34% (17 animals) were from the Central slaughterhouse of Parakou town.

Tetracycline (TC) residues were identified in 26 cattle carcasses (52% of the sampled carcasses), while beta-lactam and sulfonamide residues were present in only 1 and 3 carcasses, respectively (Table 3). The three carcasses suspected to contain sulfonamide residues (P1-01, P1-23, and P2-50) also showed a positive response for TC residues. In 13 carcasses, both kidney and muscle tissues were positive in the modified NTPT screening, while in 7 carcasses, only the kidney tissue was positive, and in 10 carcasses, it was only the muscle tissue (Table 3).

Table 3 also shows estimated concentrations calculated from the matrix-matched calibration curves, for samples showing an inhibition zone width of at least 2 mm. These concentrations are only indicative as in several cases, they correspond either to concentrations below the lower point of the matrix-matched calibration (i.e., 0.5 times the MRL) or to concentrations above the upper point of the matrix-matched calibration (i.e., 1.5 times the MRL).

Five of the 50 sampled carcasses displayed, a recent and visible injection point, from which one was screened negative (P1-5, data not shown), one was screened positive for beta-lactam residues (P1-11), 2 were screened positive for tetracycline residues in both muscle and kidney tissues (P1-25 and P2-41), and one was screened positive for tetracycline residues in muscle tissue only (P2-28).

In two female carcasses (P2-36, P2-42), a positive response was recorded in the modified NTPT screening, but it was not possible to identify the antibiotic residues. For one carcass, both kidney and muscle tissues gave a positive response while only the kidney tissue was positive for the second one. For both carcasses, the positive response was recorded on plate B only, but para-aminobenzoic acid was not able to reduce the positive response, indicating that the residues were not sulfonamides, neither tetracyclines or penicillin G, as no response was recorded on plate A (data not shown).

Results of Confirmatory Analysis of Tetracycline and Sulfonamide Residues by LC-MS/MS

From the 50 animals subjected to the screening, 13 (from which 11 were positive in the modified NPTP and 2 were negative) were selected for LC-MS/MS confirmatory analysis of antibiotic residues. The results obtained for the 26 samples

Table 2 Regression equations of standard antibiotic calibration curves and estimated or calculated minimal inhibitory quantities (MIQ)

Antibiotics	Range of conc. (ng/disc)	Range of inhibition zone radius (mm)	Regression equations	Coef. reg. (R^2)	MIQ (ng/disc)	MRL ^a ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	
						Kidney	Muscle
Tetracyclines							
Oxytetracycline	25–200	0.94–7.72	$y = 3.46\ln(x) - 10.17$	0.970	34 ^b	600	100
Chlortetracycline	25-200	7.81–13.20	$y = 2.77\ln(x) - 1.02$	0.961	$2.5 < \text{MIQ}^c < 5$	600	100
Tetracycline	25-200	2.20–8.87	$y = 3.33\ln(x) - 7.82$	0.983	20 ^b	600	100
Beta-lactams							
Penicillin G	2.5–50	4.73–11.95	$y = 2.38\ln(x) + 2.75$	0.997	$1 < \text{MIQ}^c < 2.5$	50	50
Sulfonamides							
Sulfadimethoxine	25–200	3.09–6.07	$y = 1.43\ln(x) - 1.55$	0.989	$10 < \text{MIQ}^c < 15$	100	100
Sulfamethoxazole	25-200	3.86–7.63	$y = 1.80\ln(x) - 1.95$	0.995	10 ^b	100	100
Sulfadiazine	25-200	2.65–6.80	$y = 1.89\ln(x) - 3.49$	0.980	$15 < \text{MIQ}^c < 20$	100	100
Sulfamethazine	25-200	0.00–4.19	$y = 2.03\ln(x) - 6.61$	0.950	70 ^b	100	100
Sulfanilamide	25-200	0.00–2.98	$y = 1.51\ln(x) - 4.69$	0.948	84 ^b	100	100
Sulfaquinoxalin	25-200	2.81–6.22	$y = 1.67\ln(x) - 2.53$	0.991	15 ^b	100	100

y average of inhibition zone radius (mm) ($n = 4$); x standard antibiotic concentration (ng/50 μL); MIQ minimal inhibitory quantity

^a MRL fixed by the regulation (EC) No 37/2010 (EU, 2010)

^b Calculated from the regression equation

^c Estimated from independent solutions

(13 samples of muscle tissue and 13 samples of kidney tissues) are shown in Table 4. Samples from both P1-16 and P2-47 animals, which did not inhibit *B. subtilis* growth in the modified NTPT, were found also compliant after LC-MS/MS analysis. From the 11 animals which were positive in the modified NTPT screening, 8 were confirmed to contain tetracycline residues, while no tetracycline or sulfonamide residues were detected in 3 of them (P1-01, P1-14, and P2-28). In one animal (P1-23), both tetracycline (mainly residues of oxytetracycline and its 4-epimers) and sulfonamide (residues of sulfamethazine) were detected in both muscle and kidney tissues. In the seven remaining animals containing tetracycline residues, the

main residues found were those of oxytetracycline in six cases, while tetracycline residues were mainly present in only one animal (P2-35) (Table 4). From the eight animals found to contain residues from the class of tetracyclines, five were confirmed to be *non-compliant* to European MRL (animals number P1-10, P1-23, P2-29, P2-31, and P2-41), while three were *compliant* (animals number P2-31, P2-49, and P2-50), because residue levels were below these MRL.

From the 11 carcasses suspected to contain tetracycline residues using the modified NTPT, in 5 cases (animals number P1-10, P1-23, P2-29, P2-35, and P2-41), both muscle and kidney tissues were positive. From these five animals, three were

Fig. 3 Matrix matched calibration curves in the modified NTPT. Responses are expressed as the average inhibition zone radius (mm) from three to six replicates

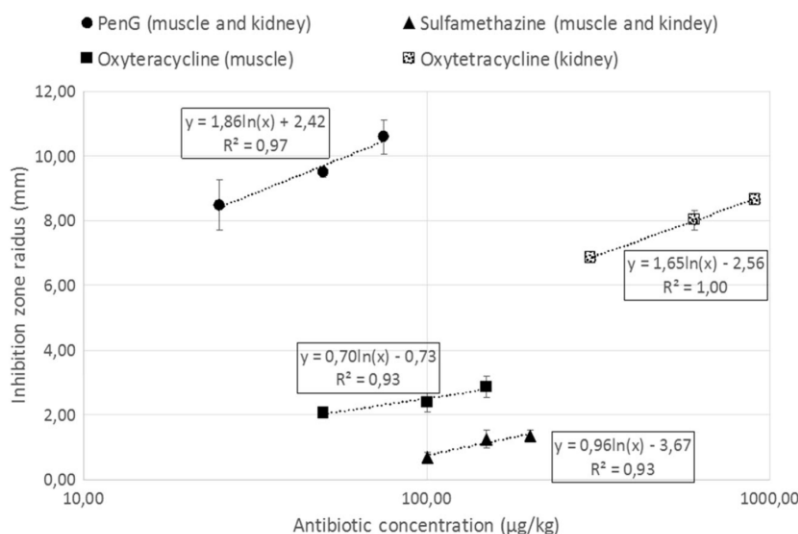


Table 3 Antibiotic residues identified in kidney and muscle tissues from 28 bovine carcasses using the modified NTPT screening method and their estimated concentration

Id. animal	Kidney			Muscle		
	Groups of identified antibiotics	MRL ^a (µg kg ⁻¹)	Estimated concentration (µg kg ⁻¹)	Groups of identified antibiotics	MRL ^a (µg kg ⁻¹)	Estimated concentration (µg kg ⁻¹)
P1-01 ^F	Sulfonamides	100	379	Tetracyclines	100	169
P1-03 ^F	None	–	–	Tetracyclines	100	49
P1-04 ^F	None	–	–	Tetracyclines	100	120
P1-06 ^F	Tetracyclines	600	39	Tetracyclines	100	53
P1-10 ^F	Tetracyclines	600	5350	Tetracyclines	100	305
P1-11 ^{F i}	Beta-lactams	50	10	Beta-lactams	50	1
P1-14 ^M	None	–	–	Tetracyclines	100	145
P1-15 ^F	None	–	–	Tetracyclines	100	23
P1-17 ^F	None	–	–	Tetracyclines	100	48
P1-18 ^F	Tetracyclines	600	587	Tetracyclines	100	71
P1-21 ^M	Tetracyclines	600	147	None	–	–
P1-23 ^M	Tetracyclines	600	1462	Tetracyclines	100	54
				Sulfonamides	100	3605
P1-25 ^{F i}	Tetracyclines	600	24	Tetracyclines	100	58
P2-28 ^F	None	–	–	Tetracyclines	100	231
P2-29 ^M	Tetracyclines	600	2397	Tetracyclines	100	90
P2-30 ^F	Tetracyclines	600	1007	Tetracyclines	100	63
P2-31 ^F	Tetracyclines	600	561	None	–	–
P2-33 ^{F i}	Tetracyclines	600	74	None	–	–
P2-34 ^F	None	–	–	Tetracyclines	100	51
P2-35 ^M	Tetracyclines	600	2066	Tetracyclines	100	57
P2-38 ^F	None	–	–	Tetracyclines	100	45
P2-39 ^M	None	–	–	Tetracyclines	100	53
P2-40 ^F	Tetracyclines	600	18	None	–	–
P2-41 ^{M i}	Tetracyclines	600	737	Tetracyclines	100	74
P2-43 ^M	Tetracyclines	600	32	None	–	–
P2-46 ^F	None	–	–	Tetracyclines	100	82
P2-49 ^F	Tetracyclines	600	374	None	–	–
P2-50 ^M	Sulfonamides	100	375	Tetracyclines	100	195

None: no inhibition zone or inhibition zone < 2 mm

From P1-01 to P1-25: samples collected in the slaughterhouse of Depot

From P2-26 to P2-50: samples collected in the central slaughterhouse of Parakou

M male, F female, i presence of recent and visible injection point on the carcass

^a MRL fixed by regulation 37/2010/EU (EU, 2010)

confirmed to be *non-compliant* for both muscle and kidney tissues by LC-MS/MS analysis, while one was confirmed to be *non-compliant* for kidney tissue only (animal number P2-41). One animal was not confirmed to be *non-compliant* (P2-35) and was thus a “false positive” of the screening (Table 4).

From the modified NTPT screening, four animals were suspected to be *non-compliant* for muscle only (animals number P1-01, P1-14, P2-28, and P2-50). In three of these four animals, no residues were detected by LC-MS/MS analysis,

neither in muscle tissue nor in kidney tissue, while in one case, low amounts of oxytetracycline residues (32 µg kg⁻¹) were found in kidney only (animal number P2-50). Finally, two animals were screened positive for kidney only (animals number P2-31 and P2-49), from which P2-31 was confirmed to be *non-compliant*, but for both kidney and muscle tissues, while P2-49 was not confirmed to be *non-compliant*, but contained oxytetracycline residues below the European MRL, in both kidney and muscle tissues (Table 4). Table 4 shows that in all animals

where tetracycline residues were evidenced, as expected, kidneys were containing more antibiotic residues than muscle.

From the three carcasses suspected to contain sulfonamide residues after the modified NTPT screening (P1-01, P1-23, and P2-50), only P1-23 was confirmed by LC-MS/MS analysis to contain high doses of sulfamethazine ($3900 \mu\text{g kg}^{-1}$ in kidney and $2220 \mu\text{g kg}^{-1}$ in muscle) (Table 4).

Discussion

Calibration Curve and MIQ in the Modified NTPT

The best coefficient of regression was obtained with penicillin G ($R^2 = 0.997$) while sulfanilamide and sulfamethazine gave the lowest coefficient of regression ($R^2 = 0.948$ and 0.950) (Table 2). Penicillin G showed the lowest MIQ (2.5 ng/disc), while the highest was obtained from sulfanilamide (84 ng/disc). Thus, *B. subtilis* is more sensitive to penicillin G in culture medium at pH 6 than to all other tested antibiotics (tetracyclines and sulfonamides).

Iso Sensitest culture medium pH 7.4 used in the modified NTPT is very sensitive to sulfonamides detection, as MIQ of sulfadimethoxin, sulfamethoxazole, and sulfadiazine were < 15 , 10 , and $< 20 \text{ ng/disc}$ respectively (Table 2). On the contrary, MIQ of these sulfonamides were 60 , 70 , and 75 ng/disc respectively in NTPT (Pham Kim et al. 2011), where standard II nutrient Agar medium was used for plates at pH 7.5, instead of Iso Sensitest in this study.

Because of the impossibility to obtain inhibition zones larger than 2 mm for sulfamethazine in spiked “blank” meat from organic bovine (Fig. 3), the modified NTPT is not able to detect samples at the MRL. Assuming that the dose-response relationship is linear above $150 \mu\text{g kg}^{-1}$ of sulfamethazine, a concentration of $375 \mu\text{g kg}^{-1}$ of sulfamethazine in muscle or kidney would be needed to declare the sample “positive” (i.e., inducing an inhibition zone $\geq 2 \text{ mm}$). The better regression coefficients are obtained for penicillin G in muscle and kidney ($R^2 = 0.97$) and for oxytetracycline in kidney ($R^2 = 1.00$). The regression is not so good for oxytetracycline in muscle with a R^2 of only 0.93 . Calculated minimal inhibitory concentrations interpolated from these regression equations would be $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ for penicillin G in muscle or kidney, and 49 and $16 \mu\text{g kg}^{-1}$ for oxytetracycline in muscle and kidney respectively.

Modified NTPT and LC-MS/MS Analysis

As antibiotics from the groups of aminoglycosides and macrolides are also able to inhibit *B. subtilis* growth (Pham Kim et al. 2011), the two carcasses contaminated by unidentified antibiotic residues (P2-36, P2-42) could contain aminoglycoside or macrolide residues.

The “false positive” result of the screening about animal P2-35 (Table 4) could be explained by the presence of other classes of antibiotics which are also able to inhibit *B. subtilis* growth, but which were not looked for in the LC-MS/MS analysis.

Interestingly, animal P2-41 displayed a recent and visible injection site on the carcass, which can explain the presence of antibiotic residues in both kidney and muscle tissues, with residue levels above MRL only in kidney tissue (Table 4).

Kidneys are organs of antibiotic metabolism and elimination in mammal (Oh and Han 2006). This explains the results shown in Table 4: in all animals where tetracycline residues were evidenced, kidneys were containing more antibiotic residues than muscles. This situation is similar to that observed in Tanzania, where the analysis of 20 bovine carcasses showed higher OTC levels in kidney than in muscle (Kimera et al. 2015).

In animal P1-23, the only one confirmed to contain high doses of sulfamethazine ($3900 \mu\text{g kg}^{-1}$ in kidney and $2220 \mu\text{g kg}^{-1}$ in muscle) (Table 4), these concentrations were 39 and 22 times the MRL for sulfonamides in meat ($100 \mu\text{g kg}^{-1}$), respectively (EU 2010). Despite this high level of sulfamethazine in both kidney and muscle tissues of P1-23, the modified NTPT did not detect its presence in the kidney but only in muscle. This carcass also showed high levels of tetracycline residues in the kidney, which probably masked the inhibitory activity of sulfonamides on *B. subtilis*.

In the same way, beta-lactam residues, if present in a sample, should have a predominant character on the inhibition activity of other antibiotics tested in this study, because of their very low MIC compared to the other classes of antibiotics. This indicates the complexity of simultaneous detection of residues from different antibiotic groups, by the modified NTPT, in case of multiple contaminations.

However, when looking to the correlation between tetracycline residues estimated concentrations in the modified NTPT and measured concentrations using LC-MS/MS, a coefficient of determination (R^2) of 0.85 is found in this study (data not shown). This situation is similar to the findings of De Wasch and co-workers (1998) who found correlation coefficients from 0.72 to 0.94 between the doxycycline doses quantified by LC-MS/MS and the areas of the inhibition zones caused by meat samples (pork and chicken) in microbiological screening.

The fact that more than half of the sampled carcasses were screened positive for tetracycline residues is not surprising, as Darwish and co-workers (2013) reported that tetracyclines were the most predominantly prescribed antibiotics in Africa. Indeed, OTC (the tetracycline antibiotic identified in most cases) is a broad-spectrum antibiotic used in cattle breeding and has effective action against many gram-negative and gram-positive bacteria (Griffin et al. 2011). For these reasons, OTC appeared the main antibiotic used by bovine farmers in

Table 4 Results of confirmatory analysis (LC-MS/MS) for tetracycline and sulfonamide residues ($\mu\text{g kg}^{-1}$) in muscle and kidney samples from 13 selected carcasses, comparison with the modified NTPT screening results and conclusion about the compliancy of the sample compared to EU MRL

Animal id.	Tissue	Residues of Tetracyclines							Residues of Sulfonamides		Conclusion
		LC-MS/MS						Modified NTPT	LC-MS/MS	Modified NTPT	
		OTC	4-epi-OTC	Sum	TC	4-epi-TC	Sum		Sulfamethazine		
P1-01	Kidney	nd	nd	–	nd	nd	–	C (nd)	nd	S (379)	C
	Muscle	nd	nd	–	nd	nd	–	S (169)	nd	C (nd)	C
P1-10	Kidney	1380	350	1730	19	22	41	S (5350)	nd	C (nd)	NC
	Muscle	270	165	435	6	nd	6	S (305)	nd	C (nd)	NC
P1-14	Kidney	nd	nd	–	nd	nd	–	C (nd)	nd	C (nd)	C
	Muscle	nd	nd	–	nd	nd	–	S (145)	nd	C (nd)	C
P1-16	Kidney	nd	nd	–	nd	nd	–	C (nd)	nd	C (nd)	C
	Muscle	nd	nd	–	nd	nd	–	C (nd)	nd	C (nd)	C
P1-23	Kidney	330	150	480	4	8	12	S (1492)	3900	C (nd)	NC
	Muscle	25	9	34	nd	nd	–	S (54)	2220	S (3615)	NC
P2-28	Kidney	nd	nd	–	nd	nd	–	C (nd)	nd	C (nd)	C
	Muscle	nd	nd	–	nd	nd	–	S (231)	nd	C (nd)	C
P2-29	Kidney	800	240	1040	5	nd	5	S (2397)	nd	C (nd)	NC
	Muscle	115	62	177	1	nd	1	S (90)	nd	C (nd)	NC
P2-31	Kidney	400	290	690	3	nd	3	S (561)	nd	C (nd)	NC
	Muscle	71	33	104	nd	nd	–	C (nd)	nd	C (nd)	NC
P2-35	Kidney	45	23	68	190	230	420	S (2066)	nd	C (nd)	C
	Muscle	6	nd	6	42	nd	42	S (57)	nd	C (nd)	C
P2-41	Kidney	400	320	720	3	nd	3	S (737)	nd	C (nd)	NC
	Muscle	32	13	45	nd	nd	–	S (74)	nd	C (nd)	C
P2-47	Kidney	nd	nd	–	nd	nd	–	C (nd)	nd	C (nd)	C
	Muscle	nd	nd	–	nd	nd	–	C (nd)	nd	C (nd)	C
P2-49	Kidney	245	93	348	2	nd	2	S (374)	nd	C (nd)	C
	Muscle	44	16	60	nd	nd	–	C (nd)	nd	C (nd)	C
P2-50	Kidney	20	12	32	nd	nd	–	C (nd)	nd	S (375)	C
	Muscle	nd	nd	–	nd	nd	–	S (195)	nd	C (nd)	C

OTC oxytetracycline, TC tetracycline, 4-epi-OTC and 4-epi-TC 4-epimers of OTC and TC. LOD: nd not detected, C compliant, NC non-compliant to EU tetracyclines and sulfonamides MRL (according to regulation (EC) No 37/2010/EU (EU, 2010)). S suspected to be non-compliant

the northern and the center of Benin (Mensah et al. 2014), and was also reported to be largely used in cattle in Egypt (Salama et al. 2011), Ethiopia (Bedada and Zewde 2012), Tanzania (Kimera et al. 2015), or Nigeria (Olufemi and Agboola, 2009). The situation is similar in Vietnam where Pham Kim and co-workers (2013) detected chlortetracycline, OTC, TC, and doxycycline residues in pork and chicken meat at relatively high levels, up to $812 \mu\text{g kg}^{-1}$ for OTC. In Tanzania, the level of OTC residues in bovine meat was higher than in this study, with an average concentration of OTC of $2604.1 \pm 703.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ in muscle and $3533.1 \pm 803.6 \mu\text{g kg}^{-1}$ in kidney (Kimera et al. 2015).

Furthermore, high contamination rate of meat by residues of antibiotics, with concentrations above the MRL, indicates that

there is a problem with the veterinary treatments applied on cattle in the study area. In 2014, Mensah and co-workers revealed high proportion of bovine milk containing antibiotic residues in the center of Benin. This study confirms once again the failure of the food chain control system in this country.

Also, it is known that tetracycline antibiotics are responsible for the development of resistance among many bacteria such as *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., and *Proteus* spp. which have been isolated from men who were treated by these drugs (Chopra and Roberts 2001; Chantziaras et al. 2014). The large use of antibiotics in food-producing animals, and in particular tetracyclines, is also known as a major concern in the context of bacterial resistance (Granados-Chinchilla and Rodríguez 2017).

The problem of the presence of veterinary drugs in general and antibiotic residues in particular in food from animal origin is a growing concern in developing countries (Darwish et al. 2013). In developed countries, the use of antibiotics in animal production is strictly regulated, which results in very low proportions of *non-compliant* samples regarding antibiotic residues. In 2014, only 0.37% of 750,000 samples from 28 European countries were *non-compliant* to legal requirements (EFSA 2015). In contrast, the rate of *noncompliance* samples containing TC residues was 7% in Egypt (Salama et al. 2011), 30% in this study, and 68.3% in Tanzania (Kimera et al. 2015).

Conclusion

In conclusion, the modified NTPT is very easy, accessible, cheaper compared to chromatographic methods, and an effective screening method which could be adopted in Beninese laboratories to control the safety of the food chain.

It is very important that the Beninese authorities take the appropriate measures to improve the monitoring of the food chain, especially in animal production, to protect the health of consumers not only for the presence of antibiotic residues but also to prevent the spread of bacterial resistance to antibiotics.

Acknowledgements The authors thank the responsible Rural Development of Parakou, veterinarians, and cattle butchers of this town. They are grateful to DREAM ACP scholarship project which funded the stay of the first author in Belgium.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of Interest Robert Dognon declares that he has no conflict of interest. Guy Degand declares that he has no conflict of interest. Caroline Douny declares that she has no conflict of interest. Philippe Delahaut declares that he has no conflict of interest. Ahmed Igout declares that he has no conflict of interest. Mahamadou Dahouda declares that he has no conflict of interest. Issaka A.K. Youssao declares that he has no conflict of interest. Marie-Louise Scippo declares that she has no conflict of interest.

Ethical Approval All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.

Informed Consent Not applicable.

References

- Abouzied M, Driksna D, Walsh C, Sarzynski M, Walsh A, Ankrapp D, Klein F, Rice J, Mozola M (2012) Validation study of the BetaStar (R) plus lateral flow assay for detection of beta-lactam antibiotics in milk. *J AOAC Int* 95:1211–1221
- Ahmed S, Ning J, Cheng G, Ahmad I, Li J, Mingyue L, Qu W, Iqbal M, Shabbir MAB, Yuan Z (2017) Receptor-based screening assays for the detection of antibiotics residues—a review. *Talanta* 166:176–186
- AM (1995) Arrêté Ministériel du 19 juin 1995 modifiant l'arrêté ministériel du 18 décembre 1973 déterminant les techniques de laboratoire pour la recherche des résidus de substances à effet bactériostatique. *Moniteur Belge* du 2807.1995, 20368–20370
- Bedada AH, Zewde BM (2012) Tetracycline residue levels in slaughtered beef cattle from three slaughterhouses in central Ethiopia. *J Glob Vet* 8(6):546–554
- Boison J.O. (1995) Chemical analysis of β -lactam antibiotics. In: chemical analysis for antibiotics used in agriculture, H. Oka, H. Nakazawa, K-I. Harada, J.D. Macneil, editors. AOAC international
- Cháfer-Pericás C, Maquieira Á, Puchades R (2010) Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *TrAC* 29(9): 1038–1049
- Chantziaras I, Boyen F, Callens B, Dewulf J (2014) Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. *J Antimicrob Chemother* 69(3):827–834
- Chen T, Cheng G, Ahmed S, Wang Y, Wang X, Hao H, Yuan Z (2017) New methodologies in screening of antibiotic residues in animal-derived foods: biosensors. *Talanta* 175:435–442
- Chopra I, Roberts M (2001) Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol R* 65(2):232–260
- Darwish WS, Eldaly EA, El-Abbasy MT, Ikenaka Y, Nakayama S, Ishizuka M (2013) Antibiotic residues in food: the African scenario. *Jpn J Vet Res* 61(Suppl):S13–S22
- De Wasch K, Okerman L, Croubels S, De Brabander H, Hoof JV, De Backer P (1998) Detection of residues of tetracycline antibiotics in pork and chicken meat: correlation between results of screening and confirmatory tests. *Analyst* 123:2737–2741
- EFSA (European Food Safety Authority) (2015) Report for 2014 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal products. <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/923e>. Accessed 09 Nov 2017
- EU (2010) Commission Regulation (EU) No 37 / 2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Off J*, L15, 1–72
- Founou LL, Founou RC, Essack SY (2016) Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. *Front Microb* 7:1881
- Gaudin V (2017) Advances in biosensor development for the screening of antibiotic residues in food products of animal origin—a comprehensive review. *Biosens Bioelectron* 90:363–377
- Granados-Chinchilla F, Rodríguez C (2017) Tetracyclines in food and Feedingstuffs: from regulation to analytical methods, bacterial resistance, and environmental and health implications. *J Analytical Methods in Chemistry* 2017, article ID 1315497, 24 pages
- Griffin MO, Ceballos G, Villarreal FJ (2011) Tetracycline compounds with non-antimicrobial organ protective properties: possible mechanisms of action. *Pharmacol Res* 63:102–107
- Kimera ZI, Mdegela RH, Mhaiki CJN, Karimuribo ED, Mabiki F, Nonga HE, Mwesongo J (2015) Determination of oxytetracycline residues in cattle meat marketed in the Kilosa district, Tanzania. *Onderstepoort J Vet Res* 82(1):911
- Landers TF, Cohen B, Wittum TE, Larson EL (2012) A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. *Public Health Rep* 127(1):4–22
- Majdinasab M, Yaqub M, Rahim A, Catanante G, Hayat A, Marty JL (2017) An overview on recent progress in electrochemical biosensors for antimicrobial drug residues in animal-derived food. *Sensors* 17(9):1947
- Marshall BM, Levy SB (2011) Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev* 24:718–733
- Mensah SEP, Ahissou HY, Koudande OD, Salifou S, Mensah GA, Abiola FA (2011) Detection of antibiotics residues in meat of reformed and

- marketed laying hens in southern Benin. *Int J Biol Chem Sci* 5(6): 2195–2204
- Mensah SE, Koudandé OD, Sanders P, Laurentie M, Mensah GA, Abiola FA (2014) Antimicrobial residues in foods of animal origin in Africa: public health risks. *Rev Sci Tech* 33(3):987–996 **975-86**
- Naik L, Sharma R, Mann B, Lata K, Rajput YS, Nath BS (2017) Rapid screening test for detection of oxytetracycline residues in milk using lateral flow assay. *Food Chem* 219:85–92
- Nisha AR (2008) Antibiotics residues—a global health hazard. *Vet World* 1(12): 375–377
- Oh YH, Han HK (2006) Pharmacokinetic interaction of tetracycline with non-steroidal anti-inflammatory drugs via organic anion transporters in rats. *Pharmacol Res* 53:75–79
- Olufemi OI, Agboola EA (2009) Oxytetracycline residues in edible tissues of cattle slaughtered in Akure, Nigeria. *Internet J Food Saf* 11: 62–66
- Pham Kim D, Degand G, Danyi S, Pierret G, Delahaut P, Vu Dinh T, Maghuin-Rogister G, Scippo ML (2010) Validation of a two-plate microbiological method for screening antibiotic residues in shrimp tissue. *Anal Chim Acta* 672:30–39
- Pham Kim D, Degand G, Douny C, Vu Dinh T, Maghuin-Rogister G, Scippo ML (2011) Optimisation of a new two-plate screening method for the detection of antibiotic residues in meat. *Int J Food Sci Tech* 46:2070–2076
- Pham Kim D, Degand G, Douny C, Pierret G, Delahaut P, Vu Dinh T, Granier B, Scippo ML (2013) Preliminary evaluation of antimicrobial residue levels in marketed pork and chicken meat in the Red River Delta region of Vietnam. *Food Public Health* 3(6):267–276
- Pikkemaat MG, Rapallini MLBA, Oostra-Van Dijk S, Elferink JWA (2009) Comparison of three microbial screening methods for antibiotics using routine monitoring samples. *Anal Chim Acta* 637:298–304
- Sajid M, Kawde AN, Daud M (2015) Designs, formats and applications of lateral flow assay: a literature review. *J Saudi Chem Soc* 19(6): 689–705
- Salama NA, Abou-Raya SH, Shalaby AR, Emam WH, Mehaya FM (2011) Incidence of tetracycline residues in chicken meat and liver retailed to consumers. *Food Addit Contam B* 4:88–93
- Sarmah AK, Meyer MT, Boxall AB (2006) A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 65(5): 725–759
- Stead S, Sharman M, Tarbin JA, Gibson E, Richmond S, Stark J, Geijp E (2004) Meeting maximum residue limits: an improved screening technical for the rapid detection of antimicrobial residues in animal food products. *Food Addit Contam* 21(3):216–221
- Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R (2015) Global trends in antimicrobial use in food animals. *PNAS* 112(18):5649–5654
- Viirolainen N, Karp M (2014) Biosensors, antibiotics and food. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 145:153–185
- Vishnuraj MR, Kandeepan G, Rao KH, Chand S, Kumbhar V (2016) Occurrence, public health hazards and detection methods of antibiotic residues in foods of animal origin: a comprehensive review. *Cogent Food Agric* 2(1):1235458

Erratum concernant l'article Dognon *et al.* (2018c)

Table 3.2: Erratum about “Dognon *et al.* (2018c) The modified New Two Plates Test for detecting of tetracycline, beta-lactams and sulfonamides antibiotic residues in kidney and muscle of cattle slaughtered in North-East Benin. Food Analytical methods, 11(12): 3406-3416. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1322-y>”

Thesis page	Paper page	Title of the paragraph	Initial content	Correction
118	3415	Modified NTPT and LC-MS/MS Analysis	...30 % in this study, and 68.3 % in Tanzania...	...38 % in this study, and 68.3 % in Tanzania...

3.2.1. Information complémentaire à l'article Dognon *et al.* (2018c)

Results

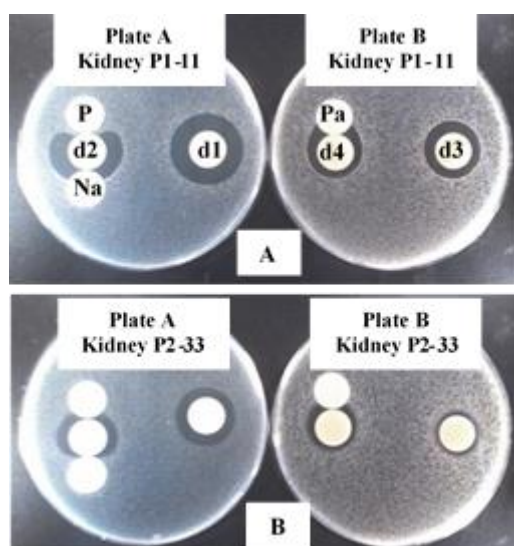


Figure 2.1.: Pictures of the inhibition zones caused by the kidney extracts of two different animals P1-11 (A) and P2-33 (B) with the modified NTPT test. d1, d2, and d3: paper discs loaded with 50 μL of sample extract; d4 : loaded with 100 μL of phosphate buffer (100 mM pH 7.5), dried at 65 $^{\circ}\text{C}$ before to be loaded with 20 μL of TMP (1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and 50 μL of sample extract; P = 50 μL of Penicillinase at 30 UI mL^{-1} in phosphate buffer (10 mM pH 6, 0.1 % of BSA); Na = 50 μL of NaOH 0.1N, 0.4%; Pa = 50 μL of PABA at 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Culture medium in plate B contained TMP at 0.03 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Chapitre 3 : Etude 3

Evaluation de la qualité des médicaments
antibiotiques utilisés en élevage de bovins au
Nord-Est du Bénin

3.3. Etude 3: Evaluation de la qualité des médicaments antibiotiques utilisés en élevage de bovins au Nord-Est du Bénin

Les antibiotiques vétérinaires sont des médicaments dont la distribution et l'utilisation sont réglementées. Ils doivent être manipulés par des professionnels vétérinaires et para-vétérinaires. Mais au Bénin, ces produits sont massivement commercialisés à travers des marchés locaux qui sont des circuits illégaux de distribution. La plupart du temps, ce sont les éleveurs eux-mêmes qui administrent les antibiotiques, sans passer par un vétérinaire.

En plus de ces observations, les données relatives à la qualité de ces produits sont quasiment inexistantes dans cet environnement où les rares contrôles s'exerçant sur la chaîne de distribution des produits vétérinaires se limitent essentiellement à la vérification de la conformité des officines et autres lieux de vente. Or, l'utilisation de médicaments de mauvaise qualité ne garantit pas un succès du traitement visé et peut favoriser le développement du phénomène d'antibiorésistance bactérienne.

C'est pourquoi, cette étude a été conduite pour évaluer la qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en élevage de bovins et commercialisés dans le Nord-Est du Bénin. En plus des observations visuelles, la concentration des matières actives a été évaluée dans 28 médicaments antibiotiques prélevés dans les communes de Banikoara, Kandi et Parakou situées dans ce milieu d'étude. La méthode du “*New Two Plates Test*” modifiée (décrite dans l'étude 2) a été utilisée pour cette évaluation quantitative.

Les résultats ont montré que tous les produits analysés contenaient les substances antimicrobiennes conformément à la déclaration des étiquettes. Mais quantitativement, seuls 61 % de ces médicaments présentaient des teneurs en substances actives comprises dans une fourchette de 90 à 120 %, 90-115 % et ≥ 90 % des concentrations (respectivement d'oxytétracycline, de pénicilline G et de tylosine) mentionnées sur les étiquettes, et sont alors supposés être conformes selon les exigences de l'USP (United States Pharmacopeia).

Les résultats de cette étude sont consignés et discutés dans un projet d'article à soumettre pour publication dans la revue “*Preventive Veterinary Medicine*”.

Chapitre 3 : Etude 3

Evaluation of the quality of antibiotic pharmaceuticals used in cattle breeding in North-East Benin

<i>Projet d'article à soumettre à 'Preventive Veterinary Medicine'</i>
--

Dognon S.R.^{1,2*}, Degand G.¹, Douny C.¹, Ahounou G.S.², Dognon H.R.³, Moula N.⁴, Gbaguidi M.A.N.⁵, Youssao A.K.I.², Scippo M-L.¹

¹ Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, FARA-H-Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

² Department of Animal Production and Health, Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

³ Department of Hydrology and Management of Water Resources, National Institute of Water, Laboratory of Applied Hydrology, University of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

⁴ Tropical Veterinary Institute, Fundamental and Applied Research for Animals & Health (FARA-H), Sustainable Animal Production, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liege, bât. B43, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

⁵ Unit of Research in Ecotoxicology and Study Quality, Laboratory of Research in Applied Chemistry, Polytechnic School of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

*Correspondent e-mail: robertdognon@yahoo.fr

ABSTRACT

This study aimed to assess the quality of antibiotics used in cattle livestock in northern Benin. Twenty-eight antibiotic drugs were collected in drug stores (official source) of Banikoara, Kandi and Parakou as well as in the cattle market (unofficial source) of Tourou in Parakou. Most of the sampled drugs were supposed to contain, according to their labels, one antibiotic : oxytetracycline (17 samples), sulfamethazine (4 samples), tylosin (2 samples), penicillin G (2 samples). The last three samples were supposed to contain both penicillin and streptomycin. Microbiological inhibition tests on culture media containing *Bacillus subtilis* bacteria were used to analyze each pharmaceutical, diluted at two concentration levels, as well as standard solutions of the corresponding antibiotic. NaOH, Penicillinase and 4-aminobenzoic acid solutions were used for identification of oxytetracycline, penicillin G and sulfamethazine antibiotics, respectively. Inhibition areas were measured to estimate antibiotic concentrations, by using equation of standard antibiotic calibration curves. Compared with the standard concentration, percentage of each antimicrobial concentration as for the declared content on label was calculated. From a qualitative point of view, all identification tests showed that the veterinary drug contained the active ingredient declared on the label. Quantitatively, 61 % of the sampled drugs (including the 3 samples containing a mixture of penicillin and streptomycin, and 14 samples containing a single antimicrobial) were compliant according to the United States Pharmacopeia (USP) requirements for the antibiotic content. USP compliant limits for oxytetracycline, sulfamethazine, penicillin G and tylosin drugs were respectively 90-120 %; 99-100.5 %; 90-115 % and ≥ 90 % of the claimed concentration on the label. On one hand, 10 samples were non-compliant drugs because their antibiotic content was below 90 % of the claimed concentration on label. This was the case for five samples containing oxytetracycline, one of the two samples containing tylosin and all the four samples containing sulfamethazine. On the other hand, one sample was over-dosed with 145 % of the declared penicillin concentration.

Keywords: Veterinary antibiotic, drug quality, cattle breeding, inhibition test, Benin

INTRODUCTION

The development of chemistry science made possible synthesis of antimicrobials that became the main class of drugs employed since the 50s in both veterinary and human medicine. The use of these medicines revolutionized sanitary treatments. In veterinary medicine, antibiotics are generally used in breeding for preventive and therapeutic purposes and as food additives or growth promoter (Nickell and White, 2010). Thus, they contributed to the intensification of animal production in recent decades (Kang *et al.*, 2017).

The massive use of these drugs for animal and human treatments results in the selection of antibiotic resistant bacteria, which is a concern for both animal and human health (Tchamdja *et al.*, 2016; Kang *et al.*, 2017; Tekle *et al.*, 2018).

In Benin, antibiotics were widely used in cattle breeding (Dognon *et al.*, 2018a). Five antibiotic groups were documented to be used in cattle livestock in center and North-East Benin. These were tetracyclines, sulfonamides, beta-lactams, aminoglycosides and macrolides groups.

On the contrary of what occurs in European Union, where antibiotics are used in animals only as therapeutic products, under a veterinary prescription (Darwish *et al.*, 2013; De Briyne *et al.*, 2013), there is no control on the distribution chain of veterinary pharmaceuticals in Benin and veterinary antibiotics used in cattle breeding are mostly purchased on illegal markets (Dognon *et al.*, 2018a). In the particular case of trypanocides, Teko-Agbo *et al.* (2003) showed that 48 % of veterinary drugs sold in Benin and Togo were counterfeit pharmaceuticals.

Despite this situation, which does not ensure a good quality of the pharmaceuticals used in cattle livestock, no study is available about the quality of antimicrobial drugs in Benin. This study aimed to assess the quality of antibiotics used in cattle livestock in northern Benin. The method used was an antimicrobiological method based on the ability of antibiotics to inhibit *Bacillus subtilis* growth in two different cultures media at pH 6 and 7.4, respectively.

MATERIALS AND METHODS

Study area

Pharmaceuticals were collected in the departments of Borgou (commune of Parakou) and Alibori (communes of Banikoara and Kandi) in North-East of Benin (Fig. 1). The department of Alibori is located in the extreme north of Benin. It is bounded on the east by the Federal Republic of Nigeria, to the north by Burkina-Faso and Niger, to the south by the department of Borgou and to the west by the department of Atacora. Its area measures 26,242 km² (23 % of national territory) and its population was estimated at 867,463 inhabitants (8.7 % of the national population) in 2013 (INSAE, 2015). The climate is Sudano-Sahelian and the annual rainfall varies between 700 and 1000 mm (Adam et Boko, 1993).

The Department of Borgou covers an area of 25,856 km². It is bounded to the north by the department of Alibori, to the south by the departments of Collines and Donga, in the East by the Federal Republic of Nigeria, and to the west by the department of Atacora. Its population was estimated at 1,214,249 inhabitants (12.1 % of the national population) (INSAE, 2015). The climate is of Sudanese type and the annual rainfall varies between 900 and 1300 mm (Adam et Boko, 1993). The main activity of the populations in the two departments is agriculture, which is still family-type. The breeding is very developed with large herds of cattle, sheep, goats, poultry, etc.

Pharmaceutical samples collection

From december 2015 to january 2016, 28 antibiotic drugs were purchased in veterinary pharmacies in communes of Banikoara, Kandi and Parakou as well as in the cattle market of Tourou in Parakou. Fifteen antibiotic pharmaceuticals were purchased from veterinary pharmacies (official sources) and 13 antimicrobial drugs from illegal market. Labels of 25 products showed a single antimicrobial such as oxytetracycline (17 samples), sulfamethazine (4 samples), tylosin (2 samples), penicillin G (2 samples). Three sampled medicines had labels showing presence of both penicillin and streptomycin. To avoid trade conflicts, these sampled test drugs have been anonymised. Following codes were used to name these medicines: from Oxy1 to Oxy17 for pharmaceuticals containing oxytetracycline, from S-1 to S-4 for those containing sulfamethazine, Ty1 and Ty2 for tylosin drugs, P-1 and P-2 for penicillin drugs and from P.S-1 to P.S-3 for mixed medicines of both penicilline and streptomycin. These sampled pharmaceuticals were kept at 4 °C until their analyse.

Characterization of the sampled pharmaceuticals

The written informations on product labels such as trade name (code), declared antimicrobial and concentration, volume or weight, physical form, withdrawal time and storage temperature were documented. The “sealing of the lid” was also checked.

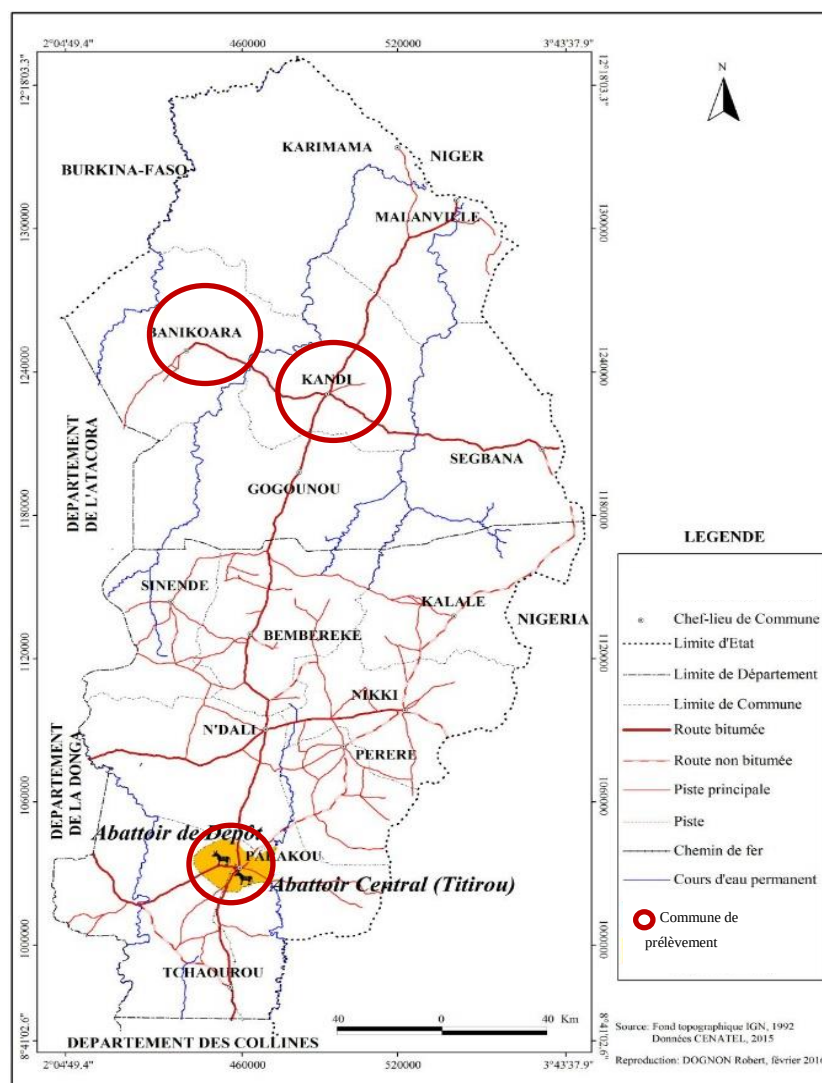


Fig. 1: Location of the sampled communes in North-East Benin

Chemicals

Antibiotic salt standards (sodium penicillin G (13752), oxytetracycline hydrochloride (O5875), sulfamethazine (S5637), tylosin tartrate (T6134)) (Fig. 2) and others chemicals such as trimethoprim (TMP) (T7883), penicillinase (P0389-1KU), 4-aminobenzoic acid (PABA) (A9878), glucose solution 45 % (G-8769) and bovine serum albumin (BSA) (A9647) were provided by Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Salt standard of dihydrostreptomycin sulfate (100405) was purchased among ICN, Biomedicals Inc. (South Chillicothe).

Individual stock solutions (1 mg/mL), standard intermediate (20 µg/mL) and final solutions of oxytetracycline (1 - 4 µg/mL), sulfamethazine (2 – 10 µg/mL) and tylosin (2 – 10 µg/mL) were prepared in methanol while penicillin G (1 mg/mL, 20 µg/mL, 0.064 – 0.75 µg/mL) and streptomycin (1 mg/mL) solutions were prepared in phosphate buffer (10 mM, pH 6). Sulfamethazine was dissolved in 100 µL of hydrochloric acid (HCl) 2N before adding of methanol for the stock solution (1 mg/mL).

The same phosphate buffer (10 mM, pH 6) was used to prepare mixtures of penicillin G and streptomycin solutions in concentration ratios between penicillin G and streptomycin of 0.47 and 0.6 (these ratios were chosen according to the concentration ratios in mixed pharmaceuticals of both penicillin G and streptomycin). Final dilutions solutions at concentrations ranging from 0.2 to 2 µg/mL were performed in phosphate buffer (10 mM, pH 6).

PABA, TMP, NaOH and penicillinase solutions were prepared in the same way as in Dognon *et al.* (2018c). All solutions were kept at -20 °C in freezer, excepted dilutions in phosphate buffer containing penicillin G and streptomycin, which were kept at 4 °C. NaOH solution was kept at room temperature.

Culture media

Culture media Test Agar pH 6 (1.10663, Merck, Darmstadt, Germany) and Iso-Sensitest Broth pH 7.4 (CM0473, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) were used for growing *Bacillus subtilis* BGA strain (1.106449, Merck, 10⁷ spores/mL). Iso-Sensitest Broth was mixed with Agar Bacteriological (Agar No.1, LP0011, Oxoid) at 0.8 %. The preparation of this culture media was performed in the same way and conditions as in Dognon *et al.* (2018c). Dishes containing culture medium at pH 6 were named “Plate A” and those of Iso-Sensitest at pH 7.4 were designated “Plate B”. These plates were kept in cold room at 4 °C until their use for a maximum of seven days.

Dilution of sampled antibiotic drugs

For each sampled pharmaceutical, a dilution was performed to obtain stock solutions at a concentration of 1 mg/mL of active ingredient. All products with single active antimicrobial (oxytetracycline, sulfamethazine and tylosin) were diluted in methanol. Based on label informations, formula (a) was established and used to determine the weight sample (w) corresponding to 1 mg of standard antimicrobial.

$$(a) : w = M_{\text{salt}} / (p * M_{\text{std}})$$

where M_{salt} is the molar mass of antibiotic salt contained in the pharmaceutical; M_{std} is the molar mass of the standard antibiotic salt and p the concentration (%) of the antimicrobial in the tested drug. Table 1 shows the different weights that have been taken to prepare 1 mL of stock solution at 1 mg/mL of drugs containing a single active antimicrobial of oxytetracycline, sulfamethazine and tylosin.

For the drugs codified P-1 and P-2 containing only penicillin G, their label mentioned that 3.6 g of powder contained 0.6g of penicillin G and 3g of penicillin-procaine. Thus, the weight (w) of powder corresponding to 1 mg of sodium penicillin G standard is 1.455 mg according to the formula (b):

$$(b) : w = \frac{1 \text{ mg}}{\left[\frac{0.6}{3.6} + \left(\frac{3}{3.6} \right) * \frac{M(\text{P-Na})}{M(\text{P-Pro})} \right]} = 1.455 \text{ mg}$$

where $M(\text{P-Na}) = 356.37 \text{ g/mol}$, is the molar mass of sodium penicillin G and $M(\text{P-Pro}) = 570.70022 \text{ g/mol}$, is the molar mass of penicillin-procaine.

Mixed products P.S-1 and P.S-2 contained 20 % of penicillin-procaine and 25 % of dihydrostreptomycin sulfate (in a ratio of 0.47). So, the weight (w) of this product corresponding to 1 mg of standard (mixture of sodium penicillin G and dihydrostreptomycin sulfate, $r = 0.47$) is 2.667 mg according to formula (c):

$$(c): W = \frac{1 \text{ mg}}{\left[0.25 + 0.2 * \frac{M(\text{P-Na})}{M(\text{P-Pro})}\right]} = 2.667 \text{ mg}$$

P.S-3 was a mixed drug of 12 % of penicillin G (corresponding to 200.000UI/mL mentioned on the label) and 20 % of dihydrostreptomycin sulfate (corresponding to 200 mg/mL on the label). Thus, the ratio r was 0.6. The weight (w) of this product corresponding to 1 mg of standard (mixture of sodium penicillin G and dihydrostreptomycin sulfate, $r = 0.6$) is 3.049 mg according to the formula (d):

$$(d): W = \frac{1 \text{ mg}}{\left[0.2 + 0.12 * \frac{M(\text{P-Na})}{M(\text{P})}\right]} = 3.049 \text{ mg}$$

where $M(\text{P}) = 334.39012 \text{ g/mol}$ is penicillin G molar mass.

From stock solutions at 1 mg/mL, intermediate (20 µg/mL) and final solutions of drugs containing oxytetracycline (2 and 4 µg/mL), sulfamethazine (10 µg/mL) and tylosin (10 µg/mL) were prepared in methanol. Dilutions of penicillin drugs (0.2 and 0.4 µg/mL) and mixed medicines of penicillin G and streptomycin (1 and 2 µg/mL) were prepared in phosphate buffer (10 mM pH 6).

Oxytetracycline, sulfamethazine and tylosin drug dilutions were kept at -20 °C while those of penicillin G and mixed pharmaceuticals (penicillin G and streptomycin) were stored at 4 °C until the inhibition tests. Fig. 2 shows molecular structures of standard antibiotics and pharmaceutical active antimicrobials.

Inhibition test with standard solutions

The inhibition tests consisted in putting 50 µL of each standard solution on cellulose disks (0905A00005, Fiers Noordlaan, 29-25 B-8520 KUURNE) of 12.7 mm diameter placed initially on the culture medium. Fifty µL of standard solution contained increasing quantity of oxytetracycline (50 - 200 ng), penicillin G (3.2 – 37.5 ng) and mixture of penicillin G + streptomycin (10 - 100 ng) were tested on the plates A containing culture medium at pH 6 (Pham Kim *et al.*, 2011; Dognon *et al.*, 2018c). Standard solutions containing increasing quantity of sulfamethazine (100 – 1000 ng) and tylosin (100 – 1000 ng) were tested on the plates B (at pH 7.4) (Pham Kim *et al.*, 2011). As for the inhibition tests of sulfamethazine, discs were firstly loaded of 20 µL of TMP 1 µg/mL before adding of the 50 µL of the standard solution.

These tests were repeated four times for each standard solution in presence of 50 μL of identification solution loaded on a disc juxtaposed to the standard disc (Fig. 3). Filters loaded with NaOH 0.1N (0.4 %) and PABA (20 $\mu\text{g/mL}$) decreased inhibition zones of oxytetracycline and sulfamethazine respectively, while inhibition zone of penicillin G and mixture solutions (penicillin G and streptomycin) were reduced by the penicillinase 30 IU/mL. Any solution was used for the identification of tylosin and streptomycin antimicrobials.

The plates were let at room temperature during about one hour, before to be incubated at 32 °C for 16-18 hours. The radius of the inhibition zone (mm) around each disc (free side) was measured using a digital caliper.

Table 1: Sample weights (corresponding to 1 mg of standard antimicrobial) used to prepare 1 mL of stock solution (1 mg/mL) of drugs containing oxytetracycline, sulfamethazine and tylosin

N°	Declared antimicrobial on product label		Antimicrobial used as standard		Sample weight (mg) corresponding to 1 mg of standard antimicrobial
	Antimicrobial and concentration	Molar mass* (g/mol)	Antimicrobial	Molar mass* (g/mol)	
1	OTC 5 %	460.434	OTC-HCl	496.895	18.53
2	OTC 20 %	460.434	OTC-HCl	496.895	4.63
3	OTC-HCl 5 %	496.895	OTC-HCl	496.895	20.00
4	OTC-HCl 10 %	496.895	OTC-HCl	496.895	10.00
5	OTC-2H ₂ O 10 %	496.460	OTC-HCl	496.895	9.99
6	OTC-2H ₂ O 20 %	496.460	OTC-HCl	496.895	4.99
7	SMZ-Na 33 %	300.312	SMZ	278.330	3.27
8	SMZ-Na 33.3 %	300.312	SMZ	278.330	3.24
9	Tyl-Tar 20 %	1.066.187	Tyl-Tar	1.066.187	5.00

*Note: OTC-HCl: Oxytetracycline hydrochloride, OTC-2H₂O: Oxytetracycline dihydrate, SMZ-Na: sulfamethazine sodium, Tyl-Tar: Tylosin tartrate; *: (DC Fine Chemicals, no year)*

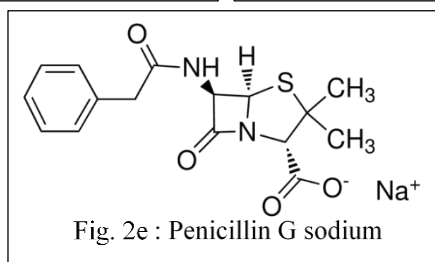
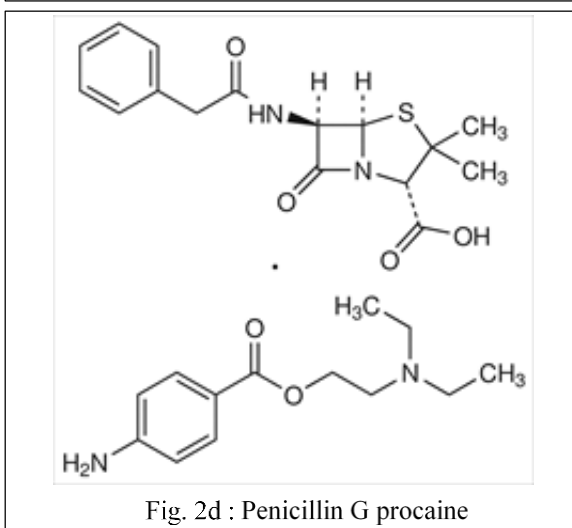
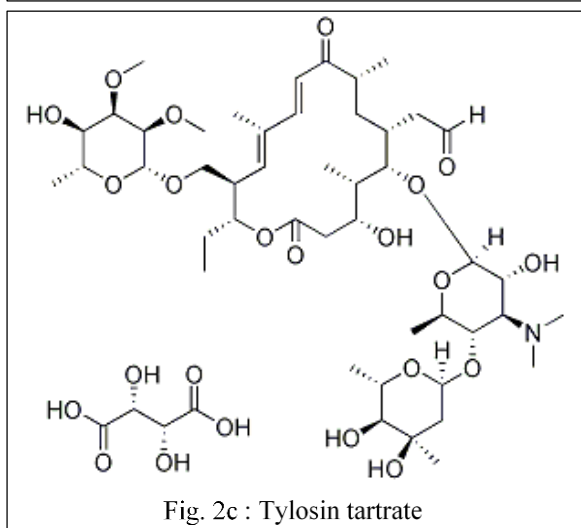
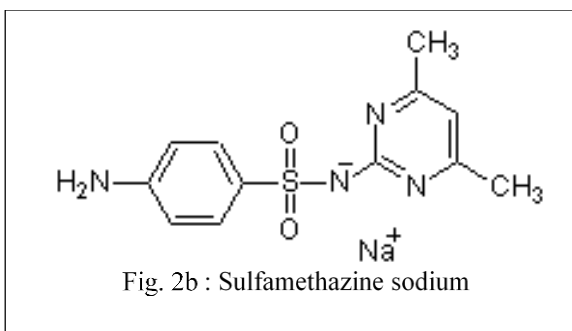
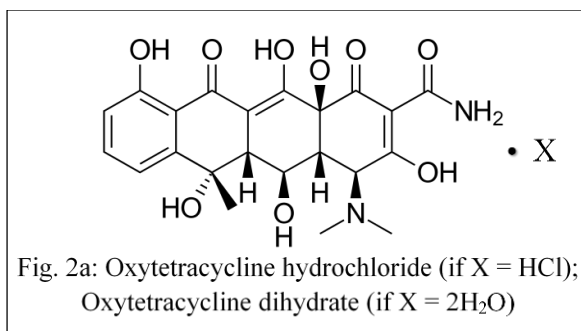


Fig. 2: Chemical structures of active antimicrobials contained in standards and sampled drugs (PubChem, no year; Dognon *et al.*, 2018b)

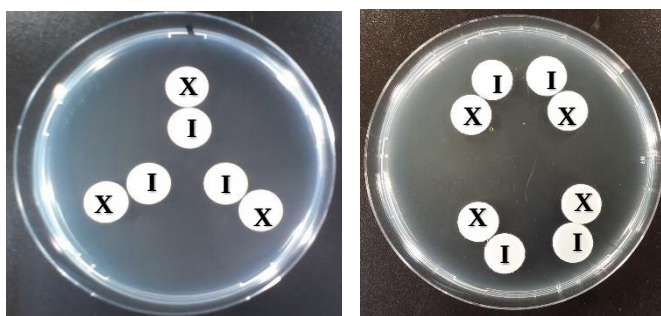


Fig. 3: Disposition of the discs on the culture media for the inhibition tests. X: disc loaded with the antimicrobial solution (standard antibiotic solution or sampled drug); I: disc loaded with the solution of identification (disc loaded with NaOH and PABA decreased inhibition zones of oxytetracycline and sulfamethazine respectively, while inhibition zone of penicillin G and mixture solutions were reduced by the penicillinase)

Inhibition test with dilutions of sampled drugs

For each pharmaceutical, two level dilutions were tested: 2 and 4 µg/mL for oxytetracycline drugs, 10 and 20 µg/mL for sulfamethazine drugs, 10 and 20 µg/mL for tylosin pharmaceuticals, 0.2 and 0.4 µg/mL for penicillin G products and, 1 and 2 µg/mL for mixed medicines of penicillin G and streptomycin.

Each of these two dilutions was analyzed (in 4 to 6 replicates) on the plates in the same way as described above for standard solutions.

Data analysis

For each antibiotic, a calibration curve (with regression equation (e): $y = a \cdot \ln(x) + b$ where, “y” was the average of the radii of the inhibition zones (mm) and “x” the antimicrobial concentration (µg/mL)) was established.

For each sampled veterinary antibiotic drug, the antibiotic content was determined from repeated analysis (n= 6 for oxytetracycline drugs and n= 4 for all of the others tested medicines). The average antimicrobial content (%) of the tested drug $\pm$ standard deviation (%) was compared with the label declared concentration. In reference to the United States Pharmacopeia (USP) rules for content requirements for drug quality, USP compliant limits for oxytetracycline, sulfamethazine, penicillin G and tylosin drugs were respectively 90-120 %; 99-100.5 %; 90-115 % and ≥ 90 % of the claimed concentration on the label (USP, 2006a; 2006b; 2006c; 2006d). So, drugs displaying an average content (%) corresponding to these limits can be declared as compliant. Pharmaceuticals are declared non-compliant if the actual content is below the lower USP limit or above the upper USP limit.

RESULTS

Characteristics of the sampled medicines

Table 2 shows data from sampled drug labels. Medicines containing oxytetracycline represented 61 % of the total of drugs. The sulfamethazine, tylosin, penicillin G and mixture products were 14 %, 7 %, 7 % and 11 % of the total samples. Two products were powder (P-1 and P-2), while all other drugs were injectable solutions. All the sampled pharmaceuticals were conditioned in a sealed glass or plastic bottle.

Calibration curves

Results of inhibition tests using antibiotic standard solutions are presented in table 3 while calibration curves are showed on fig. 4. Coefficients of determination of linear regression ranged between 0.96 and 0.99.

Identification test of antibiotic groups containing in sampled drugs

All sampled drugs inhibited the growth of *B. subtilis* in the corresponding culture medium, meaning that they contained active antimicrobial substances. Each drug dilution displayed the expected answer in presence of the corresponding identification solution. Thus, from a qualitative point of view, oxytetracycline, sulfamethazine and penicillin G sampled drugs contained the declared active ingredient. Fig. 5 shows NaOH and penicillinase actions on inhibition area of Oxy10 dilution (containing oxytetracycline) and P.S-1 dilution (mixed product of penicillin G and streptomycin), respectively.

Quality of the sampled drugs

The estimated concentrations (%) of sampled pharmaceuticals containing different active antibiotics are shown in table 4. The results showed that 17/28 (61 %) of the tested drugs were compliant according to the USP rules. These compliant samples were oxytetracycline (12/17); tylosin (1/2) and penicillin G (1/2) containing products; the three samples containing a mixture of penicillin G and streptomycin were all compliant according to the USP criteria (Table 4).

Eleven out of 28 drug samples (39 %) were non-compliant, with 10 products showing an antimicrobial content less than the lower acceptable limit (90 % of the claimed concentration on label for oxytetracycline and tylosin products; 99 % of the claimed concentration on label for sulfamethazine products) while P-1 was over-dosed with 145 % of the declared penicillin concentration on the label (Table 4).

In relation to the drug sample purchase sources, 40 % (6/15) of the drugs from the official circuit (veterinary pharmacy) were found non-compliant whereas 38 % (5/13) of the illegal market medicines were non compliant.

Table 2: Informations recorded from sampled drug labels and sampling location

N°	Drug code	Claimed antimicrobial type on drug label	Volume/Weight	Form	Withdrawal time (days)		Storage temperature	Sampling location
					Milk	Meat/offal		
1	Oxy1	OTC	50 mL	Inj. sol.	7	21	n.m.	Market of Tourou
2	Oxy2	OTC	100 mL	Inj. sol.	3	10	8 - 25°C	Market of Tourou
3	Oxy3	OTC	250 mL	Inj. sol.	4	14	<25°C	Market of Tourou
4	Oxy4	OTC	250 mL	Inj. sol.	3	14	8 - 15°C	Market of Tourou
5	Oxy5	OTC	50 mL	Inj. sol.	3	14	<25°C	Market of Tourou
6	Oxy6	OTC	50 mL	Inj. sol.	n.m.	n.m.	<25°C	Ph. of Banikoara
7	Oxy7	OTC	100 mL	Inj. sol.	3	14	8 - 15°C	Ph. of Banikoara
8	Oxy8	OTC	100 mL	Inj. sol.	10	28	n.m.	Ph. of Kandi
9	Oxy9	OTC	50 mL	Inj. sol.	3	14	<25°C	Market of Tourou
10	Oxy10	OTC	100 mL	Inj. sol.	10**	15	n.m.	Ph. of Kandi
11	Oxy11	OTC	100 mL	Inj. sol.	3	14	n.m.	Ph. of Parakou
12	Oxy12	OTC	100 mL	Inj. sol.	2	5	8 - 30°C	Ph. of Parakou
13	Oxy13	OTC	100 mL	Inj. sol.	7	21	15 - 25°C	Ph. of Kandi
14	Oxy14	OTC	100 mL	Inj. sol.	***	15	n.m.	Market of Tourou
15	Oxy15	OTC	100 mL	Inj. sol.	8	24	<25°C	Ph. of Kandi
16	Oxy16	OTC	100 mL	Inj. sol.	3	14	<30°C	Ph. of Kandi
17	Oxy17	OTC	100 mL	Inj. sol.	7	21	<30°C	Ph. of Kandi
18	S-1	SMZ	500 mL	Inj. sol.	n.m.	n.m.	8 - 30°C	Ph. of Banikoara
19	S-2*	SMZ	500 mL	Inj. sol.	5	10	n.m.	Market of Tourou
20	S-3	SMZ	100 mL	Inj. sol.	n.m.	15	14 - 25°C	Market of Tourou
21	S-4	SMZ	250 mL	Inj. sol.	n.m.	21	15 - 25°C	Market of Tourou
22	Ty-1	Tylosin	100 mL	Inj. sol.	3	7	<25°C	Market of Tourou
23	Ty-2	Tylosin	100 mL	Inj. sol.	4	8	8 - 15°C	Ph. of Parakou
24	P-1	Penicillin G	3.6 g	Powder	n.m.	n.m.	<15°C	Ph. of Kandi
25	P-2	Penicillin G	3.6 g	Powder	n.m.	n.m.	<15°C	Market of Tourou
26	P.S-1	Penicillin G and Streptomycin	100 mL	Inj. sol.	4	18	<25°C	Ph. of Kandi
27	P.S-2	Penicillin G and Streptomycin	100 mL	Inj. sol.	4	18	<25°C	Market of Tourou
28	P.S-3	Penicillin G and Streptomycin	100 mL	Inj. sol.	3	7	<25°C	Ph. of Parakou

*above expiration date, **: milkings, ***: do not use during milking, n.m.: not mentioned, Inj. sol.: injectable solution. Ph.: veterinary pharmacy.

Table 3: Equations of regression curves from inhibition tests of antibiotic standard

Antibiotics	Range of conc. (µg/mL)	Range of average radius of inhibition area (mm)	Equation of regression curves	Coef. of reg. (R ²)
Oxytetracycline	1 – 4	2.72 – 7.60	$y = 3.49\ln(x) + 3.0543$	0.9694
Sulfamethazine	2 – 20	1.60 – 5.16	$y = 1.5675\ln(x) + 0.3928$	0.9795
Tylosin	2 – 20	1.68 – 6.33	$y = 1.9715\ln(x) + 0.5037$	0.9911
Penicillin G	0.064 – 0.75	4.82 – 9.90	$y = 2.0902\ln(x) + 10.487$	0.9982
Mixture of penicillin G + Streptomycin (r = 0.47)	0.2 – 2	4.63 – 10.18	$y = 2.4219\ln(x) + 8.3057$	0.9699
Mixture of penicillin G + Streptomycin (r = 0.6)	0.2 - 2	4.62 – 9.87	$y = 2.2881\ln(x) + 8.2195$	0.9621

y : Average of the radius of inhibition area (mm); x : antibiotic concentration (µg/mL); r : ratio of penicillin G concentration by that of streptomycin; Conc.: concentration; Coef. of reg.: coefficient of regression

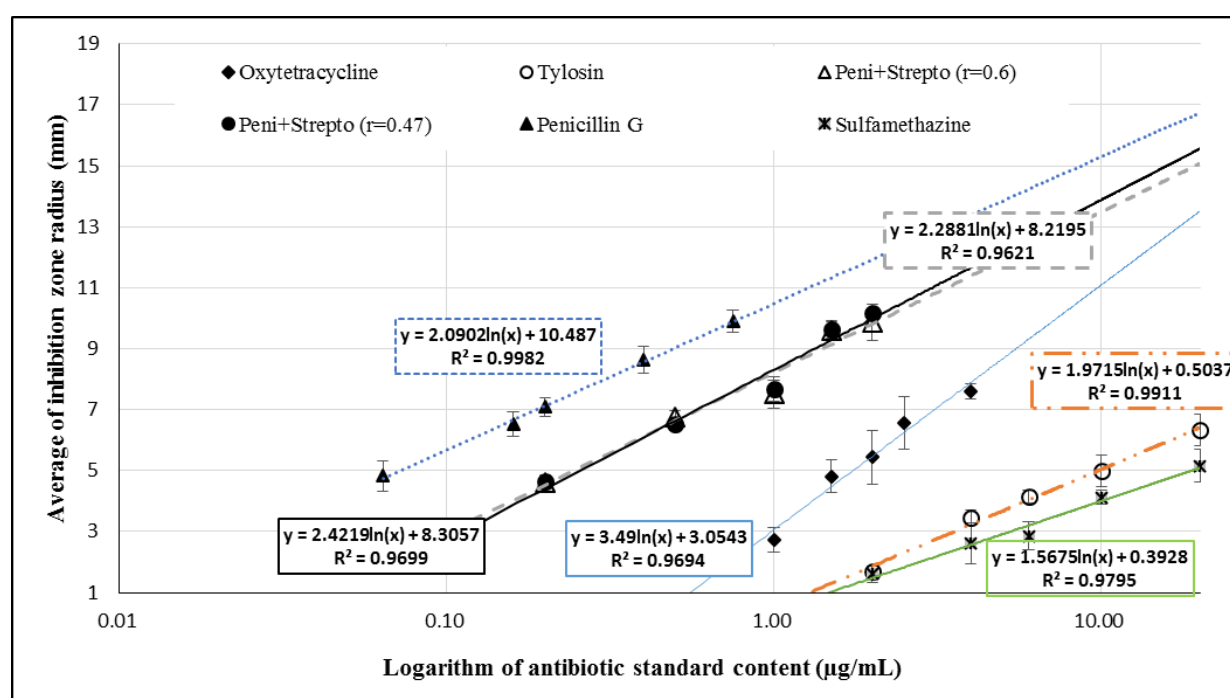


Fig. 4: Dose – response curves of antibiotic standard solutions in inhibition tests. Responses are expressed as the average inhibition zone radius (mm) $\pm$ standard deviation (in error bar) from four replicates. *Peni+Strepto*: mixture of penicillin G and streptomycin.

Table 4: Estimated concentrations (using the modified NTPT) of the antibiotic in the sample drugs, expressed as a percentage of the expected concentration according to the drug label

N°	Drug code	Active antimicrobial and concentration declared on drug label	N	Estimated active antimicrobial concentration $\pm$ standard deviation expressed in % of the expected concentration					
				OTC	SMZ	Tylosin	PenG	PenG+Strep (r=0.47)	PenG+Strep (r=0.6)
1	Oxy1*	OTC-HCl 5%	12	104.1 $\pm$ 10.5 ^c	-	-	-	-	-
2	Oxy2*	OTC-HCl 5%	12	71.2 $\pm$ 10.1 ^{nc}	-	-	-	-	-
3	Oxy3*	OTC-HCl 5%	12	92.1 $\pm$ 19.5 ^c	-	-	-	-	-
4	Oxy4*	OTC 5%	12	95.8 $\pm$ 14.6 ^c	-	-	-	-	-
5	Oxy5*	OTC-HCl 5%	12	95.7 $\pm$ 18.0 ^c	-	-	-	-	-
6	Oxy6	OTC-HCl 5%	12	95.4 $\pm$ 14.4 ^c	-	-	-	-	-
7	Oxy7	OTC-HCl 5%	12	92.1 $\pm$ 9.42 ^c	-	-	-	-	-
8	Oxy8	OTC-2H ₂ O 20%	12	87.3 $\pm$ 15.1 ^{nc}	-	-	-	-	-
9	Oxy9*	OTC-HCl 5%	12	88.5 $\pm$ 12.1 ^{nc}	-	-	-	-	-
10	Oxy10	OTC-2H ₂ O 20%	12	92.5 $\pm$ 15.5 ^c	-	-	-	-	-
11	Oxy11	OTC-HCl 5%	12	90.1 $\pm$ 14.1 ^c	-	-	-	-	-
12	Oxy12	OTC-HCl 10%	12	89.0 $\pm$ 17.7 ^{nc}	-	-	-	-	-
13	Oxy13	OTC 20%	12	73.4 $\pm$ 10.6 ^{nc}	-	-	-	-	-
14	Oxy14*	OTC-HCl 10%	12	104.6 $\pm$ 23.0 ^c	-	-	-	-	-
15	Oxy15	OTC 20%	12	92.0 $\pm$ 13.6 ^c	-	-	-	-	-
16	Oxy16	OTC-2H ₂ O 10%	12	92.0 $\pm$ 10.1 ^c	-	-	-	-	-
17	Oxy17	OTC-2H ₂ O 20%	12	92.5 $\pm$ 18.9 ^c	-	-	-	-	-
18	S-1	SMZ 33.3%	8	-	47.0 $\pm$ 12.6 ^{nc}	-	-	-	-
19	S-2*	SMZ 33%	8	-	30.6 $\pm$ 11.7 ^{nc}	-	-	-	-
20	S-3*	SMZ 33.3%	8	-	27.9 $\pm$ 8.8 ^{nc}	-	-	-	-
21	S-4*	SMZ 33.3%	8	-	27.7 $\pm$ 10.2 ^{nc}	-	-	-	-
22	Ty-1*	Tylosin 20%	8	-	-	91.3 $\pm$ 19.2 ^c	-	-	-
23	Ty-2	Tylosin 20%	8	-	-	75.5 $\pm$ 13.5 ^{nc}	-	-	-
24	P-1	PenG-Na 16.67% + PenG-Pro 83.33%	8	-	-	-	145.1 $\pm$ 38.6 ^{nc}	-	-
25	P-2*	PenG-Na 16.67% + PenG-Pro 83.33%	8	-	-	-	92.9 $\pm$ 15.8 ^c	-	-
26	P.S-1	PenG-Pro 20% + Strep.2H ₂ O-SO ₄ 25%	8	-	-	-	-	96.2 $\pm$ 13.7 ^c	-
27	P.S-2*	PenG-Pro 20% + Strep.2H ₂ O-SO ₄ 25%	8	-	-	-	-	92.4 $\pm$ 17.1 ^c	-
28	P.S-3	PenG-Pro 200,000UI + Strep.2H ₂ O-SO ₄ 20%	8	-	-	-	-	-	102.1 $\pm$ 15.2 ^c

*: drugs from illegal market; all the others drugs were purchased in veterinary pharmacy. N: total repetition number of inhibition tests with the two drug dilutions at different concentrations ($N=2*n$; $n=6$ for oxytetracycline drugs and $n=4$ for all of the others tested medicines). c: compliant to the USP limit requirements (USP, 2006a; 2006b; 2006c; 2006d). nc: non-compliant to the USP limit requirements (USP, 2006a; 2006b; 2006c; 2006d). OTC-HCl : Oxytetracycline hydrochloride, OTC-2H₂O : Oxytetracycline dihydrate, SMZ-Na : sulfamethazine sodium, Tyl-Tar : Tylosin tartrate, PenG: Penicillin G, PenG-Na: Penicillin G sodium, PenG-Pro: Penicillin-Procaïne, Strep.2H₂O-SO₄ : dihydrostreptomycin sulfate, Strep: Streptomycin.

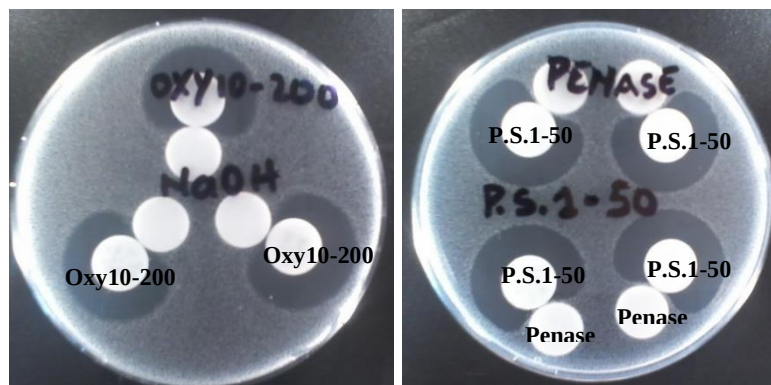


Fig 5: NaOH effect on the inhibition zones of Oxy10 dilution (containing oxytetracycline at 4 $\mu\text{g/mL}$ = 200 ng/50 μL /disc) (Fig. 5A) and penicillinase action on the inhibition zones of P.S-1 dilution (containing both penicillin G and streptomycin at 1 $\mu\text{g/mL}$ = 50 ng/50 μL /disc) (Fig. 5B). Oxy10-200 = disc loaded of 50 μL of Oxy10 dilution at 200 ng/50 μL ; P.S.1-50 = disc loaded of 50 μL of P.S-1 dilution at 50 ng/50 μL ; Penase = disc loaded of 50 μL of Penicillinase at 30 UI/mL; NaOH: disc loaded of 50 μL of NaOH 0.1 N (0.4 %).

DISCUSSION

These study results revealed that all tested drugs contained active antimicrobial ingredient. Qualitative identification tests based on oxytetracycline, sulfamethazine and penicillin G products confirmed their presence in the drugs in conformity with what was written on the label. This situation is similar to that of Korea where all of 9,504 antibiotic drugs of 18,213 veterinary products analyzed from 2006 to 2016 contained the claimed antimicrobial agent (Kang *et al.*, 2017). In Vietnam, a study about antibiotic drugs used in fish farming showed that 2 out of 21 sampled drugs did not contain any of the active antimicrobials declared on label (Phu *et al.*, 2015). Absence of active ingredient was also reported in one batch of human medicine supposed to contain an antibiotic (pyrimethamine), in Democratic Republic of Congo (Atemnkeng *et al.*, 2007).

For the quantitative quality assessment, in the absence of Beninese limit requirements for veterinary drug quality, the United States Pharmacopeia (USP) limits for oxytetracycline (90-120 % of the claimed content on label), sulfamethazine (99-100.5 %), penicillin G (90-115 %) and tylosin (≥ 90 %) (USP, 2006a; 2006b; 2006c; 2006d) were used.

Compared with the USP acceptance limits requirements, 61 % of the tested drugs in this study were compliant. This compliance rate is similar to the 59.6 % (31/52) of compliant tripanocidal drugs found in northern Togo (Tchamdja *et al.*, 2016). On contrary to Benin and Togo situation, only 27 % (6/21) of

analyzed antibiotic products were compliant in Vietnam (Phu *et al.*, 2015). On the contrary, 98 % of veterinary drugs sampled from 2006 to 2016 were found compliant in Korea (Kang *et al.*, 2017).

Most cases of non-compliance in this study were due to a lower antibiotic content than what was claimed, but in one case, 145 % of the declared penicillin G quantity was found (P-1 drug) (Table 4). An over-dosed product was also found in one of the Vietnamese veterinary products, which contained 284 % of claimed florfenicol content (Phu *et al.*, 2015). In the Korean study (Kang *et al.*, 2017), 16.8 % of the 358 non-compliant veterinary drugs were also over-dosed. The same situation was described in Democratic Republic of Congo where antibiotic medicines used for human treatment were found to contain chloroquine, quinine and pyrimethamine in excess in some batches of injectable pharmaceuticals (Atemnkeng *et al.*, 2007).

In total, 39 % of the tested drugs were non-compliant. This non-compliance level is below that of 60 % found for tablets of co-trimoxazole used for human treatment in Ghana and Nigeria (Fadeyi *et al.*, 2015). According to Tchamdja *et al.* (2016), poor quality of veterinary products is found not only in illegal markets but also in official chains of distribution. Indeed, in the northern Togo, 25 % of tripanocidal drugs from official chain were non-compliant whereas 54 % of illegal market medicines were non-compliant (Tchamdja *et al.*, 2016). This repartition is different to that described in this study where 40 % of the drugs from veterinary pharmacies and 38 % of the illegal market medicines were non-compliant. The same observations have been made in Ethiopia with 24 % and 32 % of non-compliant veterinary drugs from official and illegal sources, respectively (Tekle *et al.*, 2018).

As in illegal markets, veterinary antibiotic drugs are kept at room temperature in the veterinary stores. In the North-East Benin as in commune of Kandi, the average temperature is around 25-33 °C with a high variability (Djohy *et al.*, 2015). These temperatures are far higher than the recommended storage temperatures (<15°C and <25°C) on labels of most of the tested antimicrobial drugs (Table 2). That could explain some non-compliant products specially the very low concentration of sulfamethazine products. Tekle *et al.* (2018) notified also that the non-compliance may be attributed to poor storage conditions. The no respect of the Good Manufacturing Practices in the manufacturer companies could be a second cause of this situation. This last reason could be the cause of the over-dosed drug cases. Non-compliance situation seems to be linked to the source of supply and to a lack of quality control during manufacture and storage.

Poor quality of antimicrobial drugs will lead veterinary and breeders to provide medications at sub-therapeutic dosage and subsequent to veterinary treatment failure, excess animal mortality and economic losses. In addition, sub-therapeutic doses of antimicrobials is the most important factor for antimicrobial resistance both among bacterial pathogens associated with specific diseases and the normal bacterial microflora (Cabello, 2006).

The method used in this study to quantify and identify antimicrobial compounds is a microbiological technic based on the inhibition of *B. subtilis* growth in two culture media at different pH. This method is cheaper than most of physico-chemical analyses, easy, accessible and is semi-quantitative. The high coefficient of regression obtained (from 0.96 to 0.99 in table 3) seemed proving low error on estimated concentration of active antimicrobial analyzed. Nevertheless, concentration results showed data with standard deviations (SD) varying up to 38.6 %. This imprecision in SD results can be explained by the determination method of the average $\pm$ SD based on concentration (%) data from two serial inhibition tests at two different level dilutions. In addition, this method did not allow to confirm antimicrobial molecular beyond their groups. Only oxytetracycline, sulfamethazine and penicillin G of the five active antimicrobial compounds in tested drugs have been identified with NaOH, PABA and penicillinase, respectively. Tylosin and streptomycin were not identified in this study. It is necessary to use a confirmation method such as UPLC-MS/MS or HPLC-UV to perform with precision quantification and identification analysis (Phu *et al.*, 2015).

Among the drugs sampled in this study, five active antimicrobial were found in 28 pharmaceuticals purchased in both illegal market and official drug stores. This collection method allowed selecting effectively the products sold to farmers and avoiding expired products given to farmers as gift. The target active antimicrobials were oxytetracycline, sulfamethazine, tylosin, penicillin G and streptomycin.

In conclusion, this study shows a relatively poor quality of veterinary antibiotic drugs sold in Northern Benin, which is most probably a result of the lack of proper import controls and monitoring from the Beninese administration. This study documents a need to strengthen approval procedures and in particular regular monitoring of the quality of antimicrobial drugs used in livestock in Benin. Responsibles of official drug stores should be trained about the necessary conditions of storage of the antibiotic products. Promotion of new veterinary drug stores next to the local livestock markets and in all districts of each commune could reduce the rate of the contraband drugs.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the veterinary products sellers of Parakou, Kandi and Banikoara. They are grateful to DREAM ACP scholarship project, which funded the stay of the first author in Belgium.

COMPETING INTERESTS

The authors declare that they have no financial or personal relationships that may have inappropriately influenced them in writing this article.

REFERENCES

- Adam SK, Boko M. 1993. Le climat du Bénin. In : le Bénin, Ed. Sodimas-Edicef. Paris. 96 p.
- Atemnkeng MA, Chimanuka B, Plaizier-Vercammen J. 2007. Quality evaluation of chloroquine, quinine, sulfadoxine–pyrimethamine and proguanil formulations sold on the market in East Congo DR. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 32: 123–132
- Cabello FC. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture : a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ Microbiol.* 8: 1137–1144. PMID: 16817922.
- DC Fine Chemicals. (no year). [Consulted 21/07/2016] <http://www.dcfinechemicals.com/fr/produits/antibiotics/>.
- Darwish WS, Eldaly EA, El-Abbasy MT, Ikenaka Y, Nakayama S, Ishizuka M. 2013. Antibiotic residues in food: the African scenario. *Japanese Journal of Veterinary Research* 61(Supplement): S13-S22.
- De Briyne N, Atkinson J, Pokludová L, Borriello SP, Price S. 2013. Factors influencing antibiotic prescribing habits and use of sensitivity testing amongst veterinarians in Europe. *The Veterinary Record* 173(19): 475. doi: 10.1136/vr.101454
- Djohy GL, Boï Wosso E, Kinzo NE. 2015. Variabilité climatique et production cotonnière dans la commune de kandi au nord Bénin. *Proceeding du XXVIIIe Colloque de l'Association Internationale de Climatologie. Liège (Belgique).* 325-330.
- Dognon SR, Antoine-Moussiaux N, Douny C, Gustin P, Moula N, Scippo ML, Youssao AKI. 2018a. The use of antibiotics in cattle in North-East Benin : pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders. *Tropical Animal Health and Production* 50(7): 1683-1699. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1612-9>
- Dognon SR, Douny C, Salifou CFA, Ahounou GS, Dognon J, Sessou P, Youssao AKA, Youssao AKI, Scippo M-L. 2018b. Qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires. *Journal of Animal & Plant Sciences* 36 (2): 5858-5878.

- Dognon SR, Degand G, Douny C, Delahaut P, Dahouda M, Youssao AKI, Scippo M-L. 2018c. The modified New Two Plates Test for detecting of tetracycline, beta-lactams and sulfonamides antibiotic residues in kidney and muscle of cattle slaughtered in North-East Benin. *Food Analytical methods*. 11(12): 3406-3416. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1322-y>
- Fadeyi I, Lalani M, Mailk N, Van Wyk A, Kaur H. 2015. Quality of the Antibiotics-Amoxicillin and Co-Trimoxazole from Ghana, Nigeria, and the United Kingdom. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 92(6), 87–94. doi:10.4269/ajtmh.14-0539
- INSAE. 2015. RGPH4 : Que retenir des effectifs de population en 2013 ? République du Bénin. 35 p.
- Kang JW, Park H-C, Jang YH, Hossain MA, Jeong K, Jeong MY, Yun S-J, Park S-W, Kim DG, Lee K-J. 2017. National post-market surveillance assessment of veterinary medicines in Korea during the past decade. *BMC Veterinary Research*. 13:136. DOI 10.1186/s12917-017-1054-z
- Nickell JS, White BJ. 2010. Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. *Vet Clin N Am (Food Anim Pract)*. 26 (2): 285–301.
- Pham Kim D, Degand G, Douny C, Ton DV, Maghuin-Rogister G, Scippo M-L. 2011. Optimisation of a new two-plate screening method for the detection of antibiotic residues in meat. *International Journal of Food Science and Technology*. 46: 2070-2076.
- Phu TM, Phuong NT, Scippo M-L, Dalsgaard A. 2015. Quality of Antimicrobial Products Used in Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Aquaculture in Vietnam. *PLoS ONE*. 10(4): e0124267. doi:10.1371/journal.pone.0124267.
- PubChem (No year). U.S. National library of medicine. National center for biotechnology information. Open chemistry database. [Consulted February 03, 2018] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Tchamdja E, Kulo AE, Akoda K, Teko-Agbo A, Assoumy AM, Niang EM, Batawui K, Adomefa K, Bankolé AA, Kombiagou K, Hoppenheit A, Clausen PH, Mattioli RC, Peter R, Napier GB, De Deken R, Marcotty T, Van Den Abbeele J, Delespaux V. 2016. Drug quality analysis through high performance liquid chromatography of isometamidium chloride hydrochloride and diminazene diacetate purchased from official and unofficial sources in Northern Togo. *Preventive Veterinary Medicine*. 126:151-158. doi: 10.1016/j.prevetmed.2016.02.001.
- Tekle T, Terefe G, Cherenet T, Ashenafi H, Akoda KG, Teko-Agbo A, Van Den Abbeele J, Gari1 G, Clausen P-H, Hoppenheit A, Mattioli RC, Peter R, Marcotty T, Cecchi G, Delespaux V. 2018. Aberrant use and poor quality of trypanocides: a risk for drug resistance in south western Ethiopia. *BMC Veterinary Research* 14:4. DOI 10.1186/s12917-017-1327-6
- Teko-Agbo A, Biaou FC, Akoda K, Faure P, Abiola FA. 2003. Contrefaçons et malfaçons de trypanocides à base de diminazène et d'anthelminthiques contenant de l'albendazole au Bénin et au Togo. *Rev afr Santé Prod Anim*. 1 (1) : 39–47.

USP (United States Pharmacopeia). 2006a. The United States Pharmacopeia Convention 29 and The National Formulary 24. USP Monographs: Oxytetracycline Injection. Rockville, Inc. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m59980.html.

USP (United States Pharmacopeia). 2006b. The United States Pharmacopeia Convention 29 and The National Formulary 24. USP Monographs: Penicillin G Benzathine and Penicillin G Procaine Injectable Suspension. Rockville, Inc. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m61505.html.

USP (United States Pharmacopeia). 2006c. The United States Pharmacopeia Convention 29 and The National Formulary 24. USP Monographs: Sulfamethazine. Rockville, Inc. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m79120.html.

USP (United States Pharmacopeia). 2006d. The United States Pharmacopeia Convention 29 and The National Formulary 24. USP Monographs: Tylosin. Rockville, Inc. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m87000.html.

Chapitre 4

Les pesticides utilisés en agriculture et leur
impact sur la qualité sanitaire de la viande
bovine consommée au Nord-Est du Bénin

Chapitre 4 : Etude 4

L'utilisation des pesticides en agriculture au
Nord-Est du Benin

4.1. Etude 4: L'utilisation des pesticides en agriculture au Nord-Est du Bénin

Les pesticides sont des substances utilisées en agriculture pour protéger les cultures en production. Au Bénin, plusieurs travaux ont porté sur l'inventaire de ces produits et les pratiques liées à leur usage en agriculture (Gbaguidi *et al.*, 2011 ; Agbohessi *et al.*, 2011 ; Hinson *et al.*, 2015). Mais, ces études se sont intéressées la plupart du temps aux pesticides utilisés pour la production du cotonnier, principale culture de rente et d'exportation au Bénin et qui exige l'emploi d'une quantité énorme de pesticides. Or, l'usage des pesticides est devenu fréquent sur toutes autres cultures principalement produites dans les bassins cotonniers béninois.

C'est pourquoi, cette étude a été initiée pour faire un inventaire général des différents pesticides utilisés en agriculture au Nord-Est du Bénin. Cette étude a également permis d'identifier les pratiques à risques susceptibles d'occasionner la contamination de la chaîne alimentaire par des résidus de pesticides. Les résultats ont été obtenus à travers une enquête réalisée auprès de 100 agriculteurs de la zone d'étude.

Les résultats ont montré que 27 matières actives de pesticides étaient enregistrées dans 56 différents produits commerciaux (herbicides et insecticides) utilisés dans la zone d'étude pour la protection des cultures. Ces pesticides sont commercialisés tant par les structures officielles de vente d'intrants agricoles que par le circuit illégal. De plus, peu de producteurs maîtrisent le mode d'emploi de ces produits potentiellement toxiques.

Les résultats obtenus ont été publiés dans la revue “*International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAAR)*”.

Chapitre 4 : Etude 4

The use of pesticides in agriculture in North-East Benin

International Journal of Agronomy and Agricultural Research (2018), 12 (6): 48-43

S.R. Dognon^{1,2*}, H.R. Dognon³, A.K.A. Youssao⁴, M-L. Scippo², A.K.I. Youssao¹

¹ Department of Animal Production and Health, Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

² Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, FARAH-Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

³ Department of Hydrology and Management of Water Resources, National Institute of Water, Laboratory of Applied Hydrology, University of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

⁴ Unit of Research in Ecotoxicology and Study Quality, Laboratory of Research in Applied Chemistry, Polytechnic School of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

*Correspondent author: robertdognon@yahoo.fr



The use of pesticides in agriculture in North-East Benin

Sèmanou Robert Dognon^{*1,2}, Hindé Reine Dognon³, Alassane Youssao Abdou Karim⁴,
Marie-Louise Scippo², Issaka Youssao Abdou Karim¹

¹Department of Animal Production and Health, Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, Cotonou, Benin

²Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, FARA-H-Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, Liège, Belgium

³Department of Hydrology and Management of Water Resources, National Institute of Water, Laboratory of Applied Hydrology, University of Abomey-Calavi, Cotonou, Benin

⁴Unit of Research in Ecotoxicology and Study Quality, Laboratory of Research in Applied Chemistry, Polytechnic School of Abomey-Calavi, Cotonou, Benin

Article published on June 30, 2018

Key words: Pesticide, Agriculture, Survey, Benin

Abstract

In Benin, agriculture sector contributes to 26 % of the Gross Domestic Product in 2016. Intensification of agriculture has led to increase the use of new pesticides. This paper aims to assess practice attitudes of chemical pesticide use by farmers in North-East of Benin. Semi-structured interviews were conducted among 100 farmers chosen by the “snowball sampling” process in the communes of Banikoara, Kandi, Bembereke and Kalale. Survey was focused on farmer status, farming crops, pesticides and their use in agriculture. Descriptive statistics were performed with MS Excel while SAS software was used to perform chi-2 tests. Multiple correspondence analysis and hierarchical classification analysis were conducted to establish a farmer typology. Ninety-one percent of farmers were men and the predominant ethnic groups ($p < 0.01$) were *Bariba* (31 %), *Gando* (29 %) and *Mokole* (23 %). Farmers were mostly uneducated (68 %) ($p < 0.001$). The main activity of these farmers was agriculture (85 %) ($p < 0.001$) before livestock (8 %) and trade (7 %). Surveyed farmers cultivated several crops of which maize (97.9 ± 0.57 %), cotton (88.4 ± 1.26 %) and sorghum (81.1 ± 1.45 %) were predominant ($p < 0.01$). Pesticides were mostly used to grow maize, cotton, sorghum and leguminous by 96, 94, 77 and 67 % of farmers, respectively. Thirteen herbicide active ingredients were found on labels of 21 chemical products while 14 active principles were found from 35 insecticide products. Seventy-eight percent of farmers purchased pesticides both in formal and illegal sectors while 17 % and 5 % of them shopped it from formal sector only and unauthorized market only, respectively. The modals of the pesticide use had sometimes known by 53 % of farmers. Farmers were classed in three groups: cluster 1 was high-risk class while clusters 2 and 3 were lower-risk classes able to cause contamination of environment and foods from animal bred in the study area by the pesticide residues. The use of pesticides as above described, suggests adverse health effects on farmers and on livestock animals.

* **Corresponding Author:** Sèmanou Robert Dognon ✉ robertdognon@yahoo.fr

Introduction

In Benin, agriculture is the second sector (after services) that contributes to 26 % of the Gross Domestic Product in 2016 (The World Bank, 2016; *Unpublished*). Several vegetable crops as cotton are cultivated in this country. Cotton is the main ground-rent crop in the country (Lau *et al.*, 2015). There is a strong link between cotton prices and rural welfare in Benin (Minot and Daniels, 2005). So, cotton culture is very important for this country development. However, cotton plant is very sensitive to several diseases from arthropod ravagers, of which *Helicoverpa armigera* causes mostly nuisances (Alavo *et al.*, 2010). Among all the existing methods of fight, chemical control is the most dominant with spraying of very important annual quantities of various pesticides (Agbohessi *et al.*, 2011). In addition, in relation to rapid human population increase, intensification of agriculture to satisfy food needs and to contribute to global hunger reduction has led to increasing use of new pesticides (Pretty *et al.*, 2011; Tschardtke *et al.*, 2012; Sarwar and Salman, 2015).

Pesticides are very important for food crops production and for human health. These products are used to prevent and/or control undesirable organisms in agriculture or public health (Damalas *et al.*, 2011; Sarwar and Salman, 2015).

Several studies proved that pesticide use involves presence of their residues in environment and caused many nuisances living beings because of pesticide toxicity to animals and human health (Dawson *et al.*, 2010 ; Damalas *et al.*, 2011; Gbaguidi *et al.*, 2011; Mesnage *et al.*, 2014; Aïkpo *et al.*, 2016). Others authors found pesticide residues in foods from vegetables and animals (Krüger *et al.*, 2014; Shehata *et al.*, 2014; Ehling and Reddy, 2015; Ezemonye *et al.*, 2015).

Nevertheless, most of farmers living in some African rural areas used pesticides following bad attitude practices (Agbohessi *et al.*, 2011; Hinson *et al.*, 2015; Negatu *et al.*, 2016). Thus, it was necessary that this study assessed practice attitudes of chemical pesticides by agricultural farmers in North-East of Benin. Different pesticides used in the study area had been inventoried.

Materials and methods

Study area

In this study, data were collected in the departments of Borgou and Alibori in the North-East of Benin (Fig. 1).

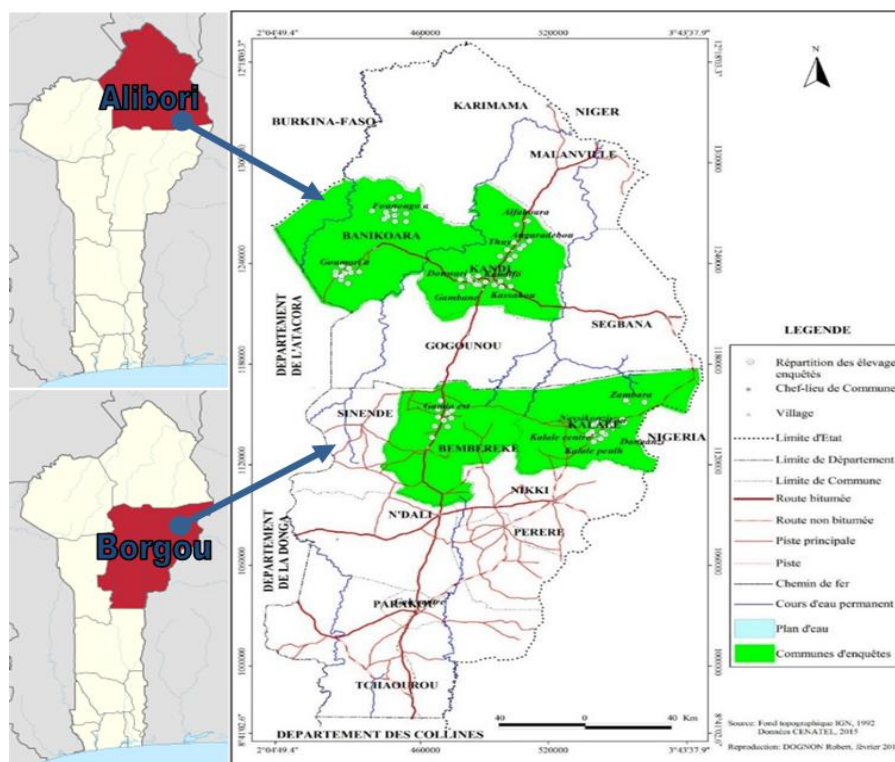


Fig. 1. Location of surveyed farmers in the departments of Borgou and Alibori.

Int. J. Agron. Agri. R.

The department of Alibori is located in the extreme North of Benin. It is bounded on the East by the Federal Republic of Nigeria, to the North by the republics of Burkina-Faso and Niger, to the South by the department of Borgou and to the West by the department of Atacora.

It has an area of 26,242 km² (23 % of national territory) and a population estimated at 867,463 inhabitants (8.7 % of the national population) in 2013 (INSAE, 2015, *Unpublished*).

The climate is Sudano-Sahelian and the annual rainfall varies between 700 and 1200 mm (Adam et Boko, 1993).

The Department of Borgou covers 25,856 km². It is bounded to the North by the department of Alibori, South by the departments of Collines and Donga, to the East by the Federal Republic of Nigeria, and to the West by the department of Atacora.

Its population was estimated at 1,214,249 inhabitants (12.1% of the national population) in 2013 (INSAE, 2015; *Unpublished*). The climate is Sudanese type and the annual rainfall varies from 900 to 1300 mm (Adam et Boko, 1993).

In the two departments, the main activity of the populations is agriculture that is family-type. Livestock is very developed with large herds of cattle, sheep, goats, poultry, etc.

Interviews

Choice of the survey communes

Four communes were chosen following two steps. Firstly, according to data available in activity reports of the Regional Agricultural Centre for Rural Development of the departments of Borgou and Alibori, the first three communes of cotton production in 2014-2015 were pre-selected by department. Among these preselected communes, the first two, which had more bovine herd were chosen in each department. In fine, the communes of Banikoara and Kandi in the department of Alibori ; Bembereke and Kalale in Borgou were selected (Fig. 1).

Choice of the surveyed farmers

Farmers were selected according to the "snowball sampling " process. The first respondents were chosen with the help of the service of Communal Sector for Agricultural Development in each selected commune. Four Specialized Technicians of Vegetable Production (TSPV) were interviewed as key informants. The first respondents helped to choose the followed surveyed farmers. The availability of respondents to provide the maximum of information was a key factor in their choice. A total of 100 farmers were interviewed (25 farmers by commune).

Data collection

From September to November 2015, semi-structured interviews were conducted in face to face with each of the selected farmers. With the help of a translator, interviews were conducted in local languages on the topics relating to the farmer status, grown crops, pesticides used and attitude practices of farmer to apply pesticides. Some informations such as cultivated superficie of each crop, pesticide used on vegetable and pesticide sources were systematically recorded to be analyzed quantitatively.

Data analysis

Data from semi-structured survey were translated in a structured form in MS Excel 2013 to perform descriptive statistics. SAS software (version 9) was used to perform chi-2 test for the statistical comparisons between proportions of each modality. In the data base, surveyed farmers were numbered from 1 to 100 following the interview rank. Banikoara farmers were numbered from 1 to 25, those of Kandi 26 to 50, those of Bembèrèkè 51 to 75 and those of Kalalé 76-100.

R software version 3.2.5 (package Facto Mine R, functions MCA and HCPC) was used as described by Husson *et al.* (2017) to perform multiple correspondence analysis (MCA) and hierarchical classification analysis (HCA) of variables related to risk practices in the use of pesticides by farmers. MCA is a statistical method to analyze the pattern of relationships between a set of qualitative variables.

Int. J. Agron. Agri. R.

This method projects the variable modalities on maps based on their correlations. As for the HCA, it based on the MCA results in order to project each of the farmers according to their modalities on an area map defined by virtual axis.

This algorithmic approach allowed defining hierarchically discrete groups (clusters) following the branches of a dendrogram. MCA and HCA results were interpreted as described by Dognon *et al.* (2018).

In this study, 9 variables with 26 modalities were used (Table 1) in order to establish a typology of the farmers according to their practices. Statistical comparisons were performed between farmer proportions (p) relative to different modalities of the clusters by determining confidence intervals (CIs) at 95 % using the formula $CI = 1.96 * \sqrt{p(100 - p)/n}$ (n=total number in the sampled population). Each farmer cluster was then classified according to the risk-group using an assessment grid of practices able

to cause contamination of environment and food products by pesticide residues (Table 2 adapted from Dognon *et al.* (2018)).

This assessment grid was based on modalities linked to good practices of pesticide use. In relation to each of these modalities, the risk was considered as high, medium and low if proportion of associate farmers was lower than 20 %, between 20 % and 50 %, and above 50 % of the total cluster farmers, respectively (Table 2). The risk level of each cluster was taken as the highest rate presented by the cluster across the grid.

Results

Farmer status

Table 3 shows the proportions of farmers in relation to their status modalities and the results of significance tests between the final proportions and between farmer percentages following sampled commune. Ninety-one percent of farmers were men. Seventy-four percent of the responding had age ranging from 30 to 59 old years.

Table 1. Codes of modalities used for the MCA and the HCA.

Variables	Modalities	Codes
Commune	Bembèrèkè	bke
	Kandi	kdi
	Banilkoara	bnk
Instruction level	Kalalé	kal
	No instruction	insto
	Primary school	inst1
Local language literate	Secondary school	inst2
	No	lango
	Yes	lang1
Knowledge of use modal of the pesticides	No	knowo
	Yes	know1
	Yes sometimes	know2
Technician helping	No	techo
	Yes	tech1
	Yes sometimes	tech2
Purchase site of the pesticides	Market	sourceM
	SCDA	sourceS
	SCDA and market	sourceT
Management of empty bottles	No disposal precaution	bottleo
	Burnt	bottle1
	Recycled for sell	bottle2
	Buried	bottle3
Pasturing of crop residues by own bovines	Recycled for use	bottle4
	No	pasto
	Yes	past1
Pasturing of crop residues by other bovines	Yes	past

Int. J. Agron. Agri. R.

The predominant ethnic groups were *Bariba* (31 %), *Gando* (29 %) and *Mokole* (23 %).

Farmers were mostly uneducated (68 %) ($p < 0.001$) with a rate of literacy in local languages of 35 %. Islam was the predominant religion (71 %) before

Christianity (26 %). Proportion of farmers who practiced agriculture as the main activity (85 %) was significantly higher ($p < 0.001$) than farmers whose livestock (8 %) and trade (7 %) were the main activities.

Table 2. Assess grid of the risk level of practices able to cause contamination of foods from animals bred in the area by pesticide residues (Adapted from Dognon et al. (2018)).

Variable (good modality with low risk)	Percentages of farmers who respect the modality with low risk		
	Proportion lower than 20 % of farmers	Proportion between 20 and 50 % of farmers	Proportion higher than 50 % of farmers
Instruction level : primary or secondary school	High	Medium	Low
Local language literate : yes	High	Medium	Low
Knowledge of use modal : yes	High	Medium	Low
Technician helping : yes	High	Medium	Low
Purchase site : SCDA	High	Medium	Low
Management of empty bottles : buried or burnt	High	Medium	Low
Pasturing of crop residues by own bovines : no	High	Medium	Low
Pasturing of crop residues by other bovines : no	High	Medium	Low

High : high-risk able to cause contamination of foods from animal bred in the area by pesticide residues,
 Medium : medium-risk able to cause contamination of foods from animal bred in the area by pesticide residues,
 Low : low-risk able to cause contamination of foods from animal bred in the area by pesticide residues.

Crops cultivated by farmers from 2006 to 2015

Surveyed farmers cultivated several crops from 2006 to 2015 in order to satisfy food needs and get necessary income for other want. Fig. 2 shows proportions of farmers following grown crops during last decade. From 2006 to 2015, maize, cotton and sorghum were cultivated by 97.9 ± 0.57 , 88.4 ± 1.26 and 81.1 ± 1.45 % of the farmers, respectively. Other grown crops were leguminous (59.4 ± 7.46 %), roots and tubers (41.6 ± 0.97 %), rice (20.9 ± 2.96 %) gardening (16.5 ± 1.51 %), etc. These percentages were significantly different ($p < 0.01$) from the one crop to the other.

Use of pesticides following different grown crops

Table 4 shows the use of pesticides by farmers following grown crops and sampled communes. It results that the use of pesticide was not the same for all crops. Farmers on all crop fields used herbicides while insecticides were used only in three grown crops such as cotton, leguminous and gardening. Generally, pesticides were mostly used for growing maize (herbicide), cotton (herbicide and insecticide),

sorghum (herbicide) and leguminous (herbicide and insecticide) by 96, 94, 77 and 67 % of the farmers, respectively.

In the cotton fields, both non-selective and pre-emergent herbicides were used while only non-selective weedkillers containing glyphosate as active ingredient were mostly used in others crop fields. Then, non-selective herbicides are sprayed on weeds before ploughing.

Pesticides used by farmers in 2015

Herbicides and insecticides were the two pesticide types registered among farmers during the survey in 2015. Table 5 shows herbicide products used in agriculture by the responding farmers.

According to the label informations, 12/21 herbicide products were single compounds while the nine others weedkillers were mixtures of at least two active elements. Cottonex PG 560SC and nicomaïs were the mostly herbicide products used by 55 ± 9.75 % and 47 ± 9.78 % of the farmers, respectively.

Int. J. Agron. Agri. R.

Table 3. Status of farmers.

Variables and modalities	Proportion of farmers (%)	Distribution in communes (%)			
		Bnk	Kdi	Bke	Kal
Sex					
Male	91 ^a	24.18 ^e	27.47 ^e	23.08 ^e	25.27 ^e
Female	9 ^b	33.33 ^e	0.00 ^f	44.44 ^e	22.22 ^{ef}
Ages (years)					
Age < 30	9 ^b	22.22 ^e	33.33 ^e	22.22 ^e	22.22 ^e
30 ≤ Age ≤ 59	74 ^a	24.32 ^e	28.38 ^e	25.68 ^e	21.62 ^e
Age ≥ 60	17 ^b	29.41 ^{ef}	5.88 ^f	23.53 ^{ef}	41.18 ^e
Ethnic groups					
Bariba	31 ^a	61.29 ^e	3.23 ^h	35.48 ^f	0.00 ^h
Gando	29 ^a	0.00 ^h	0.00 ^h	24.14 ^f	75.86 ^e
Mokole	23 ^a	0.00 ^f	100.00 ^e	0.00 ^f	0.00 ^f
Fulani	8 ^b	75.00 ^e	0.00 ^f	12.50 ^f	12.50 ^f
Djerma	7 ^b	0.00 ^f	14.29 ^f	71.43 ^e	14.29 ^f
Boo	1 ^c	0.00 ^e	0.00 ^e	0.00 ^e	100.00 ^e
Nago	1 ^c	0.00 ^e	0.00 ^e	100.00 ^e	0.00 ^e
Instruction level					
Uneducated	68 ^a	32.35 ^e	17.65 ^f	22.06 ^{ef}	27.94 ^{ef}
Primary school	15 ^b	13.33 ^f	46.67 ^e	33.33 ^{ef}	6.67 ^f
Secondary school	17 ^b	5.88 ^f	35.29 ^e	29.41 ^{ef}	29.41 ^{ef}
Local language literate					
No	65 ^a	29.23 ^e	29.23 ^e	27.69 ^e	13.85 ^f
Yes	35 ^b	17.14 ^f	17.14 ^f	20.00 ^f	45.71 ^e
Religion					
Islam	71 ^a	23.94 ^e	29.58 ^e	25.35 ^e	21.13 ^e
Christianity	26 ^b	23.08 ^e	15.38 ^e	23.08 ^e	38.46 ^e
Non-religious	3 ^c	66.67 ^e	0.00 ^e	33.33 ^e	0.00 ^e
Principal activities					
Agriculture	85 ^a	21.18 ^e	24.71 ^e	25.88 ^e	28.24 ^e
Breeding	8 ^b	75.00 ^e	0.00 ^f	12.50 ^f	12.50 ^f
Trade	7 ^b	14.29 ^{ef}	57.14 ^e	28.57 ^{ef}	0.00 ^f
Secondary activities					
Breeding	65 ^a	20.00 ^e	26.15 ^e	30.77 ^e	23.08 ^e
Agriculture	15 ^b	46.67 ^e	26.67 ^{ef}	20.00 ^{ef}	6.67 ^f
Trade	20 ^b	25.00 ^{ef}	20.00 ^{ef}	10.00 ^f	45.00 ^e

Bnk : Banikoara ; Kdi : Kandi ; Bke : Bembereke ; Kal : Kalale ; Letters a, b and c were used to notify significant difference between proportions of modalities for the same variable; Letters e, f and h were used to notify significant difference between proportions of the same modality in different communes.

These last proportions were significantly different to the percentages of farmers using others weedkillers ($p < 0.05$). A total of 13 active ingredients were registered from these herbicide products. Glyphosate, prometryn and fluometuron were the most represented active agents present in 11, 6 and 5 different products, respectively. Eighty-six percent of herbicide products had their active agent on the list of authorized pesticide by the National Comity of Consent and Control of Phytopharmaceutical Products in Benin (CNAC, 2014; unpublished).

As for the insecticides, 14 active agents were registered from the 35 trade products which 40 % were single compound (Table 6).

Twenty-one products of them were mixtures of two or three active ingredients.

Ema star 112 EC was the insecticide mostly used by the farmers (89 ± 6.13 %) before Acer 35EC (78 ± 8.12 % of farmers) and Cutter 112EC (47 ± 9.78 % of farmers) ($p < 0.05$) (Table 6).

Acetamipride and λ -Cyhalothrin were the most ($p < 0.05$) active ingredients in 37 and 25.7 % of the insecticide products. Cypermethrin, profenofos, and emamectine were present in 22.8, 20 and 20 % of insecticide products with no significant difference ($p > 0.05$).

All active agents were found on the list of authorized pesticide by the National Comity of Consent and Control of Phytopharmaceutical Products in Benin (CNAC, 2014; unpublished), but only 15 products of them had their trade name on that list.

Int. J. Agron. Agri. R.

Table 4. Proportions of farmers using pesticides following crops in the sampled communes.

Variables and modalities	Proportion of farmers (%)	Distribution in communes (%)			
		Bnk	Kdi	Bke	Kal
Maize					
Herbicide	96 ^a	26.04 ^e	26.04 ^e	22.92 ^e	25.00 ^e
No use of pesticide	4 ^b	0.00 ^f	0.00 ^f	75.00 ^e	25.00 ^f
Cotton					
Herbicide and Insecticide	94 ^a	26.60 ^e	26.60 ^e	21.28 ^e	25.53 ^e
No use of pesticide	6 ^b	0.00 ^f	0.00 ^f	83.33 ^e	16.67 ^f
Sorghum					
Herbicide	77 ^a	27.27 ^e	25.97 ^e	20.78 ^e	25.97 ^e
No use of pesticide	23 ^b	17.39 ^e	21.74 ^e	39.13 ^e	21.74 ^e
Leguminous					
Herbicide and Insecticide	26 ^b	53.85 ^e	15.38 ^h	3.85 ^h	26.92 ^f
Insecticide	41 ^a	0.00 ^h	46.34 ^e	34.15 ^{ef}	19.51 ^f
No use of pesticide	33 ^{ab}	33.33 ^e	6.06 ^f	30.30 ^e	30.30 ^e
Gardening					
Herbicide and Insecticide	15 ^b	20.00 ^{ef}	33.33 ^e	0.00 ^f	46.67 ^e
Insecticide	14 ^b	7.14 ^f	21.43 ^{ef}	28.57 ^{ef}	42.86 ^e
No use of pesticide	71 ^a	29.58 ^e	23.94 ^e	29.58 ^e	16.90 ^e
Rice					
Herbicide	22 ^b	22.73 ^e	31.82 ^e	18.18 ^e	27.27 ^e
No use of pesticide	78 ^a	25.64 ^e	23.08 ^e	26.92 ^e	24.36 ^e
Roots and tubers					
Herbicide	17 ^b	23.53 ^e	0.00 ^f	47.06 ^e	29.41 ^e
No use of pesticide	83 ^a	25.30 ^e	30.12 ^e	20.48 ^e	24.10 ^e

Bnk : Banikoara ; Kdi : Kandi ; Bke : Bembereke ; Kal : Kalale ; Letters a and b were used to notify significant difference between modality proportions for the same variable; Letters e, f and h were used to notify significant difference between proportions of the same modality in different communes.

Table 5. Herbicides used by responding farmers in 2015.

N°	Trade names	Active ingredients	Farmer frequency±CI(%)
1	Cottonex PG 560SC	Fluometuron+ Prometrin+ Glyphosate	55±9.75 ^a
2	Nicomaïs	Nicosulfuron	47±9.78 ^a
3	Spring PFG 560SC**	Fluometuron+ Prometrin+ Glyphosate	29±8.89 ^b
4	Kalach 360SL	Glyphosate	28±8.80 ^b
5	Spider**	Fluometuron+ Prometrin+ Glyphosate	28±8.80 ^b
6	Glyphos 360 SL	Glyphosate	26±8.60 ^b
7	Glyphospring 410SL**	Glyphosate	26±8.60 ^b
8	Glycel 41%	Glyphosate	18±7.53 ^{bc}
9	JAF PFG**	Fluometuron+ Prometrin+ Glyphosate	13±6.59 ^c
10	Atra force*	Atrazine#	8±5.32 ^c
11	Buster*	Butachlor	1±1.95 ^d
12	Buta force*	Butachlor	1±1.95 ^d
13	Callifor G	Fluometuron+ Prometrin+ Glyphosate	1±1.95 ^d
14	Force Up**	Glyphosate	1±1.95 ^d
15	GALLANT Super	Haloxypol methyl ester	1±1.95 ^d
16	Garill	Triclopyr+ Propanil	1±1.95 ^d
17	Glyphogan 360SL	Glyphosate	1±1.95 ^d
18	Lagon 380 SC	Isoxaflutole+ Aclonifene	1±1.95 ^d
19	ITABARKA**	Prometrin	1±1.95 ^d
20	Terbulor	Metolachlor+ Terburnin	1±1.95 ^d
21	TRIPRO	Triclopyr+ Propanil	1±1.95 ^d

Farmer frequency (%): proportion of farmer using product. CI: Confidence interval at 95 %. Letters from a to d were used to notify significant difference between the percentages. *: Product that trade name and actives ingredients were not found on the list of authorized pesticide by the National Comity of Consent and Control of Phytopharmaceutical Products (CNAC) in Benin (CNAC, 2014; unpublished). **: Product that trade name was not found on the list of authorized pesticide of CNAC (2014; unpublished) while actives agents were found on that list.

Practices of use of pesticides in the area study

All surveyed farmers used pesticides for control and prevention of harmful organisms.

Table 7 shows practices of use of pesticides. Seventy-eight percent of farmers purchased pesticides in both

authorized shop of communal sector for agricultural developpment (SCDA) and illegal market while 17 % and 5 % of them shopped from SCDA only and illegal market only, respectively.

Int. J. Agron. Agri. R.

Table 6. Insecticides used by the responding farmers in 2015.

N°	Trade names	Active ingredients	Farmer frequency $\pm$ CI (%)
1	Ema star 112 EC	Emamectine+ Acetamipride	89 $\pm$ 6.13 ^a
2	Acer 35EC**	λ -Cyhalothrin+Acetamipride	78 $\pm$ 8.12 ^b
3	Cutter 112EC	Emamectine+ Acetamipride	47 $\pm$ 9.78 ^c
4	Napeco Metafos**	Emamectine+ Acetamipride	33 $\pm$ 9.22 ^{cd}
5	LAMENET 46EC**	λ -Cyhalothrin+Acetamipride	25 $\pm$ 8.49 ^d
6	Caïman B**	Emamectine	10 $\pm$ 5.88 ^e
7	Lamber**	λ -Cyhalothrin+Acetamipride	10 $\pm$ 5.88 ^e
8	Sharp Shoster**	Cypermethrin+Profenofos	10 $\pm$ 5.88 ^e
9	Conquest 88	Cypermethrin+ Acetamipride	7 $\pm$ 5.00 ^{ef}
10	Chemaprid**	Cypermethrin+ Acetamipride	3 $\pm$ 3.34 ^f
11	Karto Super 2.5 EC**	λ -Cyhalothrin	3 $\pm$ 3.34 ^f
12	Aceta star**	Bifenthrin+ Acetamipride	2 $\pm$ 2.74 ^f
13	Conquest plus 388EC	Cypermethrin+ Acetamipride+ Triazophos	2 $\pm$ 2.74 ^f
14	Cyperkill 10EC**	Cypermethrin	2 $\pm$ 2.74 ^f
15	EMA SUPER 56 DC	Emamectine+ Acetamipride	2 $\pm$ 2.74 ^f
16	Fanga 500EC	Profenofos	2 $\pm$ 2.74 ^f
17	KD+**	λ -Cyhalothrin+ Chlorpyriphos	2 $\pm$ 2.74 ^f
18	Lampride**	λ -Cyhalothrin+ Acetamipride	2 $\pm$ 2.74 ^f
19	Moacartarine**	λ -Cyhalothrin+ Acetamipride	2 $\pm$ 2.74 ^f
20	Nurelle D 35/300	Cypermethrin+ Chlorpyriphos ethyl	2 $\pm$ 2.74 ^f
21	Profenet 500 EC**	Profenofos	2 $\pm$ 2.74 ^f
22	Steward 150 EC	Indoxacarbe	2 $\pm$ 2.74 ^f
23	Tenor 500 EC**	Profenofos	2 $\pm$ 2.74 ^f
24	Thunder 145 o-teq	Imidaclopride+ Beta-cyfluthrin	2 $\pm$ 2.74 ^f
25	Tihan 175 o-teq	Spirotetramate+ Flubendiamide	2 $\pm$ 2.74 ^f
26	CALIF 500EC	Profenofos	1 $\pm$ 1.95 ^f
27	Champion Cyhalon 2.5 EC**	λ -Cyhalothrin	1 $\pm$ 1.95 ^f
28	D-BAN Super 480EC**	Chlorpyrifos-ethyl	1 $\pm$ 1.95 ^f
29	Emacot 019EC	Emamectine	1 $\pm$ 1.95 ^f
30	Emectine 19.2EC**	Emamectine	1 $\pm$ 1.95 ^f
31	EMIR 88EC	Cypermethrin+ Acetamipride	1 $\pm$ 1.95 ^f
32	FAIZER**	Indoxacarbe	1 $\pm$ 1.95 ^f
33	Lamdacal P 315 EC	λ -Cyhalothrin+ Profenofos	1 $\pm$ 1.95 ^f
34	Nurelle D 36/200	Cypermethrin+ Chlorpyriphos ethyl	1 $\pm$ 1.95 ^f
35	Profenofos**	Profenofos	1 $\pm$ 1.95 ^f

Farmer frequency (%): proportion of farmer using product; CI: Confident interval at 95 %; Letters from a to f were used to notify significant difference between percentages. **: Product that trade name was not found on the list of authorized pesticide by the CNAC (2014, unpublished) in Benin while actives ingredients were found on that list.

Proportion of farmers who purchased pesticides in SCDA shop exclusively was more in Banikoara (47.06 %) and Kalale (47.06 %) than Kandi (5.88 %) and Bembereke (0 %). This last commune had the highest proportion (80 %) of farmers who solely got pesticides from illegal market.

The modals of the pesticide use had sometimes been known by 53 % of farmers and regularly known by

45 % of them. Sixteen percent of the farmers were not ever assisted by the technicians of vegetable production.

As for the management of pesticide empty bottles, “no disposal precaution” (60 %) was the dominant modality ($p < 0.001$). Others pesticide empty bottles were burnt (17 %), recycled for sell (12 %), buried (6 %) and recycled for other use (5 %).

Int. J. Agron. Agri. R.

Table 7. Practice of use of pesticides.

Variables and modalities	Proportion of farmers (%)	Distribution in communes (%)			
		Bnk	Kdi	Bke	Kal
Purchase site					
SCDA and Market	78 ^a	21.79 ^e	29.49 ^e	26.92 ^e	21.79 ^e
SCDA	17 ^b	47.06 ^e	5.88 ^f	0.00 ^f	47.06 ^e
Market	5 ^c	0.00 ^f	20.00 ^f	80.00 ^e	0.00 ^f
Knowledge of use modal					
Yes sometimes	53 ^a	43.40 ^e	43.40 ^e	9.43 ^f	3.77 ^f
Yes	45 ^a	4.44 ^f	4.44 ^f	44.44 ^e	46.67 ^e
No	2 ^b	0.00 ^f	0.00 ^f	0.00 ^f	100.00 ^e
Technician helping					
Yes sometimes	52 ^a	46.15 ^e	44.23 ^e	9.62 ^f	0.00 ^h
Yes	32 ^b	3.13 ^f	6.25 ^f	43.75 ^e	46.88 ^e
No	16 ^c	0.00 ^f	0.00 ^f	37.50 ^e	62.50 ^e
Management of empty bottles					
No disposal precaution	60 ^a	36.67 ^e	15.00 ^f	28.33 ^{ef}	20.00 ^f
Burnt	17 ^b	0.00 ^f	17.65 ^f	29.41 ^e	52.94 ^e
Recycled for sell	12 ^{bc}	0.00 ^f	83.33 ^e	16.67 ^f	0.00 ^f
Buried	6 ^c	0.00 ^f	16.67 ^f	16.67 ^f	66.67 ^e
Recycled for use	5 ^c	60.00 ^e	40.00 ^{ef}	0.00 ^f	0.00 ^f
Knowledge of adverse effect of pesticides					
No effect	42 ^a	45.24 ^e	23.81 ^f	23.81 ^f	7.14 ^h
Human diseases	24 ^b	25.00 ^f	0.00 ^h	0.00 ^h	75.00 ^e
Animal diseases	18 ^b	0.00 ^f	44.44 ^e	55.56 ^e	0.00 ^f
Animal and human diseases	16 ^b	0.00 ^f	43.75 ^e	31.25 ^e	25.00 ^e
Bovine herd holder					
Yes	85 ^a	29.41 ^e	27.06 ^e	14.12 ^f	29.41 ^e
No	15 ^b	0.00 ^f	13.33 ^f	86.67 ^e	0.00 ^e
Pasturing of crop residues by own bovines					
Yes	84 ^a	29.76 ^e	27.38 ^e	13.10 ^f	29.76 ^e
No	16 ^b	0.00 ^f	12.50 ^f	87.50 ^e	0.00 ^f
Pasturing of crop residues by other bovines					
Yes	100	25.00 ^e	25.00 ^e	25.00 ^e	25.00 ^e

Bnk : Banikoara ; Kdi : Kandi ; Bke : Bembereke ; Kal : Kalale ; Letters a, b and c were used to notify significant difference between proportions of modalities for the same variable; Letters e, f and h were used to notify significant difference between proportions of the same modality in different communes.

Many farmers (42 %) declared that they did not know any adverse effect caused by pesticides on animal and human beings.

This proportion is significantly upper ($p < 0.01$) than that of others farmer categories who recognized that pesticides use could cause human diseases (24 %), animal diseases (18 %) and, both animal and human diseases (16 %).

According to the farmers, animal illnesses could be respiratory diseases and swollen stomach which caused sometimes animal death.

As for the human diseases, farmers declared that pesticides made themselves feel dizzy. Eighty-five percent of farmers were bovine herd holders.

These cattle pastured crop residues in 84 % of their older fields; but all surveyed farmers declared that others bovines got pasture in their fields.

Typology of farmers according to risky practices

Multiple correspondence analysis

Three axes were retained for interpreting the results of the multiple correspondence analyses (MCA).

Int. J. Agron. Agri. R.

Table 8. Distribution of farmers in the three classes according to the whole modalities.

Variables/Modalities	Farmer number (n=100)	Proportions of farmer distribution in the clusters (% $\pm$ CI)		
		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Commune				
Bembèrèkè	25	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	6.9 $\pm$ 9.2 ^b
Kandi	25	50.0 $\pm$ 14.1 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	3.4 $\pm$ 6.6 ^b
Banikoara	25	50.0 $\pm$ 14.1 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	3.4 $\pm$ 6.6 ^b
Kalalé	25	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	86.2 $\pm$ 12.6 ^a
Instruction level				
No instruction	68	70.8 $\pm$ 12.9 ^a	56.5 $\pm$ 20.3 ^a	72.4 $\pm$ 16.3 ^a
Primary school	15	16.7 $\pm$ 10.5 ^a	21.7 $\pm$ 16.9 ^a	6.9 $\pm$ 9.2 ^a
Secondary school	17	12.5 $\pm$ 9.4 ^a	21.7 $\pm$ 16.9 ^a	20.7 $\pm$ 14.7 ^a
Local language literate				
No	65	79.2 $\pm$ 11.5 ^a	78.3 $\pm$ 16.9 ^a	31.0 $\pm$ 16.8 ^b
Yes	35	20.8 $\pm$ 11.5 ^b	21.7 $\pm$ 16.9 ^b	69.0 $\pm$ 16.8 ^a
Knowledge of use modal				
No	2	0.0 $\pm$ 0.0 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^a	6.9 $\pm$ 9.2 ^a
Yes	45	4.2 $\pm$ 5.7 ^b	78.3 $\pm$ 16.9 ^a	86.2 $\pm$ 12.6 ^a
Yes sometimes	53	95.8 $\pm$ 5.7 ^a	21.7 $\pm$ 16.9 ^b	6.9 $\pm$ 9.2 ^b
Technician helping				
No	16	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	21.7 $\pm$ 16.9 ^a	37.9 $\pm$ 17.7 ^a
Yes	32	4.2 $\pm$ 5.7 ^b	56.5 $\pm$ 20.3 ^a	58.6 $\pm$ 17.9 ^a
Yes sometimes	52	95.8 $\pm$ 5.7 ^a	21.7 $\pm$ 16.9 ^b	3.4 $\pm$ 6.6 ^c
Purchase site				
Market	5	2.1 $\pm$ 4.0 ^{ab}	17.4 $\pm$ 15.5 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b
SCDA	17	18.8 $\pm$ 11.0 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	27.6 $\pm$ 16.3 ^a
SCDA and market	78	79.2 $\pm$ 11.5 ^a	82.6 $\pm$ 15.5 ^a	72.4 $\pm$ 16.3
Management of empty bottles				
No disposal	60	62.5 $\pm$ 13.7 ^{ab}	69.6 $\pm$ 18.8 ^a	48.3 $\pm$ 18.2 ^b
precaution				
Burnt	17	4.2 $\pm$ 5.7 ^b	17.4 $\pm$ 15.5 ^b	37.9 $\pm$ 17.7 ^a
Recycled for sell	12	20.8 $\pm$ 11.5 ^a	8.7 $\pm$ 11.5 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b
Buried	6	2.1 $\pm$ 4.0 ^a	4.3 $\pm$ 8.3 ^a	13.8 $\pm$ 12.6 ^a
Recycled for use	5	10.4 $\pm$ 8.6 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b
Pasturing of crop residues by own bovines				
No	16	4.2 $\pm$ 5.7 ^b	60.9 $\pm$ 19.9 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b
Yes	84	95.8 $\pm$ 5.7 ^a	39.1 $\pm$ 19.9 ^b	100.0 $\pm$ 0.0 ^a
Pasturing of crop residues by other bovines				
Yes	100	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a

CI: Confidence interval at 95 %; Letters a, b and c were used to notify significant difference between proportions of modalities about in clusters.

The analysis of the indicator matrix shown respectively for the axes 1, 2 and 3 a value of 18.69 %, 13.06 % and 9.77 % of the total inertia (Fig. 3 and 4).

The component 1 opposes the districts of Banikoara and Kandi, associated to modalities of farmers who did not follow local language literate, who sometimes know the use modal of the pesticides and get agricultural technician helps for the pesticide use (negative coordinates, Fig. 3), to the district of Kalalé, where some farmers received local language lecture and were not helped by the agricultural technicians (positive coordinates, Fig. 3).

The component 2 discriminates the group of modalities related to farmers in the district of Bembèrèkè (positive coordinates, Fig. 3) to other groups of farmers in Banikoara on the one hand and Kalalé on the other hand (negative coordinates, Fig. 3).

As for the component 3, it opposes farmers who purchase pesticides from legal shop (SCDA) to those who use local market as sources of supply of pesticides.

Int. J. Agron. Agri. R.

Hierarchical classification analysis and description of classes

Fig. 4 shows the projection of individual farmers on the plane defined by the factorial axes 1 and 2, which allowed observing the affinity groups in three

clusters, holding 48 % of the total variability between groups. Table 8 shows the distribution of farmers in the three classes according to all modalities of which the most relevant by farmer class are presented in Table 9.

Table 9. Distribution of farmers in the three classes according to the most relevant modalities (percentage of modalities compared to the farmer number in each cluster).

Variables/Modalities	Proportions of farmer distribution in the clusters (% $\pm$ CI)		
	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Specific modalities to cluster 1			
Commune : Kandi	50.0 $\pm$ 14.1 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	3.4 $\pm$ 6.6 ^b
Commune : Banikoara	50.0 $\pm$ 14.1 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	3.4 $\pm$ 6.6 ^b
Knowledge of use modal : yes sometimes	95.8 $\pm$ 5.7 ^a	21.7 $\pm$ 16.9 ^b	6.9 $\pm$ 9.2 ^b
Technician helping : yes sometimes	95.8 $\pm$ 5.7 ^a	21.7 $\pm$ 16.9 ^b	3.4 $\pm$ 6.6 ^c
Management of empty bottles : recycled for sell	20.8 $\pm$ 11.5 ^a	8.7 $\pm$ 11.5 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b
Management of empty bottles : recycled for use	10.4 $\pm$ 8.6 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b
Specific modalities to cluster 2			
Commune : Bembèrèkè	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	6.9 $\pm$ 9.2 ^b
Pasturing of crop residues by own bovines : no	4.2 $\pm$ 5.7 ^b	60.9 $\pm$ 19.9 ^a	0.0 $\pm$ 0.0 ^b
Specific modalities to cluster 3			
Commune : Kalalé	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	86.2 $\pm$ 12.6 ^a
Local language literate : yes	20.8 $\pm$ 11.5 ^b	21.7 $\pm$ 16.9 ^b	69.0 $\pm$ 16.8 ^a
Management of empty bottles : burnt	4.2 $\pm$ 5.7 ^b	17.4 $\pm$ 15.5 ^b	37.9 $\pm$ 17.7 ^a
Common modalities to at least two clusters			
Pasturing of crop residues by other bovines : yes	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a
Purchase site : SCDA and market	79.2 $\pm$ 11.5 ^a	82.6 $\pm$ 15.5 ^a	72.4 $\pm$ 16.3 ^a
Instruction level : no instruction	70.8 $\pm$ 12.9 ^a	56.5 $\pm$ 20.3 ^a	72.4 $\pm$ 16.3 ^a
Local language literate : no	79.2 $\pm$ 11.5 ^a	78.3 $\pm$ 16.9 ^a	31.0 $\pm$ 16.8 ^b
Management of empty bottles : no disposal precaution	62.5 $\pm$ 13.7 ^{ab}	69.6 $\pm$ 18.8 ^a	48.3 $\pm$ 18.2 ^b
Pasturing of crop residues by own bovines : yes	95.8 $\pm$ 5.7 ^a	39.1 $\pm$ 19.9 ^b	100.0 $\pm$ 0.0 ^a
Knowledge of use modal : yes	4.2 $\pm$ 5.7 ^b	78.3 $\pm$ 16.9 ^a	86.2 $\pm$ 12.6 ^a
Technician helping : yes	4.2 $\pm$ 5.7 ^b	56.5 $\pm$ 20.3 ^a	58.6 $\pm$ 17.9 ^a

CI: Confidence interval at 95 %; Letters a, b and c were used to notify significant difference between proportions of modalities about in clusters.

Cluster 1 counted 48 farmers (48 $\pm$ 14.1 % of total farmers) from Banikoara and Kandi districts. They sometimes get helps of agricultural technician and sometimes know the use modal of pesticides (Table 9).

Cluster 2 was composed of 23 $\pm$ 17.2 % of the farmers (all from Bembèrèkè) (Table 8). Several farmers of this group (60.9 $\pm$ 19.9 %) were characterized by the modality of “pasturing of crop residues by own bovines (no)” (Table 9).

As for the cluster 3, it contained 29 farmers (29 $\pm$ 16.5 % of the total farmers which of 25 from Kalalé, 2 from Bembèrèkè, 1 in Kandi and 1 in Banikoara). Most of these farmers followed local language literate and burned the empty bottles of pesticides (Table 9).

The specific modalities of each cluster (Table 9) crossed with the assessment grid of the risk level of practices (Table 2), allowed identifying clusters 2 and 3 as the lower-risk classes while cluster 1 was high-risk class able to cause contamination of environment and foods from animal bred in the study area by the pesticide residues.

Int. J. Agron. Agri. R.

Discussion

Status of the farmers

Surveyed farmers were dominated by men (91 %). The same observation was done by Hinson *et al.* (2015) in Banikoara where responding farmer sample contained 94.8 % of men. These last authors showed that farmers were majoritary uneducated (80.3 %).

That seemed to be similar to the whole of instruction level in this study (68 % of farmers were unaducated). So, few farmers attended primary and secondary school. In addition, only 35 % of them were done local language literate. Thus, informations on pesticide labels would not be understood by majoritary of the farmers. This situation could favour the bad use of pesticides.

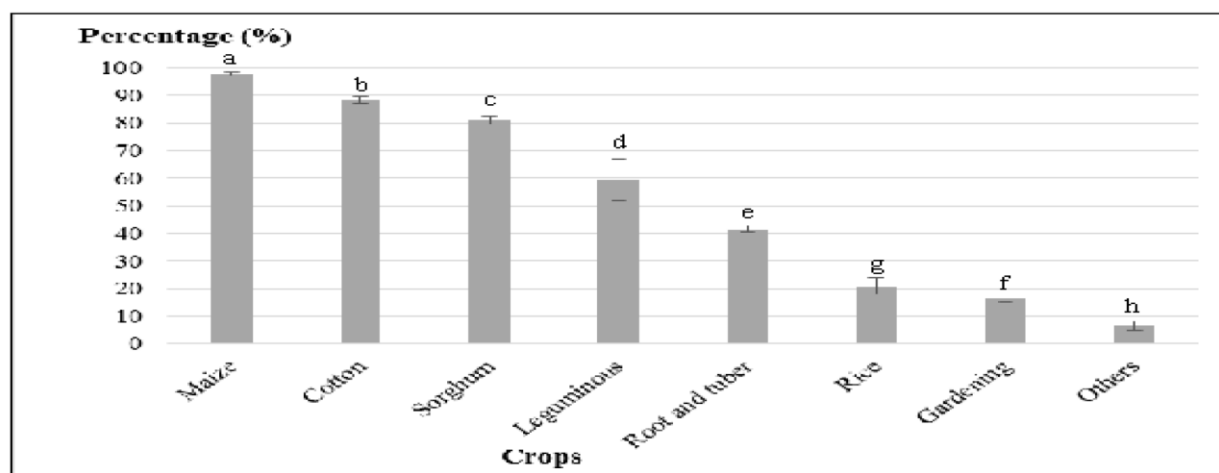


Fig. 2. Average proportions of farmers following crops cultivated from 2006 to 2015. Error bars represent standard deviations (SD) while letters from a to h were used to notify significant difference between percentages ($p < 0.01$).

Crops cultivated and pesticides used by the farmers

From 2006 to 2015, the three crops mostly cultivated by the farmers were maize, cotton and sorghum. These results did not surprise. In fact, maize is the first cereal in main foods of the whole of the Benin population for the breakfast, lunch and dinner.

In fact, the average of maize consumption was estimated to 69 kg per capita in Benin (ONS, 2011; *Unpublished*). Thus, surveyed farmers produce maize not only for their own food, but also for economic purpose.

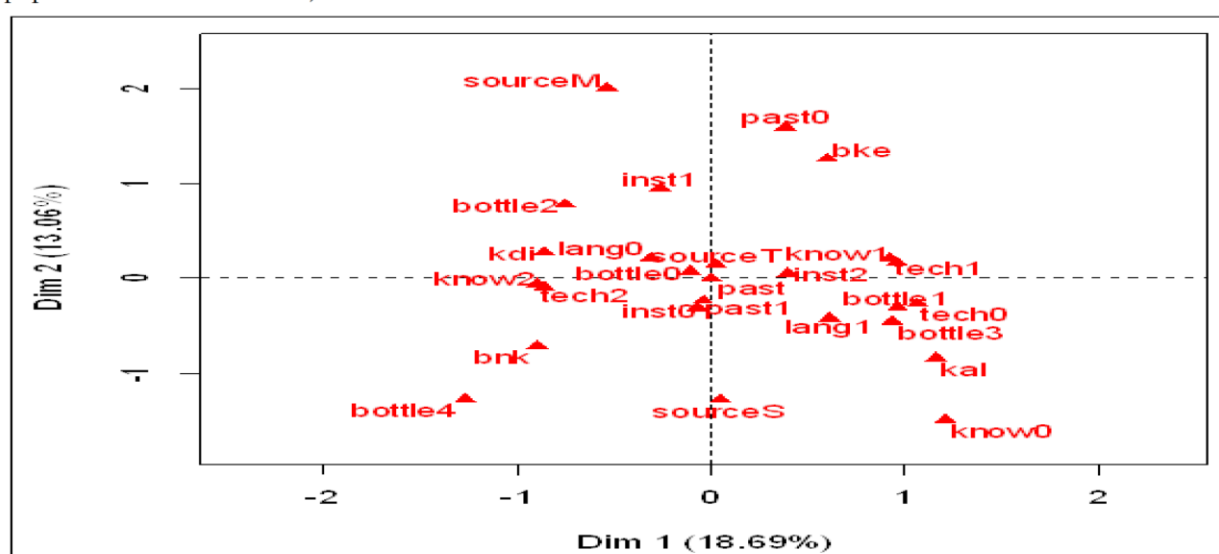


Fig. 3. Graphic representation of modalities on the factorial axes 1 and 2.

The same reasons justify the production of sorghum in the area study where this cereal is mostly used for their own foods. As for the cotton, this plant is the main ground-rent crop which contributes strongly to the country economy (Minot and Daniels, 2005; Lau *et al.*, 2015). So, cotton crop is not only very important for the study area economy but also for the development of the whole of the country.

According to Alavo *et al.* (2010), cotton plant is very sensitive to several diseases from arthropod ravagers as *H. armigera*. That justifies the use of many insecticide products on cotton plant by almost of the farmers (94 %). This level is very upper than the 69 % of chemical pesticide users surveyed in Banikoara in 2011 (Agbohessi *et al.*, 2011).

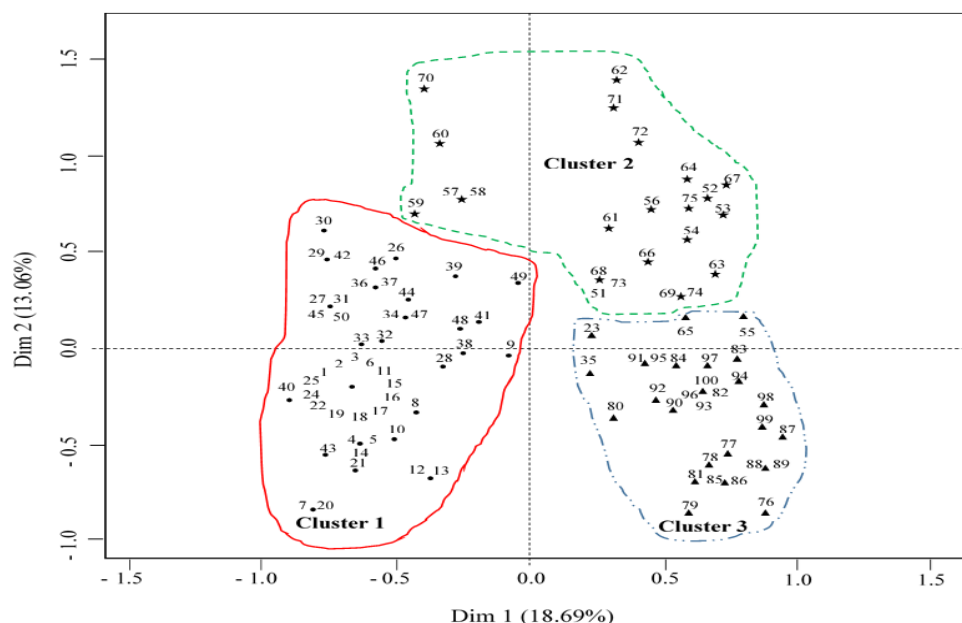


Fig. 4. Graphic representation of farmer clusters on the factorial axes 1 and 2. The numbers correspond to the farmers who are represented on the map by “•”, “★” and “▲” in the clusters 1, 2 and 3, respectively.

Banikoara is the first commune of cotton production in Benin. Thus, several of cotton harmful insects attack also leguminous during growing. This situation justifies the proportion of the pesticide users on leguminous crops in Banikoara (53.85 %) which was significantly higher ($p < 0.05$) than the percentages in the other communes.

In addition to insecticide products that were also used against leguminous and gardening devastators, weedicides were important pesticides used for the all crops growing. According to Chauhan *et al.* (2012) and Bajwa (2014), herbicides are more used in agriculture to gain time and decrease manpower. During this study, 13 active chemicals were found on 21 label herbicides. On the contrary, Hinson *et al.* (2015) survey in Banikoara showed only four herbicide products used by farmers in agriculture. But before, Agbohessi *et al.* (2011) registered three active

ingredients in two herbicide products used for the cotton production in Banikoara. So, works of Hinson *et al.* (2015) seemed to be about of only cotton herbicides.

Moreover, glyphosate was the most represented active compounds present in 11 of the 22 herbicide products. It was also the more active ingredient on the labels of herbicide products documented by Agbohessi *et al.* (2011). Indeed, glyphosate is a broad spectrum, nonselective, post-emergence herbicide extensively used worldwide in various applications for weed control (Duke and Powles, 2008).

As for the insecticides, results showed 14 active substances in 35 products. This product number is lightly higher than the 11 active ingredients on labels of 27 insecticide products in Banikoara (Hinson *et al.*, 2015).

Int. J. Agron. Agri. R.

But in 2011, Banikoara's farmers used nine active chemicals from seven products to kill cotton harmful insects (Agbohessi *et al.*, 2011). According to Hinson *et al.* (2015), acetamipride was present in 13/27 of the insecticide products, this chemical was also the most active compounds in 37 % of the insecticide products documented during this survey.

Practices of pesticide use by the farmers

Contrary to Agbohessi *et al.* (2011) results, which showed that 67 % of farmers purchased pesticides from formal sector in Banikoara, this study revealed that only 17 % of surveyed farmers got pesticide from authorized shop. Thus, 83 % of the farmers purchased pesticides in both illegal markets and/or in authorized shop. According to Agbohessi *et al.* (2011), any control was performed about pesticides sold in informal sector from cross-border trading (Togo, Nigeria, Ghana, etc.). These products could be store in bad conditions and are more cheaper than official pesticides. Thus, farmers accessed easily to these prohibited and smuggled products. This situation justify the presence of some pesticides that active ingredient was not authorized. For example, Atrazine, Buster and Buta force contained Atrazine and Butachlor that were not authorized to be used in Benin (CNAC, 2014, *Unpublished*). This Beninese situation is similar to that of Ethiopia where direct import of pesticides outside of legal chain was observed (Negatu *et al.*, 2016).

Despite of the banning of endosulfan use in Benin since 2007 (Badarou and Coppieters, 2009), this pesticide was using in Banikoara three years after the deadline (December 2008) (Agbohessi *et al.*, 2011). Fortunately, this study did not show any endosulfan product. This happy situation was not similar to that of Ethiopia where illegitimate usages of DDT and endosulfan on food crops continued until 2016 (Negatu *et al.*, 2016).

Moreover, the difference between percentages of farmers helped by the technician from the different communes could be justified by an unequal distribution of the technicians in these municipalities.

Farmer group according to risky practices

The typology of the farmers in North-East Benin as established in this study allowed characterizing two categories of farmers. Cluster 1 was the high-risk class and mostly composed of farmers from Banikoara and Kandi districts in the Department of Alibori, while the lower-risk classes (clusters 2 and 3) were mostly composed of farmers from Bembèrèkè and Kalalé districts in the Department of Borgou. Thus, the Departments were strongly linked to the risky practices of the use of the pesticide products. In fact, Alibori is the first Department of cotton production in Benin. The limited number of the agricultural technician in this locality did not allow covering the most of these cotton farmers who largely used pesticides from several illegal sources. However, concerning the common modalities (Table 9), it is important to recall that none of the three farmer classes displays the minimum conditions for ensuring a healthy environment for food safety.

All these observations support the hypothesis that the pesticide sector in Benin should be reorganized with enhanced measures of control and follow recommended practices. Based on these observations, it is necessary to study the prevalence of pesticide residues in foods in generally and particularly in foods from livestock animals. Finally, the reinforcement of the legislation on pesticide practices is essential for the well-being of animals and animal food consumers.

Acknowledgements

The authors are grateful to farmers, rural development officers of Communal Sectors for the Agricultural Development of the study area and the translators for their respective interests in the investigation.

Competing interests

The authors declare that they have no financial or personal relationships that may have inappropriately influenced them in writing of this article.

References

Adam SK, Boko M. 1993. Le climat du Bénin. In : le Bénin, Ed. Sodimas-Edicef. Paris. 96 p.

Int. J. Agron. Agri. R.

Agbohessi PT, Imorou Toko I, Yabi JA, sous autorisation provisoire **Dassoundo-Assogba JFC, Kestemont P.** 2011. Caractérisation des pesticides chimiques utilisés en production cotonnière et impact sur les indicateurs économiques dans la Commune de Banikoara au nord du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* **5**(5), 1828-1841.
<http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i5.6>

Aïkpo FH, Chabi CB, Ayi V, Koumolou L, Houssou CS, Edoth PA. 2015. Evaluation de la contamination des eaux du fleuve Couffo dans la zone cotonnière de Djidja (Bénin) par les pesticides. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* **9**(3), 1725-1732.
<http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.50>

Alavo TBC, Yarou BB, Atachi P. 2010. Field effects of kaolin particle film formulation against major cotton lepidopteran pests in North Benin, West Africa. *International Journal of Pest Management* **56**(4), 287-290.
<http://dx.doi.org/10.1080/09670871003628389>

Badarou S, Coppieters Y. 2009. Intoxication alimentaire due à l'endosulfan: mise en place d'un système de notification et de prise en charge au Bénin. *Environnement Risques et santé* **8**(2), 133-136.

Bajwa AA. 2014. Sustainable weed management in conservation agriculture. *Crop Protection* **65**, 105-113.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2014.07.014>

Chauhan BS, Singh RG, Mahajan G. 2012. Ecology and management of weeds under conservation agriculture: A review. *Crop Protection* **38**, 57-65.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2012.03.010>

CNAC (Comité National d'Agrément et de Contrôle des Produits Phytopharmaceutiques). 2014. Liste des produits phytopharmaceutiques de vente (APV) et agrément homologation (AH). Liste actualisé en juin 2014. République du Bénin. 6p (Unpublished).

Damalas CA, Eleftherohorinos IG. 2011. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **8**, 1402-1419.
<http://dx.doi.org/10.3390/ijerph8051402>

Dawson AH, Eddleston M, Senarathna L, Mohamed F, Gawarammana I, Bowe SJ, Manuweera G, Buckley NA. 2010. Acute Human Lethal Toxicity of Agricultural Pesticides: A Prospective Cohort Study. *PLOS Medicine* **7**(10), e1000357.
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000357>

Dognon SR, Antoine-Moussiaux N, Douny C, Gustin P, Moula N, Scippo ML, Youssao AKI. 2018. The use of antibiotics in cattle in North-East Benin : pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders. *Tropical Animal Health and Production*.
<https://doi.org/10.1007/s11250-018-1612-9>

Duke SO, Powles SB. 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* **64**, 319-325.
<http://dx.doi.org/10.1002/ps.1518>

Ehling S, Reddy TM. 2015. Analysis of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Nutritional Ingredients and Milk by Derivatization with Fluorenylmethyloxycarbonyl Chloride and Liquid Chromatography. *Mass Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**, 10562-10568.
<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04453>

Ezemonye LI, Ogbeide OS, Tongo I, Enuneku AA, Ogbomida E. 2015. Pesticide contaminants in *Clarias gariepinus* and *Tilapia zilli* from three rivers in Edo State, Nigeria; implications for human exposure. *International Journal of Food Contamination* **2**, 3.
<http://dx.doi.org/10.1186/s40550-015-0009-z>

Gbaguidi MAN, Soclo HH, Issa YM, Fayomi B, Dognon R, Agagbe A, Bonou C, Youssao A, Dovonou LF, Sanni A. 2011. Evaluation quantitative des résidus de pyrèthrinoides, d'aminophosphate et de triazines en zones de production de coton au Bénin par la méthode ELISA en phase liquide: cas des eaux de la rivière Agbado. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* **5**(4), 1476-1490.

Hinson AV, Lawin H, Gounongbe F, Dossou F, Fayomi B. 2015. Attitudes, Practices of farmers exposed to pesticides at Banikoara Township (Republic of Benin). *Journal of Environment and Health Sciences* **1(2)**, 1-5.

<http://dx.doi.org/10.15436/2378-6841.15.013>

Husson F, Josse J, Le S, Mazet J. 2017. Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining: Package 'Facto MineR'. 96 p. (Unpublished). Available online

<http://mirror.its.sfu.ca/mirror/CRAN/web/packages/FactoMineR/FactoMineR.pdf>

INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2015. RGPH4 : Que retenir des effectifs de population en 2013 ? Cotonou, République du Bénin : Direction des études démographiques. 33 p. (*Non publié*).

www.insae-bj.org/recensement-population.html?file=files/enquetes-recensements/rgph/RGPH4/Pricipaux%20indicateurs/R%C3%A9sultats_d%C3%A9finitifs_RGPH4.pdf

Krüger M, Schledorn P, Schrödl W, Hoppe HW, Lutz W, Shehata AA. 2014. Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology* **4(2)**, 1-5.

<http://dx.doi.org/10.4172/2161-0525.1000210>.

Lau C, Schropp S, Sumner DA. 2015. The 2014 US Farm Bill and its Effects on the World Market for Cotton. Issue Paper No. 58; International Centre for Trade and Sustainable Development, Geneva, Switzerland www.ictsd.org

Mesnage R, Defarge N, Spiroix de Vendômois J, Séralini G-E. 2014. Major Pesticides Are More Toxic to Human Cells Than Their Declared Active Principles. *BioMed Research International*, Article ID 179691. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/179691>

Minot N, Daniels L. 2005. Impact of global cotton markets on rural poverty in Benin. *Agricultural Economics* **33**, 453-466.

Negatu B, Kromhout H, Mekonnen Y, Vermeulen R. 2016. Use of Chemical Pesticides in Ethiopia: A Cross-Sectional Comparative Study on Knowledge, Attitude and Practice of Farmers and Farm Workers in Three Farming Systems. *Annals of Occupational Hygiene* **60(5)**, 551-566.

<http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/mew004>

ONS (Office National de Soutien des revenus agricoles). 2011. Rapport d'étude du prix plancher du maïs au titre de la campagne 2010-2011. ONS/MAEP. République du Bénin. 79 p. (*Non publié*).

Pretty J, Toulmin C, Williams S. 2011. Sustainable intensification in African agriculture. *International Journal of Agricultural Sustainability* **9(1)**, 5-24.

<https://doi.org/10.3763/ijas.2010.0583>

Sarwar M, Salman M. 2015. The Paramount Benefits of Using Insecticides and Their Worldwide Importance in Food Production. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering* **1(3)**, 359-365.

Shehata AA, Schrödl W, Schledorn P, Krüger M. 2014. Distribution of Glyphosate in Chicken Organs and its Reduction by Humic Acid Supplementation. *Journal of Poultry Science* **51**, 333-337.

<http://dx.doi.org/10.2141/jpsa.0130169>

The World Bank. 2016. World Development Indicators: Structure of output. (Unpublished) <http://wdi.worldbank.org/table/4.2>

Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J, Whitbread A. 2012. Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological Conservation* **151**, 53-59.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2012.01.068>

Erratum concernant l'article Dognon *et al.* (2018e)

Table 4.1: Erratum about “Dognon *et al.* (2018e) The use of pesticides in agriculture in North-East Benin. International Journal of Agronomy and Agricultural Research, 12 (6): 48-63”

Thesis page	Paper page	Title of the paragraph	Initial content	Correction
147	48	Abstract	...Intensification of agriculture has led to increase the use of new pesticides.	... Intensification of agriculture has led to increase use of new pesticides.
147	48	Abstract	...This paper aims to asses practice...	...This paper aims to assess practice...
147	48	Abstract	...were found on labels of 21 chemical productswhile 14 active principles...	...were found on labels of 21 chemical products while 14 active principles...
151	52	Use of pesticides following different grown crops	...glyphosate as active ingredient were mostly used in others crop fields.	...glyphosate as active ingredient were mostly used in other crop fields.
158	59	Fig. 3.	Graphic representation of modalities on the factorial axes 1 and 2.	Graphic representation of modalities on the factorial axes 1 and 2. See Table 1 for the meaning of the codes of modalities
160	61	Crops cultivated and pesticides used by the farmers	But in 2011, Banikoara's farmers used nine active chemicls from seven products...	But in 2011, Banikoara's farmers used nine active chemicals from seven products...

Chapitre 4 : Etude 5

Détection de résidus de glyphosate dans les
eaux de pâturage et des résidus d'insecticides dans
la viande bovine prélevées au Nord-Est du Bénin

4.2. Etude 5: Détection de résidus de glyphosate dans les eaux de pâturage et des résidus d'insecticides dans la viande bovine prélevées au Nord-Est du Bénin

Les pesticides utilisés en agriculture se retrouvent dans les écosystèmes et dans la chaîne alimentaire par l'intermédiaire de divers mécanismes. On note ainsi une contamination des denrées alimentaires d'origine végétale (Khrolenko et Wieczorek, 2005 ; Ehling et Reddy, 2015 ; Aïkpo *et al.*, 2016), et animale (Darko et Acquah, 2007 ; Shehata *et al.*, 2014 ; Krüger *et al.*, 2014 ; Ezemonye *et al.*, 2015) par des résidus de pesticides. Etant donné leur toxicité pour l'homme, la présence de résidus de pesticide représente un risque potentiel pour la santé du consommateur. Cependant, aucune étude n'a recherché la présence de ces résidus dans les produits carnés au Bénin où l'utilisation abusive des pesticides en agriculture est bien connue.

Cette étude a évalué le niveau de contamination des viandes bovines par des résidus de pesticides dans le Nord-Est du Bénin. Les analyses ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. Des résidus de glyphosate ont également été recherchés dans les eaux de pâturages des bovins par la méthode ELISA.

Cette étude a révélé de traces de résidus de glyphosate dans les eaux de pâturage. La présence de résidus de deux pesticides (beta-endosulfan et p,p'-DDE) a été confirmée dans 3 des 25 carcasses bovines analysées. Seul le bêta-endosulfan présent dans deux carcasses présentait des concentrations supérieures à la Limite Maximale de Résidus appliquée dans la législation européenne.

Le détail des résultats se trouve dans un projet d'article à soumettre pour publication dans la revue “*Journal of Environmental Science and Health (Part B)*”.

Chapitre 4 : Etude 5

Detection of glyphosate residues in pasture water and insecticides residues in cattle meat from the North-East Benin by ELISA and gas chromatography coupled to mass spectrometry

<i>Projet d'article à soumettre à "Journal of Environmental Science and Health, Part B"</i>

S.R. Dognon^{1,2*}, F. Brose¹, G. Degand¹, C. Douny¹, A. Mpenda Matabishi¹, M.A.N. Gbaguidi³, A.K.I. Youssao², M.L. Scippo¹

¹ Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, FARAH-Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

² Department of Animal Production and Health, Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

³ Unit of Research in Ecotoxicology and Study Quality, Laboratory of Research in Applied Chemistry, Polytechnic School of Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

*Correspondent author: robertdognon@yahoo.fr

ABSTRACT

Under the current scenario of rapid human population increase, intensification of agriculture to satisfy food needs and to contribute to global hunger reduction has led to an increasing use of new pesticides. This study aims to assess the pollution level of pasture water by glyphosate residues and to look for insecticides residues in cattle meats from East-Northern Benin. Glyphosate residues were determined by ELISA in ten surface water samples collected from 10 main pasture sites in five livestock communes of North-East Benin. Gluteal muscles samples were collected on 25 bovine carcasses from slaughterhouse of Depot district in Parakou City. After extraction, purification (using a C18 cartridge column), and concentration phases, 12 insecticide residues were analyzed by the gas chromatography-mass spectrometer method. Traces of glyphosate residues were found in two water samples at the concentrations of 0.064 and 0.099 µg/L. Insecticide residues were found in 12 % of the analyzed carcasses. Beta-endosulfan and p,p'-DDE were detected in 2 and 1 sampled carcasses, at levels of 139.5 and 98.6 µg/kg, and 4.6 µg/kg, respectively. Only the beta-endosulfan contents were higher than the maximum residue limits fixed by the European Regulation (EC) 396/2005.

Keywords: Residue, glyphosate, pesticide, surface water, cattle meat, Benin

INTRODUCTION

Under the current scenario of rapid human population increase, intensification of agriculture is necessary to satisfy food needs and contribute to global hunger reduction (Tschamtké *et al.*, 2012). Consequently, an increasing use of new pesticide was observed in conventional agricultural productions (Pretty *et al.*, 2011; Sarwar and Salman, 2015). A pesticide is a substance or a mixture used in agriculture or public health to prevent or destroy undesirable organisms (Eldridge, 2008; Damalas *et al.*, 2011; Sarwar and Salman, 2015). It can be a chemical product or a biological agent (such as virus and bacteria) which are used against pests. According to the target organism, there are several pesticide types such as herbicides, insecticides or fungicides. These products are very important not only for human health, but also for food production. Indeed, “up to 40 percent of the world's potential crop production is already lost annually because of the effects of weeds, pests and diseases” (Sarwar and Salman, 2015). These crop losses would be doubled if existing pesticide uses were abandoned (Sarwar and Salman, 2015).

In Benin, as in the rest of the world, intensive agricultural practices have led to a widespread use of organic pesticides (Hinson *et al.*, 2015). In fact, cotton is the main ground-rent crop in the country (Lau *et al.*, 2015). So, cotton culture is very important for the development of Benin; but that plant is very sensitive to several diseases coming from arthropod ravagers such as *Helicoverpa armigera* (Alavo *et al.*, 2010). Regularly, very important annual quantities of various pesticides are sprayed on cotton field (Agbohessi *et al.*, 2011).

Unfortunately, pesticide use in agriculture or public health causes some consequences on human health and the ecosystems. Seventy-three cases of severe insecticide poisoning (including 37 deaths) were documented from May to September 1999 in the department of Borgou in Benin (Hinson *et al.*, 2015). In addition, 105 cases of insecticide poisoning (including nine deaths) were reported from May 2007 to July 2008 in this country (Badarou and Coppieters, 2009). Endosulfan was the most reported as poisoning insecticide (Badarou and Coppieters, 2009).

Besides insecticides, herbicides such as glyphosate are also used mostly in agriculture to gain time and decrease work load (Chauhan *et al.*, 2012; Bajwa, 2014). Glyphosate [N-(phosphonomethyl)glycine] (Fig. 1) is a broad spectrum, nonselective, post-emergence herbicide extensively used in various applications for weed and vegetation control (Duke and Powles, 2008).

Glyphosate and other insecticide residues were found in natural ecosystem of Benin (Adam *et al.*, 2010; Gbaguidi *et al.*, 2011; Aïkpo *et al.*, 2016). Pesticides residues could also be found in fish, meat and vegetable, and thus can contaminate the food chain (Khrolenko and Wieczorek, 2005 ; Darko and Acquah, 2007 ; Shehata *et al.*, 2014 ; Krüger *et al.*, 2014 ; Ehling and Reddy, 2015 ; Ezemonye *et al.*, 2015). Because of the toxicity of pesticides for animals and human (Dawson *et al.*, 2010 ; Damalas *et al.*, 2011; Mesnage *et al.*, 2014), the consumption of foods containing these residues is a real public health problem. For example, in Sri Lanka during last years, a significant increase of the number of

patients suffering from chronic kidney disease has been observed among paddy farmers because of their exposure to glyphosate widely used for rice production (Jayasumana *et al.*, 2014; 2015a; 2015b). When combined with heavy metals such as cadmium and arsenic contained in ground water, either naturally present in the soil or added through fertilizer, glyphosate becomes extremely toxic to the kidney (Jayasumana *et al.*, 2014; 2015a; 2015b). In addition, glyphosate is potentially carcinogenic (Ibrahim, 2015). For these reasons, glyphosate was recently banned in Sri-Lanka (De Silva and Chandrasekara, 2016).

Despite these observations, the studies about pesticide residues in food from animals raised in Benin are very scarce. This study aims to assess the pollution level of pasture water by glyphosate residues and also to evaluate cattle meat contamination with insecticides residues in East-Northern Benin.

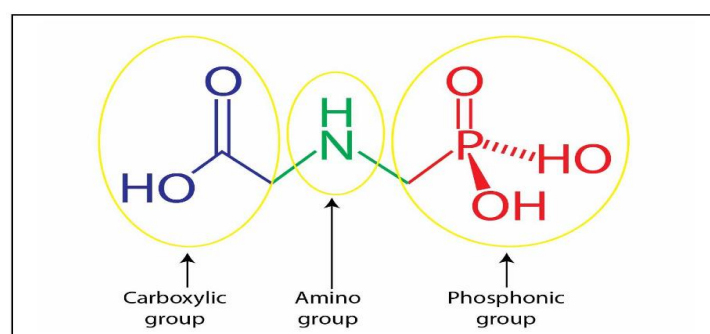


Figure 1: Structure of glyphosate molecule and its functional groups (Jayasumana *et al.*, 2014)

MATERIALS AND METHODS

Study area

In this study, pasture water and cattle meat were sampled in the departments of Borgou (communes of Parakou and Tchaourou) and Alibori (communes of Banikoara, Kandi and Gogounou) in North-East of Benin (Fig. 2).

The department of Alibori is located in the extreme north of Benin. It is bounded on the East by Nigeria Republic, to the North by Burkina-Faso and Niger, to the South by the department of Borgou and to the west by Atacora department. It has an area of 26,242 km² (23 % of national territory) and a population estimated at 867,463 inhabitants (8.7 % of the national population) in 2013 (INSAE, 2015). The climate is Sudano-Sahelian and the annual rainfall varies between 700 and 1000 mm (INSAE, 2004a).

The Department of Borgou covers 25,856 km². It is bounded to the North by the department of Alibori, south by the departments of Collines and Donga, in the East by Nigeria, and West by Atacora department. Its population was estimated at 1,214,249 inhabitants (12.1 % of the national population) in 2013 (INSAE, 2015). The climate is Sudanese type and the annual rainfall varies between 900 and 1300 mm (INSAE, 2004b).

In the two departments, the main activity of the populations is agriculture that is family-type. Livestock is very developed with large herds of cattle, sheep, goats, poultry, etc.

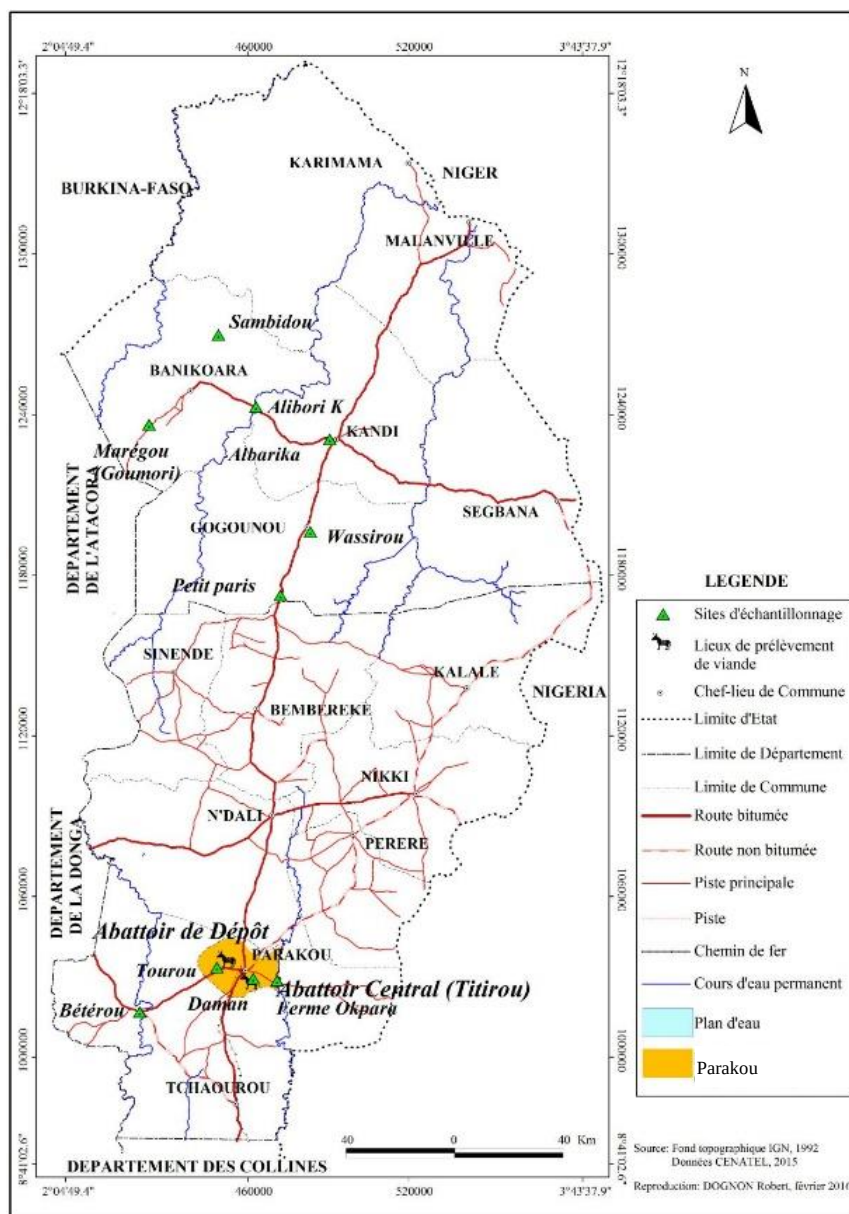


Figure 2: Location of the sampled sites in the departments of Borgou and Alibori in North-East of Benin

Sample collection

In november 2015, 10 surface water samples were collected from 10 main pasture sites in five livestock communes (Tchaourou, Parakou, Gogounou, Kandi and Banikoara) in East-Northern Benin (Figure 2, Table 1). These sites were chosen according to their great capacity for bovines pasture until in dry season. Water samples were taken in tinted glass bottles (of 500 mL), which were covered by aluminum paper and stored in a thermal bag containing cold accumulator.

As for the cattle meat samples, 25 gluteal muscle were collected on right half carcasses in the slaughterhouse of the Depot district in Parakou (the principal town receiving cattle raised in the

departments of Borgou and Alibori for slaughtering). This sampling was also done in November 2015. Each sample weighed at least 50 g and was carefully inserted into a plastic bag, initially labeled from P1-01 to P1-25. These meat samples were kept in a thermal bag containing cold accumulator for maximum two hours.

At laboratory, water and meat samples were stored at -20°C until analysis.

Table 1: Pasture sites of collection of surface water samples

N°	Commune	Sampling localities	Geographic coordinates (UTM)	
			X	Y
1	Tchaorou	Livestock farm of Okpara	470820	1028467
		Beterou	419566	1016805
2	Parakou	Daman	461950	1029272
		Tourou	448397	1033469
3	Gogounou	Petit Paris	472084	1172418
		Wassirou	483300	1196192
4	Kandi	Alibori K	462910	1242892
		Albarika	490501	1230736
5	Banikoara	Founougo/Sambidou	448917	1269709
		Goumori/Marégrou	422997	1236231

Equipment and reagents

Glyphosate plate ELISA kit (PN 500086) and glyphosate derivatization kit (500087) from Abraxis (USA) were provided by Novakits Sarl (Nantes, France). Standard glyphosate [N-(Phosphonomethyl)glycine] (337757-250G) was purchased from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) and was used to prepare stock solution at 500 µg/mL, dilutions at 10 µg/mL ; 200 ng/mL and 40 ng/mL in diluent zero of the ELISA kit.

A gas chromatograph GC Q series (Finnigan, Thermo Electron Corporate, USA), equipped with an ion trap mass spectrometer detector Polaris Q (Finnigan, USA) and with a RESTEK Rtx®-5MS column (12623; 30 m; 0.25 mm ID; 0.25 µm; USA) was used for chromatographic determinations. The GC was equipped with an auto sampler Tri Plus RSH (AS9000, Interscience, Louvain la neuve Belgium).

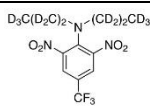
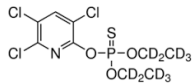
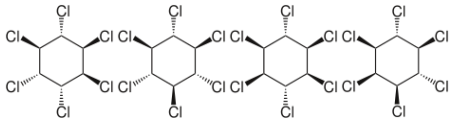
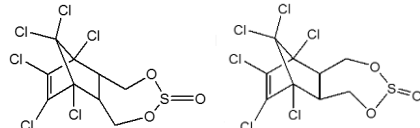
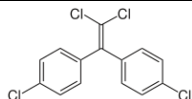
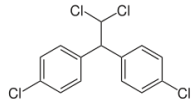
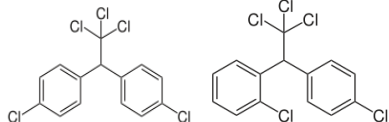
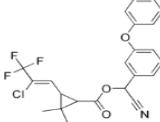
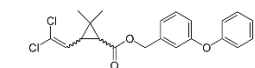
Standards of lambda-cyhalotrin (97.8 %; 31058), alpha-hexachloro-cyclohexane (HCH) (99.8%; 33856), beta-HCH (99.2 %; 33376), delta-HCH (99.7 %; 33377), permethrin (98.1 %; 45614), gamma-HCH (97 %; 23,339-0), p,p'-DDE (99 %; 12,389-7), p,p'-DDD (97 %; B3,959-3) and p,p'-DDT (98 %; 38634-0) pesticides were purchased from Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA). Alpha-endosulfan (99.8 %; IPO181) and beta-endosulfan (99.8 %; IPO182) pesticide standards were obtained from Institute of industrial organic chemistry (Warszawa, Poland) while o,p'-DDT (98.9 %; PS-698) was provided by Chem Service Inc. (West Chester, PA, USA). Trifluralin D14 (97%; XA17850100AC) and chlorppirifos D10 (97%; XA11600100AC) provided by Dr Ehrenstorfer (Augsburg, Germany) were used as internal standard for extraction and injection standard, respectively and were dissolved in

acetone at 1 ng/μL. Standard solutions of the 12 previous pesticides were prepared at 1 ng/μL and 2 ng/μL in acetone. Chemical classes of analyzed pesticides are showed in table 2.

Anhydrous Na₂SO₄ (99%) (196640010) was purchased from VWR (West Chester, PA, USA). Aluminum oxide in basic form (1.01076.1000; 0.063-0.200 mm; 90 activity) provided by Merck KGaA (Darmstadt, Germany), was deactivated using water (5 %, w/w) and was homogenized. Solid Phase Extraction (SPE) cartridges were 5 ml internal volume C18 cartridges containing 500 mg of C18 MF (240-0050-B; Fisher Scientific, USA) that was supplied with 1g of deactivated aluminum oxide (Esteve-Turrillas *et al.*, 2005). Acetone and acetonitrile were purchased from Biosolve (Valkenswaard, Netherlands). All solvents were HPLC or analytical grade.

All solvents were kept at room temperature while glyphosate ELISA kits, glyphosate solution and chemical standards were kept at 4°C. Standard solutions in acetone were stored at -20°C.

Table 2: Pesticides analyzed in this study by GC-MS and their chemical classes

Compounds	Class	Type	Chemical structure
Trifluralin D14 ^a	Aniline	Herbicide	
Chlorppiryfos D10 ^b	Organophosphate	Insecticide	
Alpha, beta, gamma and delta-HCH	Organochlorine	Insecticide	
Alpha and beta-Endosulfan	Organochlorine	Insecticide	
p,p'-DDE	Organochlorine	Degradate	
p,p'-DDD	Organochlorine	Degradate	
p,p'-DDT and o,p'-DDT	Organochlorine	Insecticide	
Lambda-Cyhalothrin	Pyrethroid	Insecticide	
Permethrin	Pyrethroid	Insecticide	

HCH: Hexachloro-cyclohexane; DDE : Dichlorodiphenyldichloroethylene ; DDD : Dichlorodiphenyldichloroethane ; DDT : Dichlorodiphenyltrichloroethane; a: internal standard; b: injection standard

Preparation of water samples

Water samples were left at room temperature for a total defrosting. After vortexing, five mL of each sample were taken and centrifuged at 2750 g during five min. Using polyethylene filter of 0.2 μm (729 021.400; Chromafil Pet-20/25), the supernatant was filtered.

Derivatization of water samples

Derivatization of prepared water samples and ELISA test were performed according to the manufacturer's protocol (Novakits, 2014). For each prepared sample, 250 μL were mixed with 1 mL of derivatization buffer. After vortexing, 100 μL of derivatization solution were added. This mixture was incubate at room temperature for 10 min. Water samples, control solution of glyphosate at 0.75 $\mu\text{g/L}$ and standard solutions of glyphosate at 0 ; 0.075 ; 0.2 ; 0.5 ; 1 and 4 $\mu\text{g/L}$ were simultaneously submitted to the same derivatization protocol.

ELISA test

Fifty μL of each standard solution, control solution and samples from derivatization protocol were put by well in triplicate on the ELISA plate and 50 μL of antibody anti-glyphosate solution were added in each well. For the non-specific (NS) fixation of the conjugate antibody (glyphosate) assessment, 100 μL of standard zero were put in three wells (without the antibody anti-glyphosate solution) and followed the continuation of the protocol. The plate was covered and incubated for 30 min at room temperature after gentle shaking. Fifty μL of conjugate enzyme-glyphosate were then put in each well and the plate was shaken again. After incubating during 60 min at room temperature, the plate was washed three times according to the manufacturer's protocol (Novakits, 2014). One thousand and fifty μL of substrate solution were then put in each well and the plate was again incubated during 30 min at room temperature. Chemical reaction was stopped by adding 100 μL of stop solution. Finally, the plate was read in a microplate reader at 450 nm.

For each water sample, standard and control solution, the $\text{Logit}[(B-NS)/(Bo-NS)]$ was calculated. B is the average of the absorbances; Bo is the average of the absorbances of standard zero; and NS is the absorbance average of the three non-specific wells. A regression linear curve was established with standard solution concentration versus the corresponding $\text{Logit}[(B-NS)/(Bo-NS)]$. Using the regression equation, concentration ($\mu\text{g/L}$) of the control solution was checked and the glyphosate content ($\mu\text{g/L}$) of each water sample was calculated. The limit of detection (LOD) was 0.05 $\mu\text{g/L}$ and the limit of quantification was 0.075 $\mu\text{g/L}$.

Extraction of meat sample and extract purification

Ten μL of internal standard trifluralin D14 (1 ng/ μL) were added to 2 g of defrosted meat, which was vortexed. After waiting during 15 min at room temperature, 2 g of anhydrous Na_2SO_4 were added. The extraction was performed by adding 5 mL of acetonitrile. The mixture was sonicated during 15 min and

centrifuged at 2750 g during 5 min. The supernatant was then collected. The extraction was repeated twice times and the whole of supernatant mixed and was brought to 14 mL with acetonitrile.

The purification stage was carried out using previous SPE cartridge, which was conditioned with 15 mL of acetonitrile. Then, 14 mL of mixture of extract and acetonitrile were passed through the cartridge at a speed of two drops per second, approximately. The purified extract was then collected into a TurboVap tube. An additional portion of 15 mL fresh acetonitrile was passed through the cartridge for the complete pesticides elution. The acetonitrile extract was then evaporated in TurboVap until dryness by a nitrogen flow at 35°C and the residue was dissolved in 40 µL of acetone and 10 µL of injection standard (chlorppirifos D10 1 ng/µL). The mixture was vortexed and then transferred into a vial containing insert. Vial was then sealed before GC-MS analysis.

GC–MS determination for pesticide residues

Two microliters of sample extract were injected at 250 °C in splitless mode, under a constant flow of 1 mL/min helium (99.99 %) as carrier. The detector temperature was 220 °C. The oven temperature program started from 110 °C, held for 1 min, increased to 200 °C at 15 °C/min with a hold of 4 min, then brought up to 280 °C at 20 °C/min and finally held at 315 °C for 2 min. The transfer line and ion source temperature were fixed at 340 and 220 °C, respectively. In the mass spectrometer, electron impact ionization was performed with 70 eV energy, in positive mode. Data acquisition in SIM (Single Ion Monitoring) mode was carried out with a mass scanning range between 126.50 and 326.50 m/z. Under the experimental conditions, the retention times (RT) and selected ions (m/z) used to identify each pesticide are showed in table 3.

Table 3: Retention time (RT) and product ions (m/z) of each pesticide

Compounds	Retention time (min)	Selected ions (m/z)
Trifluralin D14 ^a	09.24	267, 315
Alpha-HCH	10.09	181, 183
Beta-HCH	10.92	181, 183
Gamma-HCH	10.92	181, 183
Delta-HCH	11.62	181, 183
Chlorppirifos D10 ^b	13.85	324, 326, 260
Alpha-endosulfan	16.37	195, 193
p,p'-DDE	17.03	246, 248
Beta-endosulfan	18.26	241, 195
p,p'-DDD	18.57	235, 237
o,p'-DDT	18.57	235, 237
p,p'-DDT	19.71	235, 237
Lambda-cyhalothrin	23.20	181, 197
Permethrin	24.61-24.85	183, 165

a: internal standard; b: injection standard;

Determination of recovery rate

Two grams of meat from organic cattle purchased in a supermarket in Belgium were spiked in triplicates with 10 µL of internal standard (trifluralin D14 1 ng/µL) and 30 µL of solution containing the 12 pesticides (each at 1 ng/µL) up to a final insecticide concentration of 15 µg/kg in the meat sample, for each pesticide. Another sample of 2 g from the same blank meat was spiked in triplicate with only 10 µL of internal standard trifluralin D14 (1 ng/µL). After waiting during 15 min at room temperature, these spiked samples were submitted to the same previous extraction protocol as the real meat samples. Then, the extracts were injected in GC-MS in parallel with a reference solution containing 30 µL of the mixture of the 12 pesticides (each at 1 ng/µL), 10 µL of internal standard (1 ng/µL) and 10 µL of injection standard (1 ng/µL), in order to reach a final concentration corresponding to the pesticide concentration in the extracts coming from the spiked samples. The response factor (RF) of each pesticide was then calculated by the following formula:

$$RF = \frac{\sum \text{peak area of compound of interest}}{\sum \text{peak area of chlorpyrifos D10}}$$

Peak areas were integrated using XCalibur software. The recovery rate (%) of each pesticide was estimated from the ratio between the RF found for the spiked meat in relation and the RF of the reference solution.

Calibration and calculation of pesticide concentrations in meat

Sample extracts were injected in GC-MS as well as calibration solutions containing the mixture of pesticide standards in increasing concentrations of 0 - 0.2 - 0.4 - 0.6 - 0.8 - 1 and 1.2 ng/µL (for each pesticide). Both extracts and calibration solutions contained 10 µL of trifluralin D14 (1 ng/µL) and 10 µL of chlorpyrifos D10 (1 ng/µL). Taking into account of the extraction protocol, the concentrations in the calibration solutions correspond to 0 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 25 et 30 µg/kg of pesticide in meat. Beta-HCH and gamma-HCH isomers having the same ion fragments and the same retention time, they were considered together, and measured as a sum. The same thing occurred for p,p'-DDD and o,p'-DDT. Permethrin revealed two isomers at different retention time; both of these isomers gave a calibration curve.

Excel 2013 was used to calculate linear regression calibration dose – response (RF) curves for each pesticide standard. Using this linear regression equation and the RF from the sample, concentration of each pesticide was determined. This concentration was corrected by multiplying it with the inverse of recuperation rate.

RESULTS

Concentrations of glyphosate residues in water samples

For the tested water samples, traces of glyphosate residues were found only in waters sampled at Founougo in Banikoara and at Daman in Parakou at the concentrations of 0.064 and 0.099 µg/L, respectively.

Recuperation rate of the pesticides

Table 4 shows the recovery rate of each of the 12 pesticides from blank meat samples spiked with 15 µg/kg. These rates varied from 54.3±9.4 % for alpha-endosulfan to 111.8±27.4 % for delta-HCH. Only delta-HCH and beta-endosulfan showed recovery rates higher than 80 %. The recovery rate of the internal standard (trifluralin D14) was 70.1±11.2 %.

Pesticide calibration curves

Linear regression equations and corresponding coefficient of determination (R^2) of calibration curves are shown in table 5.

For ten pesticides, calibration curves were established using linear regression with R^2 ranging from 97.19 to 99.44 % while quadratic regression equations with $R^2 = 96.83$ % fitted better for the permethrin calibration curve.

Pesticide residue content in meat

Table 6 shows the results of the GC-MS analysis of insecticide residues in 25 samples of meat. Residues were found in 12 % (3/25) of the analyzed bovine carcasses. Beta-endosulfan (139.5 and 98.6 µg/kg) and traces of p,p'- DDE (about 4.6 µg/kg) were detected in 2 and 1 of the cattle carcasses, respectively.

Figure 3 shows the chromatographic peaks of trifluralin D14, chlorppiryfos D10 and beta-endosulfan ion fragments from the analysis of the meat coming from the P1-13 carcass.

Table 4: Recovery rates of the 12 pesticides in 15 µg/kg spiked blank meat samples

Compounds	RF of ref.	Sample 0		Sample 1		Sample 2		Sample 3		Rec. Rate (%)	
		RF	Rec. Rate	RF	Rec. Rate	RF	Rec. Rate	RF	Rec. Rate	Average	SD
Trifluralin D14 ^a	13.9	10.5	75.9%	10.3	74.4%	8.0	57.4%	10.9	78.5%	70.1	11.2
Alpha-HCH	36.2	-	-	29.3	80.9%	18.5	50.9%	21.5	59.4%	63.7	15.4
Beta+gamma-HCH	58.1	-	-	46.3	79.8%	30.3	52.2%	34.1	58.7%	63.6	14.4
Delta-HCH	12.6	-	-	18.0	143.4%	11.9	94.9%	12.2	97.1%	111.8	27.4
Chlorppirifos D10 ^b	1.0	1.0	100.0%	1.0	100.0%	1.0	100.0%	1.0	100.0%	100.0	0.0
Alpha-endosulfan	9.3	-	-	5.8	62.7%	5.2	56.2%	4.1	44.1%	54.3	9.4
p,p'-DDE	156.2	-	-	110.5	70.8%	83.7	53.6%	79.5	50.9%	58.4	10.8
Beta-endosulfan	8.6	-	-	7.1	83.0%	5.5	64.4%	8.1	93.7%	80.3	14.8
p,p'-DDD+o,p'-DDT	143.2	-	-	104.0	72.6%	84.2	58.8%	67.4	47.1%	59.5	12.8
p,p'-DDT	44.0	-	-	36.0	81.8%	31.2	70.9%	22.8	51.9%	68.2	15.1
Lambda-Cyhalothrin	21.6	-	-	20.0	92.5%	17.6	81.3%	10.2	47.1%	73.7	23.6
Permethrin	10.1	-	-	8.8	86.7%	7.7	75.7%	5.6	55.7%	72.7	15.7

a: internal standard; b: injection standard; RF: response factor; sample 0: blank sample spiked with only 10 µL of internal standard; samples 1-3: blank samples spiked with the 12 pesticides each at 15 µg/kg ; ref. : reference pesticide solution ; Rec. : recuperation; SD: standard deviation.

Table 5: Regression equations of pesticide calibration curves

Compounds	Range of conc. (µg/kg)	Range of RF	Equation of reg.	Coef. of det. (R ²)
Trifluralin D14 ^a	5	1.75 - 2.18		
Alpha-HCH	5 - 30	1.88 - 14.64	y = 0.475x - 0.4085	0.9905
Beta+gamma-HCH	5 - 30	3.04 - 24.05	y = 0.7743x - 0.7848	0.9863
Delta-HCH	5 - 30	0.63 - 4.47	y = 0.1472x - 0.1219	0.9944
Chlorppirifos D10 ^b	5	1		
Alpha-endosulfan	5 - 30	0.52 - 3.72	y = 0.1209x - 0.0757	0.9868
p,p'-DDE	5 - 30	6.52 - 58.39	y = 1.9222x - 2.5825	0.9888
Beta-endosulfan	5 - 30	0.53 - 3.18	y = 0.0997x - 0.0357	0.9821
p,p'-DDD+o,p'-DDT	5 - 30	4.53 - 47.85	y = 1.546x - 2.9409	0.9746
p,p'-DDT	5 - 30	1.13 - 12.57	y = 0.4078x - 0.8444	0.9719
Lambda-Cyhalothrin	5 - 30	1.11 - 6.16	y = 0.1944x - 0.1101	0.982
Permethrin	5 - 30	0.40 - 5.07	y = 0.0042x ² + 0.0288x + 0.1311	0.9683

a: internal standard; b: injection standard; RF: response factor; conc.: concentration; reg.: regression; coef.: coefficient; det.: determination ; y=RF ; x=concentration in µg/kg.

Table 6: Concentrations in µg/kg of pesticide residues in meat samples

Animal id.	Alpha-HCH	Beta+gamma-HCH	Delta-HCH	Alpha-endosulfan	Beta-endosulfan		p,p'-DDE		p,p'-DDD+o,p'-DDT	p,p'-DDT	Lambda-cyhalothrin	Permethrin	
	Conc.	Conc.	Conc.	Conc.	Conc.	Cor. conc.	Conc.	Cor. conc.	Conc.	Conc.	Conc.	Conc.	Cor. conc.
P1-01 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-02 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-03 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-04 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-05 ^M	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-06 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-07 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-08 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-09 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-10 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-11 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-12 ^M	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-13 ^M	nd	nd	nd	nd	112.0**	139.5**	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-14 ^M	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-15 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-16 ^M	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-17 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-18 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2.7*	4.6*	nd	nd	nd	nd	nd
P1-19 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-20 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-21 ^M	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-22 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-23 ^M	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-24 ^F	nd	nd	nd	nd	79.2**	98.6**	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
P1-25 ^F	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Limit of detection is 2.5 µg/kg. Conc.: concentration in µg/kg from linear regression equation; Cor. conc.: corrected concentration in µg/kg; **: more than upper limit of quantification; nd: not detected; *: less than limit of quantification of 5 µg/kg. ^M: Male ; ^F: Female

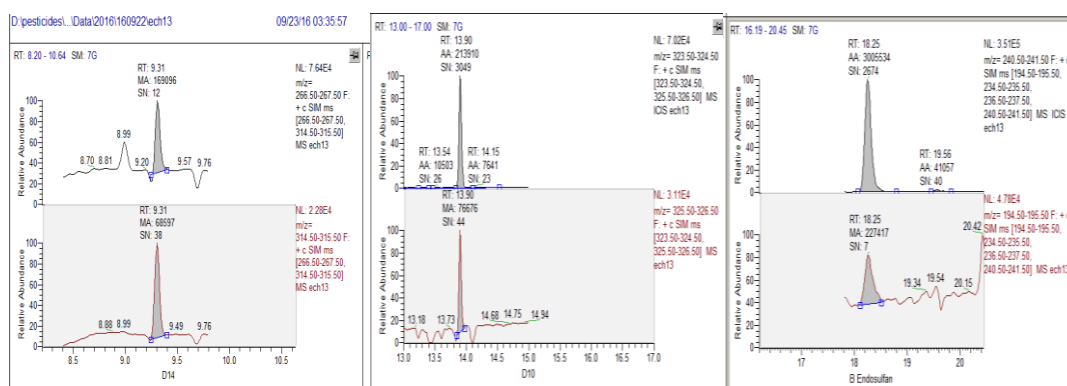


Figure 3: Peaks of trifluralin D14, chlorppirpyfos D10 and beta-endosulfan fragments from chromatogram of P1-13 carcass

DISCUSSION

Glyphosate residues in water

This study showed that only 2 out of the 10 sampled bovine pasture sites displayed surface water containing glyphosate residues in very low concentrations (0.064 and 0.099 $\mu\text{g/L}$). Water sampling was performed during November 2015 at the end of the rainy season and the beginning of the dry season. Gbaguidi *et al.* (2011) did not detect any glyphosate residues during dry season in surface water of Agbado River located in Savalou, cotton culture Commune in centre Benin, but showed that sediments contained glyphosate residues at concentrations ranging from 0.10 to 0.39 $\mu\text{g/L}$ (Gbaguidi *et al.*, 2011). During rainy season, the same authors detected glyphosate residues in Agbado River water at concentrations ranging from 0.10 à 1.316 $\mu\text{g/L}$ (Gbaguidi *et al.*, 2011). These glyphosate concentrations in Agbado River during rainy season are relatively higher than the levels found in this study. These observations could be explained by the large use of glyphosate as total herbicide in agriculture at the beginning of the rainy season (April-June) in the study zone. Because of its short half-life varying from 4 to 8 weeks (Bajwa, 2014), glyphosate residues got necessary time to be destroyed or/and accumulated in sediments before our sampling period during which no herbicide was used. Their detection in trace in these water samples could be explained by animal activities on the pasture sites. So, regular passages of bovines in area waters could bring back residues in water from sediments.

In Benin, glyphosate residues can be admissible in drinking water until 280 $\mu\text{g/L}$ (Décret n°2001- 094, 2001). Then, a glyphosate content of 0.099 $\mu\text{g/L}$ in surface water during dry season is much more lower than this regulatory limit. Moreover, glyphosate could accumulate in animal organs. Thus, its presence in surface water could cause contamination of animals. Some authors detected glyphosate residues in poultry and cow organs such as liver, spleen, lung, intestine, heart, muscles and kidney (Shehata *et al.*, 2014; Krüger *et al.*, 2014). Glyphosate was also detected in human urine (Krüger *et al.*, 2014). Recently, glyphosate was reported to be potentially carcinogenic, cytotoxic and extremely nephrotoxic when it contaminates hard water containing heavy metals (Mesnage *et al.*, 2014; Ibrahim, 2015; Jayasumana *et*

al., 2015a; 2015b). Thus, its presence in surface water could be revealed dangerous for ecosystem in general. So, all measures will be good to reduce the presence of this herbicide residue in pasture water.

Insecticide residues in bovine meats

Pesticide residues were present in 12 % of analyzed carcasses. This rate of cattle contamination was much more lower than the 100 % of beef samples contaminated with organochlorine pesticides (Lindane, Aldrin, Dieldrin, Endosulfan, DDT and DDE) in Kumassi and Buoho in Ghana (Darko and Acquah (2007). These authors found DDE concentrations of 118.45 µg/kg in fat and 42.93 µg/kg in lean beef samples from Kumassi, and 31.89 µg/kg in fat and 5.86 µg/kg in lean beef samples from Buoho (Darko and Acquah, 2007), which is far above the 4.6 µg/kg we find in this study. So, the low concentration of DDE in this study can be explained by the low fat rate in bovines raised in Benin (Salifou *et al.*, 2013).

Beta-endosulfan was found in two out of 25 analyzed carcasses (8 %). This contamination rate was also much more lower than the level of endosulfan contaminated carcasses found in Ghana. Indeed, beta-endosulfan was found in 26/30 beef samples from Kumassi and Buoho (Darko and Acquah, 2007). From all the pesticides determined in this study, beta-endosulfan displayed the highest concentration (98.6 and 139.5 µg/kg). This situation is similar to that of Punjab in India for poultry meat, where average endosulfan concentrations were around 100 µg/kg (Aulakh *et al.*, 2006), while lower levels were found in beef fat in Kumasi (21.35 ± 3.85 µg/kg) (Darko and Acquah, 2007).

Only organochlorine pesticides were found in the carcasses. According to the Regulation (EC) 149/2008 of 29 January 2008 amending Regulation (EC) 396/2005 of the European Parliament and of the Council (EC, 2008), maximum residue limits (MRL) in meat are 30 and 250 µg/kg for beta-endosulfan and p,p'DDE, respectively. Thus in the present study, only beta-endosulfan concentrations in two bovine carcasses were higher than these MRL.

The presence of pesticide residues in cattle meat is an evidence of bioconcentration (from pasture water) and bioaccumulation (through water and food, leading to biomagnification in different organisms) of pesticides from the surrounding environment. Animals intended for human consumption may absorb pesticides from residues in their feed, water or during direct/indirect exposure in the course of pest control. In contrary to pyrethroid pesticide group, which are now used in agriculture in the study zone, endosulfan use has been banned and severely restricted in many countries (including Benin) around the world because of its acute human toxicity and the high numbers of reported poisonings. Likewise, the use of DDT, which degradation give rise to DDE, was banned in Benin a long time ago. Thus, the presence of DDE and endosulfan in bovine meat was a surprise and could be explained by their illegal use by farmers after purchasing from unofficial market.

Although the low level of carcasses contamination by pesticides, bioaccumulation of these residues is likely to be health concern in higher living organisms as human. Endosulfan has been identified as an endocrine disrupting chemical (Lee *et al.*, 2013). Thus, the presence of this organochloride in cattle meat is a major concern. So, consumption of meat, especially from contaminated species, may expose consumers to possible health hazard because the contaminated food (including meat) has been established as a major way of human exposure to pesticides and other contaminants (Biego *et al.*, 2010; Ni *et al.*, 2012; Barnhoorn *et al.*, 2015).

In conclusion, these results call for more stringent regulations on the use of pesticides by Beninese farmers and also a rigorous and frequent monitoring of pesticides in various environmental matrix and especially food should be encouraged, in order to safe guard the health of consumers in this country.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Responsible of Rural Development of Parakou, veterinarians and cattle butchers of this town.

COMPETING INTERESTS

The authors declare that they have no financial or personal relationships that may have inappropriately influenced them in writing of this article.

REFERENCES

- Adam S, Etorh PA, Totin H, Koumolou L, Amoussou E, Aklikokou K, Boko M. 2010. Pesticides et métaux lourds dans l'eau de boisson, les sols et les sédiments de la ceinture cotonnière de Gogounou, Kandi et Banikoara (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 4(4), 1170-1179.
- Agbohessi PT, Imorou Toko I, Yabi JA, Dassoundo-Assogba JFC, Kestemont P. 2011. Caractérisation des pesticides chimiques utilisés en production cotonnière et impact sur les indicateurs économiques dans la Commune de Banikoara au nord du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 5(5), 1828-1841.
- Aïkpo FH, Chabi CB, Ayi V, Koumolou L, Houssou CS, Etorh PA. 2015. Evaluation de la contamination des eaux du fleuve Couffo dans la zone cotonnière de Djidja (Bénin) par les pesticides. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9(3), 1725-1732.
- Alavo TBC, Yarou BB, Atachi P. 2010. Field effects of kaolin particle film formulation against major cotton lepidopteran pests in North Benin, West Africa, *International Journal of Pest Management* 56(4), 287-290. DOI: 10.1080/09670871003628389

- Aulakh RS, Gill JPS, Bedi JS, Sharma JK, Joia BS, HW. 2006. Organochlorine pesticide residues in poultry feed, chicken muscle and eggs at a poultry farm in Punjab, India. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(5), 741–744. DOI: 10.1002/jsfa.2407.
- Badarou S, Coppieters Y. 2009. Intoxication alimentaire due à l'endosulfan: mise en place d'un système de notification et de prise en charge au Bénin. *Environnement Risques et santé* 8(2), 133-136.
- Bajwa AA. 2014. Sustainable weed management in conservation agriculture. *Crop Protection* 65, 105-113.
- Barnhoorn IEJ, van Dyk JC, Genthe B, Harding WR, Wagenaar GM, Bornman MS. 2015. Organochlorine pesticide levels in *Clarias gariepinus* from polluted freshwater impoundments in South Africa and associated human health risks. *Chemosphere* 120, 391–397.
- Biego GHM, Yao KD, Ezoua P, Kouadio LP. 2010. Assessment of Organochlorine Pesticides Residues in Fish Sold in Abidjan Markets and Fishing Sites. *African Journal of food agriculture Nutrition and development* 10(3), 2305–2323.
- Chauhan BS, Singh RG, Mahajan G. 2012. Ecology and management of weeds under conservation agriculture: a review. *Crop Protection* 38, 57-65.
- Damalas CA, Eleftherohorinos IG. 2011. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8, 1402-1419. doi:10.3390/ijerph8051402
- Darko G, Acquah SO. 2007. Levels of organochlorine pesticides residues in meat. *International journal of Environmental Science and Technology* 4 (4), 521-524.
- Dawson AH, Eddleston M, Senarathna L, Mohamed F, Gawarammana I, Bowe SJ, Manuweera G, Buckley NA. 2010. Acute Human Lethal Toxicity of Agricultural Pesticides: A Prospective Cohort Study. *PLOS Medicine* 7(10), e1000357. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000357>
- De Silva SMS, Chandrasekara WU. 2016. Is the Widely Used Weedicide Glyphosate that Bad? Toxic Effects of Glyphosate on the Earthworm *Perionyx excavatus* (Perrier, 1872). *Proceedings of the International Forestry and Environment Symposium 2016, Session I - Biodiversity Conservation* 3: 5.
- Duke SO, Powles SB. 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64, 319–325.
- EC (European Commission). 2008. Commission Regulation (EC) 149/2008 of 29 January 2008 amending Regulation (EC) 396/2005 of the European Parliament and of the Council by establishing Annex II, III and IV setting maximum residue levels for products covered by Annex I thereto. *Official Journal of the European Union* L58, 1-398.

- EC. 2005. Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement Européen et du conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil. Journal officiel de l'Union européenne L70, 1-16.
- Ehling S, Reddy TM. 2015. Analysis of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Nutritional Ingredients and Milk by Derivatization with Fluorenylmethyloxycarbonyl Chloride and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry 63, 10562–10568.
- Eldridge BF. 2008. Pesticide application and safety training for applicators of public health pesticides. Training manual, category A. California Department of Public Health Information, University of California, 122 p. http://westnile.ca.gov/special/category_a/
- Esteve-Turrillas FA, Pastor A, de la Guardia M. 2005. Determination of pyrethroid insecticide residues in vegetable oils using combined solid-phases extraction and tandem mass spectrometry detection. Analytica Chimica Acta 553, 50-57.
- Ezemonye LI, Ogbeide OS, Tongo I, Enuneku AA, Ogbomida E. 2015. Pesticide contaminants in *Clarias gariepinus* and *Tilapia zilli* from three rivers in Edo State, Nigeria; implications for human exposure. International Journal of Food Contamination 2:3. DOI 10.1186/s40550-015-0009-z
- Gbaguidi MAN, Soclo HH, Issa YM, Fayomi B, Dognon R, Agagbe A, Bonou C, Youssao A, Dovonou LF, Sanni A. 2011. Evaluation quantitative des résidus de pyréthrinoïdes, d'aminophosphate et de triazines en zones de production de coton au Bénin par la méthode ELISA en phase liquide : cas des eaux de la rivière Agbado. International Journal of Biological and Chemical Sciences 5(4), 1476-1490.
- Gomgnimbou APK, Savadogo PW, Nianogo AJ, Millogo-Rasolodimby J. 2009. Usage des intrants chimiques dans un agrosystème tropical : diagnostic du risque de pollution environnementale dans la région cotonnière de l'est du Burkina Faso. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement 13(4), 499-507.
- Hinson AV, Lawin H, Gounongbe F, Dossou F, Fayomi B. 2015. Attitudes, Practices of farmers exposed to pesticides at Banikoara Township (Republic of Benin). Journal of Environment and Health Sciences 1(2), 1-5. DOI: 10.15436/ 2378-6841.15.013
- Ibrahim YA. 2015. A regulatory perspective on the potential carcinogenicity of glyphosate. Journal of Toxicology and Health 2:1. doi: 10.7243/2056-3779-2-1
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2004a. Cahier des villages et quartiers de ville, Département de l'Alibori. République du Bénin. 17 p.

- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2004b. Cahier des villages et quartiers de ville, Département du Borgou. République du Bénin. 17 p.
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2015. RGPH4 : Que retenir des effectifs de population en 2013 ? Cotonou, République du Bénin : Direction des études démographiques. 33 p. (Non publié). http://www.insae-bj.org/recensement-population.html?file=files/enquetes-recensements/rgph/RGPH4/Principaux%20indicateurs/R%C3%A9sultats_d%C3%A9finitifs_RGPH4.pdf.
- Jayasumana C, Gunatilake S, Senanayake P. 2014. Glyphosate, Hard Water and Nephrotoxic Metals: Are They the Culprits Behind the Epidemic of Chronic Kidney Disease of Unknown Etiology in Sri Lanka? *International Journal of Environmental Research and Public Health* 11, 2125-2147doi:10.3390/ijerph110202125
- Jayasumana C, Gunatilake S, Siribaddana S. 2015a. Simultaneous exposure to multiple heavy metals and glyphosate may contribute to Sri Lankan agricultural nephropathy. *BMC Nephrology* 16:103. DOI 10.1186/s12882-015-0109-2
- Jayasumana C, Paranagama P, Agampodi S, Wijewardane C, Gunatilake S, Siribaddana S. 2015b. Drinking well water and occupational exposure to Herbicides is associated with chronic kidney disease, in Padavi-Sripura, Sri Lanka. *Environmental Health* 14:6. <http://www.ehjournal.net/content/14/1/6>
- Khrolenko MV, Wiecek PP. 2005. Determination of glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid in fruit juices using supported-liquid membrane preconcentration method with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. *Journal of Chromatography A* 1093, 111–117.
- Krüger M, Schledorn P, Schrödl W, Hoppe HW, Lutz W, Shehata AA. 2014. Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology* 4:2, 1-5. doi: 10.4172/2161-0525.1000210.
- Lau C, Schropp S, Sumner DA. 2015. The 2014 US Farm Bill and its Effects on the World Market for Cotton. Issue Paper No. 58; International Centre for Trade and Sustainable Development, Geneva, Switzerland, www.ictsd.org
- Lee H-R, Jeung E-B, Cho M-H, Kim T-H, Leung PCK, Choi K-C. 2013. Molecular mechanism(s) of endocrine-disrupting chemicals and their potent oestrogenicity in diverse cells and tissues that express oestrogen receptors. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 17(1), 1-11.

- Mesnage R, Defarge N, Spiroux de Vendômois J, Séralini G-E. 2014. Major Pesticides Are More Toxic to Human Cells Than Their Declared Active Principles. *BioMed Research International* ID 179691. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/179691>
- Ni H-G, Chao D, Shao-You L, Xiao-Ling Y, Sojinu Olatunbosun S. 2012. Food as a main route of adult exposure to PBDEs in Shenzhen, China. *Science of the Total Environment*. 437, 10–14.
- Novakits. 2014. Glyphosate ELISA, Format Microplaque / Reference : 1500086. 2p.
- Pretty J, Toulmin C, Williams S. 2011. Sustainable intensification in African agriculture. *International Journal of Agricultural Sustainability* 9(1), 5-24. <https://doi.org/10.3763/ijas.2010.0583>
- Salifou CFA, Dahouda M, Houaga I, Picard B, Hornick J-L, Micol D, Kassa SK, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A, Youssao AKI. 2013c. Muscle characteristics, meat tenderness and nutritional qualities traits of Borgou, Lagunaire and Zebu Fulani bulls raised on natural pasture in Benin. *International Journal of Animal and Veterinary Advances* 5(4), 143-155.
- Sarwar M, Salman M. 2015. The Paramount Benefits of Using Insecticides and Their Worldwide Importance in Food Production. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering* 1(3), 359-365. <http://www.aiscience.org/journal/ijbbe>
- Shehata AA, Schrödl W, Schledorn P, Krüger M. 2014. Distribution of Glyphosate in Chicken Organs and its Reduction by Humic Acid Supplementation. *Journal of Poultry Science* 51, 333-337.
- Stefanelli P, Santilio A, Cataldi L, Dommarco R. 2009. Multiresidue analysis of organochlorine and pyrethroid pesticides in ground beef meat by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 44, 350–356.
- The World Bank. 2016. World Development Indicators: Structure of output. (Unpublished) <http://wdi.worldbank.org/table/4.2>
- Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J, Whitbread A. 2012. Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological Conservation* 151, 53–59.

Chapitre 5

Discussion générale – Perspectives –
Implications pour le développement et
Conclusion générale

5.1. Discussion générale

5.1.1. Les antibiotiques vétérinaires et leurs résidus dans la viande bovine au Nord-Est du Bénin

La viande est une denrée alimentaire bien consommée au Bénin en général et dans la zone septentrionale en particulier. Elle constitue un produit de grande valeur nutritionnelle au regard des éléments nutritifs qu'elle contient et surtout de sa teneur élevée en protéines (22 %) (Pereira et Vicente, 2013). Au Bénin, la production de viande est soumise à plusieurs pratiques dont l'usage des médicaments vétérinaires en élevage des animaux domestiques. Parmi ces produits, se retrouvent en ligne de mire les antibiotiques. Dans la zone d'étude où des éleveurs locaux étaient questionnés, cinq (05) familles d'antibiotiques étaient utilisées en élevage de bovins. Il s'agit des tétracyclines, bêta-lactames, sulfamidés, aminoglycosides et macrolides. En dehors des aminoglycosides, les quatre autres groupes étaient également retrouvés au centre Bénin et utilisés par les éleveurs de bovins (Mensah *et al.*, 2014a). Ces mêmes auteurs ont révélé que les produits de contrebande issus des marchés de bétail et marchés locaux étaient aussi utilisés par 57 % des éleveurs. Cette dominance des marchés locaux dans la fourniture des antibiotiques a été aussi confirmée dans la présente étude au Nord-Est du Bénin où 58,2 % des éleveurs de bovins s'approvisionnent dans ces lieux de vente illicite de médicaments vétérinaires. Ceci est dû à l'insuffisance d'officines vétérinaires installées dans ces communes d'élevage de bovins. En effet, officiellement ces localités sont desservies en produits vétérinaires par un circuit de distribution au bout duquel se trouvent seulement quelques pharmacies vétérinaires qui sont des détaillants installés dans les chefs-lieux des communes ou au meilleur des cas dans certains centres des arrondissements les plus peuplés. Les médicaments vendus dans ces pharmacies vétérinaires sont livrés par des semi-grossistes et des grossistes. Ceux-ci importent ces produits depuis des laboratoires installés dans les pays de l'Union Européenne (en particulier la France), au Canada, au Brésil, en Inde, au Pakistan, en Chine et même au Nigéria et au Ghana (Soumana, 2013 ; Mensah *et al.*, 2014a). L'insuffisance des pharmacies vétérinaires dans les zones d'élevage ne favorise pas l'accès rapide aux médicaments vétérinaires de qualité pour les éleveurs surtout éloignés des centres urbains. Comme dans la sous-région ouest-africaine, les produits prohibés retrouvés sur les marchés locaux béninois proviennent principalement des pays comme le Nigeria, l'Egypte, l'Inde, le Soudan, la Mauritanie, le Pakistan et la Chine (Messomo Ndjana, 2006 ; Dognon, 2016). Leur circulation sur le territoire béninois témoigne d'une carence de contrôle formel du secteur de distribution des médicaments vétérinaires.

En outre, le service vétérinaire béninois est caractérisé par des techniciens d'élevage qui sont des agents vétérinaires et para-vétérinaires en fonction dans les Directions Départementales de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche et leurs démembrements dans les communes. Ce personnel d'Etat a pour rôle régalien le suivi sanitaire des animaux d'élevage. Ces agents sont complétés par des cabinets vétérinaires (le plus souvent associés aux pharmacies vétérinaires) gérés par des docteurs vétérinaires et des

ingénieurs en production animale installés en clientèles privées. Les soins aux animaux sont alors délégués à ces agents vétérinaires qualifiés qui se déplacent généralement vers les élevages. Le plus souvent, ces vétérinaires se font aider par des assistants qui sont parfois des étudiants stagiaires provenus des structures de formation vétérinaire (Messomo Ndjana, 2006). De plus, les diplômés des structures de formations vétérinaires qui sont en attente de recrutement offrent des prestations aux éleveurs en jouant aux vétérinaires “ambulants” sans aucune autorisation préalable. Ceci est illégal et ne respecte pas les textes législatifs régissant le secteur vétérinaire au Bénin (PR, 2004). Les agents vétérinaires interviennent aussi dans la chaîne de distribution des antibiotiques lors de leurs interventions dans les élevages en alimentant 35,7 % des éleveurs de bovins au Nord-Est du Bénin avec des médicaments issus des pharmacies vétérinaires.

La quantité d’antibiotiques utilisée dans les élevages de bovins n’a pas été évaluée dans cette thèse. Mais, au regard des pratiques observées dans ces élevages, cette quantité d’antibiotiques pourrait être exagérée. En effet, face à des cas d’automédication conduisant à des échecs répétés d’antibiothérapies, les éleveurs utilisent parfois et de façon inadéquate, plusieurs séries de groupes d’antibiotiques contre une même pathologie sur un même animal. Ainsi, l’utilisation des antibiotiques dans les élevages de bovins au Nord-Est du Bénin peut être qualifiée d’abusive.

D’après l’étude sur les pratiques d’utilisation des antibiotiques dans la zone d’étude, 23,5 % des éleveurs ont été classés dans le groupe à faible risque susceptible d’occasionner la contamination des denrées alimentaires d’origine bovine (classe 1). Les groupes à risque moyen (classe 2) et à risque élevé (classe 3) rassemblaient respectivement 50 et 26,5 % des éleveurs. Une même catégorisation d’éleveurs a été retrouvée au centre du Bénin (Mensah *et al.*, 2014a). Mais en réalité, aucune des classes d’éleveurs rencontrés dans la présente zone d’étude ne garantissait une absence de risque de contamination de denrées alimentaires issues des bovins traités car en dehors des modalités propres à chaque classe, plusieurs modalités à risque étaient partagées par ces trois groupes identifiés. Il s’agit de celles relatives aux éleveurs non instruits en majorité (tous les éleveurs des classes 1 et 3 ; et 93,9 % de la classe 2), au non-respect des délais d’attente prescrits (100 % de la classe 1 ; 87,8 % de la classe 2 et 96,2 % de la classe 3), à la non disposition particulière de gestion des flacons vides des médicaments (78,3 % de la classe 1 ; 93,9 % de la classe 2 et 84,6 % de la classe 3), aux marchés locaux comme source d’achat des médicaments (60,9 % de la classe 1 ; 49 % de la classe 2 et 73,1 % de la classe 3), à la pratique d’automédication (60,9 % de la classe 1 ; 59,2 % de la classe 2 et 50 % de la classe 3), etc.

Ces pratiques favorisent une contamination de la chaîne alimentaire par des résidus d’antibiotiques. Comme le confirment les résultats de détection et de dosage des résidus d’antibiotique dans les viandes bovines prélevées à Parakou, principale ville cible des bovins élevés et destinés à l’abattage au Nord-Est du Bénin.

Sur le plan qualitatif, la méthode du “*New Two Plates Test*” modifié (NTPTm) développée dans cette étude a révélé que 60 % des carcasses prélevées contenaient des résidus de substances antimicrobiennes appartenant aux familles de tétracyclines (54 %), bêta-lactames (2 %) et sulfamidés (6 %). Toutes les carcasses présumées contaminées par des résidus de sulfamidés étaient également contaminées par des résidus de tétracyclines ; des substances antibiotiques non identifiées étaient aussi présentes dans 4 % des carcasses. Ce schéma global de contamination en résidus d’antibiotiques qui met en tête les tétracyclines n’est pas anodin. En effet, pour des raisons de son spectre d’action assez large contre beaucoup de bactéries Gram négatif et même positif (Griffin *et al.*, 2011), les tétracyclines étaient utilisés par tous les éleveurs de bovin de la zone d’étude (Dognon *et al.*, 2018a). De même, Mensah *et al.* (2014a) ont signalé l’utilisation des tétracyclines par 89 % des éleveurs du centre Bénin. Ces auteurs ont aussi prouvé la présence de résidus d’antibiotiques dans le lait de bovins prélevés dans les communes du centre Bénin où le taux de contamination en résidus d’antibiotiques atteignait parfois 100 % des échantillons issus de certaines municipalités (Mensah *et al.*, 2014c).

En conséquence, les analyses par chromatographie gazeuse couplée au détecteur de spectrométrie de masse (CG-SM) ont confirmé dans les carcasses la présence de résidus d’oxytétracycline (OTC), de tétracycline (TC) et de leurs métabolites tels que l’épi-oxytétracycline (épi-OTC) et épi-tétracycline (épi-TC). Ces molécules appartiennent toutes au groupe des tétracyclines (TCs). Quantitativement, la concentration totale en résidus de TCs pouvait atteindre jusqu’à 1771 µg/kg (dont 1380 µg/kg pour l’OTC) dans le rein et 441 µg/kg (dont 270 µg/kg pour l’OTC) dans le muscle. Ces concentrations sont proches de celles obtenues au Vietnam dans la viande de porc et de poulet avec des concentrations en OTC allant jusqu’à 812 µg/Kg (Pham Kim *et al.*, 2013). En Tanzanie, la situation est très critique et la moyenne de la teneur en OTC dans la viande bovine dépassait le double de la concentration maximale en OTC obtenue dans la présente étude ($3533,1 \pm 803,6$ µg/kg dans le rein). Par contre en Belgique où la fréquence de présence d’OTC dans la viande était faible avec une teneur relativement moins élevée (52 et 253 µg/kg dans seulement 2/523 échantillons de viande de porc), la doxycycline présentait une teneur allant jusqu’à 1033 µg/kg (De Wasch *et al.*, 1998). La rareté de données récentes indiquant la présence de résidus d’antibiotique dans les viandes belges est due aux nombreuses mesures de précaution et de surveillance de la chaîne alimentaire dans ce pays.

En plus des TCs, la présence de résidus de sulfaméthazine a aussi été confirmée dans une carcasse à des teneurs très élevées : 3900 µg/kg dans le rein et 2220 µg/kg dans le muscle. La sulfaméthazine est la principale molécule contenue dans les médicaments à base de sulfamidés utilisés au Nord-Est du Bénin (Dognon *et al.*, 2018a). En se référant au Règlement 37/2010 en vigueur dans l’Union Européenne, ces doses en sulfaméthazine atteignent respectivement 39 et 22 fois la Limite Maximale de Résidus (LMR) fixée dans la viande pour les sulfamidés qui est de 100 µg/kg (EU, 2010). Au total, 38 % de carcasses bovines présentaient des concentrations en résidus d’antibiotiques supérieures aux LMRs. Ce taux de non-conformité est supérieur à celui obtenu en Egypte où 7 % des viandes de volaille étaient non-

conformes pour la teneur en résidus de TCs (Salama *et al.*, 2011). La Tanzanie a présenté un taux de 68,3 % de non-conformité des carcasses bovines contenant des résidus de TCs (Kimera *et al.*, 2015). En Europe en 2014, seulement 0,37 % des 750.000 échantillons de viande issus de 28 pays européens étaient non conformes aux exigences légales relatives aux résidus d'antibiotiques. Un travail doit d'être mené par les acteurs de la chaîne alimentaire des pays en développement comme le Bénin pour mieux se rapprocher du schéma européen.

Dans les milieux ruraux au Nord-Est du Bénin, il est fréquemment constaté des cas d'abattage chez l'éleveur. La carcasse découpée est ensuite transportée vers l'abattoir pour la certification de la viande. Cette pratique est le plus souvent observée après des cas d'échecs répétés de traitement thérapeutique sur l'animal cible qui se retrouve parfois dans un état agonisant (Dognon, 2010). Des données quantitatives relatives à la part d'animaux abattus chez l'éleveur et à l'abattoir ne sont pas disponibles pour l'ensemble de la zone d'étude. Toutefois, la ville de Parakou où les échantillons de viande analysés dans cette étude ont été prélevés, dispose de plusieurs abattoirs dont deux principaux (l'abattoir central et l'abattoir du quartier Dépôt) et de deux grands marchés de bétail (à Tourou et à Guéman). Ces marchés sont les principaux points d'approvisionnement en animaux à abattre pour la consommation. Ces animaux, après achat, sont ensuite conduits à l'abattoir par les bouchers. Dans ces conditions, la fréquence d'abattage chez l'éleveur est relativement plus limitée dans la ville de Parakou que dans les autres communes de la zone d'étude. Tous les animaux dont les carcasses ont été analysées dans cette thèse étaient abattus à l'abattoir. Ainsi, le taux élevé de contamination des carcasses de bovins en résidus d'antibiotiques tel que révélé dans cette étude, n'est pas une conséquence des abattages non contrôlés chez l'éleveur.

Par ailleurs, quelle que soit la nature du résidu dosé dans cette étude, les muscles étaient moins chargés que les reins à l'image de l'étude rapportée par Kimera *et al.* (2015) en Tanzanie où les reins de bovins étaient plus concentrés en résidus d'OTC ($3533,1 \pm 803,6 \mu\text{g/kg}$) que les muscles ($2604,1 \pm 703,7 \mu\text{g/kg}$). Cette situation s'explique par le rôle du rein de filtre purificateur de l'organisme (Oh and Han, 2006).

Les familles d'antibiotiques utilisées en médecine vétérinaire étant les mêmes que celles utilisées en santé humaine (Sanders *et al.*, 2011, Mensah *et al.*, 2014b), la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale est un facteur du développement de résistance antimicrobienne non seulement dans l'environnement mais aussi et surtout chez l'homme. Par exemple, les TCs qui sont majoritairement détectées dans la présente étude sont responsables de résistance développée par plusieurs bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, etc.) isolées des hommes ayant été traités par ces médicaments (Chopra and Roberts, 2001). Au Bénin, des cas de multi-résistance aux antibiotiques (bêta-lactames, céphalosporines, sulfamidés, etc.) développée par *E. coli* ont été rapportés aussi bien dans le cas de souches isolées de carcasses bovines à l'abattoir de Cotonou/Porto-Novo (Ahouandjinou *et al.*, 2016)

que de celles isolées de tissus humains dans trois centres hospitaliers de Cotonou (Anago *et al.*, 2015). De même, des souches de *S. aureus* et de *S. sciuri* résistantes aux bêta-lactames ont été isolées de patients souffrant d'infections nosocomiales au Centre Hospitalier Départemental du Zou et des Collines au Sud-Bénin (Ahoyo *et al.*, 2013). De plus, des cas de réactions allergiques à des bêta-lactames et des macrolides ont été rapportés chez des patients au Bénin (Chauty *et al.*, 2011 ; Flatin *et al.*, 2018). Dans ce contexte, les résidus d'antibiotiques détectés dans la viande bovine au Nord-Est du Bénin pourraient être responsables des échecs antibiothérapeutiques, exposant la santé des consommateurs à de graves menaces. La maîtrise des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale contribuera de ce fait, de façon significative à éviter des problèmes de santé chez les consommateurs de viandes.

Cette maîtrise des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale pourrait passer par des approches « *top down* » et « *bottom up* » à développer par les autorités. L'approche « *top down* » stipule que les autorités prennent des dispositions nécessaires pour éditer des textes réglementant davantage le secteur de la médecine vétérinaire et fixant les LMRs de médicaments dans les aliments au Bénin. Des mesures de sensibilisation et d'application de ces textes doivent être prises et des contrôles quotidiens (par des laboratoires officiels) assortis de sanctions à l'endroit des éleveurs déclarés hors-la-loi doivent être effectués. Malheureusement, le Bénin, à l'instar des pays de l'espace UEMOA, ne dispose pas encore d'un texte juridique fonctionnel imposant la recherche des résidus médicamenteux dans les aliments d'origine animale (Dognon *et al.*, 2018b). Seuls l'importation des médicaments vétérinaires, les modalités d'exercice de la profession vétérinaire et le régime des médicaments vétérinaires sont respectivement réglementés par l'arrêté interministériel N°425 du 07 octobre 1998, le décret N°2004-292 du 20 mai 2004 et le décret N°2014-352 du 02 juin 2014 (Dognon *et al.*, 2018b). Ainsi, cette approche « *top down* » n'est pas encore vraiment effective au Bénin. En ce qui concerne l'approche « *bottom-up* », elle suppose le dialogue avec les éleveurs, une compréhension de leur comportement et une approche analytique didactique et plus négociée pouvant les amener à mieux développer des pratiques susceptibles de limiter la présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale. A l'étape actuelle des relations mises en place par les autorités béninoises, les éleveurs sont le plus souvent approchés lors des campagnes générales de vaccination des animaux, ou dans le cadre de l'exécution de quelques projets-programmes ayant pour objectif d'améliorer les performances zootechniques des animaux. L'enjeu du contrôle des résidus d'antibiotiques dans les aliments n'est pas encore une priorité pour les décideurs du pays. L'application future de ces deux approches au Bénin devrait nettement contribuer à la protection de la santé des animaux et des consommateurs.

Le NTPT modifié développé dans cette étude est une méthode de screening semi-quantitative des résidus d'antibiotique dans la viande bovine. Il est relativement efficace pour la détection des résidus de TCs mais à des teneurs qui sont seulement indicatives de présence ou non de ces molécules. L'amélioration de la phase d'extraction rendra plus sensible cette méthode non seulement pour les TCs, mais aussi pour les résidus de bêta-lactames et de sulfamidés. Au regard de son accessibilité et de son coût relativement

moins élevé que les méthodes impliquant la chromatographie, cette méthode pourrait être très utile dans les laboratoires d'analyses de denrées alimentaires au Bénin où jusqu'à présent le contrôle de résidus d'antibiotiques dans les aliments n'est pas systématique. Le développement de méthodes rapides de screening pour la recherche de résidus d'aminoglycosides et de macrolides dans la viande bovine est aussi nécessaire pour élargir le contrôle aux résidus de tous les antibiotiques utilisés dans les élevages de bovins au Nord-Est du Bénin.

Par ailleurs, l'adaptation du NTPTm a permis de vérifier la qualité des médicaments antibiotiques utilisés en élevage de bovins dans la zone d'étude. En dépit du schéma en partie illégal du secteur de distribution de produits vétérinaires au Bénin, tous les produits analysés contiennent des matières actives antimicrobiennes conformes à la famille inscrite sur les étiquettes. Ceci n'était pas le cas au Vietnam où Phu *et al.* (2015) avaient montré que 2/21 (9,5 %) des antibiotiques utilisés en aquaculture ne contenaient aucune matière active. Au Mali, les analyses de Dicko (2010) sur 120 produits d'oxytétracycline ont révélé l'absence de matière antimicrobienne dans deux (1,67 %) médicaments. Face à ces schémas, on pourrait se féliciter de la situation observée au Bénin. Mais sur le plan quantitatif, seulement 61 % des médicaments analysés présentaient des teneurs en substances actives comprises dans une fourchette de 90 à 120 %, 90-115 % et ≥ 90 % des concentrations (respectivement d'oxytétracycline, de pénicilline G et de tylosine) mentionnées sur les étiquettes, et sont alors supposés être conformes selon les exigences de l'*United States Pharmacopeia* (USP, 2006a ; 2006b ; 2006c ; 2006d). Cette situation est également meilleure par rapport à celle du Vietnam où le taux de conformité des antibiotiques en aquaculture était de 27 % (Phu *et al.*, 2015). Par ailleurs, les produits à base de sulfaméthazine présentaient les plus faibles valeurs : 27 à 47 % des concentrations déclarées sur les étiquettes. Des 11 médicaments non conformes (39 % des produits), cinq (05) étaient issus des marchés locaux et six (06) des officines vétérinaires où ces médicaments antibiotiques étaient aussi conservés à la température ambiante comme dans les marchés locaux. Or, selon Dicko (2010), la température influence beaucoup la stabilité des molécules d'antibiotiques. Elle serait donc en partie responsable de ce taux élevé de médicaments non conformes, surtout le cas des produits à base de sulfaméthazine dont les étiquettes exigeaient des températures de conservation < 25 °C.

D'une manière générale, l'usage d'antibiotiques non conformes en élevage n'est pas une garantie de la réussite de la thérapie. Ceci pourrait conduire les éleveurs à des surdosages inadéquats de ces médicaments dans le but de réussir le traitement des animaux. La conséquence de ces actes est la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine alimentaire dont la consommation est favorable au développement de bactéries antibio-résistantes qui constituent des menaces pour la santé des animaux et des hommes.

5.1.2. Les pesticides utilisés en agriculture et leurs résidus dans la viande bovine au Nord-Est du Bénin

Au Nord-Est du Bénin, les agriculteurs utilisent les pesticides pour la protection des végétaux en particulier les cultures céréalières (maïs, sorgho, etc.) et cotonnière. Comme les antibiotiques, les pesticides sont des molécules bioactives ayant des effets nocifs sur plusieurs catégories d'êtres vivants (végétaux, insectes, champignons, etc.). La présente étude a montré que tous les agriculteurs rencontrés dans la zone d'étude utilisent ces pesticides. Mais, à peine 32 % de ces producteurs sont instruits et ont la possibilité de lire les étiquettes des produits. Ainsi, le risque de mauvaise utilisation de ces pesticides existe chez 68 % des agriculteurs en absence des conseillers en production végétale. Ce taux élevé d'agriculteurs non-instruits a été aussi souligné par Hinson *et al.* (2015) à Banikoara au Nord-Est du Bénin.

Le cotonnier cultivé par 94 % des agriculteurs de la zone d'étude est l'une des principales cultures de rente et a fourni 44 % des produits exportés du Bénin en 2014 (INSAE, 2015a). Il est de ce fait très important pour l'économie nationale. Mais il héberge plusieurs ravageurs dont le principal est *Helicoverpa armigera* (Alavo *et al.*, 2010), justifiant l'usage de divers pesticides dans la zone d'étude. Les pesticides les plus utilisés dans ce milieu sont des herbicides et insecticides.

Comme l'avaient signalé Chauhan *et al.* (2012) et Bajwa (2014), les agriculteurs du Nord-Est du Bénin utilisent aussi les herbicides pour gagner du temps par rapport aux opérations contraignantes de sarclage. Contrairement à Agbohessi *et al.* (2011) et Hinson *et al.* (2015) qui ont respectivement recensé trois et quatre matières actives d'herbicides en production cotonnière à Banikoara, la présente étude a recensé 13 matières actives d'herbicides utilisés par les producteurs. La matière active d'herbicide la plus utilisée était le glyphosate [N-(phosphonométhyl)glycine] qui est un herbicide non sélectif et à large spectre d'action.

Quant aux insecticides, l'acétamipride était la matière active la plus utilisée des 14 recensés dans la zone d'étude. Ceci est conforme avec les résultats de Hinson *et al.* (2015).

Comme dans le cas de la commercialisation des médicaments vétérinaires dans la zone d'étude, les pesticides prohibés de contrebande sont aussi disponibles sur le marché local. C'est pourquoi, à peine 17 % des producteurs enquêtés se les procurent par la source officielle de distribution des pesticides dans les communes d'étude (les Secteurs Communaux pour le Développement Agricole (SCDA)). A contrario, Agbohessi *et al.* (2011) ont estimé que 67 % des cotonculteurs utilisent les pesticides du circuit officiel. Ces cotonculteurs ont en effet la possibilité d'acquérir à crédit les intrants officiels pour la production du cotonnier, ce qui n'est pas le cas pour les cultures vivrières pour lesquelles les producteurs devraient acheter les intrants au comptant. Cette situation justifie l'usage par les producteurs de certains pesticides non autorisés (Atrazine et Butachlor) par le Comité National d'Agrément et de Contrôle des produits phytosanitaires (CNAC) au Bénin.

Par ailleurs, l'absence d'endosulfan parmi les pesticides recensés au cours de cette étude est une bonne nouvelle montrant le respect de l'interdiction de cette substance au Bénin depuis 2007 (Badarou et Coppieters, 2009). Ainsi, la santé des producteurs serait mieux protégée face à cet organochloré très toxique pour l'homme.

L'usage des pesticides tel que décrit dans cette étude est une source importante de résidus dans les écosystèmes naturels et dans les tissus animaux.

Dans le cadre de cette étude, le glyphosate était le seul recherché dans les eaux de pâturage car d'autres études avaient montré la présence de résidus d'insecticide dans les eaux de surface au Bénin (Gbaguidi *et al.*, 2011). Bien que le glyphosate soit le premier herbicide utilisé dans la zone d'étude, ses résidus ont été détectés seulement en trace dans les eaux de pâturage. La période d'échantillonnages des eaux (novembre) qui est le début de la sécheresse dans le milieu d'étude justifie aisément cette situation car le glyphosate, qui est un herbicide total, s'utilise massivement en début de la saison pluvieuse (mai-juin) avant même l'installation des cultures.

Bien qu'il soit retrouvé en trace dans les eaux de pâturage, le glyphosate est bioaccumulable contrairement aux informations ayant favorisé sa vulgarisation et son utilisation massive dans le domaine agricole. Ces eaux de surface analysées sont parfois consommées par des êtres humains. Ainsi, les effets néfastes liés à la présence de résidus de glyphosate dans ces eaux concernent non seulement les animaux de pâturage, mais aussi les êtres humains. Des études ont même révélé la présence de résidus de glyphosate dans les tissus animaux (volailles et bovins) et humains (Shehata *et al.*, 2014 ; Krüger *et al.*, 2014). Récemment, des études ont prouvé que le glyphosate est potentiellement cancérigène, cytotoxique et extrêmement néphrotoxique surtout lorsqu'il est combiné avec de l'eau dure (riche en calcium) contenant des métaux lourds tels que le cadmium et l'arsenic, naturellement présents dans le sol ou apportés via les engrais (Mesnage *et al.*, 2014 ; Ibrahim, 2015 ; Jayasumana *et al.*, 2015a ; 2015b). C'est même pour cette raison qu'il a été récemment interdit d'utilisation au Sri Lanka (De Silva et Chandrasekara, 2016). Les excipients utilisés pour les formulations de pesticides sont parfois très toxiques et renforcent plus le niveau de toxicité des matières actives. Par exemple, le Roundup qui est l'un des herbicides commerciaux les plus utilisés dans le monde et composé du glyphosate contenu dans l'excipient étheralkylamine éthoxylée, est plus de 100 fois plus toxique à certaines cellules humaines que le glyphosate même (Mesnage *et al.*, 2014). Ce glyphosate, qualifié de probablement cancérigène pour l'homme (groupe 2A) selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (IARC, 2017), fait actuellement l'objet de beaucoup de débats au plan mondial après l'historique condamnation de Monsanto en août 2018. En effet, un tribunal de San Francisco a condamné Monsanto à payer près de 290 millions de dollars de dommages pour ne pas avoir informé de la dangerosité de son herbicide Roundup (contenant du glyphosate), considéré avoir causé le cancer de Dewayne Johnson, un jardinier américain (Eau et Rivières, 2018). Malgré ces réactions au plan mondial, le glyphosate bénéficie encore de l'autorisation d'utilisation au Bénin et dans de nombreux autres pays. Il est la matière active de

84,6 % des herbicides utilisés au Nord-Est du Bénin. Il urge alors que la communauté scientifique trouve une molécule alternative moins toxique pour remplacer le glyphosate.

Par ailleurs, cette étude a aussi révélé que 12 % des carcasses bovines étaient contaminées par des pesticides tels que bêta-endosulfan et p,p'-DDE. Cette situation a aussi été observée à Ghana où toutes les carcasses bovines des abattoirs de Koumassi et Buoho étaient contaminées par des pesticides organochlorés (Lindane, Aldrine, Dieldrine, Endosulfan, DDT et DDE) (Darko et Acquah, 2007). Dans l'ensemble, seul bêta-endosulfan avait une concentration supérieure à 30 µg/kg qui est la Limite Maximum de Résidus d'endosulfan dans la viande selon le Règlement (CE) 149/2008 du 29 janvier 2008.

La présence de ces pesticides dans les carcasses bovines est certainement le résultat de leur bioconcentration et bioaccumulation dans les tissus animaux à travers l'alimentation du bétail. Contrairement à d'autres pesticides tels que les pyréthrinoides qui sont actuellement utilisés dans la zone d'étude, l'endosulfan et le DDT (dont DDE est un produit dérivé) n'ont pas été retrouvés au Nord-Est du Bénin lors des travaux d'inventaire, car leur usage est interdit au Bénin depuis une décennie en raison de leur toxicité et de leur rémanence dans l'environnement (Badarou et Coppieters, 2009). Ainsi, la présence de ces organochlorés dans les carcasses bovines pourrait se justifier soit par leur usage frauduleux et récent ou par leur demi-vie relativement longue dans les tissus animaux. Par exemple, la demi-vie du DDT dans les graisses animales est supérieure à cinq (05) ans avec des facteurs de bioconcentration allant jusqu'à 50.000 dans le poisson (FAO/UNEP, 1991).

La méthode utilisée dans cette thèse pour le dosage des résidus d'insecticides dans la viande n'incluait pas la recherche des résidus d'acétamipride, qui est la principale matière active contenue dans 37 % des produits insecticides recensés dans la zone d'étude. Une méthode spécifique pour la détection des résidus d'acétamipride dans la viande bovine mérite d'être développée. En outre, la lambda-cyhalothrine qui était la deuxième matière active la plus utilisée (contenue dans 25,7 % des produits insecticides) au Nord-Est du Bénin, n'a pas été retrouvée dans les carcasses bovines. En effet, la lambda-cyhalothrine est très peu soluble dans l'eau et est caractérisé par des valeurs de K_{oc} (coefficient de partage carbone organique/eau) comprises entre 38.000 et 345.000 indiquant qu'elle a une tendance à s'adsorber fortement sur les sédiments (Zoumenou *et al.*, 2015). Ainsi, une fois dans les écosystèmes humides, la lambda-cyhalothrine sera plus accumulée dans les sédiments et sera moins disponible dans l'eau de surface, source de contamination des bovins en pâturage. Pour ces raisons, bien que la lambda-cyhalothrine soit bien bioaccumulable (Zoumenou *et al.*, 2015), ses résidus dans la viande bovine se trouvent à un seuil inférieur à la limite de détection de la méthode utilisée.

En raison de leur toxicité et de leur capacité élevée de bioconcentration dans les tissus animaux, la présence de ces résidus de pesticides (bêta-endosulfan et p,p'-DDE) dans les tissus animaux est un problème de santé publique et pourrait créer des dommages irréversibles chez les consommateurs de

viande. Par exemple, l'endosulfan est reconnu comme étant un perturbateur endocrinien (PANUPS, 1999). L'exposition prolongée aux organochlorés est à la base de nombreux dysfonctionnements du système nerveux humain qui s'expriment entre autres par la diminution du développement mental et psychomoteur chez l'enfant (Eskenazi *et al.*, 2006). Des malformations congénitales et des altérations importantes des composantes cognitives de la mémoire ont été liées aux effets des organochlorés chez l'être humain (Torres-Sánchez *et al.*, 2013). L'alimentation à base de denrées contaminées étant la principale voie d'exposition des hommes aux effets néfastes de pesticides (Biego *et al.*, 2010 ; Ni *et al.*, 2012 ; Barnhoorn *et al.*, 2015), il est urgent de développer des stratégies pour limiter au maximum ce phénomène.

En somme, la présente étude a montré que les pratiques d'utilisation des pesticides en agriculture influencent fortement la qualité hygiénique (sanitaire) des viandes de bovins élevés dans le milieu d'étude. Il s'agit d'un réel problème de santé publique car en réalité, les organismes y compris les hommes sont exposés à des mélanges de composés chimiques (antibiotiques, pesticides, etc.) capables d'être véhiculés par les denrées alimentaires d'origine animale. Or, la toxicité de ces composés pour l'homme est évaluée sur la base de l'exposition d'animaux de laboratoires aux composés individuels et non à des mélanges plausibles de substances chimiques. L'effet toxique, pour l'homme, résultant de son exposition à un mélange de substances est à l'heure actuelle inconnu, mais il est connu que certains composés peuvent avoir des effets synergiques, c'est-à-dire que l'effet du mélange est supérieur à la somme des effets des composés individuels.

Les pratiques actuelles d'élevage des bovins au Nord-Est du Bénin exposent ces animaux aux médicaments et aux pesticides utilisés respectivement pour leur santé et en agriculture dans leurs zones de pâturage. Ainsi, le bovin pourrait être utilisé comme un animal sentinelle pour la recherche des résidus de médicaments vétérinaires, des pesticides et autres produits chimiques utilisés en agriculture. Dans ce cas, les parties à prélever vont dépendre des propriétés des contaminants chimiques recherchés. Par exemple : la matière grasse peut être prélevée pour l'étude des résidus de pesticides liposolubles alors que les contaminants hydrosolubles peuvent être recherchés dans le muscle, l'urine, le sérum, le foie et le rein ; la recherche des métaux lourds peut cibler le foie et le rein. Toutefois, ce choix porté sur le bovin comme animal sentinelle a des limites à cause des propriétés physico-chimiques de certains pesticides qui s'adhèrent plus fortement aux sédiments et ne sont donc pas disponibles pendant longtemps dans les eaux de surface. Ces eaux constituent les principales sources de contamination des animaux de pâturage en résidus de pesticides qu'elles reçoivent par ruissellement ou par retombée atmosphérique après leur usage en agriculture et en santé publique. De même, les résidus des pesticides qui ne sont pas bioaccumulables ne pourront pas être détectés dans les tissus animaux.

5.1.3. Critiques de la méthodologie et limites des études menées dans cette thèse

Les travaux d'enquêtes portant d'une part sur les inventaires des antibiotiques et leur utilisation en élevage de bovin et d'autre part sur les pesticides utilisés en agriculture dans la zone d'étude, ont été réalisés une seule fois sur une courte période. Ceci n'a pas permis de mettre en évidence l'effet de la période d'activité sur les variations des types d'antibiotiques utilisés par les éleveurs de bovins. La même lacune est observée pour les pesticides utilisés en agriculture. De plus, ces études pourraient être étendues sur des aspects quantitatifs et économiques de l'utilisation des produits bioactifs par les producteurs agricoles et éleveurs de bétails. Ainsi, elles pourraient évaluer la quantité moyenne d'antibiotiques utilisée par tête de bovin et par an. De plus, la situation financière relative au traitement du bétail pourrait être évaluée de même que la proportion des échecs de traitements basés sur l'automédication. D'autres études futures sont indispensables pour apporter des réponses à ces questions.

Pour les travaux de détection de résidus d'antibiotiques dans les carcasses de bovins, les échantillonnages ont eu lieu pendant une seule période. Si ces prélèvements avaient couvert les deux saisons (pluvieuse et sèche), l'effet de la saison sur le taux de carcasses contaminées et sur les concentrations de résidus aurait pu être mis en évidence. Aussi, il serait intéressant d'établir une relation entre le taux de saisie des organes à l'abattoir et la contamination des carcasses en résidus d'antibiotiques. En outre, bien qu'étant une méthode de screening semi-quantitatif, le NTPT modifié tel que développé dans cette étude donne des teneurs approximativement indicatives en résidus d'oxytétracycline, de pénicilline G et de la sulfaméthazine dans la viande de bovins. Seulement trois points étaient considérés pour l'établissement des courbes de calibration à partir des échantillons supplémentés d'antibiotique. Ainsi, beaucoup de concentrations estimées en résidus d'antibiotiques étaient hors champ et souffrent ainsi d'imprécisions. Une optimisation de cette méthode pourrait être envisagée par une augmentation des points de calibration et l'amélioration de la phase d'extraction des résidus.

Par ailleurs, le mode d'élevage des bovins pourrait être mis en relation avec les taux de contamination des carcasses bovines. Ainsi, une stratégie de suivi des animaux depuis leur ferme d'élevage jusqu'à l'abattoir pourrait être envisagée.

Quant aux travaux de recherche de résidus de pesticides dans l'eau de pâturage et viande de bovin, plusieurs aspects pourraient être aussi abordés. Il s'agit de la recherche des résidus d'insecticides dans les eaux de pâturage afin de mieux faire le lien entre la contamination de ces eaux et la contamination des bovins en résidus de pesticides. Dans ce cas, les prélèvements de viande à analyser seraient faits sur des bovins élevés précisément sur les aires de pâturage où les eaux ont été prélevées. Une stratégie de suivi des animaux depuis leur ferme d'élevage jusqu'à l'abattoir pourrait également aider à atteindre cet objectif. Il serait aussi intéressant de considérer le facteur saison dans cette étude. Des méthodes

d'analyses sont également indispensables pour la recherche de résidus de glyphosate dans la viande de bovin au lieu que cette recherche soit seulement limitée aux eaux de pâturage.

En absence d'une législation spécifique au Bénin et dans l'espace UEMOA, surtout en ce qui concerne les LMRs des antibiotiques et des pesticides dans les aliments d'origine animale et la qualité des médicaments antibiotiques vétérinaires, des normes et exigences européennes ont dû être utilisées comme références pour l'ensemble des études menées dans cette thèse. Il faut signaler que l'utilisation de ces textes européens pour des comparaisons de conformité des échantillons de viandes et de médicaments semble être exagérée au regard des conditions d'élevage et de distribution des antibiotiques vétérinaires au Bénin qui sont loin des pratiques observées dans les pays développés.

5.2. Perspectives

Au regard des limites observées dans les cinq études présentées ici, plusieurs axes de recherche sont formulés en perspectives futures pour compléter ces travaux.

5.2.1. Etude économique des traitements vétérinaires sur les bovins

Cette étude aura pour objectif d'évaluer les quantités d'antibiotiques utilisées par les éleveurs béninois en fonction de la taille des troupeaux de bovins et des maladies annuellement traitées. Ainsi, les coûts des traitements vétérinaires surtout à base d'antibiotiques seront estimés suivant les différentes catégories d'éleveurs.

5.2.2. Utilisation des médicaments antibiotiques en élevage de bovin suivant les saisons

L'objectif de cette étude sera d'évaluer l'effet des saisons sur l'utilisation des différents antibiotiques dans les élevages de bovins au Bénin. Il s'agira d'une étude comparative qui fera ressortir l'influence des saisons pluvieuses et saisons sèches sur la prédominance des pathologies suivant lesquelles les antibiotiques sont utilisés dans les élevages de bovins au Bénin. L'effet de la transhumance sur les pratiques d'utilisation des antibiotiques dans les élevages de bovins pourrait être aussi évalué à travers cette étude.

5.2.3. Optimisation du NTPTm pour la détection et la semi-quantification des résidus de tétracyclines, de bêta-lactames et de sulfamidés

Le NTPTm qui est une méthode de screening microbiologique développée dans cette thèse mérite d'être améliorée pour la détection des résidus de tétracyclines, bêta-lactames et de sulfamidés. Cette étude aura donc pour objectif d'optimiser le NTPTm en vue d'augmenter sa sensibilité pour la détection de ces résidus d'antibiotiques. Il s'agira surtout de travailler sur le protocole d'extraction afin d'améliorer le taux de recouvrement de ces résidus à partir d'échantillons de viande. Les cas de contaminations multiples et simultanées des échantillons de viande par des résidus d'antibiotiques appartenant à des

familles différentes seront également mis en évidence afin d'éviter les confusions liées à certains résultats fournis par le NTPTm. Par exemple, la présence de résidus de sulfamidés dans un échantillon de viande bovine n'est pas facilement détectable à travers le NTPTm lorsque ce même échantillon contient de résidus de tétracyclines qui inhibent mieux la croissance de *B. subtilis* que les sulfamidés.

5.2.4. Adaptation du NTPTm pour la détection de résidus d'antibiotique dans le lait bovin

Au Bénin, des méthodes qualitatives ont été utilisées pour prouver la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache. Le NTPTm étant une méthode facile, accessible et semi-quantitative, il sera intéressant de l'adapter pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache. Dans cette étude, des stratégies doivent être développées pour neutraliser les antimicrobiens naturels contenus dans le lait avant la réalisation des tests d'inhibition conduisant à l'identification et la semi-quantification des résidus de divers groupes d'antibiotiques.

5.2.5. Détection des résidus d'antibiotiques suivant la chaîne de transformation du lait de vache en fromage peulh

La transformation du lait de vache en fromage peulh localement appelé “*wagashi*” passe par plusieurs étapes. Une fois que le lait de départ est contaminé par des résidus d'antibiotiques, on peut s'attendre à un fromage peulh contenant ces résidus de médicaments. L'objectif de cette étude sera de rechercher les résidus d'antibiotiques dans le fromage et les différents produits intermédiaires obtenus pendant le processus de fabrication du fromage peulh à partir d'un lait de vache initialement contaminé en résidus d'antibiotiques. Ainsi, l'impact du processus de transformation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans le fromage peulh sera étudié.

5.2.6. Etude du risque d'exposition de la population aux antibiotiques vétérinaires

L'objectif de cette étude sera de faire une évaluation globale du risque lié à la consommation des denrées alimentaires (viande, lait et œuf) contaminées par des résidus d'antibiotiques. Ici, des études préliminaires sont indispensables pour doser les résidus d'antibiotiques dans toutes les denrées alimentaires visées. Aussi, les probabilités d'apparition de ces dangers dans ces denrées alimentaires seront évaluées avant l'analyse du risque proprement dite.

5.2.7. Etude de la résistance bactérienne aux antibiotiques vétérinaires en élevage de bovins

Au Bénin, aucune étude n'a encore fait le lien direct entre les antibiotiques utilisés en élevage et les résistances développées par les germes pathogènes chez les animaux. C'est pourquoi cette étude aura pour objectif de rechercher des gènes de résistance transmissibles chez des bactéries pathogènes régulièrement soumises à des doses relativement faibles d'antibiotiques. Cette étude aura le mérite

d'apporter des preuves scientifiques incontestables relatives aux impacts de l'utilisation des antibiotiques dans les élevages au Bénin.

5.2.8. Détection de résidus d'autres médicaments vétérinaires dans la viande et lait

Les antibiotiques ne sont pas les seuls médicaments vétérinaires utilisés dans les élevages au Bénin pour le bien-être des animaux. C'est pourquoi, cette étude aura pour objectif de rechercher les résidus d'autres médicaments vétérinaires tels que les trypanocides et les antiparasitaires dans les denrées alimentaires d'origine animale. Des méthodes faciles et accessibles à l'image du NTPTm doivent être envisagées.

5.2.9. Développement de nouvelles stratégies de traitement des maladies infectieuses chez les animaux afin de réduire le niveau d'utilisation des antibiotiques dans les élevages

Au Bénin, des méthodes endogènes impliquant l'usage de certaines plantes médicinales sont développées dans les élevages pour soigner les animaux grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires, immuno-modulatrices ou physiologiques, réduisant les signes cliniques de l'infection tout en aidant aux processus de guérison (Ducrot *et al.*, 2017). En outre, l'emploi de substances à propriétés immuno-modulatrices telles que le colostrum bovin et les probiotiques dans l'alimentation animale est une stratégie qui a beaucoup retenu l'attention de la communauté scientifique ces dernières années. Le colostrum bovin est particulièrement riche en éléments essentiels et surtout en peptides bioactifs (dont la lactoferrine) connus pour leurs propriétés antimicrobiennes et promotrices de croissance chez plusieurs espèces dont le porc (Agbokounou *et al.*, 2017). Quant aux probiotiques, leur utilisation en élevage peut prévenir des maladies ou améliorer la santé générale des animaux et des êtres humains (Imperial et Ibana, 2016).

L'objectif de cette étude sera de réduire l'utilisation des antibiotiques dans les élevages en développant de nouvelles stratégies et méthodes à base des plantes médicinales combinées ou non à des probiotiques ou le colostrum bovin. Ces stratégies vont en aval réduire le niveau actuel de contamination en résidus d'antibiotiques des denrées alimentaires d'origine animale.

5.2.10. Mise au point d'une méthode efficace pour le dosage de résidus de glyphosate dans la viande

Dans cette thèse, les résidus de glyphosate ont seulement été recherchés dans les eaux de pâturage. Ainsi, aucun lien n'a pu être établi en ce qui concerne leur bioaccumulation dans la viande. C'est pourquoi cette étude envisage de développer une méthode adéquate et efficace pour la recherche de résidus de glyphosate dans la viande.

5.3. Implications pour le développement

Une fois encore la sonnette d'alarme sur les défaillances des circuits de distribution des médicaments vétérinaires et des pesticides a été tirée. La prise en compte des recommandations de cette étude conduira l'Etat à renforcer les stratégies de contrôle de ces circuits de distribution en limitant au maximum la commercialisation de produits zoosanitaires et phytosanitaires prohibés sur le marché. Ainsi, la santé des animaux et celle des consommateurs de denrées d'origine animale seront mieux préservée. Le développement du secteur de la pharmacie vétérinaire par la promotion de plusieurs officines dans les milieux reculés et les marchés de bétail sera tributaire d'emplois officiels et sera économiquement rentable pour l'Etat à travers des taxes et impôts qui seront collectés.

Pour le suivi des troupeaux de bétail, beaucoup de vétérinaires doivent être recrutés dans les zones d'élevage. Des emplois seront ainsi créés.

Au Bénin, les méthodes officielles de contrôle des denrées alimentaires ne prennent pas encore en compte la détection des résidus d'antibiotiques dans les aliments. L'adoption du NTPT modifié dans les laboratoires béninois de contrôle est vivement souhaitée afin de préserver la santé des consommateurs.

Si la viande et le lait sont contrôlés et conformes aux exigences réglementaires, leurs exportations pourraient être envisagées, ce qui favorisera la rentrée des devises au pays.

5.4. Conclusion générale et recommandations

Au Bénin, le cheptel bovin contribue à environ 57 % du total la viande locale. Pour le bien-être des animaux au Nord-Est du pays, les éleveurs utilisent des médicaments vétérinaires dont les antibiotiques regroupés en cinq familles : tétracyclines, sulfamidés, bêta-lactames, macrolides et aminoglycosides.

De l'utilisation de ces médicaments, il ressort beaucoup de pratiques peu recommandées telles que l'acquisition des produits prohibés, l'automédication, le non-respect des délais d'attente des antibiotiques. Ces pratiques d'utilisation des antibiotiques dans le milieu d'étude ont occasionné la contamination des viandes de bovins élevés dans le milieu d'étude. En effet, la méthode de screening rapide baptisée “*New Two Plates Test* modifié” (NTPTm) et développée pour le dépistage semi-quantitatif des antibiotiques dans la viande a permis de détecter des résidus de tétracyclines, de bêta-lactames et de sulfamidés dans la viande de bovin. Cette méthode de NTPTm est plus efficace pour la détection des résidus de tétracyclines dans la viande de bovin.

L'étude de la qualité de ces médicaments a révélé qu'ils contenaient tous de matières actives conformes à la famille d'antibiotique inscrits sur les étiquettes. Mais, seulement 61 % des médicaments analysés étaient conformes avec des concentrations estimées se situant dans les limites exigées par *United States Pharmacopeia*.

Dans la même zone d'étude, les agriculteurs utilisent plusieurs pesticides (herbicides et insecticides) pour la production des cultures céréalières (maïs, sorgho, etc.), de légumineuses et le cotonnier. L'usage de ces produits par des méthodes peu recommandées, présente également de risques non seulement pour les écosystèmes naturels, mais aussi pour les animaux domestiques et l'homme. Tout comme les antibiotiques, des résidus de pesticides ont été détectés dans l'eau de pâturage et la viande bovine.

De tout ce qui précède, on peut retenir que les pratiques vétérinaires et agricoles influencent la qualité hygiénique des viandes de bovins élevés au Nord-Est du Bénin ; ce qui se traduit par la présence de divers résidus de produits dans ces viandes à l'origine de risques sanitaires pour les consommateurs. Il convient alors de formuler les recommandations suivantes :

(i) A l'endroit des chercheurs : A travers cette recommandation, le monde des scientifiques est sollicité pour mobiliser les ressources nécessaires à la mise en œuvre des axes de recherche énumérés dans la partie perspectives de cette thèse. La réalisation de l'ensemble des études suggérées permettra de répondre à de nombreuses questions de recherche afin d'améliorer les pratiques agricoles relatives à l'usage des antibiotiques vétérinaires et des pesticides.

(ii) A l'endroit de l'Assemblée Nationale : Les honorables députés représentants légitimes du peuple béninois à l'Assemblée Nationale sont invités à renforcer le cadre législatif par de nouvelles lois afin de mieux réglementer le secteur de l'élevage et de la transformation agro-alimentaire. Ils sont appelés à adopter des textes de lois relatifs fixant des Limites Maximales de Résidus (LMRs) d'antibiotiques et de pesticides dans les denrées alimentaires d'origine animale consommées au Bénin. Ces nouveaux textes de même que les anciennes lois réglementant le secteur de l'élevage et l'exercice de la profession vétérinaire au Bénin méritent d'être largement vulgarisés. Des stratégies de sensibilisation permanente des éleveurs sur ces lois doivent être développées par l'Assemblée Nationale.

(iii) A l'endroit du gouvernement : le gouvernement béninois est appelé à mettre en place des dispositions pouvant amener les acteurs du secteur de l'élevage à respecter les textes régissant leurs activités respectives. Par exemple, des contrôles spontanés pourraient être réalisés sur les aliments d'origine animale et des mesures de sanctions punitives pourraient être prises à l'encontre des éleveurs dont les animaux auraient fourni des denrées alimentaires (viande, lait, œuf) contaminées par des résidus d'antibiotiques à des seuils supérieurs aux LMRs. Pour cela, un système efficace et fonctionnel de sensibilisation des acteurs du secteur de l'élevage (éleveurs et distributeurs) pour le respect des règles régissant leur métier s'avère indispensable. Il serait intéressant de faire la promotion des pharmacies vétérinaires dans les villages et arrondissements des communes d'élevage au Bénin, surtout dans les marchés de bétail. Cette mesure permettra aux éleveurs d'avoir un accès facile aux médicaments officiels. Ainsi, l'approvisionnement en médicaments illicites sera limité. Une réorientation des vendeurs de produits frauduleux et de contrebandes dans les marchés de bétail doit être envisagée pour une interdiction formelle de cette activité illégale. Le gouvernement est également sollicité à augmenter

l'effectif des agents vétérinaires et para-vétérinaires pour le suivi sanitaire et efficace des troupeaux de bovins. La capacité de ces agents vétérinaires doit être régulièrement renforcée pour une bonne exécution de leur fonction quotidienne. Il est souhaitable que le gouvernement réalise des forages sur les aires potentielles de pâturage afin de limiter le risque d'exposition des bovins aux résidus de pesticides à travers les eaux de surface. Face aux effets néfastes du glyphosate tels que révélés aujourd'hui, il serait intéressant que les autorités prennent des mesures pour interdire son utilisation au Bénin afin de protéger les agriculteurs et les consommateurs. Enfin, pour réduire le risque des intoxications alimentaires liées à la mauvaise gestion des flacons vides des pesticides, les autorités sont appelées à mettre en place un système motivé pour la collecte sélective de ces flacons qui pourraient être détruits de façon contrôlée ou réutilisés par les usines de production de pesticides.

(iv) A l'endroit des acteurs du secteur de l'élevage et de distribution des produits vétérinaires : Les éleveurs, les agents vétérinaires et les distributeurs de produits vétérinaires sont appelés à respecter les règles et exigences relatives à l'exercice de leur métier respectif. Les distributeurs de produits vétérinaires sont appelés à respecter la chaîne du froid pour certains médicaments antibiotiques, surtout ceux à base de sulfaméthazine qui est sensible à la chaleur. Ces distributeurs sont invités à accompagner le gouvernement pour la promotion et l'ouverture des annexes de pharmacies vétérinaires à proximité des marchés de bétail et dans les zones d'élevage éloignées ou à accès difficile. En ce qui concerne les éleveurs, ils sont appelés à éviter dans les moindres mesures les traitements par automédication ; ils doivent faire l'effort de respecter strictement les délais d'attente des antibiotiques avant la mise en consommation des denrées alimentaires issues des animaux traités. Ces éleveurs doivent également éviter le pâturage des bovins dans les champs de cotonnier afin de réduire leur exposition aux pesticides.

(v) A l'endroit des agriculteurs : Ils sont appelés à utiliser les pesticides suivant les prescriptions des étiquettes et des agents de vulgarisation agricole. Les flacons vides des pesticides doivent être systématiquement détruits. Ces flacons ne doivent en aucun cas servir à d'autres fins comme la conservation des denrées alimentaires (eau, lait, céréales, etc.) afin d'éviter les intoxications alimentaires liées à ces produits.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdi H, Valentin D. 2007. Multiple Correspondence Analysis. In: Neil Salkind (Ed.). Encyclopedia of Measurement and Statistics
- Abiola FA, Diop MM, Teko-Agbo A, Delepine B, Biaou FC, Roudaut B, Gaudin V, Sanders P. 2005. Résidus d'antibactériens dans le foie et le gésier de poulets de chair dans les régions de Dakar et de Thiès (Sénégal). *Revue de Médecine Vétérinaire*, 156 : 264-268.
- Abiola FA. 2001. Le marché mondial des médicaments vétérinaires. Acte du séminaire sur l'utilisation des médicaments vétérinaires en Afrique Subsaharienne. Tenu à Dakar, École inter-États des sciences et médecine vétérinaires de Dakar (EISMV) du 6 au 9 février 2001. 45-45.
- Abiola FA. 2002. Qualité des anthelminthique et des trypanocides en Mauritanie (étude préliminaire par un sondage limité). Rapport d'expertise, EISMV, Dakar (Sénégal). 13 pp.
- Abiola FA. 2005. Qualité des médicaments vétérinaires prélevés au Tchad. Rapport d'expertise, EISMV, Dakar (Sénégal). 13 pp.
- Abouzied M, Driksna D, Walsh C, Sarzynski M, Walsh A, Ankrapp D, Klein F, Rice J, Mozola M. 2012. Validation Study of the BetaStar (R) Plus Lateral Flow Assay for Detection of Beta-Lactam Antibiotics in Milk. *Journal of AOAC International*, 95 : 1211-1221.
- Abreu-Villaça Y, Levin ED. 2018. Chapter 40 : Developmental Neurobehavioral Neurotoxicity of Insecticides. *Handbook of Developmental Neurotoxicology (Second Edition)*, pp 453–466. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809405-1.00040-7>
- Adam S, Etorh PA, Totin H, Koumolou L, Amoussou E, Aklikokou K, Boko M. 2010. Pesticides et métaux lourds dans l'eau de boisson, les sols et les sédiments de la ceinture cotonnière de Gogounou, Kandi et Banikoara (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 4(4): 1170-1179.
- Adam SK, Boko M. 1993. Le climat du Bénin. In : le Bénin, Ed. Sodimas-Edicef. Paris. 96 p.
- AFSCA (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire). 2012. Avis 25-2012 portant sur Examen bactériologique des viandes et recherche de résidus de substances à effet bactériostatique lors d'abattages d'urgence et lors d'autres abattages lorsque c'est indiqué (dossier Sci Com 2011/09). Avis approuvé par le Comité scientifique le 14/09/2012. 14 p.
- Agbohessi PT, Imorou Toko I, Yabi JA, Dassoundo-Assogba JFC, Kestemont P. 2011. Caractérisation des pesticides chimiques utilisés en production cotonnière et impact sur les indicateurs économiques dans la Commune de Banikoara au nord du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 5(5): 1828-1841. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i5.6>

- Agbohessi PT, Imorou Toko I, Attakpa EY, Kestemont P. 2012. Synthèse des caractéristiques physico-chimiques et effets écotoxicologiques du Tihan 175 O-TEQ utilisé dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. Article de synthèse. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 6(5) : 2280-2292.
- Agbokounou AM, Ahounou GS, Youssao AKI, Mensah GA, Koutinhoun B, Hornick J-L. 2017. Effect of cow colostrum on performance and survival rate of local newborn piglets in Benin Republic. Tropical Animal Health and Production, 49: 287–294.
- Agritrade. 2014. Le Bénin profite de la politique commerciale agricole du Nigeria. Disponible en ligne sur <http://agritrade.cta.int/fr/layout/set/print/Agriculture/Sujets/Accords-de-libre-echange-ACP/Le-Benin-profite-de-la-politique-commerciale-agricole-du-Nigeria> (Consulté le 23 janvier 2017).
- Ahmed S, Ning J, Cheng G, Ahmad I, Li J, Mingyue L, Qu W, Iqbal M, Shabbir MAB, Yuan Z. 2017. Receptor-based screening assays for the detection of antibiotics residues – A review. Talanta, 166: 176-186.
- Ahouandjinou H, Baba-Moussa F, Gbaguidi B, Sina H, Adéoti K, Mousse W, Pouadjeu-Wouansi S, Toukourou F, Soumanou M, Baba-Moussa L. 2016. Antibiorésistance Et Facteurs De Virulence Des Souches D'Escherichia Coli Isolées Des Carcasses Bovines Du Bénin. European Scientific Journal, 12(33): 493-503. doi: 10.19044/esj.2016.v12n33p493
- Ahouissi Dahouenon E, Yehouenou B, Hounzangbe-Adote MS, Soumanou MM, Sohounhloue DCK. 2008. État de salubrité des viandes de volaille congelées importées dans la ville de Cotonou en République du Bénin. Annales des Sciences Agronomiques du Bénin, 10(2) : 125-136.
- Ahoyo TA, Yehouenou Pazou E, Baba-Moussa L, Attolou Gbohoun A, Boco M, Dramane KL, Aminou T. 2013. Staphylococcus sciuri outbreak at Tertiary Hospital in Benin. Journal of Medical Microbiology and Diagnosis, 2:3. doi.org/10.4172/2161-0703.1000126
- Aïkpo FH, Chabi CB, Ayi V, Koumolou L, Houssou CS, Edorh PA. 2015. Evaluation de la contamination des eaux du fleuve Couffo dans la zone cotonnière de Djidja (Bénin) par les pesticides. International Journal of Biological and Chemical Sciences: 9(3): 1725-1732. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.50>
- Aïkpo FH, Agbandji L, Chabi CB, Koumolou L, Houssou CS, Edorh PA. 2016. Evaluation de la contamination des tubercules de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) par les pesticides dans la zone cotonnière de Djidja (Bénin). International Journal of Innovation and Applied Studies, 14(3) : 744-749.

- Alavo TBC, Yarou BB, Atachi P. 2010. Field effects of kaolin particle film formulation against major cotton lepidopteran pests in North Benin, West Africa. *International Journal of Pest Management*, 56:4, 287-290, DOI: 10.1080/09670871003628389
- Alberto D, Couée I, Sulmon C, Gouesbet G. 2017. Root-level exposure reveals multiple physiological toxicity of triazine xenobiotics in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*, 212: 105–114.
- Allen KH, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J, Handelsman J. 2010. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews, Microbiology*, 8: 251-259.
- AM (1995) Arrêté Ministériel du 19 juin 1995 modifiant l'arrêté ministériel du 18 décembre 1973 déterminant les techniques de laboratoire pour la recherche des résidus de substances à effet bactériostatique. *Moniteur Belge* du 28/07/1995, 20368–20370.
- Anago E, Ayi-Fanou L, Akpovi CD, Hounkpe WB, Tchibozo MAD, Bankole HS, Sanni A. 2015. Antibiotic resistance and genotype of beta-lactamase producing *Escherichia coli* in nosocomial infections in Cotonou, Benin. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14:5. DOI 10.1186/s12941-014-0061-1
- Aning KG, Donkor ES, Omore A, Nurah GK, Osafo ELK, Staal S. 2007. Risk of Exposure to Marketed Milk with Antimicrobial Drug Residues in Ghana. *The Open Food Science Journal*, 1 : 1-5.
- ANOPER (Association Nationale des Organisations Professionnelles des Éleveurs de Ruminants au Bénin), 2014. La situation actuelle de l'élevage et des éleveurs de ruminants au Bénin : Analyse et perspective. République du Bénin, 68 pp. Disponible en ligne : http://www.inter-reseaux.org/IMG/pdf/DOS_ANNEXE_ANOPER-1.pdf
- Atemnkeng MA, Chimanuka B, Plaizier-Vercammen J. 2007. Quality evaluation of chloroquine, quinine, sulfadoxine–pyrimethamine and proguanil formulations sold on the market in East Congo DR. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 32 : 123–132
- Atlas mondial de données. 2017. Bénin-Commerce : Quantité d'importation – Viande de volaille. Disponible en ligne : <http://knoema.fr/atlas/B%c3%a9nin/topics/Agriculture/Commerce-Quantit%c3%a9-dimportation/Viande> (Consulté le 23 janvier 2017)
- Aubertot JN, Barbier JM, Carpentier A, Gril JJ, Guichard L, Lucas P, Savary S, Savini I, Voltz M. 2005. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport INRA et Cemagref. INRA-Cemagref, Espagne. 64 p.

- Aulakh RS, Gill JPS, Bedi JS, Sharma JK, Joia BS, HW. 2006. Organochlorine pesticide residues in poultry feed, chicken muscle and eggs at a poultry farm in Punjab, India. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (5): 741–744. DOI: 10.1002/jsfa.2407.
- Badarou S, Coppieters Y. 2009. Intoxication alimentaire due à l'endosulfan : mise en place d'un système de notification et de prise en charge au Bénin. *Environnement Risques & santé*, 8(2): 133-136.
- Bajwa AA. 2014. Sustainable weed management in conservation agriculture. *Crop Protection*, 65: 105-113. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2014.07.014>
- Barnhoorn IEJ, van Dyk JC, Genthe B, Harding WR, Wagenaar GM, Bornman MS. 2015. Organochlorine pesticide levels in *Clarias gariepinus* from polluted freshwater impoundments in South Africa and associated human health risks. *Chemosphere*, 120: 391–397.
- Bedada AH, Zewde BM. 2012. Tetracycline residue levels in slaughtered beef cattle from three slaughterhouses in central Ethiopia. *Journal of Global Veterinaria*. 8(6): 546–554.
- Biego GHM, Yao KD, Ezoua P, Kouadio LP. 2010. Assessment of Organochlorine Pesticides Residues in Fish Sold in Abidjan Markets and Fishing Sites. *African Journal of food agriculture Nutrition and development*, 10(3) : 2305–2323.
- Boamah VE, Agyare C, Odoi H, Dalsgaard A. 2016. Practices and Factors Influencing the Use of Antibiotics in Selected Poultry Farms in Ghana, *Journal of Antimicrobial Agents*, 2: 120. doi:10.4172/2472-1212.1000120
- Boison JO. 1995. Chemical analysis of β -lactam antibiotics. In: *Chemical Analysis for Antibiotics Used in Agriculture*, H. Oka, H. Nakazawa, K-I. Harada, J.D. Macneil, Editors, AOAC International.
- Bouvier C, Portet P, Favennec Y, Bussereau D. 2006. Filière de production et qualité nutritionnelle des aliments. Mission parlementaire du député de la Mayenne auprès du ministre de l'Agriculture et de la Pêche, tenue du février à août 2006, 77 pp. Disponible en ligne : <http://www.uprt.fr/mesimages/fichiers-uprt/al-alimentation/al-p-production-et-qualite-nutritionnelle.pdf> (Consulté le 15 décembre 2016).
- Bridi D, Altenhofen S, Gonzalez JB, Reolon GK, Bonan CD. 2017. Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish. *Toxicology*, 392: 32–39.
- Brignon JM, Gouzy A. 2006. Chlorpyrifos (Chlorpyrifos-ethyl). INERIS - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 14 p. Disponible en ligne : <https://substances.ineris.fr/fr/substance/getDocument/2558> (Consulté le 11 juillet 2017)

- Brignon JM, Gouzy A. 2007. Diuron. INERIS - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 35 p. Disponible en ligne : <https://substances.ineris.fr/fr/substance/getDocument/2570> (Consulté le 11 juillet 2017)
- Burr SA, Ray DE. 2004. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. *Toxicological Sciences*, 77(2): 341–346.
- Byer JD, Struger J, Klawunn P, Todd A, Sverko E. 2008. Low Cost Monitoring of Glyphosate in Surface Waters Using the ELISA Method: An Evaluation. *Environmental Science & Technology*, 42: 6052–6057.
- Cabello FC. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8: 1137–1144. PMID: 16817922.
- Cartier P, Moevi I. 2007. La qualité des carcasses et des viandes de gros bovins. Compte rendu final n° 17 05 32 022, Département Technique d’Elevage et Qualité, Service Qualité des Viandes, France. 70p. Disponible en ligne : www.agrireseau.qc.ca/.../qualite_carcasse_viande_bovin_2008. (Consulté le 15 octobre 2011)
- Casida JE, Durkin KA. 2013. Anticholinesterase insecticide retrospective. *Chemico-Biological Interactions*, 203(1): 221–225.
- Casida JE, Quistad GB. 1998. Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Annual Review of Entomology*, 43(1): 1–16.
- Caudell MA, Quinlan MB, Subbiah M, Call DR, Roulette CJ, Roulette JW, Roth A, Matthews L, Quinlan RJ. 2017. Antimicrobial Use and Veterinary Care among Agro-Pastoralists in Northern Tanzania. *PLoS ONE*, 12(1): e0170328. doi:10.1371/journal.pone.0170328
- CE (Commission Européenne), 2001. Directive 2001/101/CE de la Commission du 26 novembre 2001 modifiant la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil relative au rapprochement des législations des États membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que la publicité faite à leur égard. *Journal Officiel de la Commission Européenne*, L310 : 19-21.
- CE (Commission Européenne). 2002. Décision de la Commission Européenne 2002/657/CE du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats. *Journal Officiel de la Commission Européenne*, L6 : 38-39.

- CEMAC-UEMOA. 2017. Les Bulletins Officiels de l'Union Économique et Monétaire Ouest-africaine (UEMOA). Disponible en ligne : <http://www.izf.net/pages/les-bulletins-officiels-lunion-economique-et-mon-taire-ouest-africaine-uemoa> (Consulté le 22 novembre 2017)
- Chadha V. 2012. Antibiotic Resistant Genes in Natural Environment. *Agrotechnology*, 1:104. doi:10.4172/2168-9881.1000104
- Cháfer-Pericás C, Maquieira Á, Puchades R. 2010. Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 29(9) : 1038-1049.
- Chantziaras I, Boyen F, Callens B, Dewulf J. 2014. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: A report on seven countries. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(3): 827–834.
- Chardon H, Brugere H. 2014. Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. Cahiers Sécurité Sanitaire Santé Animale du Centre d'Information des Viandes. 36 p. Disponible en ligne : <http://www.civ-viande.org/wp-content/uploads/2014/04/CIV-cahier-d%C3%A9f-internet-BD.pdf> (Consulté le 16 décembre 2016)
- Chauhan BS, Singh RG, Mahajan G. 2012. Ecology and management of weeds under conservation agriculture: A review. *Crop Protection*, 38: 57-65. DOI:10.1016/j.cropro.2012.03.010
- Chauty A, Ardant M-F, Marsollier L, Pluschke G, Landier J, Adeye A, Goundote A, Cottin J, Ladikpo T, Ruf T, Ji B. 2011. Oral Treatment for Mycobacterium ulcerans Infection: Results From a Pilot Study in Benin. *Clinical Infectious Diseases*, 52(1): 94–96. DOI: 10.1093/cid/ciq072
- ChemSpider. 2015. Search and share chemistry. Available online: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4630.html> (accessed on 6 january 2018).
- Chen T, Cheng G, Ahmed S, Wang Y, Wang X, Hao H, Yuan Z. 2017. New methodologies in screening of antibiotic residues in animal-derived foods: Biosensors. *Talanta*, 175 : 435-442.
- Chopra I, Roberts M. 2001. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2): 232-260. DOI: 10.1128/MMBR.65.2.232–260.2001.
- Clark JM, Symington S. 2012. Advances in the mode of action of pyrethroids. In: Matsuo N, Mori T, (eds.) *Pyrethroids*. Heidelberg: Springer : 49–72, Berlin.
- CNAC (Comité National d'Agrément et de Contrôle des Produits Phytopharmaceutiques). 2014. Liste des produits phytopharmaceutiques sous autorisation provisoire de vente (APV) et agrément homologation (AH). Liste actualisé en juin 2014. République du Bénin. 6p.

- Coibion L. 2008. Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : adaptation à la demande du consommateur. Mémoire pour l'obtention du grade de Docteur Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 97p.
- Colin F. 2000. Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires : cas de l'atrazine dans le bassin versant du Sousson (Gers, Espagne). Thèse de doctorat de l'Université Montpellier et de Cemagref-ENGREF. 255 p.
- Comte D, Petitpierre S, Spertini F, Bart PA. 2012. Allergie aux β -lactamines. Revue Médicale Suisse, 8 : 836-42.
- Costa LG. 2015. The neurotoxicity of organochlorine and pyrethroid pesticides. In Marcello L, Margit LB, (eds.) Handbook of Clinical Neurology 131. Elsevier: 135–148 [Chapter 9].
- CountryStat/Benin. 2015. Base de données statistiques. Disponible en ligne <http://countrystat.org/home.aspx?c=BEN&ta=053CPD050&tr=7> (Consulté le 11 décembre 2015).
- CountryStat/Benin. 2015. Statistical database. Available online: <http://countrystat.org/home.aspx?c=BEN&ta=053CPD050&tr=7>, (accessed on 11 december 2015)
- Dahouda M, Toleba SS, Youssao AKI, Mama Ali AA, Ahounou S, Hornick J-L. 2009. Utilisation des cossettes et des feuilles de manioc en finition des pintades (*Numida meleagris*, L) : performances zootechniques, coûts de production, caractéristiques de la carcasse et qualité de la viande. Annale de Médecine Vétérinaire, 153 : 82-87.
- Damalas CA, Eleftherohorinos IG. 2011. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. International Journal of Environmental Research and Public Health, 8: 1402-1419. doi:10.3390/ijerph8051402
- Daré I. 2007. Harmonisation de l'enregistrement et du contrôle des médicaments vétérinaires en Afrique ; l'exemple de l'Union économique et monétaire ouest-africaine (UEMOA). 17ème conférence de la commission régionale de l'O.I.E pour l'Afrique. Asmara, Erythrée, 26 février - 1 mars 2007, 133-147.
- Darko G, Acquah SO. 2007. Levels of organochlorine pesticides residues in meat. International Journal of Environmental Science and Technology, 4(4): 521-524.
- Darwish WS, Eldaly EA, El-Abbasy MT, Ikenaka Y, Nakayama S. and Ishizuka M. 2013. Antibiotic residues in food: the African scenario. Japanese Journal of Veterinary Research 61(Supplement): S13-S22.

- Dawson AH, Eddleston M, Senarathna L, Mohamed F, Gawarammana I, Bowe SJ, Manuweera G, Buckley NA. 2010. Acute Human Lethal Toxicity of Agricultural Pesticides: A Prospective Cohort Study. *PLOS Medicine*, 7(10): e1000357. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000357>
- DC Fine Chemicals. (no year). Available online: <http://www.dcfinechemicals.com/fr/produits/antibiotics/> (accessed on 21th july 2016).
- DE (Direction de l'Elevage). 2011. Rapport annuel d'activités. République du Bénin. 109 p.
- DE (Direction de l'Elevage), 2016. Rapport annuel 2015, (Rapport d'activité non publié, République du Bénin). 106 p.
- DE (Direction de l'élevage). 2017. Performance du sous-secteur élevage : quelques données de 2016. Rapport d'étape. République du Bénin. 5p.
- De Briyne N, Atkinson J, Pokludová L, Borriello SP, Price S. 2013. Factors influencing antibiotic prescribing habits and use of sensitivity testing amongst veterinarians in Europe. *The Veterinary Record*, 173(19): 475. doi: 10.1136/vr.101454
- De Silva SMS, Chandrasekara WU. 2016. Is the Widely Used Weedicide Glyphosate that Bad? Toxic Effects of Glyphosate on the Earthworm *Perionyx excavatus* (Perrier, 1872). *Proceedings of the International Forestry and Environment Symposium 2016, Session I - Biodiversity Conservation* 3: 5.
- De Wasch K, Okerman L, Croubels S, De Brabander H, Hoof JV, De Backer P. 1998. Detection of residues of tetracycline antibiotics in pork and chicken meat : correlation between results of screening and confirmatory tests. *Analyst*, 123: 2737–2741.
- Delahaut P. 2016. Antibiotic, antibioresistance, method of detection: a challenge for the vet. Groupe CER Marloie. Personal Communication to congres of EVERI (les vétérinaires de l'Enseignement, de la Recherche et de l'Industrie), held on Jun 2, 2016. 37 slides.
- Delauney T, Gourdeau J, Hulin A, Monteirck S, Pernot P. 2010. Atmospheric measurements of pesticides in France by the air quality monitoring networks. *Pollution Atmospherique*, 208: 437-452.
- Dennis PG, Kukulies T, Forstner C, Orton TG, Pattison AB. 2018. The effects of glyphosate, glufosinate, paraquat and paraquat-diquat on soil microbial activity and bacterial, archaeal and nematode diversity. *Scientific Reports*, 8:2119. DOI:10.1038/s41598-018-20589-6
- Dicko SAA. 2010. La qualité en 2009 des Oxytétracyclines injectables à usage vétérinaire disponibles au Mali. Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako (Mali). 49p.

- Djenontin J, Senou M, Salifou CFA, Ahounou GS, Issifou TM, Youssao AKI. 2017. Influence du type génétique sur la composition corporelle et la qualité de la viande des ovins élevés dans les systèmes d'élevage traditionnels. *Archivos de Zootecnia*, 66 : 523-533.
- Djohy GL, Boï Wosso E, Kinzo NE. 2015. Variabilité climatique et production cotonnière dans la commune de kandi au nord Bénin. *Proceeding du XXVIIIe Colloque de l'Association Internationale de Climatologie*. Liège (Belgique). 325-330.
- Dognon SR, Antoine-Moussiaux N, Douny C, Gustin P, Moula N, Scippo ML. and Youssao AKI. 2018a. The use of antibiotics in cattle in North-East Benin: pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders. *Tropical Animal Health and Production*, 50(7): 1683-1699. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1612-9>
- Dognon SR, Douny C, Salifou CFA, Ahounou GS, Dognon J, Sessou P, Youssao AKA, Youssao AKI, Scippo M-L. 2018b. Qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 36(2) : 5858-5878.
- Dognon SR, Degand G, Douny C, Delahaut P, Dahouda M, Youssao AKI, Scippo M-L. 2018c. The modified New Two Plates Test for detecting of tetracycline, beta-lactams and sulfonamides antibiotic residues in kidney and muscle of cattle slaughtered in North-East Benin. *Food Analytical methods*, 11(12): 3406-3416. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1322-y>
- Dognon SR. 2008. Devenir des produits phytopharmaceutiques utilisés en agriculture dans la Commune de Savalou : Inventaire et dosage de résidus de pesticides dans les eaux de la rivière Agbado par la technique ELISA en phase liquide. Mémoire d'ingénieur des travaux, option : Aménagement et protection de l'environnement. Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi (Bénin). 64 p.
- Dognon SR. 2010. Évaluation de la qualité hygiénique des carcasses de bovins fraîchement abattus en milieu rural : cas de la commune de Banikoara. Mémoire de Master en Normes, Contrôle de Qualité et Technologie Alimentaire, Université d'Abomey-Calavi (Bénin). 71 p.
- Dognon SR. 2016. Impact des traitements vétérinaires sur la qualité sanitaire des viandes bovines consommées au nord du Bénin : inventaire des antibiotiques utilisés et recherche de leurs résidus dans le rein et muscle de bovins. Mémoire de Formation doctorale, Faculté de Médecine Vétérinaires de l'Université de Liège (Belgique). 103 p.
- Donkor ES, Newmana MJ, Tay SCK, Dayie NTKD, Bannerman E, Olu-Taiwo M. 2011. Investigation into the risk of exposure to antibiotic residues contaminating meat and egg in Ghana. *Food Control*, 22: 869-873.

- Ducrot C, Fric D, Lalmanach AC, Monnet V, Sanders P, Schouler C. 2017. Perspectives d'alternatives thérapeutiques antimicrobiennes aux antibiotiques en élevage. *INRA Production Animale*, 30: 77-88.
- Duke SO, Powles SB. 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64, 319–325. DOI: 10.1002/ps.1518
- Eau et Rivières. 2018. Pesticides, Monsanto condamné [13/08/2018]. Disponible en ligne : <https://www.eau-et-rivieres.org/pesticides-monsanto-condamn%C3%A9-13082018> (Consulté le 15 septembre 2018).
- EC (European Commission). 2005. Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement Européen et du conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil. *Journal officiel de l'Union européenne*, L70 : 1-16.
- EC (European Commission). 2008. Commission Regulation (EC) 149/2008 of 29 January 2008 amending Regulation (EC) 396/2005 of the European Parliament and of the Council by establishing Annex II, III and IV setting maximum residue levels for products covered by Annex I thereto. *Official Journal of the European Union*. L58: 1-398.
- ECOLEX. 2016. Le portail au droit de l'environnement. Disponible en ligne : <https://www.ecolex.org/fr/details/legislation/loi-n2016-004-du-12-fevrier-2016-regissant-la-pharmacie-veterinaire-lex-faoc155341/>. (Consulté le 23 novembre 2017).
- EFSA (European Food Security Authority). 2014. Reasoned opinion on the modification of the existing MRL for acetamiprid in bananas. *EFSA Journal*, 12(9): 3824.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2015. Report for 2014 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal products. Available online: <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/923e>. (accessed on 09 November 2017).
- Ehling S, Reddy TM. 2015. Analysis of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Nutritional Ingredients and Milk by Derivatization with Fluorenylmethyloxycarbonyl Chloride and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63: 10562–10568. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b04453
- Eldridge BF. 2008. Pesticide application and safety training for applicators of public health pesticides. Training manual, category A. California Department of Public Health Information, University of

- California, 122 p. Available online: http://westnile.ca.gov/special/category_a/ (accessed on 6 February 2018).
- Eleftherohorinos IG. 2008. Weed Science: Weeds, Herbicides, Environment, and Methods for Weed Management; AgroTypos: Athens, Greece.
- Eltayb A, Barakat S, Marrone G, Shaddad S, Stalsby Lundborg C. 2012. Antibiotic Use and Resistance in Animal Farming: A Quantitative and Qualitative Study on Knowledge and Practices among Breeders in Khartoum, Sudan. *Zoonoses Public Health*, 59: 330-338. doi: 10.1111/j.1863-2378.2012.01458.
- EPA (United States - Environmental Protection Agency). 2017. Series 870 - Health Effects Test Guidelines. Available online: <https://www.epa.gov/test-guidelines-pesticides-and-toxic-substances/series-870-health-effects-test-guidelines> (accessed on 3 March 2018)
- Epaulard O. 2015. Les allergies aux anti-infectieux. Cours des maladies infectieuses du CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier. Available online : http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/enseignement/du-grenoble/2015-DUTAI-Gre_allergies_OEpaulard.pdf (accessed on 6 February 2017).
- Epp M. 2016. 13 ways to avoid medicine residues in milk. Available online: <http://m2-magazine.org> (accessed on 6 February 2017).
- Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, Fenster L, Johnson C, Barr DB, Jewell NP. 2006. In utero exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and dichlorodiphenyldi-chloroethylene (DDE) and neurodevelopment among young Mexican American children. *Pediatrics*, 118(1): 233–241.
- Esteve-Turrillas FA, Pastor A, de la Guardia M. 2005. Determination of pyrethroid insecticide residues in vegetable oils using combined solid-phases extraction and tandem mass spectrometry detection. *Analytica Chimica Acta*, 553: 50-57.
- EU (European Union). 2010. Commission Regulation (EU) No 37 / 2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Official Journal*, L15: 1–72.
- Ezemonye LI, Ogbeide OS, Tongo I, Enuneku AA, Ogbomida E. 2015. Pesticide contaminants in *Clarias gariepinus* and *Tilapia zilli* from three rivers in Edo State, Nigeria; implications for human exposure. *International Journal of Food Contamination*, 2:3. DOI 10.1186/s40550-015-0009-z
- Fadeyi I, Lalani M, Mailk N, Van Wyk A, Kaur H. 2015. Quality of the Antibiotics—Amoxicillin and Co-Trimoxazole from Ghana, Nigeria, and the United Kingdom. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(6): 87–94. doi:10.4269/ajtmh.14-0539

- Fagbamila I, Kabir J, Abdu P, Omeiza G, Ankeli P, Ngulukun S, Muhammad M, Umoh J. 2010. Antimicrobial Screening of Commercial Eggs and Determination of Tetracycline Residue Using Two Microbiological Methods. *International Journal of Poultry Science*, 9 (10): 959-962.
- FAO/UNEP (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture / Programme des Nations Unies pour l'environnement). 1991. Programme conjoint FAO/PNUE pour l'application de la procédure d'information et de consentement préalables. Documents d'orientation des décisions. DDT. Rome – Genève. 12 p.
- Farougou S, Adakal H, Biguezoton AS, Boko C. 2012. Prévalence de l'infection d'Amblyomma variegatum par Ehrlichia ruminantium dans les élevages extensifs du Bénin. *Revue Médecine Vétérinaire*, 163(5) : 261-266.
- Fattahi E, Jorsaraei SGA, Gardaneh M. 2012. The effect of Carbaryl on the pituitary-gonad axis in male rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 10(5) : 419-424.
- Flatin MC, Hounkpatin SHR, Attinsounon CA, Toungou AZ, Bouraima FA, Zounon AS, Avakoudjo F, Adjibabi W. 2018. Care for Acute Otitis Media in Children by General Practitioners in North Benin in 2017. *International Journal of Infectious Diseases and Therapy*, 3(2): 24-29. doi: 10.11648/j.ijidt.20180302.11
- Founou LL, Founou RC, Essack SY. 2016. Antibiotic Resistance in the Food Chain : A Developing Country-Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 7 : Article 1881.
- FranceAgrimer. 2010. Le guide technique et réglementaire. 234 p. Disponible en ligne : www.office-elevage.fr/PCM-2010/Guide_du_classificateur_VD.pdf. (Consulté le 30 avril 2012)
- Ganie ZA, Jhala AJ. 2017. Interaction of 2,4-D or Dicamba with Glufosinate for Control of Glyphosate-Resistant Giant Ragweed (*Ambrosia trifida* L.) in Glufosinate-Resistant Maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Plant Science*, 8:1207. doi: 10.3389/fpls.2017.01207
- Gaudin V. 2017. Advances in biosensor development for the screening of antibiotic residues in food products of animal origin – A comprehensive review. *Biosens Bioelectron*, 90 : 363–377.
- Gbaguidi MAN, Soclo HH, Issa YM, Fayomi B, Dognon R, Agagbe A, Bonou C, Youssao A, Dovonou LF, Sanni A. 2011. Evaluation quantitative des résidus de pyréthrinoides, d'aminophosphate et de triazines en zones de production de coton au Bénin par la méthode ELISA en phase liquide : cas des eaux de la rivière Agbado. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(4): 1476-1490. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i4.14>
- Ghosh K, Chatterjee B, Jayaprasad AG, Kanade SR. 2018. The persistent organochlorine pesticide endosulfan modulates multiple epigenetic regulators with oncogenic potential in MCF-7 cells. *Science of the Total Environment*, 624: 1612–1622.

- Giguère S, Prescott JF, Dowling PM. 2013. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. Wiley Blackwell (Editor), 5th Edition, Ames, Iowa, USA. 675 pp.
- Gomgnimbou APK, Savadogo PW, Nianogo AJ, Millogo-Rasolodimby J. 2009. Usage des intrants chimiques dans un agrosystème tropical : diagnostic du risque de pollution environnementale dans la région cotonnière de l'est du Burkina Faso. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(4) : 499-507.
- Granados-Chinchilla F, Rodríguez C. 2017. Tetracyclines in Food and Feedingstuffs: From Regulation to Analytical Methods, Bacterial Resistance, and Environmental and Health Implications. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, Article ID 1315497, 24 p.
- Griffin MO, Ceballos G, Villarreal FJ. 2011. Tetracycline compounds with non-antimicrobial organ protective properties: possible mechanisms of action. *Pharmacological Research*, 63: 102–107
- Hasenbein S, Peralta J, Lawler SP, Connon RE. 2017. Environmentally relevant concentrations of herbicides impact non-target species at multiple sublethal endpoints. *Science of the Total Environment*, 607–608: 733–743
- Herath C, Jayasumana C, De Silva PMCS, De Silva PHC, Siribaddana S, De Broe ME. 2017. Kidney Diseases in Agricultural Communities: A Case Against Heat-Stress Nephropathy. *Kidney International Reports* (in press). <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2017.10.006>
- Hinson AV, Lawin H, Gounongbe F, Dossou F, Fayomi B. 2015. Attitudes, Practices of farmers exposed to pesticides at Banikoara Township (Republic of Benin). *Journal of Environment and Health Sciences*, 1(2): 1-5. DOI: 10.15436/ 2378-6841.15.013
- Husson F, Josse J, Le S, Mazet J. 2017. Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining: Package 'FactoMineR'. 96 p. Available online: <http://mirror.its.sfu.ca/mirror/CRAN/web/packages/FactoMineR/FactoMineR.pdf> (accessed on 13 March 2018)
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 2017. Some organophosphate insecticides and herbicides, volume 112. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, 3–10 March 2015, 464p. Available online: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/07/mono112.pdf> (accessed on 19 September 2018)
- Ibrahim YA. 2015. A regulatory perspective on the potential carcinogenicity of glyphosate. *Journal of Toxicology and Health*, 2:1. doi: 10.7243/2056-3779-2-1
- Idrissou N-D, Salifou CFA, Tougan U, Tamimou MI, Bonou GA, Mensah GA, Youssao AKI. 2017. Influence of castration and dressing mode on body composition and meat quality of the dwarf goat male in Benin. *International Journal of Biosciences*, 11 : 159-170.

- Imperial ICVJ, Ibana JA. 2016. Addressing the Antibiotic Resistance Problem with Probiotics: Reducing the Risk of Its Double-Edged Sword Effect. *Frontiers in Microbiology*, 7:1983. doi: 10.3389/fmicb.2016.01983
- INERIS. 2011. Malathion - N° Cas 121-75-5. Normes de Qualité Environnementale. 20 p. Available online : <https://substances.ineris.fr/fr/substance/getDocument/3056> (accessed on 26 january 2016)
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2004a. Cahier des villages et quartiers de ville, Département de l'Alibori. République du Bénin. 17 p.
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2004b. Cahier des villages et quartiers de ville, Département du Borgou. République du Bénin. 17 p.
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2014. Bulletin trimestriel – Quatrième trimestre 2013 – Statistiques du commerce extérieur. République du Bénin. 129 p. Disponible en ligne : <http://www.insae-bj.org/bulletin-commerce-exterieur.html>. (Consulté le 19 décembre 2017)
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2015a. Les échanges extérieurs du Bénin en 2014. Grands traits du Commerce Extérieur au Bénin. Rapport, République du Bénin. 26 p.
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2015b. RGPH4 : Que retenir des effectifs de population en 2013 ? Cotonou, République du Bénin : Direction des études démographiques. 33 p. Disponible en ligne : http://www.insae-bj.org/recensement-population.html?file=files/enquetes-recensements/rgph/RGPH4/Pricipaux%20indicateurs/R%C3%A9sultats_d%C3%A9finitifs_RGPH4.pdf. (Consulté le 19 décembre 2017)
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2015c. Bulletin trimestriel – Quatrième trimestre 2014 – Statistiques du commerce extérieur. République du Bénin. 104 p. Disponible en ligne : <http://www.insae-bj.org/bulletin-commerce-exterieur.html>. (Consulté le 19 décembre 2017)
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2016a. Cahier des villages et quartiers de ville, Département de l'Alibori (RGPH-4, 2013), (Rapport de recensement non publié, République du Bénin). 26 p.
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2016b. Cahier des villages et quartiers de ville, Département du Borgou (RGPH-4, 2013), (Rapport de recensement non publié, République du Bénin). 31 p.

- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2016c. Bulletin trimestriel – Quatrième trimestre 2015 – Statistiques du commerce extérieur. République du Bénin. 95 p. Disponible en ligne : <http://www.insae-bj.org/bulletin-commerce-exterieur.html>. (Consulté le 19 décembre 2017)
- INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique). 2016d. Bulletin trimestriel – Quatrième trimestre 2016 – Statistiques du commerce extérieur. République du Bénin. 89 p. Disponible en ligne : <http://www.insae-bj.org/bulletin-commerce-exterieur.html>. (Consulté le 19 décembre 2017)
- Isaacs AK, Qi S, Sarpong R, Casida JE. 2012. Insect Ryanodine Receptor : Distinct But Coupled Insecticide Binding Sites for [N-C³H₃]Chlorantraniliprole, Flubendiamide, and [3H]Ryanodine. *Chemical Research in Toxicology*, 25(8): 1571–1573. doi:10.1021/tx300326m.
- ISO 9000. 1994. Quality management and quality assurance standards-Vocabulary, International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland. 4 p.
- ITFG (Industry Task Force on Glyphosate). 2013. Glyphosate Facts: Transparency on safety aspects and use of glyphosate-containing herbicides in Europe. <http://www.glyphosateeu.fr/le-glyphosate-son-mecanisme-daction> (accessed on 12 February 2018).
- Jadhav VJ, Waskar VS. 2011. Public Health Implications of Pesticide Residues in Meat. *Reviews. Veterinary World*, 4(4):178-182.
- Jayasumana C, Gunatilake S, Senanayake P. 2014. Glyphosate, Hard Water and Nephrotoxic Metals: Are They the Culprits Behind the Epidemic of Chronic Kidney Disease of Unknown Etiology in Sri Lanka? *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11: 2125-2147; doi:10.3390/ijerph110202125
- Jayasumana C, Gunatilake S, Siribaddana S. 2015a. Simultaneous exposure to multiple heavy metals and glyphosate may contribute to Sri Lankan agricultural nephropathy. *BMC Nephrology*, 16:103. DOI 10.1186/s12882-015-0109-2
- Jayasumana C, Paranagama P, Agampodi S, Wijewardane C, Gunatilake S, Siribaddana S. 2015b. Drinking well water and occupational exposure to Herbicides is associated with chronic kidney disease, in Padavi-Sripura, Sri Lanka. *Environmental Health*, 14:6 <http://www.ehjournal.net/content/14/1/6>
- JO (Journal Officiel sénégalais). 2008. Loi n° 2008-07 du 24 janvier 2008 organisant la profession et la pharmacie vétérinaires au Sénégal. J.O. N° 6402 du Samedi 19 avril 2008. Disponible en ligne : <http://www.jo.gouv.sn/spip.php?article6631>. (Consulté le 14 novembre 2017).

- Kang JW, Park H-C, Jang YH, Hossain MA, Jeong K, Jeong MY, Yun S-J, Park S-W, Kim DG, Lee K-J. 2017. National post-market surveillance assessment of veterinary medicines in Korea during the past decade. *BMC Veterinary Research*, 13:136. DOI 10.1186/s12917-017-1054-z
- Khrolenko MV, Wieczorek PP. 2005. Determination of glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid in fruit juices using supported-liquid membrane preconcentration method with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. *Journal of Chromatography A*, 1093: 111–117.
- Kimera ZI, Mdegela RH, Mhaiki CJN, Karimuribo ED, Mabiki F, Nonga HE, Mwesongo J. 2015. Determination of oxytetracycline residues in cattle meat marketed in the Kilosa district, Tanzania. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 82(1): Article 911. DOI: <http://dx.doi.org/10.4102/ojvr.v82i1.911>.
- Kpodekon MT, Goussanou JSE, Attakpa EY, Boko CK, Ahounou SG, Salifou CF, Tougan UP, Youssao IAK. 2013. Évaluation of macroscopic and microbiological hazards of indigenous pork consumption in south of Benin. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2: 98-109.
- Krejcie RV, Morgan DW. 1970. Determining sample size for research activities, *Educational and Psychological Measurement*, 30: 607–610.
- Krüger M, Schledorn P, Schrödl W, Hoppe HW, Lutz W, Shehata AA. 2014. Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology*, 4(2): Article 210, 1-5. DOI: 10.4172/2161-0525.1000210
- Kumar K, Gupta SC, Chander Y. and Singh AK. 2005. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment. *Advances in Agronomy*, 87: 1-54.
- Kumar V, Gupta J. 2018. Prevailing practices in the use of antibiotics by dairy farmers in Eastern Haryana region of India, *Veterinary World*, 11(3): 274-280.
- Kundoo AA, Dar SA, Mushtaq M, Bashir Z, Dar MS, Gul S, Ali MT, Gulzar S. 2018. Role of neonicotinoids in insect pest management: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1): 333-339
- Kyunghee J, Kyungho C, Sangwoo L, Saerom P, Jong SK, Eun-Hye J, Kyunghee C, Xiaowei Z. and John PG. 2010. Effects of sulfathiazole, oxytetracycline and chlortetracycline on steroidogenesis in the human adrenocarcinoma (H295R) cell line and freshwater fish *Oryzias latipes*. *Journal of Hazardous Materials*, 182: 494-502.
- Landers TF, Cohen B, Wittum TE, Larson EL. 2012. A Review of Antibiotic Use in Food Animals: Perspective, Policy, and Potential. *Public Health Rep*, 127(1): 4–22.

- Lau C, Schropp S, Sumner DA. 2015. The 2014 US Farm Bill and its Effects on the World Market for Cotton. Issue Paper No. 58; International Centre for Trade and Sustainable Development, Geneva, Switzerland, available online: www.ictsd.org (accessed on 21 December 2017).
- Lee H-R, Jeung E-B, Cho M-H, Kim T-H, Leung PCK, Choi K-C. 2013. Molecular mechanism(s) of endocrine-disrupting chemicals and their potent oestrogenicity in diverse cells and tissues that express oestrogen receptors. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 17(1): 1-11.
- Li-Ming H, John T, Albert W, Kean G. 2008. Environmental Chemistry, Ecotoxicity and Fate of Lambda-Cyhalothrin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 100: 71-91.
- Lonergan EH, Zhang W, Lonergan SM. 2010. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, 86: 184-195.
- MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche). 2011. Plan stratégique de relance du secteur agricole (version finale). République du Bénin. 116 p.
- MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche). 2017. Plan Stratégique de Développement du Secteur Agricole (PSDSA) 2025 et Plan National d'Investissements Agricoles et de Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle PNIASAN 2017 – 2021. Version finale, mai 2017. République du Bénin. 139p. Disponible en ligne : https://www.google.com/url?q=http://www.agriculture.gouv.bj/IMG/pdf/psdsa_2025_et_pniasan_2017_-_2021_version_finale_adoptee.pdf&sa=U&ved=2ahUKEwj-5cPIs7vdAhXMC8AKHTuBCFYQFjADegQICBAC&usg=AOvVaw0Y77pLoIGI-HPAal6wBs1B (consulté le 14 septembre 2018).
- Majdinasab M, Yaqub M, Rahim A, Catanante G, Hayat A, Marty JL. 2017. An overview on recent progress in electrochemical biosensors for antimicrobial drug residues in Animal-Derived food. *Sensors*, 17(9): Article number 1947.
- Marshall BM, Levy SB. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 24: 718-733.
- Matthews GA. 2006. *Pesticides: Health, Safety and the Environment*; Blackwell Publishing : Oxford, UK.
- MDR (Ministère du Développement Rural). 1998. Ministère de la Santé Publique, Ministère des Finances, Ministère du Commerce, de l'Artisanat et du Tourisme. Arrêté Interministériel, année 1998, N°425/MDR/MSP/MF/MCAT/DC/SG/CC/CP portant réglementation de l'importation des médicaments vétérinaires. Vaccins vétérinaires et produits médicamenteux à usage vétérinaire, (Arrêté non publié, République du Bénin). 3 p.

- Mensah SEP, Ahissou HY, Koudande OD, Salifou S, Mensah GA, Abiola FA. 2011. Detection of antibiotics residues in meat of reformed and marketed laying hens in southern Benin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5: 2195-2204.
- Mensah SEP, Laurentie M, Salifou S, Sanders P, Mensah GA, Abiola FA, Koudandé OD. 2014a. Usage des antibiotiques par les éleveurs au Centre du Bénin, quels risques pour la santé publique ? *Bulletin de Recherches Agronomiques du Bénin*, 75(1) : 1-16.
- Mensah SEP, Koudandé OD, Sanders P, Laurentie M, Mensah GA, Abiola FA. 2014b. Antimicrobial residues in foods of animal origin in Africa: public health risks. *Rev Sci Tech* 33(3): Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics), 33(3), 975-986.
- Mensah SEP, Aboh AB, Salifou S, Mensah GA, Sanders P, Abiola FA, Koudandé OD. 2014c. Risques dus aux résidus d'antibiotiques détectés dans le lait de vache produit dans le centre Benin. *Journal of Applied Biosciences*, 80: 7102 – 7112.
- Merten C. 2010. Résidus d'antibiotiques dans la viande de zébus élevés et abattus en République Islamique de la Mauritanie. Mémoire de Master Complémentaire en Médecine vétérinaire à l'Université de Liège (Belgique). 75 p.
- Mesnager R, Defarge N, Spiroux de Vendômois J, Séralini G-E. 2014. Major Pesticides Are More Toxic to Human Cells Than Their Declared Active Principles. *BioMed Research International*, Article ID 179691. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/179691>
- Messomo Ndjana F. 2006. Étude de la distribution et de la qualité des médicaments vétérinaires au Cameroun. Thèse de Docteur vétérinaire de l'EISMV de Dakar (Sénégal). 114 p.
- Minot N, Daniels L. 2005. Impact of global cotton markets on rural poverty in Benin. *Agricultural Economics*, 33: 453–466.
- Mizuno T, Kino T, Ito T, Miyata T. 2000. Synthesis of Aromatic Urea Herbicides by the Selenium-assisted Carbonylation using Carbon Monoxide With Sulfur. *Synthetic Communications*, 30(9) : 1675-1688.
- Moevi I, 2006. Le point sur la couleur de la viande bovine. Institut de l'élevage. Disponible en ligne : http://www.agrireseau.qc.ca/bovinsboucherie/documents/couleur_v viande_bovine1.pdf. (consulté le 07 February 2016)
- MRA-Niger (Ministère des ressources animales du Niger). 2004. Loi N° 2004-048 du 30 juin 2004 portant Loi cadre relative à l'élevage. République du Niger. 22 p.
- Naik L, Sharma R, Mann B, Lata K, Rajput YS, Nath BS. 2017. Rapid screening test for detection of oxytetracycline residues in milk using lateral flow assay. *Food Chemistry*, 219: 85–92.

- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018a. Carbaril. U.S. National Library of Medicine. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/carbaryl#section=Top> (accessed on 01 February 2018)
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018b. Propoxur. U.S. National Library of Medicine. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/propoxur#section=Top> (accessed on 01 February 2018)
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018c. Spirotetramat. U.S. National Library of Medicine. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Spirotetramat#section=Top> (accessed on 01 February 2018)
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018d. Flubendiamide. U.S. National Library of Medicine. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/flubendiamide> (accessed on 01 February 2018)
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2018e. Emamectin benzoate. U.S. National Library of Medicine. Available online: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Emamectin benzoate#section=Top](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Emamectin_benzoate#section=Top) (accessed on 01 February 2018)
- Negatu B, Kromhout H, Mekonnen Y, Vermeulen R. 2016. Use of Chemical Pesticides in Ethiopia: A Cross-Sectional Comparative Study on Knowledge, Attitude and Practice of Farmers and Farm Workers in Three Farming Systems. *Annals of Occupational Hygiene*, 60(5): 551–566. doi:10.1093/annhyg/mew004
- Ni H-G, Chao D, Shao-You L, Xiao-Ling Y, Sojinu Olatunbosun S. 2012. Food as a main route of adult exposure to PBDEs in Shenzhen, China. *Science of the Total Environment*, 437:10–14.
- Nickell JS, White BJ. 2010. Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26: 285–301.
- Nisha AR. 2008. Antibiotics residues-A global health hazard. *Vet World*, 1(12): 375-377.
- Novakits. 2014. Glyphosate ELISA, Format Microplaque / Référence : 1500086. 2p.
- Oh YH, Han HK. 2006. Pharmacokinetic interaction of tetracycline with non-steroidal anti-inflammatory drugs via organic anion transporters in rats. *Pharmacological Research*, 53: 75-79.
- Olatoye OI, Basiru A. 2013. Antibiotic Usage and Oxytetracycline Residue in African Catfish (*Clarias gariepinus* in Ibadan, Nigeria). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5(3): 302-309.
- Olufemi OI, Agboola EA. 2009. Oxytetracycline residues in edible tissues of cattle slaughtered in Akure, Nigeria. *Internet Journal of Food Safety*, 11: 62–66.

- ONS (Office National de Soutien des revenus agricoles). 2011. Rapport d'étude du prix plancher du maïs au titre de la campagne 2010-2011. ONS/MAEP. République du Bénin. 79 p.
- Ouali A. 1991. Conséquences des Traitements Technologiques sur la Qualité de la Viande. INRA Productions Animales, 4 : 195-208.
- Page SW, Gautier P, 2012. Use of antimicrobial agents in livestock, *Revue scientifique et technique* (International Office of Epizootics), 31(1) : 145-188
- PANUPS (Pesticide Action Network Updates Service). 1999. Endosulfan Residues in Australian Beef. Consumer Food News, February 1999. Available online: http://www.panna.org/legacy/panups/panup_19990222.dv.html (accessed on 6 February 2017).
- PE (Parlement Européen) et C/UE (Conseil de l'Union Européenne), 2004. Règlement (CE) N°852/2004 du parlement européen et du conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires. Journal officiel de l'Union européenne, L139 : 1-54.
- PE (Parlement Européen) et CE (Conseil Européen) : 2009. Règlement (CE) N° 470/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 6 mai 2009 établissant des procédures communautaires pour la fixation des limites de résidus des substances pharmacologiquement actives dans les aliments d'origine animale, abrogeant le règlement (CEE) no 2377/90 du Conseil et modifiant la directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil et le règlement (CE) N° 726/2004 du Parlement européen et du Conseil. Journal Officiel de la Commission Européenne, L152: 11-22.
- Pearce KL, Rosenvold K, Andersen HJ, Hopkins DL, 2011. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A review. *Meat Science*, 84: 111-124.
- Pereira PMCC, Vicente AFRB. 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. A review. *Meat Science*, 93: 586-592.
- Pham Kim D, Degand G, Danyi S, Pierret G, Delahaut P, Vu Dinh T, Maghuin-Rogister G, Scippo ML. 2010. Validation of a two-plate microbiological method for screening antibiotic residues in shrimp tissue. *Analytica Chimica Acta*, 672: 30-39.
- Pham Kim D, Degand G, Douny C, Ton DV, Maghuin-Rogister G, Scippo M-L. 2011. Optimisation of a new two-plate screening method for the detection of antibiotic residues in meat. *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 2070-2076.
- Pham Kim D, Degand G, Douny C, Pierret G, Delahaut P, Ton VD, Granier B, Scippo M-L. 2013. Preliminary Evaluation of Antimicrobial Residue Levels in Marketed Pork and Chicken Meat in the Red River Delta Region of Vietnam. *Food and Public Health*, 3(6): 267-276. DOI: 10.5923/j.fph.20130306.02.

- Pham Kim D, Chu J, Do NT, Brose F, Degand G, Delahaut P, De Pauw E, Douny C, Nguyen KV, Vu TD, Scippo M-L, Wertheim HFL. 2015. Monitoring Antibiotic Use and Residue in Freshwater Aquaculture for Domestic Use in Vietnam. *Ecohealth*, 12(3): 480-489. DOI: 10.1007/s10393-014-1006-z.
- Pham Kim D. 2011. Etude de l'utilisation d'antibiotiques et de la présence de leurs résidus dans les produits d'origine animale commercialisés dans la région du Delta du Fleuve Rouge au Vietnam. Thèse de doctorat de l'Université de Liège (Belgique). 220 p.
- Phu TM, Phuong NT, Scippo M-L, Dalsgaard A. 2015. Quality of Antimicrobial Products Used in Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Aquaculture in Vietnam. *PLoS ONE*, 10(4): e0124267. doi:10.1371/journal.pone.0124267.
- Pikkemaat MG, Rapallini MLBA, Oostra-Van Dijk S, Elferink JWA. 2009. Comparison of three microbial screening methods for antibiotics using routine monitoring samples. *Analytica Chimica Acta*, 637: 298-304.
- PR (Présidence de la République). 2004. Décret N°2004-292 du 20 mai 2004 fixant modalités d'exercice de la profession vétérinaire. République du Bénin. 8 p.
- PR (Présidence de la République). 2014. Décret N°2014-352 du 02 juin 2014 portant régime des médicaments vétérinaires en République du Bénin. République du Bénin. 12 p.
- Pretty J, Toulmin C, Williams S. 2011. Sustainable intensification in African agriculture. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 9(1): 5-24. DOI: <https://doi.org/10.3763/ijas.2010.0583>
- PubChem (No year). U.S. National library of medicine. National center for biotechnology information. Open chemistry database. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Accessed on 03 February 2018)
- Repère médical. 2016. Liste des articles du n° 47, les macrolides. Disponible en ligne : <http://www.repere-medical.com/article-231.html>. (Consulté le 30 juin 2016)
- Rutherford AW, Krieger-Liszkay A. 2001. Herbicide-induced oxidative stress in photosystem II. *Trends in Biochemical Sciences*, 26: 648–653. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0968-0004\(01\)01953-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0968-0004(01)01953-3).
- Sajid M, Kawde AN, Daud M. 2015. Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(6): 689-705.
- Salama NA, Abou-Raya SH, Shalaby AR, Emam WH, Mehaya FM. 2011. Incidence of tetracycline residues in chicken meat and liver retailed to consumers. *Food Additives and Contaminants*, part B, 4: 88-93.

- Salazar-Ledesma M, Prado B, Zamora O, Siebe C. 2018. Mobility of atrazine in soils of a wastewater irrigated maize field. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 255: 73-83.
- Salifou CFA, Youssao AKI, Salifou S, Kpodekon TM, Tougan PU, Ahounou GS, Boco C, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A. 2012. Évaluation du procédé d'abattage des bovins à l'abattoir de Cotonou-Porto-Novo (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6 : 6049-6061.
- Salifou CFA, Youssao AKI, Ahounou GS, Tougan PU, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A. 2013a. Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 157 : 27-44.
- Salifou CFA, Dahouda M, Boko KC, Kassa SK, Houaga I, Farougou S, Mensah GA, Salifou S, Toléba SS, Clinquart A, Youssao AKI. 2013b. Evaluation de la qualité technologique et organoleptique de la viande de bovins de races Borgou, Lagunaire et Zébu Peulh, élevés sur des pâturages naturels. *Journal of Applied Biosciences*, 63: 4736 – 4753.
- Salifou CFA, Dahouda M, Houaga I, Picard B, Hornick J-L, Micol D, Kassa SK, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A, Youssao AKI. 2013c. Muscle characteristics, meat tenderness and nutritional qualities traits of Borgou, Lagunaire and Zebu Fulani bulls raised on natural pasture in Benin. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(4): 143-155.
- Salifou CFA, Dahouda M, Houaga I, Picard B, Hornick J-L, Micol D, Kassa SK, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A, Youssao AKI. 2013c. Muscle characteristics, meat tenderness and nutritional qualities traits of Borgou, Lagunaire and Zebu Fulani bulls raised on natural pasture in Benin. *International Journal of Animal and Veterinary Advances* 5(4), 143-155.
- Salifou CFA, Boko KC, Attakpa YE, Agossa R, Ogbankotan I, Farougou S, Mensah GA, Salifou S, Clinquart A, Youssao AKI. 2013d. Evaluation de la qualité bactériologique de viande fraîche de bovins abattus aux abattoirs de Cotonou-Porto-Novo au cours de la chaîne de distribution. *Journal of Animal and Plant Science*, 17(2) : 2567-2579.
- Samandoulougou S, Ilboudo AJ, Sanon/Ouédraogo G, Tindano K, Compaore H, Ouedraogo A, Savadogo A, Traore AS. 2016. Utilisation de médicaments vétérinaires en production bovine et aviaire et sécurité sanitaire des aliments d'origine animale au Burkina Faso. *The International Journal of Multi-disciplinary Sciences*, 4(1) : 50-79.
- Sanders P, Bousquet-Melou A, Chauvin C, Toutain PL. 2011. Utilisation des antibiotiques en élevages et enjeux de santé publique. *INRA Production Animale*, 24 (2): 199–204.

- Sarmah AK, Meyer MT, Boxall AB. 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 65(5): 725-759.
- Sarwar M, Salman M. 2015. The Paramount Benefits of Using Insecticides and Their Worldwide Importance in Food Production. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 1(3): 359-365. DOI: <http://www.aiscience.org/journal/ijbbe>
- SAS (Statistical Analysis System Institute). 2001. SAS/STAT User's Guide. Version 8. SAS Inst Inc. Cary. NC.
- SAS (Statistical Analysis System Institute). 2006. SAS/STAT User's Guide. Version 9. SAS Inst Inc. Cary. NC.
- Shehata AA, Schrödl W, Schledorn P, Krüger M. 2014. Distribution of Glyphosate in Chicken Organs and its Reduction by Humic Acid Supplementation. *Journal of Poultry Science*, 51: 333-337. DOI:10.2141/jpsa.0130169
- Soderlund DM. 2012. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Archives of Toxicology*, 86(2) : 165–181.
- Soumana BA. 2013. Etude de la distribution des médicaments vétérinaires et aspect réglementaire de la pharmacie vétérinaire au Niger. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire à l'EISMV de Dakar (Sénégal). 135p.
- Stead S, Sharman M, Tarbin JA, Gibson E, Richmond S, Stark J. and Geijp E. 2004. Meeting maximum residue limits: an improved screening technical for the rapid detection of antimicrobial residues in animal food products. *Food Additives and Contaminants*, 21: 216-221.
- Stefanelli P, Santilio A, Cataldi L, Dommarco R. 2009. Multiresidue analysis of organochlorine and pyrethroid pesticides in ground beef meat by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 44: 350–356.
- Syed F, Awasthi KK, Chandravanshi LP, Verma R, Rajawat NK, Khanna VK, Johna PJ, Soni I. 2018. Bifenthrin-induced neurotoxicity in rats: involvement of oxidative stress. *Toxicology Research*, 7: 48-58. DOI: 10.1039/c7tx00205jrsc.li/toxicology-research
- Tang KL, Caffrey NP, Nóbrega DB, Cork SC, Ronksley PE, Barkema HW, Polachek AJ, Ganshorn H, Sharma N, Kellner JD, Ghali WA. 2017. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis, *Lancet Planet Health*, 1: e316–27

- Tano L. 2005. Indicateurs de qualité des médicaments vétérinaires. Communication à l'Atelier de sensibilisation sur la qualité des médicaments vétérinaires au Mali. Bamako, 22 au 25 février 2005. 7p.
- Tchamdja E, Kulo AE, Akoda K, Teko-Agbo A, Assoumy AM, Niang EM, Batawui K, Adomefa K, Bankolé AA, Kombiagou K, Hoppenheit A, Clausen PH, Mattioli RC, Peter R, Napier GB, De Deken R, Marcotty T, Van Den Abbeele J, Delespaux V. 2016. Drug quality analysis through high performance liquid chromatography of isometamidium chloride hydrochloride and diminazene diaceturate purchased from official and unofficial sources in Northern Togo. *Preventive Veterinary Medicine*, 126:151-158. doi: 10.1016/j.prevetmed.2016.02.001.
- Tekle T, Terefe G, Cherenet T, Ashenafi H, Akoda KG, Teko-Agbo A, Van Den Abbeele J, Gari1 G, Clausen P-H, Hoppenheit A, Mattioli RC, Peter R, Marcotty T, Cecchi G, Delespaux V. 2018. Aberrant use and poor quality of trypanocides: a risk for drug resistance in south western Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, 14:4. DOI 10.1186/s12917-017-1327-6
- Teko-Agbo A, Biaou FC, Akoda K, Faure P, Abiola FA. 2003. Contrefaçons et malfaçons de trypanocides à base de diminazène et d'anthelminthiques contenant de l'albendazole au Bénin et au Togo. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 1 (1) : 39–47.
- The World Bank. 2016. World Development Indicators : Structure of output. Available online: <http://wdi.worldbank.org/table/4.2> (accessed 11 Jul 2017)
- Tomizawa M, Casida JE. 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45(1): 247–268.
- Torres-Sánchez L, Schnaas L, Rothenberg SJ, Cebrián ME, Osorio-Valencia E, Hernández MDC, García-Hernández RM, López-Carrillo L. 2013. Prenatal p,p'-DDE exposure and neurodevelopment among children 3.5–5 years of age. *Environmental Health Perspectives*, 121(2): 263–268.
- Tossou ML, Houndonougbo MF, Abiola FA, Chrysostome CAAM, 2014. Comparaison des performances de production et de la qualité organoleptique de la viande de trois souches de poulets chair (Hubbard, Cobb et Ross) élevées au Bénin. *Revue CAMES*, 2 : 30-35.
- Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J, Whitbread A. 2012. Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological Conservation*, 151: 53–59.
- UE (Union Européenne). 2005. Le règlement (CE) n° 2073/2005 de la commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. *Journal Officiel de la Commission Européenne*, L338 : 1-26.

- UE (Union Européenne). 2010. Règlement (UE) N° 37/2010 de la Commission du 22 Décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale. Journal Officiel de la Commission Européenne, L15 : 1–72.
- UEMOA. 2010. Règlement n°08/2010/CM/UEMOA portant modification du règlement n°02/2006/CM/UEMOA établissant des procédures communautaires pour l'autorisation de mise sur le marché et la surveillance des médicaments vétérinaires et instituant un comité régional du médicament vétérinaire. 3p. Disponible en ligne : <http://www.izf.net/pages/les-bulletins-officiels-lunion-conomique-et-mon-taire-ouest-africaine-uemoa>. (Consulté le 22 novembre 2017)
- Upadhyay LSB, Dutt A. 2017. Microbial Detoxification of Residual Organophosphate Pesticides in Agricultural Practices. In: Patra J, Vishnuprasad C, Das G. (eds) Microbial Biotechnology. Springer, Singapore: 225-242 [Chapter 10]. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-10-6847-8_10
- USP (United States Pharmacopeia). 2006a. The United States Pharmacopeia Convention 29 and The National Formulary 24. USP Monographs: Oxytetracycline Injection. Rockville, Inc. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m59980.html. (accessed 11 February 2018)
- USP (United States Pharmacopeia). 2006b. The United States Pharmacopeia Convention 29 and The National Formulary 24. USP Monographs: Penicillin G Benzathine and Penicillin G Procaine Injectable Suspension. Rockville, Inc. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m61505.html. (accessed 11 February 2018)
- USP (United States Pharmacopeia). 2006c. The United States Pharmacopeia Convention 29 and The National Formulary 24. USP Monographs: Sulfamethazine. Rockville, Inc. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m79120.html. (accessed 11 February 2018)
- USP (United States Pharmacopeia). 2006d. The United States Pharmacopeia Convention 29 and The National Formulary 24. USP Monographs: Tylosin. Rockville, Inc. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m87000.html. (accessed 11 February 2018)
- Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R. 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18): 5649–5654.
- Vieira AR, Collignon P, Aarestrup FM, McEwen SA, Hendriksen RS, Hald T, Wegener HC. 2011. Association between antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from food animals and blood stream isolates from humans in Europe: An ecological study. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(12): 1295–1301.

- Vigouroux-Villard A. 2006. Niveau d'imprégnation de la population générale aux pesticides : sélection des substances à mesurer en priorité. Master professionnel évaluation et gestion des risques sanitaires liés à l'environnement de l'AFSSET. 69 p.
- Virolainen N, Karp M. 2014. Biosensors, antibiotics and food. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 145: 153–185.
- Vishnuraj MR, Kandeepan G, Rao KH, Chand S, Kumbhar V. 2016. Occurrence, public health hazards and detection methods of antibiotic residues in foods of animal origin: A comprehensive review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1): 1235458.
- WHO (World Health Organization). 2010. International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides: Guidelines for the Registration of Pesticides; World Health Organization: Rome, Italy.
- Wild A, Wendler C. 1991. Effect of glufosinate (phosphinothricin) on amino acid content, photorespiration, and photosynthesis. *Pesticide Sciences*, 30: 422–424.
- Youssao AKI, Mourot J, Edenakpo A, Robin G, Mounier A. 2004a. Effet du mode d'élevage sur les caractéristiques de la carcasse et celles du muscle du porc local du Bénin. *Viande et produits carnés (hors-série)* : 153-154.
- Youssao AKI, Mourot J, Gbangboché BA, Adéhan R, Akoutey A, Edénakpo A. 2004b. Influence du régime alimentaire sur les performances de croissance et les caractéristiques de la carcasse du porc local au Bénin. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 2 : 31-36.
- Youssao AKI, Kpodékon TM, Koutinhoun GB, Adjapka A, Yacoubou A, Ahounou S. 2008. Influence de la castration des mâles sur les performances de croissance, les caractéristiques de la carcasse et les qualités de la viande du porc local du Bénin. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*, 61 : 17-24.
- Youssao AKI, Koutinhoun GB, Kpodékon TM, Agnandjo H, Toure Z, Ahissou A. 2009. Influence d'une sélection phénotypique sur les performances de croissance et les caractères de développements musculaire et squelettique de jeunes bovins de race Borgou à la Ferme d'Élevage de l'Okpara (Bénin). *Annales de Médecine Vétérinaire*, 153 : 105-111.
- Youssao IAK, Alkoiret IT, Dahouda M, Assogba MN, Idrissou N-D, Kayang BB, Yapi-Gnaoré V, Assogba HM, Houinsou AS, Ahounou SG, Tougan UP, Rognon X, Tixier-Boichard M. 2012. Comparison of growth performance, carcass characteristics and meat quality of Benin indigenous chickens and Label Rouge (T55×SA51). *African Journal of Biotechnology*, 11(89): 15569-15579.

- Youssao AKI, Dahouda M, Attakpa EY, Koutinhouin GB, Ahounou GS, Toleba SS, Balogoun BS. 2013. Diversité des systèmes d'élevages de bovins de race bovine Borgou dans la zone soudanienne du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(1): 125-146.
- Youssao AKI. 2015. Programme National d'Amélioration Génétique. Projet d'Appui aux Filières Lait et Viande (PAFILAV). Rapport de consultation. Cotonou, Bénin. 344 p.
- Zhang Q, Huang W, Zhu X, Song Q, Fan Z. 2018. Residues and sources of organochlorine pesticides in soils of elementary schools and communities in Wenchuan 5.12 Earthquake-affected areas. *Environmental Geochemistry and Health*, 1-15. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0060-1>
- Zoumenou B, Aïna MP, Agbohessi P, Imorou Toko I, Scippo M-L. 2015. Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. Article de synthèse. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(4): 2184-2199.

Valorisations scientifiques des résultats

• Articles publiés

- **Dognon SR**, Antoine-Moussiaux N, Douny C, Gustin P, Moula N, Scippo ML. and Youssao AKI. 2018a. The use of antibiotics in cattle in North-East Benin: pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders. *Tropical Animal Health and Production*, 50(7): 1683-1699. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1612-9>
- **Dognon SR**, Douny C, Salifou CFA, Ahounou GS, Dognon J, Sessou P, Youssao AKA, Youssao AKI, Scippo M-L. 2018b. Qualité des antibiotiques vétérinaires utilisés en Afrique de l'Ouest et méthodes de détection de leurs résidus dans les denrées alimentaires. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 36 (2) : 5858-5878.
- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Delahaut P, Dahouda M, Youssao AKI, Scippo M-L. 2018c. The modified New Two Plates Test for detecting of tetracycline, beta-lactams and sulfonamides antibiotic residues in kidney and muscle of cattle slaughtered in North-East Benin. *Food Analytical methods*, 11 (12): 3406-3416. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1322-y>
- **Dognon SR**, Salifou CFA, Dognon J, Dahouda M, Scippo M-L, Youssao AKI. 2018d. Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 124: 12476-12487. DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/jab.v124i1.9>
- **Dognon SR**, Dognon HR, Youssao AKA, Scippo M-L, Youssao AKI. 2018e. The use of pesticides in agriculture in North-East Benin. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 12 (6): 48-63.

• Projets d'articles à soumettre pour publication

- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Ahounou GS, Moula N, Gbaguidi MAN, Youssao AKI, Scippo M-L. Evaluation of the quality of antibiotic pharmaceuticals used in cattle breeding in North-East of Benin. *Projet d'article original à soumettre dans "Preventive Veterinary Medicine"*.
- **Dognon SR**, Brose F, Degand G, Douny C, Mpenda Matabishi A, Gbaguidi MAN, Youssao AKI, Scippo M-L. Detection of glyphosate residues in pasture water and insecticides residues in cattle meat from the East-Northern Benin by ELISA and gas chromatography coupled to mass spectrometry. *Projet d'article original à soumettre dans "Journal of Environmental Science and Health, Part B"*.
- **Dognon SR**, Youssao AKA, Gbaguidi MAN, Sessou P, Ahounou GS, Youssao AKI, Scippo M-L. Revue sur les modes d'action, impacts et détection des pesticides utilisés en agriculture. *Projet d'article de synthèse à soumettre dans "International Journal of Biological and Chemical Sciences"*.

• Communications orales

- **Dognon SR**, Antoine-Moussiaux N, Gustin P, Moula N, Scippo M-L, Youssao AKI. 2016. Utilisation des antibiotiques vétérinaires en élevage de bovins au nord du Bénin, un réel facteur de développement de résistance bactérienne dans le bétail et la chaîne alimentaire. Résumé d'une communication orale présentée à la XXIII^{ème} Journée Scientifique de l'ABePa (Association Béninoise pour le Pastoralisme) à Cotonou le 19 Novembre 2016, Livre des résumés, p 13.
- **Dognon SR**, Antoine-Moussiaux N, Gustin P, Moula N, Scippo M-L, Youssao AKI. 2016. The use of antibiotics in cattle livestock in the north Benin, a real factor of the development of bacterial resistance in the cattle and the food chain. Abstract of poster and oral communication presented at AESA (Association d'Epidémiologie et de Santé Animale) 25 Years Congress, in Liège (Belgium) the 7th – 9th September 2016, Proceeding p 47.
- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Ahounou GS, Moula N, Gbaguidi MAN, Youssao AKI, Scippo M-L. 2018. Evaluation of the quality of antibiotic pharmaceuticals used in cattle breeding in North-East of Benin. Journées scientifiques du Centre Béninois de la Recherche Scientifique et de l'Innovation, du 26 au 28 juin 2018, Cotonou – Bénin.
- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Delahaut P, Igout A, Dahouda M, Youssao AKI, Scippo ML. 2018. The modified New Two Plates Test for detecting tetracycline, beta-lactams and sulfonamides antibiotic residues in kidney and muscle of cattle slaughtered in North Benin. “*Congrès One Health Sur La Résistance Aux Antimicrobiens*” held at INFOSEC Cotonou (Benin), from 08th to 09th october 2018, Livre des résumés p 16.
- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Ahounou GS, Moula N, Gbaguidi MAN, Youssao AKI, Scippo M-L. 2018. Evaluation of the quality of antibiotic pharmaceuticals used in cattle breeding in North-East of Benin. “*Congrès One Health Sur La Résistance Aux Antimicrobiens*” held at INFOSEC Cotonou (Benin), from 08th to 09th october 2018, Livre des résumés p 18.

• Posters

- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Dahouda M, Youssao A K I, Scippo M-L. 2016. High levels of tetracycline antibiotic residues in kidney and muscle of cattle slaughtered in North Benin. Abstract of poster presented at Biomedica European Life Sciences Summit in Aachen (Germany), the 30 – 31 may 2016.
- **Dognon SR**, Antoine-Moussiaux N, Gustin P, Moula N, Scippo M-L, Youssao AKI. 2016. The use of antibiotics in cattle livestock in the north Benin, a real factor of the development of bacterial resistance in the cattle and the food chain. Abstract of poster and oral communication

presented at AESA (Association d'Epidémiologie et de Santé Animale) 25 Years Congress, in Liège (Belgium) the 7th – 9th September 2016, Proceeding p 47. Abstract of poster presented at Farah-day in Liège (Belgium) the 21th October 2016, Proceeding p 44.

- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Delahaut P, Dahouda M, Youssao AKI, Scippo M-L. 2016. The modified New Two Plates Test for detecting tetracycline, beta-lactams and sulfonamides antibiotic residues in kidney and muscle of cattle slaughtered in North Benin. Abstract of poster presented at Farah-day in Liège (Belgium) the 21th October 2016, Proceeding p 45.
- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Ahounou S, Moula N, Gbaguidi MAN, Youssao AKI, Scippo M-L. 2016. Evaluation of the quality of antibiotic pharmaceuticals used in cattle breeding in northern Benin, through their ability to inhibit *Bacillus subtilis* growth. Abstract of poster presented at Farah-day in Liège (Belgium) the 21th october 2016, Proceeding p 44.
- **Dognon SR**, Degand G, Douny C, Delahaut P, Dahouda M, Youssao AKI, Scippo M-L. 2017. Le “*New Two Plates Test*” modifié pour la détection de résidus d’antibiotiques de la famille des tétracyclines, beta-lactames et sulfamidés dans le rein et le muscle de bovins abattus à parakou situé au nord du Bénin. Résumé de poster présenté au 7^{ème} Colloque international francophone de Microbiologie animale (CIFMA 2017), tenu à Liège (Belgique) du 26 au 27 mars 2017.
- **Dognon SR**, Antoine-Moussiaux N, Gustin P, Moula N, Scippo M-L, Youssao AKI. 2018. The use of antibiotics in cattle in North-East Benin: pharmaceutical inventory and risk practices of cattle breeders. Abstract of an e-poster presented at “*Congrès One Health Sur La Résistance Aux Antimicrobiens*” held at INFOSEC Cotonou (Benin), from 08th to 09th october 2018, Livre des résumés p 14.

• Autre article publié en tant que co-auteur

- Gbaguidi MAN, Soclo HH, Issa YM, Fayomi B, **Dognon R**, Agagbe A, Bonou C, Youssao A, Dovonou LF et Sanni A. Evaluation quantitative des résidus de pyréthrinoides, d’aminophosphate et de triazines en zones de production de coton au Bénin par la méthode ELISA en phase liquide : cas des eaux de la rivière Agbado. Int. J. Biol. Chem. Sci., 2011, 5(4): 1476-1490.

Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège

4000 Liège (Belgique)

D/2018/0480/8

ISBN 978-2-87543-127-1

