



UNIVERSITÉ DE LIÈGE (ULiège)

\*\*\*\*\*

FACULTÉ DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE

\*\*\*\*\*

DÉPARTEMENT DES SCIENCES DES  
DENRÉES ALIMENTAIRES

\*\*\*\*\*

SERVICES D'INSPECTION DES DENREES ALIMENTAIRES

---

CARACTERISATION DES MICROORGANISMES  
PATHOGENES ISOLEES DES ALIMENTS  
D'ORIGINE ANIMALE CONSOMMES EN MILIEU  
SCOLAIRE ET DES ECOUVILLONS DES MAINS  
DES OPERATRICES DANS LE DEPARTEMENT DU  
MONO (BENIN) ET MESURES DE MAITRISE

CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC  
MICROORGANISMS ISOLATED FROM FOODS OF  
ANIMAL ORIGIN CONSUMED IN SCHOOLS AND  
SWABS FROM OPERATORS' HANDS IN THE  
MONO DEPARTMENT (BENIN) AND CONTROL  
TRIALS

---

Eustache Codjo HOUNKPE

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Doctorat en Sciences vétérinaires

Année académique 2024-2025



**UNIVERSITE DE LIEGE  
FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DES DENREES ALIMENTAIRES  
SERVICE D'INSPECTION DES DENREES ALIMENTAIRES**

**CARACTERISATION DES MICROORGANISMES PATHOGENES ISOLEES DES  
ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE CONSOMMES EN MILIEU SCOLAIRE ET DES  
ECOUVILLONS DES MAINS DES OPERATRICES DANS LE DEPARTEMENT DU MONO  
(BENIN) ET MESURES DE MAITRISE**

**CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC MICROORGANISMS ISOLATED FROM  
FOODS OF ANIMAL ORIGIN CONSUMED IN SCHOOLS AND SWABS FROM  
OPERATORS' HANDS IN THE MONO DEPARTMENT (BENIN) AND CONTROL TRIALS**

**Codjo Eustache HOUNKPE**

**THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE  
Docteur en sciences vétérinaires**

**ANNÉE ACADÉMIQUE 2024-2025**

## Composition du jury

### **Jury de défense privée à ULiège/Belgique**

Président de jury :	Charlotte SANDERSEN (ULiège, Belgique)
Promoteur :	Nicolas KORSAK (ULiège, Belgique)
Promoteur cotutelle :	Souaïbou FAROUGOU (UAC, Bénin)
Membres du comité de thèse :	Georges DAUBE (ULiège, Belgique) Véronique DELCENSERIE (ULiège, Belgique) Paulin AZOKPOTA (UAC, Bénin)
Membres internes ULiège :	Jean Luc HORNICK (ULiège, Belgique) Damien THIRY (ULiège, Belgique) Mohammed AYADI (ULiège, Belgique)
Membres internes UAC :	Cyrille BOKO (UAC, Bénin) Chakirath SALIFOU (UAC, Bénin)
Membres externes ULiège _UAC	Laurent GUILLIER (ANSES, France) Bassirou BONFOH (CSRS, Côte d'Ivoire)

### **Jury de défense publique à l'UAC/Bénin**

Président de jury :	Paulin AZOKPOTA (UAC, Bénin)
Directeur de thèse:	Souaïbou FAROUGOU (UAC, Bénin)
Directeur de thèse cotutelle :	Nicolas KORSAK (ULiège, Belgique)
Rapporteurs :	Laurent GUILLIER (ANSES, France) Cyrille BOKO (UAC/Bénin) Jean Luc HORNICK (ULiège Belgique)
Examineurs :	Chakirath SALIFOU (UAC, Bénin) Damien THIRY (ULiège, Belgique) Bassirou BONFOH (CSRS, Côte d'Ivoire)

## Remerciements

Je voudrais adresser à toutes les personnes et institutions qui ont, de près ou de loin, contribué à la réalisation de cette thèse mes sincères remerciements et toute ma profonde gratitude. Il s'agit des personnes et institutions, ci-après :

Professeur Nicolas KORSAK, en tant que le promoteur Nord de cette thèse, non seulement il a accepté de soutenir ma candidature pour le financement de cette thèse, il a été à mes côtés tout au long de cette thèse. Pendant tout ce temps il a dirigé de main de maître la réalisation des travaux en me prodiguant de sages conseils tant sur le plan scientifique que moral et en me soutenant sur tous les plans. Toutes choses qui m'ont permis de produire ce travail que j'espère il en sera fier. Merci à lui.

Professeur Souaïbou FAROUGOU, mon co-promoteur de l'Université du Sud de cette thèse grâce à qui j'ai eu connaissance du financement dont ce projet a bénéficié. Il m'a aussi soutenu sur le plan scientifique que moral. L'aboutissement de cette thèse a été rendu possible grâce à ses précieux conseils et il n'a pas hésité à mettre la main à la poche pendant l'exécution de mes travaux de recherche malgré mon statut de boursier. Recevez ici, l'expression déferente de mes sentiments de profonde gratitude.

Professeurs Georges DAUBE, Véronique DELCENSERIE et Paulin AZOKPOTA, membres du comité de thèse pour avoir accepté contribuer à la réalisation de cette thèse. Leurs qualités scientifiques et humaines m'ont permis de mener à bien ce projet de thèse.

Professeurs Bassirou BONFOH, Mohammed AYADI, Jean Luc HORNICK, Damien THIRY, Cyrille BOKO et Chakirath SALIFOU, pour leur disponibilité. Malgré leurs multiples occupations ils ont accepté d'améliorer la qualité scientifique et rédactionnelle de ce mémoire de thèse par leurs pertinentes et utiles observations et suggestions. Recevez ici l'expression de mes sentiments de profonde gratitude.

Professeur Philippe SESSOU, pour les précieux et utiles conseils sur le plan scientifique et humain pour l'accomplissent heureux de cette thèse. Que Dieu l'Eternel tout Puissant le bénisse davantage.

Professeur Bernard TAMINIAU, je lui adresse toute ma reconnaissance pour ses conseils et recommandations lors de la réalisation des travaux sur la caractérisation moléculaire des souches microbiennes. Ses contributions ont été d'une grande utilité dans la réalisation de cette thèse.

Toute l'équipe du Département des Sciences des Denrées Alimentaires, je veux nommer professeurs Antoine CLINQUART et Marie Louise SCIPPO, Dr Caroline DOUNY, Elisa MARTINEZ, Sébastien CREVECOEUR, Amira ALI, Irma GONZA, Ahmed MOUSTAPHA, Samiha BOUTALEB, Coralie LAGAMME, Barbara PIRARD, Gabrielle DERMUL, Christine BAL, pour leurs conseils et recommandations et pour les meilleurs moments passés ensemble.

Tous mes remerciements vont également à l'endroit de tous les stagiaires doctorants, master et bacheliers que j'ai rencontrés durant mes séjours en Belgique pour les meilleurs moments de convivialité passés ensemble tant dans la recherche que dans la vie courante.

Tous les enseignants, docteurs, doctorants, techniciens et stagiaires de l'Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles du Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (URMaT/LARBA/EPAC) pour leurs conseils, contributions et encouragements.

L'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur et la Commission de la Coopération au Développement (ARES-CCD) qui a financé ce projet de thèse et les différents gestionnaires de bourse du PACODEL. Je leur en serai éternellement reconnaissant.

Mon épouse HOUNGUEVOU Rosaline et mes enfants, ma mère et mon père, aux familles HOUNKPE, MITCHIHOUN, HOUNGUEVOU, VINAKPON et à mes amis. Vos conseils, soutiens et encouragements m'ont permis d'arriver à bout de ce projet de thèse.

## Abréviations

ABSSA	Agence Béninoise de sécurité Sanitaire des Aliments
AFNOR	Association Française de Normalisation
ANSES	Agence Nationale de sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (France)
ARES-CCD	Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur de la Commission de la Coopération au Développement (Belgique)
CASFM	Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CE	Commission Européenne
CEN	Collège des Enseignants de Nutrition
DDAEP	Direction Départementale de l'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche (Bénin)
DE/MAEP	Direction de l'Elevage du ministère de l'Agriculture de l'Elevage et de la Pêche (Bénin)
DSA	Direction des Statistiques Agricoles (Bénin)
EPAC	Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FAOSTAT	Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database
FDIS	Final Draft for International Standard
FDR/Canada	Food and Drug Regulations of Canada
FEBEV	Fédération Belge de la Viande
INSAE	Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique (Bénin)
ISO	International Organization for Standardization
MAEP	Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche (Bénin)
PNUD	Programme des Nations Unies pour le Développement
UAC	Université d'Abomey-Calavi
UE	Union Européenne
USAID	United States Agency for International Development
TIAC	Toxi-Infection Alimentaire Collective

## Table des matières

<b>Résumé-Abstract</b> .....	1
<b>Préambule général</b> .....	6
<b>Introduction</b> .....	11
1. <b>Titre section 1.1.</b> Définition et importance nutritionnelle des aliments d'origine animale.....	12
2. <b>Titre section 1.2.</b> Caractéristiques des microorganismes et les TIAC.....	16
3. <b>Titre section 1.3.</b> Antibiotiques et mécanismes de résistance.....	31
4. <b>Titre section 1.4.</b> Généralités sur les huiles essentielles et plantes aromatiques étudiées.....	36
<b>Objectifs et méthodologie de la thèse</b> .....	46
<b>Partie expérimentale</b> .....	48
<b>Etude 1 :</b> Pratiques d'hygiène des opératrices des aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire dans le département du Mono.....	49
<b>Etude 2 :</b> Qualité microbiologique des aliments d'origine animale et des surfaces des mains des opératrices en milieu scolaire dans le département du Mono.....	66
<b>Etude 3 :</b> Virulence et Résistance aux antibiotiques des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées des aliments d'origine animale et des surfaces des mains des opératrices .....	85
<b>Etude 4 :</b> Effets antibactériens des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur les souches d' <i>Escherichia coli</i> résistantes aux antibiotiques.....	99
4. Discussion générale .....	119
4.1. Systèmes de surveillance dans les restaurants collectifs et les entreprises agroalimentaires.....	120
4.2. Qualité microbiologique des aliments d'origine animale et les TIAC.....	122
4.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	124
4.4. Fardeau relatif à <i>E. coli</i> pathogène et aux pathogènes transmis par les aliments au Bénin, en Afrique et dans le reste du monde.....	129
4.5. Efficacité biologique des huiles essentielles sur les bactéries.....	130
4.6. Limites de cette étude.....	131
Conclusion générale et perspectives.....	133

Conclusion.....	134
Perspectives.....	135
Références bibliographiques.....	136

## **RÉSUMÉ-ABSTRACT**

## Résumé

Les aliments d'origine animale sont une source importante de protéines dans l'alimentation humaine. Cependant, ils sont sujets à la contamination microbienne. Il est essentiel d'assurer la qualité des aliments destinés à la consommation humaine surtout des enfants en milieu scolaire car ils constituent des personnes à risque. La qualité sanitaire des aliments passe par le respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication lors de leur transformation et de leur distribution. L'objectif général de cette thèse est de caractériser les microorganismes, isolés des aliments d'origine animale et des écouvillons des mains des opératrices, et de proposer des moyens de lutte « biologiques ».

Pour cela, une enquête de terrain a été réalisée auprès de 137 opérateurs de cuisine à raison d'un opérateur par école, à l'aide d'un questionnaire créé sur la plateforme Epicollect5. L'entretien a montré que les opérateurs impliqués dans la transformation et la vente d'aliments aux écoliers sont des femmes (100 %). La plupart de ces opératrices ont un niveau d'éducation primaire et n'ont pas subi d'examen médical. Elles transportaient des aliments d'origine animale mélangés à d'autres types d'aliments. La friture et la cuisson ont été utilisées pour préparer ou transformer les aliments. L'observation directe a révélé que les aliments étaient produits dans un environnement insalubre. Les opérateurs ne portaient pas de gants pendant la manipulation des aliments, mais certains portaient des tabliers. Toutes les opératrices se lavaient les mains avec de l'eau et du savon (eau du robinet ou du puit) après être allés aux toilettes. Il n'y avait pas d'installation adéquate pour le lavage des mains. La majorité des opératrices utilisaient des planches à découper en bois. Dans l'ensemble, les exploitants du secteur alimentaire ne respectaient pas les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication dans les cuisines.

Les agents pathogènes peuvent contaminer les aliments lorsqu'ils sont produits dans les conditions d'hygiène et de production inadéquates. Des échantillons d'aliments et de surfaces ont été collectés pour apprécier leur contamination microbienne. Un total de 100 échantillons d'aliments composés de 40 poissons frits, 30 saucisses frites et 30 œufs cuits ; et 40 échantillons de surfaces (face palmaire de la main avant et après lavage) dans 20 écoles primaires a été collecté et les méthodes conventionnelles d'analyse microbiologique classique ont été utilisées pour dénombrer la flore totale, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, les anaérobies sulfite-réducteurs (ASR) et rechercher *Salmonella* spp. L'identification des bactéries isolées a été confirmée par séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S. L'étude a montré un taux de non-conformité à 100 % de tous les échantillons de poisson des écoles publiques sans cantines (PS-C) pour la flore totale. Des souches présumées d'*Escherichia coli* (38 %) et de *Staphylococcus aureus* (20 %) ainsi que 17 souches présumées de *Salmonella* ont été détectées dans les échantillons. Le séquençage des souches isolées a confirmé les *Escherichia coli* dans 100 % des cas mais *Staphylococcus aureus* n'était pas présent dans les échantillons et les souches se sont révélées être des staphylocoques à coagulase positive. Les souches de *Salmonella* ont été confirmées comme des *Salmonella enterica subsp enterica* pour 100 % des souches isolées. La présence de ces agents potentiellement pathogènes dans les aliments nécessite des études

complémentaires pour évaluer les risques de toxi-infections auxquels les consommateurs sont confrontés.

En vue d'évaluer la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments et des écouvillons des mains des opératrices, 10 antibiotiques ont été sélectionnés pour effectuer l'antibiogramme de 55 souches d'*Escherichia coli* par la méthode de diffusion sur disque. Ensuite les gènes de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* ont été recherchés à l'aide de leurs amorces spécifiques dans les 55 souches d'*Escherichia coli* par PCR. Il ressort de cette étude que les isolats d'*Escherichia coli* ont exprimé des résistances variables. Pour la multirésistance aux antibiotiques 63,6 % ( $n = 35$ ) des isolats ont été résistants à au moins deux antibiotiques à la fois. La caractérisation moléculaire des gènes de virulence a montré la présence de *stx1* dans 16,4 % ( $n = 9$ ) des isolats testés et l'absence de *stx2* et *eae* dans tous les isolats.

Enfin, les activités antibactériennes des huiles essentielles (HE) du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), de l'ail (*Allium sativum*), du laurier (*Pimenta racemosa*) et du gingembre (*Zingiber officinale*) ont été évaluées sur les souches d'*E. coli* isolées des échantillons. Après identification botanique, les HE de ces quatre plantes ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger suivi d'une caractérisation par GC/FID et GC/SM pour identifier les composés chimiques qu'elles renfermaient. Les HE caractérisées ont été testées sur les souches d'*Escherichia coli* par la méthode de diffusion sur disque à l'aide des disques stériles pour évaluer leurs activités antibactériennes sur les souches suivie de la détermination de leurs concentrations minimums inhibitrices (CMI) et concentrations minimums bactéricides (CMB) par la méthode de micro dilution de bouillon à l'aide du système Bioscreen C pour évaluer leurs propriétés bactériostatiques et, par culture sur la gélose nutritive, pour confirmer la bactéricidie. La caractérisation des HE a montré qu'elles renfermaient des molécules chimiques biologiquement actives sur les pathogènes. Les activités antibactériennes et la détermination des CMI et CMB ont révélé que toutes les HE étaient actives sur les souches testées avec des CMI comprises entre 1 et 2,5 mg/mL. L'HE de l'*Allium sativum* a été la plus active sur les souches testées.

Pour garantir une qualité microbiologique satisfaisante des aliments aux écoliers, des formations devraient être organisées pour sensibiliser les opérateurs aux bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication dans les cuisines. Un intérêt particulier doit être accordé à ces plantes pour encourager leur culture et l'extraction de leurs HE afin qu'elles soient accessibles et disponibles pour leur utilisation en industries agroalimentaires. Les opérateurs de cuisine des écoles doivent être aussi sensibilisés sur les bienfaits de l'utilisation de ces épices lors de la préparation des aliments pour garantir des aliments sains aux écoliers.

**Mots clés :** bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication, aliments d'origine animale, école primaire, qualité microbiologique, virulence, antibiorésistance, huile essentielle, composition chimique, propriétés antibactériennes.

**Abstract**

Foods of animal origin are an important source of protein in the human diet. However, they are subject to microbial contamination. It is essential to ensure the quality of food intended for human consumption, especially for schoolchildren, as they are at risk. Food safety requires compliance with good hygiene and manufacturing practices during processing and distribution. This thesis aims to characterize the microorganisms responsible for food poisoning, isolated from food of animal origin and from swabs taken from operators' hands, and to explore the possibility of biological control.

To do this, a field survey was carried out with 137 kitchen operators, one per school, using a questionnaire created on the Epicollect5 platform. The interview showed that 100% of the operators involved in processing and selling food to schoolchildren were women. Most of these operators had a primary education and had not undergone a medical examination. They transported food of animal origin mixed with other types of food. Frying and cooking were used to prepare or process the food. Direct observation revealed that the food was produced in an unsanitary environment. Operators did not wear gloves when handling food, although some wore aprons. All operators washed their hands with soap and water (tap or well water) after using the toilet. There were no adequate facilities for hand washing. The majority of operators used wooden cutting boards. Overall, food operators were not following good hygiene and manufacturing practices in the kitchens.

Pathogens can contaminate foodstuffs when they are produced under inadequate hygiene and production conditions. That is why, samples of food and hand swabs taken from operators were collected to assess their microbiological quality. A total of 100 food samples consisting of 40 fried fish, 30 fried sausages and 30 boiled eggs; and 40 hand swabs taken from operators (of the hand before and after washing) from 20 primary schools were collected and conventional microbiological analysis methods were used to enumerate total flora, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Sulphite-reducing Anaerobes (SRA) and to search for *Salmonella* spp. Identification of the bacteria isolated was confirmed by 16S rRNA sequencing. The study showed a non-compliance rate (100 %) for total flora in all fish samples from public schools without canteens (PS-C). Suspected strains of *Escherichia coli* (38 %), coagulase-positive staphylococci (20 %), and 17 suspected strains of *Salmonella* spp were detected in the samples. Sequencing of the isolated strains confirmed the presence of *Escherichia coli* for 100% of the isolated strains, *Staphylococcus aureus* was not present in the samples, but coagulase-positive staphylococci were identified. *Salmonella* spp strains were confirmed as *Salmonella enterica subsp enterica* for the strains isolated. The presence of these pathogens in food requires further study to assess the risk of toxic infections faced by consumers.

To assess the antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from foodstuffs and operators' swabs, 10 antibiotics were selected for antibiotic susceptibility testing of 55 *Escherichia coli* strains using the disk diffusion method. The virulence genes *stx1*, *stx2* and *eae* were then searched for

using their specific primers in the 55 *Escherichia coli* strains by PCR. This study showed that *Escherichia coli* isolates were resistant depending on the antibiotic tested. In the case of multiple antibiotic resistance, 63.6% ( $n = 35$ ) of isolates were resistant to at least two antibiotics at the same time. Molecular characterization of virulence genes showed the presence of *stx1* in 16.4% ( $n = 9$ ) of isolates tested and the absence of *stx2* and *eae* in all isolates.

Finally, the antibacterial activities of clove (*Syzygium aromaticum*), garlic (*Allium sativum*), bay leaf (*Pimenta racemosa*), and ginger (*Zingiber officinale*) EO were evaluated on *E. coli* strains isolated from the samples. After botanical identification, the EO from these four plants were extracted by hydro distillation using a Clevenger-type apparatus, followed by characterization by GC/FID and GC/MS to identify the chemical compounds. The characterized EO were tested on *Escherichia coli* strains using the disk diffusion method with sterile disks to assess their antibacterial activities on the strains, followed by the determination of their minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) using the broth microdilution method with the Bioscreen C system to assess their bacteriostatic and bactericidal properties. Characterization of the EO showed that they contained chemical molecules that were biologically active against pathogens. The antibacterial activities and the determination of MIC and BMC revealed that all the EO were active on the strains tested, with MIC of 0,25 and 1 mg/mL, and BMC between 1 and 2.5 mg/mL. *Allium sativum* EO was the most active on the strains tested.

Training courses should be organized to raise operators' awareness of good hygiene and production practices in kitchens to guarantee the satisfactory microbiological quality of food for schoolchildren. Particular attention must be paid to these plants to encourage their cultivation and the extraction of their EO so that they are accessible and available for use in the food industry. School kitchen operators also need to be made aware of the benefits of using these spices when preparing food, to guarantee healthy food for schoolchildren.

**Keywords:** good hygiene and manufacturing practices, food of animal origin, elementary school, microbiological quality, virulence, antibiotic resistance, essential oil, chemical composition, antibacterial properties

## **Préambule général**

Dans les années 60, la population du Bénin était estimée à près de 3 millions d'habitants. Elle a atteint de nos jours près de 13 millions avec une population en âge d'être scolarisée estimée à plus de 3 millions. Les projections statistiques prévoient le doublement de la population actuelle dans les trente prochaines années (INSTAD, 2022). Face à une telle poussée démographique ajoutée à l'urbanisation rapide et la pauvreté galopante du pays, les populations ont développé de nouveaux modes de consommations caractérisés par une alimentation en dehors du foyer habituel : ce sont les aliments de rue (Komagbe et *al*, 2019). Au Bénin, comme dans la plupart des pays en voie de développement, l'alimentation de rue appartient au secteur informel et attire jusqu'à 80 % des populations (fonctionnaires, étudiants, élèves, ouvriers et autres) dont 28 % constitue la population en âge d'être scolarisée, en raison de sa facilité d'accès et de son moindre coût (Koffi, 2021). Selon la FAO, c'est un secteur produisant des aliments prêts à être consommés, préparés et vendus dans les rues et autres lieux publics (Forkuor et *al*, 2017). L'alimentation de rue est un secteur pourvoyeur d'emplois au Bénin, permettant aux opérateurs d'avoir des gains financiers journaliers compris entre 1.500 et 15.000 FCFA l'équivalent de 2,3 et 22,9 Euro, pour satisfaire leurs besoins (Komagbe et *al*, 2019). Dans ce secteur, différents types d'aliments sont préparés et vendus parmi lesquels figurent les denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) reconnues pour leur richesse en protéines et micronutriments. Par ailleurs, sur le plan nutritionnel, des études ont montré des déficiences en micronutriments (fer, vitamine A, iode et le zinc) au sein de la population béninoise. En effet, il a été constaté que 71,5 % des enfants âgés de 6 à 59 mois et 57,7 % des femmes enceintes souffraient d'anémie tandis que la déficience en vitamine A était estimée à 73 % au niveau des enfants âgés de 0 à 6 ans (Houngpatin et *al.*, 2020). S'agissant de la carence en iode, les résultats de l'enquête MICS (Multiple Indicator Cluster Survey) en 2014 ont révélé que la consommation en sel iodé (principale source de l'iode) de la population béninoise était de 39 % nettement en dessous des critères de l'OMS (90 %), nécessaire pour mettre fin à ce problème, pendant que la déficience en zinc était estimée à 17 % (Houngpatin et *al*, 2020 ; INSTAD, 2022). La consommation des DAOA peut contribuer à satisfaire les besoins nutritionnels de la population béninoise.

Cependant, les procédés de transformation et les conditions de vente des aliments en général et des DAOA en particulier sont inadéquats, caractérisés par un manque d'infrastructures de base, d'équipements de qualité, de formation des opérateurs et par la non-observance des règles d'hygiène. Les conditions actuelles ne garantissent pas l'obtention de DAOA de qualité microbiologique satisfaisante qui sont hautement périssables et perçues comme un risque majeur pour la santé publique (Randriamalala et *al.*, 2019). En effet, les aliments sont produits et distribués dans des infrastructures rudimentaires, au moyen d'équipements en aluminium recyclé ou en bois de qualité hygiénique douteuse avec le risque de contamination chimique et physique des aliments. De plus, les aliments sont exposés aux insectes et à la poussière, ce qui vient se surajouter à l'hygiène déficiente des opérateurs, pouvant constituer ainsi des vecteurs d'agents pathogènes (Kouyaté et *al*, 2020). Par ailleurs, plusieurs travaux

ont rapporté le rôle des aliments de rue comme sources de transmission des pathogènes à l'homme et dans la survenue des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), qui sont de plus en plus récurrentes de nos jours (Achiba, 2021; OMS, 2020 ; Sare et *al.*, 2023).

Les TIAC sont souvent causées par différents types microorganismes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* pathogène, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* issus de différents habitats et qui se développent dans les milieux où les conditions d'hygiène sont insuffisantes (OMS, 2018 ; Salamadane et *al.*, 2022). Ces maladies, souvent des zoonoses, se manifestent par des vomissements, des nausées, des douleurs abdominales aiguës, des céphalées, des diarrhées aqueuses parfois sanglantes, des maux de tête, de fortes fièvres, et sont transmises à l'homme après ingestion d'aliments contaminés (Karama et *al.*, 2019 ; Ritcher et *al.*, 2021). La consommation des DAOA manipulées dans les conditions d'hygiène inappropriées peut s'avérer dangereuse pour les consommateurs surtout pour les personnes vulnérables comme les personnes âgées, les personnes avec un système immunitaire faible et les enfants (Asadi et *al.*, 2023). En Afrique, des études ont montré que les TIAC ont occasionné des pertes en vies humaines estimées 425.000 dont 125.000 étaient des enfants (Onyeka et *al.*, 2021). Par ailleurs, l'utilisation non maîtrisée des antibiotiques a engendré l'apparition des bactéries de plus en plus résistantes aux agents antibactériens (Beyi et *al.*, 2017). A cet égard, plusieurs travaux ont montré que des bactéries en l'occurrence des souches d'*E. coli* pathogène, isolées des DAOA vendues dans la rue étaient multirésistantes aux antibiotiques (Fayemi et *al.*, 2021 ; Dougnon et *al.*, 2021 ; Madoroba et *al.*, 2022). Or, les bactéries résistantes aux antibiotiques constituent la principale cause des échecs thérapeutiques rencontrés dans la gestion des TIAC de nos jours. Au Bénin, des études sur les risques de toxi-infections alimentaires chez les consommateurs, effectuées sur les campus de l'Université d'Abomey-Calavi ont montré que 74 % des échantillons d'aliments analysés étaient contaminés par des *E. coli* pathogènes, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* (Ahoyo et *al.*, 2010). Ces auteurs ont rapporté que, sur un total de 325 souches isolées, 36 % étaient multirésistantes aux agents antibactériens dont 24 % d'entérocoques résistantes à la vancomycine, 44 % d'*E. coli* productrices de bêta lactamase à spectre élargi (ECBLSE) et 32 % de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM). A ces études s'ajoute celle de Komagbe et *al.* (2019) qui avaient révélé que 4 % des échantillons d'aliments analysés étaient contaminés par *E. coli* pathogène et environ 5 % par *Salmonella* spp. La présente étude s'inscrit dans cette même dynamique au niveau des écoles primaires du département du Mono au Bénin.

De nos jours, il y a un fort débat sur l'efficacité des antibiotiques contre les bactéries pathogènes résistantes aux agents antibactériens qui constituent une cause importante de morbidité et de mortalité en raison des échecs thérapeutiques (Montso et *al.*, 2019 ; Jaja et *al.*, 2020). Pendant ce temps la société moderne est à la recherche de solutions basées sur des substances naturelles ayant un impact environnemental moindre que les antimicrobiens synthétiques. Dans ce cadre des mécanismes sont élaborés pour contrôler les agents pathogènes des aliments et par conséquent améliorer leur qualité

(Sessou et *al*, 2016). Sur ce plan, les huiles essentielles (HE) extraites des plantes aromatiques ont fait leur preuve et suscité l'intérêt scientifique. Elles sont classées sur la liste des substances GRAS (General Recognized As Safe) et peuvent donc être utilisées pour empêcher la croissance d'un grand nombre de pathogènes des aliments en raison de leurs fortes propriétés antibactériennes révélées par plusieurs études (Sessou et *al*, 2016 ; Cauchie et *al*, 2020).

C'est dans ce contexte que ce projet de thèse a été initié. En plus des raisons évoquées précédemment, le département du Mono fait partie des départements du Bénin ayant un indice de pauvreté élevé selon le rapport l'INSTAD/PNUD (2018). Cette thèse est répartie en trois parties. La première partie (**introduction ou synthèse bibliographique**) vise à présenter et décrire les informations nécessaires pour la compréhension des objectifs de l'étude et des résultats obtenus. La seconde partie (**travail expérimental**) est composée de quatre études présentées comme suit :

- Pratiques d'hygiène des opératrices des aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire dans le Département du Mono. Une étude transversale.
- Qualité microbiologique des aliments d'origine animale et l'hygiène des mains des opératrices en milieu scolaire dans le département du Mono.
- Virulence et résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des faces palmaires des opératrices.
- Propriétés antibactériennes des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur les souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des faces palmaires des opératrices.

La troisième partie (**discussion générale, conclusion et perspectives**) renseigne sur les principales informations utiles apportées par ce travail à travers les différents travaux réalisés et les éventuelles études à initier dans le futur.

## **Chapitre 1 : INTRODUCTION**

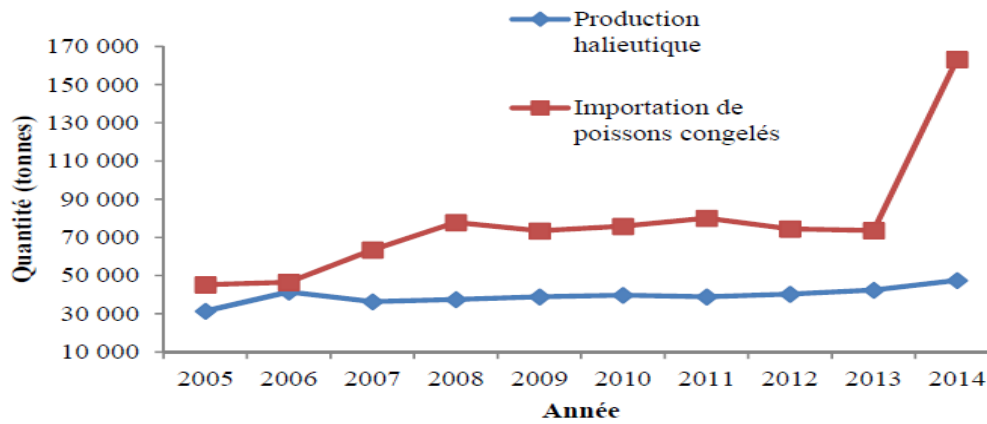
## 1.1. Définition et importance nutritionnelle des aliments d'origine animale

D'après le règlement (CE) n°853/2004 de la Commission Européenne une denrée alimentaire d'origine animale (DAOA) est « l'ensemble des produits issus d'un animal y compris le miel et le sang destinés à la consommation humaine. Les mollusques bivalves, les échinodermes, les tuniciers et les gastéropodes marins vivants destinés à la consommation humaine sont aussi inclus dans cette catégorie et les autres animaux destinés à être préparés en vue d'être fournis vivant au consommateur final ». Les DAOA constituent également une bonne source de protéines hautement biodisponibles, de vitamines et de minéraux essentiels. Il existe donc plusieurs types de DAOA parmi lesquels les poissons et produits à base de poisson, les viandes ou produits carnés, les œufs et ovoproduits, le lait et les produits laitiers.

### 1.1.1. Poissons et produits à base de poisson

La consommation du poisson ou produits à base de poisson est planétaire et le poisson est aussi l'un des aliments les plus consommés au monde. La consommation de cette DAOA est estimée à 130 milliards de dollars US en 2012, et ce chiffre a sans doute augmenté depuis lors (Sonon et *al.*, 2023). En effet, la consommation mondiale de poisson ou produits à base de poisson a augmenté, avec une moyenne 9,9 kg par personne et par an pendant les années 1960 à 18,9 kg en 2010. Cette moyenne a continué de progresser en 2012 pour atteindre 19,2 kg par personne (FAO, 2014). Quant à la consommation annuelle en poisson ou produits à base du poisson au Bénin elle n'a cessé d'augmenter. En 2013, elle était estimée à 15,93 kg (El Ayoubi and Failler, 2013 ; Iko Afé et *al.*, 2020). Le poisson et les produits à base du poisson sont une source précieuse de protéines animales. En effet, les besoins journaliers en protéines sont couverts de 50 à 60 % environ par la consommation de 150 g de poisson pour un adulte. Sur le plan mondial, la consommation du poisson et des produits à base de poisson apporte 17 % de protéines animales à l'homme et représente 6,6 % de l'ensemble des apports en protéines (FAO, 2016 ; Iko Afé et *al.*, 2020). Au niveau nutritionnel, l'apport énergétique de la consommation de 100 g de poisson par personne par jour est estimé en moyenne à 84 kilocalories, ce qui est faible. La consommation de poisson apporte à l'organisme des acides aminés de haute qualité, des minéraux (fer, zinc, calcium, iode, et sélénium), des acides gras oméga-3 docosahexaénoïques et eicosapentaénoïques et des vitamines (A, B et D) souvent hautement biodisponibles (Obiero et *al.*, 2019). Généralement, la composition en graisses saturées, glucides et cholestérol du poisson est faible sauf pour ce qui concerne certaines espèces. Au niveau mondial, avec la forte poussée démographique, il a été noté une importante augmentation de la consommation du poisson. En effet, les consommateurs ont pris conscience des bénéfices pour la santé liés à la consommation du poisson et les produits à base de poisson ajouté à l'augmentation des revenus des ménages (Anderson et *al.*, 2017; Obiero et *al.*, 2019). La capture et l'importation des produits halieutiques au Bénin ont considérablement augmenté passant entre 2005 et 2014 respectivement de 31.497 à 47.572 tonnes et de 45.228 à 163.126 tonnes (figure 1) (DP/MAEP, 2014 ; Iko Afé et *al.*, 2020). Le poisson et les produits à base de poisson constituent la principale source en protéine animale pour une

grande partie de la population. La consommation du poisson et ses dérivés est estimée à 73.965 tonnes en 2020 au Bénin (Sonon et *al.*, 2023).



**Figure 1** : Evolution de la production et l'importation du poisson et des produits halieutiques au Bénin (DE/MAEP, 2014 ; Iko Afe et *al.*, 2020)

### 1.1.2. Viande et produits carnés

À l'origine, la viande est toute nourriture susceptible de faire vivre, d'entretenir la vie. Du latin populaire *vianda* et du bas latin *vivanda*, elle est ce qui sert à la vie. D'après le règlement (UE) N° 1169/2011 du Parlement européen et du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires (Parlement européen, 2011), la définition de la viande est tout ce qui provient d'une carcasse et qui est accepté pour la consommation humaine par exemple le sang, les viscères et les muscles (Clinquart, 2016). La consommation de la viande est très bénéfique sur le plan nutritionnel en raison de son important réservoir de protéines, de lipides, de cholestérol, de minéraux (fer), de vitamine du groupe A (apportée principalement par le foie) et du groupe B (CEN, 2011). Les viandes sont composées en moyenne de 20 % de protéines essentiellement constituées de myosine, de collagène et de myoalbumine. Au Bénin, les données statistiques de la direction de l'élevage révèlent que la production de la viande a progressé de 55.805 tonnes en 2008 à 64.968 tonnes en 2013 puis à 70.327 tonnes en 2016 avec un pic en 2017 estimée à 72.226 tonnes (DE/MAEP, 2017 ; Dognon et *al.*, 2018)). En 2020 cette production a chuté pour atteindre 63.758 tonnes pour ensuite augmenter jusqu'à 69.195 tonnes en 2021 (DSA/MAEP, 2022 ; Guidime et *al.*, 2023). Malgré la nette progression de la production de la viande ou des produits carnés les populations africaines en général et celles du Bénin en particulier n'ont pas encore atteint l'autosuffisance en matière de protéines d'origine animale. Au Bénin, l'augmentation de la taille de la population et le développement rapide des zones urbaines a occasionné la chute de l'autosuffisance en viande et produits carnés de 41,7 % en 2020 à 37,2 % en 2021 (DSA/MAEP, 2022 ; Guidime et *al.*, 2023). Par ailleurs, l'élevage (production de la viande et du lait)

contribue à 13,34 % du PIB du Bénin ce qui fait de ce secteur la seconde activité agricole du pays en 2021 (DSA/MAEP, 2022 ; Offoumon et *al.*, 2023).

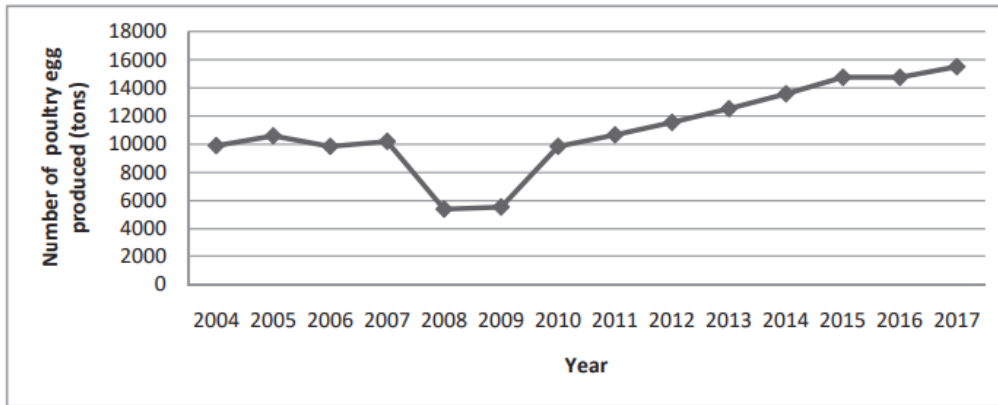
### 1.1.3. Lait et produits laitiers

Le lait et les produits laitiers constituent un groupe d'aliments extrêmement riche en protéines animales nécessaire pour assurer la sécurité alimentaire et nutritionnelle des populations. En effet, un litre de lait de vache entier ou écrémé apporte 35 g de protéines à l'organisme (CEN, 2011). Les protéines du lait sont essentiellement constituées de caséine, de lactalbumine et de lactoglobuline. C'est aussi un produit alimentaire très riche en lipides essentiellement constitués de triglycérides répartis en acides gras saturés (60 à 65 %) et monoinsaturés (32 %) (Agbo et *al.*, 2023). D'autres composés nutritionnels sont aussi présents dans le lait à savoir des vitamines (A, B et D), du cholestérol, des oligo-éléments (zinc, fer et cuivre..) des macro-minéraux (magnésium, calcium et phosphore...) qui jouent d'importants rôles dans l'organisme humain (Agbo et *al.*, 2023). Au Bénin, la production laitière est essentiellement basée sur l'élevage des bovins (Sossouve et *al.*, 2023). La production du lait a progressé de 102.000 tonnes en 2011 à 113.000 tonnes en 2015 (FAO, 2020 ; Komagbe et *al.*, 2023). Malgré cette augmentation de la production laitière au Bénin, les besoins de la population ne sont pas entièrement comblés (Offoumon et *al.*, 2023). Par ailleurs, une grande diversité de lait et de produits laitiers est observée sur le marché africain. Cette diversité est caractérisée par la présence du lait cru produit localement ou importé, du lait transformé (lait en poudre, lait caillé, yaourt, fromage, beurre, huile de beurre etc...) couramment consommés par les populations (Sambo et *al.*, 2013). Au Bénin, la production du lait et des produits laitiers cumulé avec la production de la viande contribue à 13,3 % du PIB du Bénin (DSA/MAEP, 2022 ; Offoumon et *al.*, 2023).

### 1.1.4. Œufs et ovoproduits

La croissance démographique, l'adoption de nouvelles habitudes alimentaires et l'urbanisation des villes des pays au Sud du Sahara ont provoqué une demande accrue d'aliments d'origine animale (Rae & Nayga, 2010). La satisfaction de cette demande a permis le développement de la filière avicole dans beaucoup de pays d'Afrique occidentale. Au Bénin, la production des œufs est passée de 7.200 tonnes en 2000 à 11.550 tonnes en 2012 (Batonon-Alavo et *al.*, 2015) et de 14.000 à 16.000 tonnes entre 2015 et 2017 (figure 2) (FAOSTAT, 2019 ; Houedjofonon et *al.*, 2020). La consommation des œufs et ovoproduits au Bénin est de 1,20 kg/habitant/an, bien inférieure à la consommation mondiale, qui est estimée à 8,90 kg/habitant/an (FAOSTAT, 2019). Sur le plan nutritionnel, les œufs ou produits à base des œufs sont très riches en protéines (l'ovalbumine dans le blanc et l'ovovitelline dans le jaune) très équilibrées en acides aminés. La consommation d'un œuf de 55 g contribue à 14 % des besoins journaliers en protéines représentant ainsi un apport de 8 g. Comme la plupart des aliments d'origine animale les œufs contiennent aussi des lipides avec un taux de 12 % de l'œuf entier localisés uniquement dans le jaune d'œuf (33,5 g pour 100 g de jaune d'œuf soit environ 7 g de jaune pour un œuf) avec des

phospholipides en très grande proportion (Bouvairel et *al.*, 2010). Le jaune d'œuf est riche en cholestérol (1.500 mg environ pour 100 g soit 300 mg pour un jaune). Les œufs sont aussi une bonne source de minéraux, essentiellement constitués de phosphore et de fer mais très pauvre en calcium. Les œufs constituent aussi une excellente source de vitamines A, B et D (Bouvairel et *al.*, 2010).



**Figure 2 :** Dynamique de production des œufs de table au Bénin entre 2004 et 2017 (FAOSAT, 2019)

### 1.1.5. Consommation des DAOA au Bénin

En Afrique subsaharienne en général et au Bénin en particulier, les DAOA sont d'une importance capitale surtout pour les populations à faibles revenus. Sa contribution aux régimes alimentaires n'est plus à démontrer dans les pays en voie de développement (Orou Seko et *al.*, 2021). Avec la croissance démographique observée dans les pays du Sud, et plusieurs d'autres facteurs sociétaux, la demande en DAOA continue d'augmenter (Ingenbleek et *al.*, 2017). Sur le plan nutritionnel, les DAOA jouent un rôle crucial dans le régime alimentaire des ménages. En effet, les DAOA sont riches en protéines, graisses et en micronutriments tels que les vitamines et minéraux qui permettent de combler les besoins nutritionnels des consommateurs (Orou Seko et *al.*, 2022). Au Bénin, la consommation quotidienne des DAOA de la population adulte est résumée dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 1 :** Consommation quotidienne moyenne des DAOA par équivalent d'homme adulte

Groupe de DAOA	Sous-groupe de DAOA	Consommation quotidienne moyenne (g)	Couverture en besoin nutritionnel (%)
Viande	Bœuf	20,3	1,1
	Volailles	3,8	NS
	Ovins	1,6	NS
	Porc	0,23	NS
	Produits à base de viande	7,7	NS
	Viande de gibier	NR	
	Insectes	NR	
	Autres viandes	0,6	NS
Œufs	Œufs de volaille	5,7	0,32
Fruits de mer	Poisson de mer	16,1	NS
	Poisson d'eau douce	NR	

	Poisson fumé	12,2	0,42
	Produits à base de poisson	10,8	NS
	Crustacées	1,52	NS
	Mollusques	NR	
	Autres fruits de mer	NR	
Produits laitiers	Lait frais fermenté	32	1,6
	Lait concentré/déshydraté	17,7	0,9
	Autres produits laitiers	10	NS

---

**Source :** Ingenbleek et *al*, 2017

### 1.1.6. Types de préparations culinaires

Différents modes de cuisson sont utilisés un peu partout dans le monde pour préparer les aliments d'origine animale. Au Bénin, les modes cuisson des aliments d'origine animale souvent rencontrés sont la friture, le fumage, la cuisson à l'eau bouillante, la cuisson au four (Kpodekon et *al*, 2014 ; Sikorski, 2016 ; Komagbe et *al*, 2019).

- Le fumage : c'est une technique qui consiste à soumettre les aliments à l'action de la fumée par la combustion du bois ou du charbon. Le fumage à chaud est réalisé entre 60 et 130 °C alors que le fumage à froid est effectué entre 25 et 35 °C.
- La friture est une mode de cuisson qui consiste à immerger les aliments dans de l'huile chaude. La température de cuisson excède souvent 130 °C.
- La cuisson à l'eau bouillante est un mode de cuisson consistant à préparer les aliments dans l'eau chaude avec une température voisine de 100 °C.
- La cuisson au four est une technique qui consiste à mettre les aliments au four à des températures comprises entre 120 et 250 °C.

La préparation des aliments d'origine animale suivant ces différents modes de cuisson dépend de la température et du temps.

## 1.2. Caractéristiques des microorganismes et des toxi-infections d'origine alimentaire collectives

### 1.2.1. Caractéristiques des microorganismes associés aux aliments

Différents types de microorganismes se retrouvent dans les aliments. Ils sont d'une importance capitale et jouent un rôle crucial tant bénéfique que néfaste. On peut retrouver dans les aliments des microorganismes indicateurs et pathogènes. En effet, les microorganismes indicateurs (entérobactéries, *E. coli*) sont souvent utilisés pour évaluer si la sécurité et la qualité microbiologique des denrées alimentaires dans les industries agroalimentaires ou les pratiques hygiéniques au sein d'une cuisine ou d'une installation alimentaire sont appropriées. Leur présence renseigne sur une contamination potentielle par des pathogènes ou indique des procédés de transformation inadéquats. Par contre, les

microorganismes dangereux dans les aliments (*E. coli* pathogènes, *Salmonella* spp., *S. aureus*...), sont des germes pathogènes qui peuvent provoquer des toxi-infections alimentaires après ingestion des aliments contaminés. Les aliments peuvent être contaminés pendant les pratiques de manipulation, de préparation ou de stockage inappropriées. Dans cette partie, nous allons présenter les microorganismes couramment dénombrés ou recherchés dans les DAOA, soit pour évaluer les pratiques de production, soit pour évaluer les risques auxquels les consommateurs sont exposés.

- **Germes aérobies mésophiles**

Les germes aérobies mésophiles (GAM), aussi appelés flore aérobie mésophile totale (FAMT), sont un indicateur de qualité sanitaire qui renseigne sur le degré de contamination microbienne global des produits alimentaires ou des surfaces (Komagbe et al., 2019). La FAMT est un groupe de microorganismes capables de se multiplier à température ambiante et en présence d'oxygène. Elle peut être constituée des germes pathogènes ou non (bactéries, levures et moisissures) ayant une température optimale de croissance comprise entre 25 et 40 °C mais souvent incubée à 30 °C (Iberraken, 2016). Elle est utilisée comme paramètre de contrôle des conditions d'hygiène de production des aliments dans les industries agro-alimentaires ou dans les restaurations collectives (Farougou, 2017; Sossa-Minou et al, 2018). Elle est dénombrée dans les denrées alimentaires prêtes à être consommées, cuites ou non, susceptibles d'avoir été conservées à la température ambiante ou à des températures trop élevées et pendant une durée trop longue.

- **Bactéries**

Les bactéries dans les aliments sont des microorganismes unicellulaires souvent issus de l'environnement (le sol, l'eau), des opérateurs, et des surfaces pour contaminer les aliments. Elles se présentent sous diverses formes avec des fonctions différentes et jouent un rôle essentiel dans le secteur alimentaire. Voici une vue d'ensemble des bactéries souvent retrouvées dans les DAOA.

- ***Escherichia coli***

*Escherichia coli* est une bactérie anaérobie facultative très abondante dans la flore du côlon humain, qui abrite  $10^{11}$  à  $10^{12}$  ufc/g de bactéries, parmi lesquelles  $10^8$  ufc/g d'*Escherichia coli* (Carloni et al., 2018). Elle est généralement localisée dans le tractus gastro-intestinal (Blanco et al., 2003). *E. coli* est une entérobactérie commensale chez l'homme et les animaux. Elle est caractérisée par une forme de bacille capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole. Elle dispose d'une gamme d'hôtes diversifiés. Cette entérobactérie est surtout connue pour être une excellente indicatrice de contamination fécale dans les denrées alimentaires (Meng et al., 2012). Par ailleurs, l'espèce *Escherichia coli* comprend plusieurs clones pathogènes émergents d'importance capitale pour la santé publique mondiale (souvent dénommés « pathotypes »). Ces souches sont les plus souvent impliquées dans les pathologies d'origine

digestive, des infections urinaires et des méningites. Les pathotypes les plus souvent incriminés dans les pathologies d'origine alimentaire sont les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC), les *E. coli* entéro-aggrégatives (EAEC), et les *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) (Fayemi et al., 2021; Thonda et al., 2015). Ces souches sont différenciées et catégorisées en fonction de leurs gènes de virulence, raison pour laquelle différentes techniques sont mises en œuvre pour leur diagnostic (Omarak et al., 2016; Richter et al., 2021). Parmi les souches d'*E. coli*, les STEC constituent les formes les plus dangereuses en raison de leur capacité à provoquer le syndrome hémolytique urémique, une pathologie difficile à traiter. Plusieurs chercheurs ont montré l'omniprésence de *E. coli* chez l'homme et les animaux et son rôle en tant que bactérie commensale devenant ainsi l'un des microorganismes les plus résistants aux agents antimicrobiens (Chigor et al., 2010; Salamandane et al., 2022). *Escherichia coli* a la possibilité de transférer aux autres bactéries ses gènes de résistance aux antibiotiques augmentant ainsi les problèmes de résistance des bactéries et les risques d'échecs thérapeutiques (Adamu et al., 2018).

- ***Staphylococcus aureus***

En microbiologie alimentaire c'est une bactérie désignée sous le nom de staphylocoques à coagulase positive, bactérie Gram positive et anaérobie facultative préférant le métabolisme aérobie. Les cellules sont des cocci simples ou appariés de forme sphérique ou en forme de grappes de raisin (« staphylo » voulant dire grappe de raisin en grec) appartenant à la famille des *Staphylococcaceae* (Le Loir et al., 2003). L'homme et des animaux peuvent héberger cette bactérie principalement dans la bouche, la muqueuse nasale, la peau des individus sains et dans la gorge (Latifou et al., 2019). Elle peut se multiplier entre 6 et 46 °C. *Staphylococcus aureus* est une bactérie halophile et xérophile, pouvant se développer même en présence de sel et de sucre et survit dans les aliments déshydratés (Bailly et al., 2012). Il est estimé que 70 à 80 % des souches de *S. aureus* sont capables de produire des entérotoxines staphylococciques (les plus fréquentes sont les types A, B, C1, C3, D, E, H), responsables des intoxications alimentaires à *Staphylococcus aureus* (Le Loir et al., 2018). Les symptômes d'une intoxication alimentaire staphylococcique sont des crampes abdominales, des nausées, des vomissements parfois suivis de diarrhée (jamais de diarrhée seule) après ingestion d'un aliment. Les symptômes apparaissent rapidement (30 minutes à 8 heures) avec une rémission spontanée observée après 24 heures (Le Loir et al., 2003). Cette bactérie peut être disséminée facilement dans l'environnement et peut ainsi contaminer les aliments. Ainsi, tous les produits alimentaires peuvent être incriminés en cas d'une toxoinfection d'origine alimentaire. Toutefois, certains d'entre eux doivent faire l'objet d'une grande attention, comme par exemple, le lait cru ou fermenté, les œufs et les ovo-produits, la viande, les poissons, les abats ou les volailles (Latifou et al., 2019).

- ***Salmonella* spp**

*Salmonella* est une entérobactérie pathogène découverte en 1884 par un médecin vétérinaire, le Dr Daniel Salmon (Korsak et *al.*, 2004; Yao, 2019). Cette bactérie fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae* et est responsable des salmonelloses caractérisées par des fièvres typhoïdes, des gastro-entérites. Dans certains cas, il peut y avoir des formes asymptomatiques. L'espèce de *Salmonella* la plus souvent mise en cause est *Salmonella enterica*, agent causant des gastro-entérites, septicémies et complications extra-digestives. *Salmonella* Typhi et Paratyphi A, B, et C sont responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes principalement rencontrées chez l'homme et caractérisées par des pathologies particulièrement graves (Tarazi et *al.*, 2021). Ces bactéries peuvent survivre longtemps dans l'environnement (Yao, 2019). Elles sont généralement localisées dans le tube digestif des animaux. Cette bactérie est caractérisée sur le plan biochimique par des bacilles à coloration Gram négative, non sporulante, souvent dotée d'une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches (à l'exception du mutant immobile *Salmonella Gallinarum*). Les bacilles ont une taille variante souvent entre 2 et 5 µm de longueur sur 0,7 et 1,5 µm de largeur. *Salmonella* est aéro-anaérobie et a la capacité de réduire les nitrates en nitrites. L'homme est contaminé soit par ingestion d'un aliment contaminé soit par contacts directs ou indirects avec les animaux contaminés. Les souches de *Salmonella* sont rejetées dans l'environnement à travers les matières fécales, pouvant ainsi contaminer les surfaces utilisées dans les cuisines (Ramdani & Boukoucha, 2014). Le respect de l'hygiène est donc un souci permanent dans les cuisines.

- ***Bacillus cereus***

C'est une bactérie Gram positive appartenant au genre *Bacillus*. Elle a une forme de bâtonnet (bacille) pouvant se présenter sous forme libre ou chaînes (Six et *al.*, 2012). Elle a la capacité de former des spores lui permettant de survivre à des températures élevées dans un environnement sec. Les spores peuvent survivre lors de la cuisson, puis germer et produire des toxines si les aliments sont laissés trop longtemps à température ambiante. Ses milieux naturels sont le sol, l'eau et les plantes. Cette bactérie peut causer des intoxications alimentaires caractérisées par les diarrhées, vomissements, nausées et crampes abdominales (Mouawad et *al.*, 2021). Les aliments associés à *Bacillus cereus* sont les céréales (riz cuit en particulier), les pâtes, les produits laitiers, les sauces crémeuses, les viandes et certains légumes (Postollec et *al.*, 2021).

- **Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)**

Les ASR sont principalement rencontrées dans le sol et dans les matières organiques en décomposition. Ces bactéries sont des hôtes normaux de l'intestin des hommes et des animaux. Dans les épisodes de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) deux espèces sont concernées chez ASR à savoir *Clostridium perfringens* et *Clostridium botulinum*.

- ***Clostridium perfringens***

Cette bactérie appartient à la famille des *Bacillaceae*, Gram positive, sporulante (spores subterminales), anaérobie stricte (Kiu & Hall, 2018). Sur le plan épidémiologique *C. perfringens* a été incriminée dans plusieurs cas de maladies systémiques et entériques telles que la gangrène gazeuse et les toxi-infections d'origine alimentaire collectives (TIAC) (Heida et al., 2016; Shaw et al., 2020). Certaines souches de *Clostridium perfringens* peuvent être aérotolérantes et associées à différents environnements parmi lesquels les eaux usées, la nourriture et le sol. Cette bactérie peut aussi provoquer des gastro-entérites. *Clostridium perfringens* est une bactérie qui peut se présenter sous forme végétative comme un bacille pléomorphe en paires ou en chaînettes courtes. Cette bactérie est productrice de toxines réparties en sept toxinotypes (A à G), catalase négative et superoxyde dismutase négative. La température optimale de croissance de *C. perfringens* est de 37 °C (Shaw et al., 2020). Dans les épidémies de TIAC l'entérotoxine sécrétée pendant la sporulation de *C. perfringens* est mise en cause. La viande et les volailles constituent les principaux réservoirs des spores de *C. perfringens*. Les TIAC provoquées par *C. perfringens* se manifestent par des nausées, des douleurs abdominales et de la diarrhée (Rood et al., 2018). C'est une pathologie bénigne et le patient peut être guéri en 24 heures. Cette TIAC peut survenir après ingestion d'un aliment contenant 10<sup>8</sup> ufc/g de la forme végétative de *C. perfringens*. Les toxi-infections peuvent être provoquées par la consommation d'aliments tels que les plats de viande, de légumes, de volaille ou de poisson laissés pendant une longue période à température ambiante après leur cuisson.

- ***Clostridium botulinum***

Cette bactérie est un anaérobie sulfite-réducteur Gram positif, se présentant sous forme de bacille, sporulée (spores ovalaires subterminales), anaérobie stricte, mobile (ciliature pétriche). De nature tellurique et ubiquitaire, *Clostridium botulinum* est une bactérie souvent rencontrée dans les milieux aquatiques et dans le sol (Waker et al., 2020). Cette bactérie peut aussi se retrouver dans les excréments de certains oiseaux, mammifères et poissons qui constituent les principales voies de dissémination des formes sporulées dans l'environnement (Grenda et al., 2017). *C. botulinum* sous forme sporulée est une bactérie thermorésistante qui peut survivre pendant des heures à 100 °C mais est détruite à 121 °C pendant 3 minutes. Les formes sporulées peuvent germer lorsque les conditions optimales de croissance (anaérobiose à une température comprise entre 25 et 37 °C) sont réunies (Chen et al., 2021). Sous forme végétative *C. botulinum* peut sécréter des neurotoxines sensibles à une forte chaleur (destruction à une pasteurisation de 75 à 80 °C). Les neurotoxines (BoNT) sont produites par quatre groupes physiologiques (I-IV) divisés en huit différents sérotypes (A-G et X). L'effet d'un sérum spécifique sur les huit sérotypes de *C. botulinum* dépend de leurs propriétés immunologiques (Peck & van Vliet, 2016). Par contre, des souches issues des espèces telles que *C. butyricum*, *C. beijerinckii* et *C. baratii* ont aussi la capacité de sécréter des neurotoxines (Chukwu et al., 2016). Il est très difficile de détecter les spores de *C. botulinum*

parce qu'elles sont génotypiquement et physiologiquement hétérogènes. Les toxi-infections d'origine alimentaire surviennent souvent suite à l'ingestion des aliments contenant des toxines sécrétées par *C. botulinum*. Les aliments transformés (charcuterie) issus de la viande de bœuf, de volaille et du poisson mal conservés sont principalement responsables de la survenue des pathologies (Dahlsten et *al.*, 2015).

- **Virus**

Les virus sont des pathogènes qui ont pour réservoir l'homme, et peuvent être transmis d'une DAOA crue (viande) à un plat prêt à être consommé par une contamination croisée. Les principaux virus incriminés dans les TIAC sont : le norovirus, le virus de l'hépatite A et le rotavirus.

- **Norovirus**

C'est un virus à ARN appartenant à la famille des *Caliciviridae*, de type non enveloppé ayant une taille d'environ 27 à 40 nanomètres de diamètre, relativement petit par rapport aux autres virus. Ces particules virales présentent une forme sphérique. Son génome est constitué d'un ARN simple brin positif (ssRNA+), ce qui signifie qu'il peut être directement traduit en protéines par la cellule hôte. Son enveloppe protéique (capside) est constituée de protéines appelées capsomères, qui s'assemblent pour former une structure robuste et résistante aux conditions environnementales hostiles. Cette capsidite permet au virus de se stabiliser et d'être capable de survivre dans l'environnement. Sur le plan antigénique, ce virus présente plusieurs variantes génétiques et antigéniques rendant compliqué le développement de vaccins efficaces contre lui. Les principaux génotypes sont regroupés en différents groupes basés sur leurs caractéristiques génétiques (Trudel-Ferland, 2024). En raison de ces différentes propriétés morphologiques qui jouent un rôle important dans la transmission et la pathogénie, il est difficile de contrôler des infections causées par le norovirus. Par ailleurs, il est l'une des principales causes d'épidémies d'infections gastro-intestinales dans le monde entier. Le norovirus est souvent transmis aux humains par la consommation d'aliments ou d'eau contaminés (Boudaud et *al.*, 2021).

- **Virus de l'hépatite A (VHA)**

Comme son nom l'indique, ce virus est responsable de l'hépatite A, une infection virale aiguë du foie. De forme sphérique et non enveloppé, ce virus fait partie des petits virus avec une taille d'environ 27 à 32 nanomètres. Il est constitué d'un ARN simple brin positif (ssRNA+) qui lui permet d'être directement traduit en protéines par la cellule hôte. Sa capsidite est constituée d'une coque protectrice composée de protéines structurales autour du matériel génétique viral. Ces protéines appelées VPI, facilitent son adhésion et sa pénétration dans les cellules hôtes. Comme pour la plupart des virus, Le VHA possède des déterminants antigéniques utilisés dans le développement de tests sérologiques et de vaccins. Grâce à ces caractéristiques morphologiques le virus peut survivre dans des conditions environnementales difficiles. Elles facilitent sa transmission et son interaction avec l'hôte en cas d'infections hépatiques. Le VHA peut provoquer une inflammation du foie et être transmis par la

consommation d'aliments ou d'eau contaminés par les selles d'une personne infectée\_(Guenifi et *al.*, 2022; Trudel-Ferland, 2024).

- **Rotavirus**

Le rotavirus est également un virus non enveloppé classé parmi les virus de taille moyenne (70 à 100 nanomètres). Il a une forme sphérique à polyédrique avec une apparence en roue d'où son nom « rota » qui signifie roue en latin. Sur le plan génomique il est composé de plusieurs fragments d'ARN double brin (dsRNA), une structure complexe qui lui confère une grande variabilité génétique (Geletu et *al.*, 2021). Le rotavirus a une capsidie composée de deux couches : une couche interne constituée de protéines structurales (VP2) dans laquelle le matériel génétique est encapsulé et une couche externe formée en grande partie par des protéines VP4 et VP7 qui facilitent l'adhésion aux cellules hôtes et sa reconnaissance antigénique. Les VP4 et VP7 sont antigéniques et utilisées dans la classification des souches et pour développer des vaccins. Ces caractéristiques morphologiques lui permettent d'infecter efficacement les cellules intestinales humaines et animales. Il peut provoquer des gastro-entérites en particulier chez les nourrissons et les jeunes enfants après la consommation d'aliments contaminés (Gleason et *al.*, 2024).

- **Parasites**

Les parasites sont des organismes vivants pouvant contaminer les aliments et causer des maladies aux consommateurs. Les parasites couramment retrouvés dans les aliments, leurs sources et les effets qu'ils peuvent avoir sur la santé sont :

- ***Giardia intestinalis***

Aussi appelé *Giardia lamblia* ou *Giardia duodenalis*, c'est un protozoaire flagellé, agent responsable de la giardiase, une infection intestinale causée par la consommation d'aliments contaminés. Les trophozoïtes mesurent souvent entre 10 et 20 micromètres de long et entre 5 et 15 micromètres de large. La taille des kystes (forme infectieuse) est de 8 à 12 micromètres. La forme active (les trophozoïtes) généralement ovale ou en poire, caractérisée par une silhouette qui lui donne un aspect asymétrique tandis que les kystes sont plus ronds avec une paroi épaisse qui protège l'organisme dans le milieu extérieur (Rojas-López et *al.*, 2022). Ce parasite possède des flagelles (8 au total), lui permettant de se déplacer activement dans le tractus gastro-intestinal. La face ventrale du trophozoïte possède un disque adhésif où se trouve une série de microtubules permettant à l'organisme d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales de l'hôte. L'observation microscopique du trophozoïte permet de remarquer deux noyaux distincts contenant chacun des chromatines périphériques bien visibles. D'autres organites tels que les mitosomes (mitochondries modifiées), se retrouvent également chez ce parasite. Les flagelles et le disque

adhésif facilitent la pathogénèse et l'adhésion au système digestif de l'hôte (Adam, 2021). La consommation des viandes, des produits laitiers, des poissons et des fruits et légumes contaminés peut provoquer des maladies d'origine alimentaire (Ganz *et al.*, 2015; Ryan *et al.*, 2019).

- ***Entamoeba histolytica***

C'est un protozoaire unicellulaire responsable de l'amibiase, une infection intestinale. Il se présente généralement sous deux formes : la forme active (le trophozoïte) et la forme infectieuse et résistante à l'extérieur du corps (le kyste). Le trophozoïte, d'une taille comprise entre 15 et 60 micromètres, est mobile, de forme irrégulière avec des pseudopodes (projections cytoplasmiques) qui facilitent sa locomotion pour englober les particules alimentaires (Usuda *et al.*, 2022). Le kyste, de forme sphérique ou ovale avec une paroi épaisse, mesure entre 10 et 20 micromètres de diamètre. Sous le microscope, le trophozoïte possède un noyau unique contenant une chromatine périphérique bien visible « en bille » ou « en cigarette » et un cytoplasme divisé en deux couches : un cortex éosinophile sombre à la surface et un endoplasme plus clair contenant des organites. Dans le cytoplasme des trophozoïtes, on peut retrouver des granules ingérés, caractérisant son régime alimentaire phagocytaire, visibles sous une observation microscopique. Par contre, ce parasite possède des mitosomes et non des mitochondries classiques (Begum *et al.*, 2021). Ces caractéristiques permettent d'identifier *E. histolytica* et de comprendre sa pathogénèse et son cycle de vie dans l'organisme humain. Les toxi-infections alimentaires peuvent survenir après consommation des produits carnés, des produits laitiers, l'eau, des fruits et légumes et contaminés par ce parasite (Ankri, 2021; Candela *et al.*, 2021).

- ***Cryptosporidium spp***

La cryptosporidiose est une infection parasitaire associée à des troubles gastro-entériques, provoquée par *Cryptosporidium spp*, un protozoaire cilié. Ce parasite se présente sous forme d'oocystes dont la taille varie entre 4 et 6 micromètres de diamètre et de forme sphérique ou légèrement ovale (Ježková *et al.*, 2021). Les oocystes sont résistants dans les milieux hostiles et aux désinfectants courants grâce à leur paroi épaisse composée de deux couches distinctes. Quatre sporozoïtes (des structures allongées et filamenteuses) sont présents dans les oocystes (les formes infectieuses), avec des adventices utilisés comme moyen de locomotion pour adhérer à la surface des cellules intestinales de l'hôte (Fradette *et al.*, 2022). L'identification des oocystes au microscope requiert une coloration spécifique (par exemple, coloration acido-résistante). La transmission de ce parasite est assurée par les formes sporulées (oocystes) présentes dans les selles qui peuvent contaminer l'eau et les aliments et causer des gastro-entériques au niveau des consommateurs en tant qu'agent zoonotique fréquent associés aux (eaux ?) contaminées (Hassan *et al.*, 2021).

- ***Toxoplasma gondii***

Ce parasite est un protozoaire intracellulaire du genre *Toxoplasma* qui provoque la toxoplasmose. Sa forme végétative (le tachyzoïte), de taille comprise entre 2 et 4 micromètres de long et entre 1 et 3 micromètres de large a une forme allongée, en croissant ou en banane. S'agissant de la forme infectieuse (le cyste) de *T. gondii*, elle est localisée dans les kystes tissulaires (de préférence dans le cerveau et les muscles), plus rond ou ovale que le tachyzoïte (Khan & Moretto, 2022; Matta et al., 2021). Il peut mesurer entre 10 et 100 micromètres. Ce parasite contient des rhoptries, organites spécialisés qui interviennent dans l'invasion cellulaire et des micronèmes qui secrètent des protéines indispensables pour l'adhésion aux cellules hôtes. Chaque parasite est entouré d'une membrane plasmique distincte qui assure sa protection contre le milieu extracellulaire. Son observation microscopique nécessite une coloration spécifique (par exemple, coloration Giemsa), pour l'identification des formes tachyzoïtes dans les frottis tissulaires ou sanguins (Moghaddami et al., 2024). En santé publique, surtout chez les personnes immunodéprimées, cet agent pathogène crée trop de dommages. Les poissons crus ou légèrement cuits, les viandes mal cuites, les fruits et légumes mal traités sont les principales sources en cas de toxi-infections d'origine alimentaire (Almeria & Dubey, 2021).

- ***Trichinella spiralis***

C'est un nématode parasite, agent causal de la trichinose, une infection humaine causée par la consommation de la viande contaminée. Les vers adultes mesurent souvent entre 1,5 et 4 millimètres de longueur et ont une forme cylindrique allongée avec une tête en forme de cône et une extrémité postérieure plus large. Les femelles productrices de larves vivantes après la fécondation, sont plus larges, atteignant jusqu'à 4 millimètres de long tandis que les mâles plus petits, possèdent des organes copulateurs à l'extrémité postérieure et mesurent entre 1 et 2 millimètres de long (Bai et al., 2023). Lorsque les larves infectieuses émergent dans l'intestin grêle après ingestion d'une viande contaminée, elles mesurent environ 0,1 à 0,2 millimètres. Les kystes se forment au niveau des muscles squelettiques après migration et enroulement des larves dans des capsules. Dans les muscles des hôtes comme ceux des porcs, les formes encapsulées des larves deviennent visibles sous forme de kystes microscopiques pouvant varier en taille (Gondek et al., 2025). Dans le muscle de l'hôte ou lors d'une biopsie musculaire, l'examen histopathologique ou diverses techniques de colorations spécifiques sont utilisés pour identifier *T. spiralis*. Les toxi-infections surviennent suite à la consommation des viandes peu ou non cuites (Gondek et al., 2021; Sun et al., 2024).

- ***Taenia spp***

Il appartient à la famille des cestodes (vers plats) incluant plusieurs espèces, dont les plus connues sont *Taenia saginata* (larve chez le bœuf) et *Taenia solium* (larve chez le porc). Ce parasite possède un corps long et plat avec des segments appelés proglottis. Il peut mesurer plusieurs mètres (par exemple,

*Taenia saginata* peut dépasser 10 mètres). La tête (scolex) est la partie antérieure qui se fixe sur la paroi intestinale de l'hôte. *T. saginata* dispose de quatre ventouses sans crochets alors que *T. solium* possède en plus de quatre ventouses un ensemble de crochets sur le scolex (Jansen et al., 2021). Pour être excrétés avec les selles, les proglottis gravides (contenant des œufs) se détachent de l'extrémité postérieure du corps. En général, les proglottis proches de l'arrière sont plus matures que ceux proches du scolex. Au microscope, les œufs de *Taenia* spp sont visibles et sont caractérisés par une coque épaisse, généralement ronds ovales avec un diamètre d'environ 30 à 40 micromètres, apparaissant souvent comme des structures non striées (Wilson et al., 2023). *T. saginata* a des proglottis plus larges que longs jusqu'à 14 branches dans son utérus et il n'y a pas de crochets sur le scolex tandis que *T. solium* a des crochets sur le scolex lui permettant une adhésion supplémentaire avec des proglottis présentant souvent des ramifications moindres que *T. saginata* et pouvant atteindre 7 à 12 branches dans son utérus (Bariselli et al., 2023). Sur le plan clinique, les teaniasis peuvent entraîner des gastro-entérites chez l'homme souvent asymptomatiques dans certains cas, d'où l'importance de leur identification lors des examens cliniques ou parasitologiques. Ces caractéristiques morphologiques rendent également facile leur diagnostic lors d'examens microscopiques après examen des selles ou biopsies tissulaires pour détecter leurs larves. La consommation de la viande de bœuf et de porc mal cuites constitue pour les deux espèces de *Taenia* spp et des œufs de *T. solium* la principale source de contamination pour l'homme (Byakya et al., 2022; Wu et al., 2021).

- **Levures et moisissures**

Ce sont des microorganismes présents dans plusieurs aliments. Certains sont bénéfiques et utilisés dans la transformation alimentaire, pendant que d'autres peuvent être néfastes pour la santé des consommateurs.

- **Levures**

Une levure est un champignon unicellulaire. Sa reproduction se fait par fission ou bourgeonnement formant des cellules sexuelles sans appareil fructifère à certains stades de la vie. Elles peuvent vivre en milieu acide avec un pH compris entre 4 et 5 (Gaur et al., 2019). En agroalimentaire elles ont une importance capitale en raison de leur forte utilisation lors de la transformation des aliments. En technologie alimentaire, *Saccharomyces cerevisiae* par exemple est utilisée pour la fermentation alcoolique (Banjara et al., 2016). Les levures sont utilisées en agroalimentaire pour la fabrication du pain, de la bière, du vin, pour la production d'alcool et aussi pour des applications en biotechnologie dans le domaine médical, pharmaceutique et environnemental (Johansen & Jespersen, 2017). Par contre, d'autres levures sont hautement pathogènes pour l'homme (*Candida albicans* par exemple) (Mnif & Ghribi, 2016). Les infections nosocomiales sont pour la plupart provoquées par les souches de *Candida* qui peuvent survenir après la consommation d'aliments ou de boissons contaminés (Nani et al., 2020).

- **Moisissures**

Les moisissures font partie des champignons microscopiques formant le groupe hyphomycètes composé de milliers d'espèces. Les moisissures sont caractérisées par de nombreux filaments minces et enchevêtrés. Le thalle ou mycélium pouvant être présenté diverses formes est toujours plongé dans le milieu nutritif (Dagnas, 2015). Les moisissures sont principalement réparties en plusieurs genres dont les plus connus sont *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Guan-Zhide et al., 2023). Ces différents genres de moisissures peuvent produire et excréter des mycotoxines dans l'air ambiant, le sol et les cultures qui peuvent être déposées sur certains substrats (arachides, produits céréaliers, café, raisin, céréales...) (Compaore et al., 2016). Les mycotoxines les plus souvent rencontrées dans les épidémies de toxi-infections d'origine alimentaire sont les aflatoxines et les ochratoxines (Guan-Zhide et al., 2023).

### 1.2.2. Maladies d'origine alimentaires

- **Définition**

Les maladies d'origine alimentaire sont des pathologies qui surviennent suite à la consommation d'un aliment contaminée par un microorganisme pathogène. Lorsque cela se produit chez au moins deux individus présentant la même symptomatologie, souvent gastro-intestinale, provoquée par la consommation du même aliment on parle de toxi-infections d'origine alimentaire collectives soumises à une déclaration obligatoire à l'exception du botulisme pour lequel l'alerte doit être donnée dès l'apparition du premier cas (Dubois-Brissonnet & Guillier, 2020).

#### 1.2.2.1. Différents types de TiA

Les Toxi-infections alimentaires (TIA) sont souvent classées en deux grandes catégories à savoir les maladies bactériennes infectieuses d'origine alimentaire et les intoxications. Le tableau 2 résume les principaux pathogènes qui provoquent les TiA.

- **Maladies bactériennes infectieuses d'origine alimentaire**

Elles sont provoquées par la consommation d'un aliment contaminé par des microorganismes pathogènes. Aussi appelées infections d'origine alimentaire, elles sont caractérisées par l'invasion de l'hôte et la dissémination des bactéries dans le système lymphatique et la circulation sanguine avec des symptômes qui peuvent se manifester sous forme gastro-intestinale avec des délais d'incubation parfois longs. Plusieurs facteurs influencent la pathogénicité d'une bactérie alimentaire à savoir : le pouvoir infectieux correspondant à la capacité de la bactérie à se développer dans le tube digestif et à sa colonisation, le pouvoir invasif qui traduit la capacité de l'agent pathogène à pénétrer dans les cellules épithéliales et, si possible, à se répandre dans les tissus adjacents et la capacité de résistance de la bactérie face aux défenses de l'hôte (Dubois-Brissonnet & Guillier, 2020).

## ▪ Intoxications

Les intoxications sont des maladies alimentaires provoquées par la consommation d'un aliment contenant une toxine microbienne préformée ou suite à la contamination des aliments par *Clostridium perfringens* ou par les souches diarrhéiques de *Bacillus cereus*. Elles sont dues à l'action d'une toxine caractérisée par une invasion ou non des cellules épithéliales pouvant provoquer des symptômes digestifs dans la plupart des cas avec un délai d'incubation relativement court suite à l'ingestion de l'aliment contaminé. Le pouvoir pathogène d'une toxine microbienne dépend de sa capacité à provoquer une maladie (Dubois-Brissonnet & Guillier, 2020). Les intoxications les plus souvent rencontrées sont causées par les toxines staphylococciques, botuliniques, de *C. perfringens*, aflatoxines et ochratoxines (Kiu et Hall, 2018 ; Latifou et al, 2019 ; Waker et al, 2020).

**Tableau 2:** Récapitulatif syndromique des maladies d'origine alimentaire et des TIAC.

Microorganisme	ou	Durée d'incubation	Symptômes	Aliments à risque
<b>toxine</b>				
<b><i>Escherichia shigatoxinogène</i> (STEC)</b>	<b><i>coli</i></b>	3 à 8 jours (moyenne 3 à 4 jours)	-colite hémorragique (diarrhée aqueuse suivie de diarrhée sanglante) -SHU : syndrome hémolytique et urémique (diarrhée sanglante, insuffisance rénale, décès)	lait cru, fromage à base de lait cru, légumes crus, Hachis de bœuf
<b><i>Escherichia entérotoxigène</i> (ETEC)</b>	<b><i>coli</i></b>	3 à 8 jours (moyenne 3 à 4 jours)	Diarrhée (éventuellement aqueuse et sanglante)	Viande et produits carnés, lait et produits laitiers, œufs
<b><i>Escherichia entérotoxigène</i> (EPEC), <i>Escherichia coli</i> entéro-agrégatif (EAEC)</b>	<b><i>coli</i></b>			
<b><i>Salmonella</i></b>		6-24 heures (rarement 48 heures)	Forte fièvre, Diarrhée, céphalée, crampes abdominales, nausées, vomissements	Œufs crus, Volailles, lait et produits laitiers viande porcine, chocolat
<b>Entérotoxines <i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b>de</b>	2-4 heures (moyenne 3 heures)	Nausées suivies de vomissements, chute de tension, douleurs abdominales, diarrhée	Charcuterie fine, Lait et produits laitiers, pâtisseries, crème

				glacée, viande, volaille, poisson, plats préparés
<b>Entérotoxines</b>	<b>de</b>	8-24 heures (gangrène gazeuse 1-4 jours)	Diarrhée, affection bénigne de courte durée	DAOA mal réfrigérées après cuisson, plat à base de viande crue
<b><i>Clostridium perfringens</i></b>				
<b>Neurotoxines</b>	<b>de</b>	6-36 heures (jusqu'à 10 jours parfois)	Vision double, vertiges, soif, constipation, difficultés de déglutition et de parole, paralysie, problèmes respiratoires, décès	Conserves « maison » mal stérilisées, poisson, charcuterie fine non traitée au nitrite, plat à base de viande non cuite.
<b><i>Clostridium botulinum</i></b>				
<b><i>Bacillus cereus</i></b>		1 à 5 heures (forme émétique, 10 à 12 heures (forme diarrhéique)	Nausée, Vomissements, diarrhées aqueuses, crampes abdominales	Riz, pâtes, fromage, végétaux et produits carnés
<b><i>Shigella</i></b>		1 à 7 jours, diarrhée aiguë peut survenir 1 à 2 jours	Diarrhées, vomissements fièvre	Aliments non ou peu cuits ou contaminés au cours de la préparation, eau contaminée
<b><i>Campylobacter thermotolerant</i></b>		2 à 5 jours (peut aller de 1 à 10 jours)	Douleurs abdominales, nausées, diarrhées aqueuses, vomissements et fièvre	Eau contaminée, lait volaille crue ou mal cuite
<b><i>Vibrio cholerae</i></b>		12 heures et 5 jours	Diarrhée hydrique profuse, déshydratation avec acidose et hypokaliémie	Eau contaminée, selles humaines
<b>Histamine</b>		Quelques minutes à quelques heures	Urticaire ou flush cutané	Boissons fermentées, fromages, saucisses, produits de la pêche
<b>Toxines thermostables</b>	<b>marines</b>	1 à 6 heures	Engourdissement des lèvres, de la langue, des mains et des pieds plus dysphagie	Mollusques bivalves

---

Sources (Bencheikh, 2010 ; Lupindu, 2018 Dubois-Brissonnet & Guillier, 2020)

### 1.2.2.2. Causes, mesure préventive et moyen de lutte contre les toxi-infections d'origine alimentaire collectives

#### ▪ Causes

Il existe une gamme très diversifiée d'agents pathogènes capables de contaminer les aliments et de causer des TIAC (tableau 1). Les animaux constituent le premier réservoir des microorganismes pathogènes (Ojo et *al.*, 2010 ; Manishimwe et *al.*, 2021; Hounkpe et *al.*, 2023). Le lait et les œufs peuvent être contaminés lors de leur collecte en raison de la présence d'agents pathogènes chez l'animal vivant (Dubois-Brissonnet & Guillier, 2020). Parmi les microorganismes qui contaminent les aliments on peut citer *Salmonella* souvent rencontré chez les porcins, les volailles, et les bovins, *Campylobacter jejuni* retrouvé chez le bétail, les volailles et oiseaux, *Yersinia enterocolitica* chez les porcins et bovins et les souches d'*Escherichia coli* (STEC) productrices de shigatoxines isolées des bovins et autres ruminants. La transmission des pathogènes aux aliments par des ingrédients contaminés est aussi à noter (Abong'o & Momba, 2008; Karama et *al.*, 2019; Lupindu et *al.*, 2014). On peut aussi rencontrer des maladies d'origine alimentaires causées par des parasites issus de la faune sauvage.

En dehors des animaux, l'homme peut également être une source de transmission des agents pathogènes. Cette transmission se fait dans plusieurs conditions. En effet, les porteurs sains ou asymptomatiques (les personnes contaminées mais ne développant pas la maladie) ainsi que les individus atteints de pathologies avec des symptômes et signes caractéristiques peuvent contaminer les aliments. Ainsi l'homme peut être vecteur de plusieurs agents pathogènes dont *Staphylococcus aureus* suite au portage nasal ou cutané, *Escherichia coli* pathogène et *Salmonella* Typhi (Dubois-Brissonnet & Guillier, 2020).

Au sein des industries agroalimentaires ou des cuisines de collectivité il est primordial de respecter l'hygiène basée sur la règle dite des « 5M » (cette règle stipulant que les dangers ont 5 origines possibles : matière première, main d'œuvre, milieu, matériel et méthode) pour éviter de transformer les ateliers de production en de véritables sources de contamination pour les produits alimentaires manipulés. Le non-respect de l'hygiène dans les ateliers de production peut favoriser le développement des microorganismes pathogènes tels que *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* etc...qui sont capables de s'ériger des habitats dans les ateliers de production sous forme végétative, de biofilms ou de spores (Jung & Skinner, 2017; Smith & Fazil, 2019). Il s'avère donc indispensable de veiller à l'hygiène des surfaces et de l'environnement de production des aliments pour éviter leur contamination par des agents pathogènes. Enfin, la lutte contre la contamination aéroportée et les nuisibles, à savoir les rongeurs et insectes, doit être de mise pour assurer les aliments de bonne qualité microbiologique pour les consommateurs.

L'environnement joue aussi un rôle important dans la transmission des microorganismes pathogènes. En effet, il a été démontré que l'eau et le sol peuvent héberger des agents pathogènes pendant de longues périodes, qui pourront infecter ensuite de nouveaux hôtes ou contaminer les denrées alimentaires à travers différentes voies de la chaîne de production des produits alimentaires (Houkpe et al, 2023). Dans l'eau et le sol se retrouvent les bactéries qui sporulent et celles qui se présentent sous forme de biofilms. La persistance et la dynamique des microorganismes pathogènes dans l'environnement peuvent être à un moment donné perturbées par les changements observés au niveau du climat (Fremaux, 1990; Hellberg & Chu, 2016). Aussi l'épandage du fumier sans traitement, la présence des animaux sauvages dans les champs, les eaux d'irrigation et de ruissellement provenant des fermes d'élevage constituent des causes de contamination des plantes avant la récolte (Dubois-Brissonnet & Guillier, 2020).

▪ **Mesure préventive et moyens de lutte**

Les maladies d'origine alimentaire ou les toxi-infections d'origine alimentaire collectives (TIAC) constituent de vrais problèmes de santé publique et doivent être prises en compte lors de la production des aliments dans les cuisines de collectivité ou dans les industries agroalimentaires. En raison des conséquences cliniques que ces pathologies peuvent provoquer et des conséquences économiques et juridiques majeures qui peuvent en découler, le respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication doit rigoureusement être d'application. Les mesures d'hygiène doivent être observées dans toute la chaîne de production en amont et en aval c'est-à-dire de la « fourche à la fourchette ».

En Europe, la prévention des maladies d'origine alimentaire et des TIAC est encadrée et régie par le règlement (CE) n° 178/2002. Ce règlement veille à assurer en matière d'hygiène une politique claire et commune en Europe qui peut être appliquée aux produits alimentaires et à tous ceux qui interviennent dans le domaine de l'agroalimentaire. A travers ce règlement, plusieurs moyens sûrs et efficaces sont créés pour la gestion de la sécurité des denrées alimentaires et toutes sortes de crises pouvant entraver la bonne marche dans la chaîne de production alimentaire. Ce règlement impose des principes aux acteurs de la chaîne de production alimentaire qui sont responsables des produits alimentaires qu'ils produisent et mettent sur le marché, et aux États-Membres à travers leurs autorités compétentes qui doivent suivre et veiller de façon rigoureuse à l'application et à la mise en œuvre de la législation européenne. La mise en œuvre de ce règlement fait appel au respect des bonnes pratiques d'hygiène, la gestion et la maîtrise des dangers et des points critiques dans la chaîne de production à l'aide du système HACCP. Selon ce règlement, aucun produit alimentaire ne doit être mis sur le marché si sa consommation est préjudiciable aux consommateurs. En effet, un aliment dangereux (présence des agents pathogènes, de leurs toxines ou des amines biogènes dans l'aliment) ne doit pas être sur le marché. Le règlement (CE) n° 178/2002 stipule que tout produit alimentaire mis sur le marché et dont la consommation est avérée dangereuse pour la santé des consommateurs doit être purement et simplement

retiré du circuit de distribution et un rappel systématique de tous les produits du même lot doit être réalisé. Pour s'assurer que tous les contours de la chaîne de production soient maîtrisés d'autres règlements ont vu le jour à savoir : les règlements (CE) n° 852, 853 et 627/2017 tous réunis dans un ensemble appelé « Paquet hygiène » qui décrit les règles générales que tous les opérateurs, y compris les exploitants agricoles (production primaire) doivent respecter à travers les étapes de transport, d'entreposage et de manipulation des matières premières récoltées dans les champs. Tous les principes des BPH et des BPF doivent être scrupuleusement respectés. Au niveau international, pour réglementer le secteur alimentaire, l'on se base sur le Codex Alimentarius. En effet, le Codex Alimentarius regroupe des normes, directives et codes pratiques qui visent à protéger la santé des consommateurs et d'assurer des pratiques équitables dans le commerce international des denrées alimentaires. Il est basé sur des normes alimentaires (différents types d'aliments), des directives sur l'hygiène alimentaire (contrôle microbiologique et chimique dans le processus alimentaire), des recommandations pour assurer le suivi en matière d'hygiène alimentaire tout au long de la chaîne alimentaire et l'évaluation des risques associés aux aliments. Il sert surtout de référence internationale dont les législations nationales s'inspirent pour établir des réglementations sur la sécurité des aliments.

En Afrique en général et au Bénin en particulier plusieurs structures du ministère de l'Agriculture de l'Elevage et de la Pêche (MAEP) s'investissent constamment pour assurer la sécurité alimentaire des consommateurs sous le contrôle vigilant des associations des consommateurs. Les structures du ministère qui interviennent dans la gestion de la sécurité des aliments à travers les contrôles et inspections réguliers sont l'Agence Béninoise de Sécurité Sanitaire des Aliments (ABSSA), les directions du MAEP avec l'aide des Directions Départementales de l'Agriculture, de l'Elevage et de la pêche (DDAEP). Les règles d'hygiène imposées lors des contrôles et inspections des produits alimentaires s'inspirent pour la plupart de celles exigées par le Codex Alimentarius et les règlements européens sur la sécurité des aliments.

### **1.3. Antibiotiques et mécanismes de résistance**

Les antibiotiques sont des produits pharmaceutiques utilisés pour traiter les toxi-infections alimentaires provoquées par des microorganismes pathogènes. Ils ciblent des processus biologiques spécifiques des pathogènes pour inhiber leur croissance ou pour les tuer. Cependant, l'utilisation non contrôlée et non maîtrisée de ceux-ci a engendré des mécanismes de résistance chez certains germes pathogènes.

#### **1.3.1. Définition des antibiotiques**

« Un antibiotique est une molécule ou substance naturelle produite par synthèse ou semi-synthèse chimique ou par le métabolisme d'un microorganisme vivant qui, administrée à faible concentration, peut inhiber ou détruire la multiplication d'autres microorganismes en agissant sur leurs mécanismes vitaux et non toxique pour l'hôte » (CASFM, 2013). Ainsi, en fonction de leur action sur

les agents bactériens on distingue deux catégories d'antibiotiques à savoir les bactériostatiques et les bactéricides (tableau 2).

L'efficacité d'un antibiotique est déterminée par sa capacité à :

- Attaquer sa cible par pénétration de la membrane externe, la membrane cytoplasmique ou la paroi des bactéries ;
- Persister à de faibles concentrations ;
- Reconnaître sa cible.

#### ▪ **Classifications des antibiotiques et mécanismes d'action**

Plusieurs critères permettent de classer les antibiotiques. Ils sont classés en fonction de leur origine, leur mode d'action, leur structure chimique,

#### ▪ **Origine des antibiotiques**

##### ➤ **Antibiotiques semi-synthétiques**

Ils sont dérivés des molécules naturelles et obtenus soit en modifiant la structure chimique de l'antibiotique obtenu naturellement soit en incorporant un précurseur au milieu de culture des microorganismes. Exemples : les dérivés de pénicilline, les céphalosporines (Dekkar et *al.*, 2022).

##### ➤ **Antibiotiques synthétiques**

Ce sont des antibiotiques produit chimiquement sans intervention des microorganismes. Exemples : les benzylpyrimidines, les quinolones (Voillot, 2018; Dekkar et *al.*, 2022).

##### ➤ **Antibiotiques naturels**

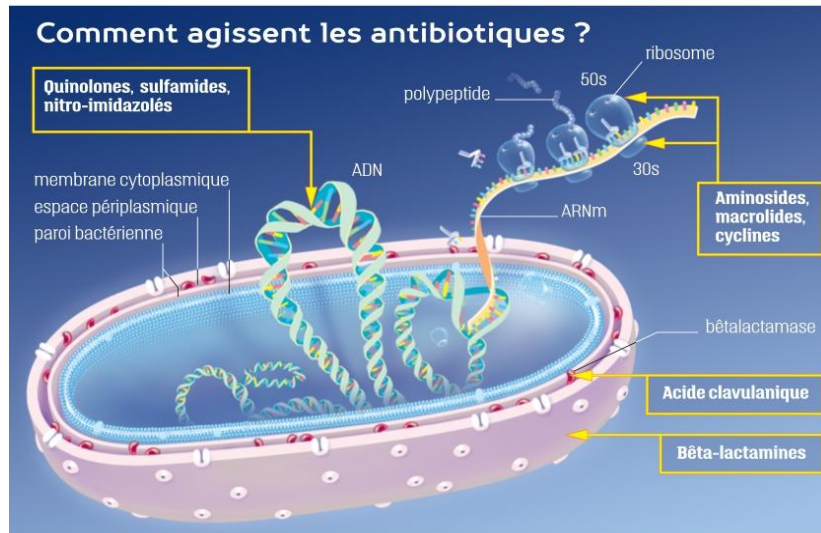
Ils sont présents naturellement dans certaines plantes et produits issus des animaux. Exemples : les huiles essentielles, l'ail, le miel, la gelée royale, la propolis et certains champignons (Voillot, 2018).

#### ▪ **Mode d'action des antibiotiques sur les bactéries**

Pour inhiber la croissance ou détruire les bactéries, les agents antibactériens interviennent à différents niveaux (figure 3) (Arpino et *al.*, 2018; Voillot, 2018).

- On distingue les antibiotiques qui agissent sur l'enveloppe bactérienne (la paroi, la membrane cytoplasmique des bactéries). Il s'agit des glycopeptides, les bêta-lactamines et la fosfomycine, les polymyxines et de la daptomycine.
- Il y a des antibiotiques qui attaquent l'appareil nucléaire (l'ADN et l'ARN). Cette catégorie comprend les fluoroquinolones, imidazolés et la rifampicine.

- Certains antibiotiques ciblent les ribosomes en agissant sur les sous-unités 50s et 30s et en interférant avec les facteurs d'élongation. Ils sont composés des macrolides et dérivés, les lincosamides, les streptogramines, les aminosides, les tétracyclines et l'acide fusidique.
- D'autres agents antibactériens interviennent sur le métabolisme de la bactérie en inhibant l'acide tétrahydrofolique. Il s'agit de l'association des sulfamides et du triméthoprim.
- Enfin, quelques antibiotiques agissent sur les mycobactéries en inhibant la synthèse de l'acide mycolique. On peut citer l'isoniazide.



**Figure 3 :** Principaux sites d'action des antibiotiques sur les bactéries (Arpino et *al.*, 2018)

#### ▪ Spectre d'activité des agents antibactériens

On appelle spectre d'activité les types de bactéries contre lesquelles un antibiotique peut agir avec efficacité. Ce paramètre est évalué en fonction :

- ✓ de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des bactéries;
- ✓ des données du devenir des antibiotiques dans l'organisme (données pharmacocinétiques) basées sur l'absorption de la molécule, la distribution dans l'organisme, l'élimination (biotransformation ou métabolisme) et l'excrétion qui garantissent que la concentration de la molécule atteinte dans le site d'action est supérieure à la CMI dans les microorganismes pathogènes agissant dans l'infection.

La CMI est influencée par :

- les données épidémiologiques de la résistance ;
- les conditions dans lesquelles les molécules sont administrées.

Ainsi on distingue deux types d'antibiotiques à savoir des antibiotiques à large spectre et des antibiotiques à spectre étroit.

➤ **Antibiotiques large spectre**

C'est un ou une association d'antibiotiques utilisé pour mettre fin ou inhiber les actions d'un large éventail de bactéries pathogènes pour le traitement d'un patient présentant un sepsis grave ou lorsque la pathologie est causée par une bactérie inconnue. Exemples : le chloramphénicol, les céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération.

➤ **Antibiotiques à spectre étroit**

C'est un antibiotique utilisé pour traiter une pathologie causée par une bactérie bien connue. Exemple : amoxicilline, les glycopeptides.

▪ **Activité bactérienne**

Les antibiotiques sont aussi classés suivant leur action sur les bactéries. En effet, on distingue deux types d'antibiotiques : les bactériostatiques et les bactéricides (tableau 2). Un antibiotique est dit bactériostatique lorsqu'il inhibe la croissance ou la multiplication. Il est bactéricide lorsqu'il tue la bactérie. Pour distinguer les deux types d'antibiotiques, on compare la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe totalement la croissance des bactéries et la CMB correspond à la concentration d'antibiotique la plus faible pour laquelle l'effet bactéricide voulu est de 99,9 % (soit maximum 0,01 % de survivants) dans les mêmes conditions de culture. L'effet bactériostatique d'un antibiotique est déterminé lorsque sa CMI est nettement supérieure à sa CMB à tel point que sa concentration au site d'infection n'arrive pas à atteindre la CMB. Quant à l'effet bactéricide, il est déterminé lorsque la valeur de la CMB est sensiblement égale à sa CMI.

**Tableau 3 :** Types d'actions des antibiotiques sur les bactéries

<b>Antibiotiques bactéricides</b>	<b>Antibiotiques bactériostatiques</b>
Fluoroquinolones	Sulfamides
Acide fusidique	Lincosamides
Bêta-lactamines	Nitrofuranes
Glycopeptides	Macrolides
Aminoglycosides	Phénicodés
Ansamycines	Tétracyclines

Source : (Dekkar et *al.*, 2022)

### 1.3.2. Définition de la résistance bactérienne

En médecine humaine ou vétérinaire, les antibiotiques sont abondamment utilisés pour le traitement de nombreuses maladies (Dognon et *al.*, 2018). Cependant le recours récurrent aux antibiotiques dans le traitement de la plupart des maladies infectieuses a conduit au développement de la résistance des bactéries posant de sérieux problèmes de santé publique notamment en médecine humaine. Une souche bactérienne est dite résistante lorsqu'elle se développe dans un milieu où la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique est plus élevée par rapport aux valeurs critiques définies qui prennent en considération les caractéristiques pharmacodynamiques et pharmacocinétiques de cet antibiotique ou lorsque la bactérie n'est pas tuée suite à un traitement antibiotique (Voillot, 2018; Dekkar et *al.*, 2022). On distingue deux types de résistance bactérienne dont la résistance naturelle et la résistance acquise.

#### ▪ Résistance naturelle

La résistance aux antibiotiques des bactéries est un phénomène naturel. Certaines bactéries en raison de leurs caractéristiques structurelles et fonctionnelles sont tolérantes ou insensibles à une molécule ou classe d'antibiotique. C'est l'exemple de *Klebsiella spp* qui détruit l'antibiotique (pénicilline A) à l'aide de l'enzyme bêta-lactamase qu'il produit naturellement avant son action sur la bactérie et de bacilles Gram négatif qui présentent une résistance naturelle aux antibiotiques hydrophobes (Necib & Brai, 2019). Cette tolérance ou insensibilité peut résulter de :

- de la molécule qui n'a pas accès à la bactérie ;
- du composé qui n'a pas l'affinité pour atteindre la cible de la bactérie ;
- de l'inactivation enzymatique de l'antibiotique ;
- de l'antibiotique expulsé par des pompes à efflux chromosomiques (Omama & Chifa, 2020).

#### ▪ Résistance acquise

Ce type de résistance est propre à certaines souches au sein d'une même espèce bactérienne donnée. Elle survient souvent après une modification du patrimoine génétique de la bactérie qui l'amène à tolérer une concentration plus élevée de la molécule d'un antibactérien. La résistance acquise est devenue un phénomène de grande ampleur en raison de l'utilisation généralisée des antibactériens qui a conduit à la sélection des souches résistantes (Voillot, 2018). On distingue deux types : la résistance acquise par modification du chromosome et la résistance acquise par la transposition de gènes.

- La résistance intrinsèque : il est le résultat des modifications du patrimoine génétique de la bactérie très aléatoire. L'antibiotique n'est pas responsable de ce phénomène rare, mais il indique la mutation de résistance par la sélection des microorganismes mutants résistants (Ibtissam & Benchercher Besema, 2021).

- La résistance acquise par transposition de gènes : elle peut être chromosomique par insertion de gènes ou plasmidique engendrée par la synthèse de protéines supplémentaires et n'a rien à avoir avec un changement des constituants normaux de la bactérie (Moumeni et *al.*, 2022).

Par ailleurs, la résistance bactérienne peut survenir à cause de certains mécanismes dont les mécanismes biochimiques (inactivation enzymatique de l'antibiotique, changement ou modification de la cible de l'antibactérien, perméabilité cellulaire réduite et efflux des antibiotiques) (Moumeni et Medjani, 2022).

- **Mécanismes de transfert des plasmides**

Un plasmide peut être transféré d'une bactérie à une autre par plusieurs mécanismes :

- ✓ Conjugaison

C'est le principal mode de transfert des plasmides. Une bactérie donatrice porte un plasmide conjugatif contenant les gènes pour former un pilus sexuel. Ce pilus se connecte à une bactérie réceptrice et un brin du plasmide est transféré, puis répliqué.

- ✓ Transformation

Une bactérie absorbe un plasmide libre présent dans son environnement. Ce phénomène se produit naturellement chez certaines bactéries (ex : *Streptococcus pneumoniae*), mais peut être induit en laboratoire.

- ✓ Transduction

Un bactériophage (virus infectant les bactéries) peut capturer accidentellement un fragment de plasmide et l'injecter dans une autre bactérie.

- ✓ Électroporation (en laboratoire)

Un choc électrique rend la membrane bactérienne perméable, permettant l'entrée du plasmide.

Ces mécanismes jouent un rôle clé dans l'évolution bactérienne, notamment pour la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques (Djermoun, 2023).

## 1.4. Généralités sur les huiles essentielles et les plantes aromatiques étudiées

### 1.4.1. Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des substances biologiquement actives sur la plupart des pathogènes et sont utilisées dans le secteur alimentaire pour leurs propriétés aromatiques, conservatrices et antimicrobiennes. Elles sont obtenues après extraction des composés volatils des plantes aromatiques.

Elles sont très riches en molécules chimiques diverses et possèdent une forte concentration en principes actifs.

#### ▪ **Définition et intérêt**

Les huiles essentielles sont des mélanges huileux ou extraits liquides aromatiques obtenus par distillation ou entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou par expression du péricarpe frais de certaines citrus, riches en composés volatils (Perricone et *al.*, 2015 ; Ju et *al.*, 2019 ; Pateiro et *al.*, 2021). Les huiles essentielles possèdent plusieurs propriétés et sont pour cette raison utilisées dans différents domaines.

- Dans les industries agroalimentaires pour la conservation des denrées alimentaires en empêchant la contamination et la croissance des microorganismes pathogènes dans les aliments et aussi pour assaisonner et aromatiser les préparations alimentaires ;
- En médecine, en raison de leurs propriétés antibactériennes, antifongique et antiseptique contre la majorité des pathogènes ;
- En pharmacie, les huiles essentielles sont utilisées dans la formulation et la composition de plusieurs molécules médicamenteuses favorisant ainsi le développement de l'aromathérapie ;
- Plusieurs composés des huiles essentielles entrent dans la production des parfums, des produits de beauté et de nettoyage tels les lotions, les déodorants domestiques, etc...pour leurs qualités olfactives, fixateurs (Pandey et *al.*, 2017; Yehouenou et *al.*, 2012)

#### ▪ **Extraction des huiles essentielles**

Pour extraire les huiles essentielles, plusieurs méthodes sont utilisées. Il s'agit de l'entraînement à la vapeur d'eau, de l'hydrodistillation, de l'expression à froid, de l'extraction par solvant, de l'extraction assistée par micro-ondes et de l'extraction par fluide à l'état supercritique (Boukhatem et *al.*, 2019). Les huiles essentielles utilisées dans la partie expérimentale de cette étude ont été extraites par hydrodistillation.

##### • **Extraction des huiles par hydrodistillation**

L'hydrodistillation est une méthode d'extraction des huiles essentielles consistant à mettre dans un ballon en verre contenant de l'eau une plante ou la matière à extraire et ensuite porter le tout à ébullition. Cette extraction se fait sous pression atmosphérique (Boukhatem et *al.*, 2019). L'huile essentielle est contenue dans la vapeur d'eau qui s'échappe. Le système d'hydrodistillation est composé d'un circuit réfrigérant qui sert de lieu de passage, de refroidissement et de condensation des vapeurs. Les vapeurs condensées conduisent à une phase organique caractéristique de l'huile essentielle. La dernière étape consiste à séparer l'hydrolysate par décantation en ajoutant du sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>) pour éliminer les traces d'eau afin d'obtenir l'huile essentielle (Boukhatem et *al.*, 2019).

### ▪ **Composition chimique des huiles essentielles**

Plusieurs facteurs influencent la composition des huiles essentielles. En effet, la composition des huiles essentielles dépend du stade de développement des plantes, des organes prélevés, de la période et de la zone géographique de récolte (Burt, 2004). Les composants chimiques des huiles essentielles sont généralement étudiés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) (Demars, 2022).

Une huile essentielle renferme plusieurs composés volatils complexes et différemment classés en chimie organique : les hydrocarbures (composés terpéniques comme le limonène), les phénols (le carvacrol), les cétones (le menthone), les alcools (le linalol), les esters (acétate de linalyle), les aldéhydes (cinnamaldéhyde) et les éthers (l'estragon) (Demars, 2022).

### ▪ **Mode d'action des huiles essentielles et de leurs principaux constituants**

Peu d'études ont montré le mécanisme d'action des huiles essentielles sur les microorganismes pathogènes (Sessou *et al.*, 2015). Les huiles essentielles ont la capacité d'agir sur plusieurs sites d'action de la cellule en raison de leur composition en molécules chimiques très diversifiées (Burt, 2004). Les molécules chimiques présentes dans les huiles essentielles sont hydrophobes. En effet, le caractère hydrophobe des composants des huiles essentielles facilite leur solubilisation dans les membranes provoquant ainsi une déstabilisation de la structure et suivie de l'augmentation de la perméabilité membranaire. La fuite des ions et des composés intracellulaires est occasionnée par ces différentes modifications. Il y a mort des cellules lorsque la perte de matériel est trop importante ou si les éléments du cytoplasme séparés de la cellule sont nécessaires à la survie de la bactérie (Boukhatem *et al.*, 2019).

L'efficacité de l'activité antibactérienne des huiles essentielles dépend principalement de leur composition en molécule chimique et surtout de la nature des composés volatils majoritaires qu'elles renferment (Sessou *et al.*, 2016). Le mécanisme d'action de plusieurs molécules antimicrobiennes est décrit dans la littérature (Yehouenou *et al.*, 2012).

- l'eugénol détruit la paroi bactérienne et inhibe la production des amylases, des ATP synthétases et des protéases ;
- le thymol et le carvacrol détruisent la paroi des bactéries Gram négatives en pénétrant dans la bicouche lipidique ce qui provoque une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmatique, une diminution du potentiel membranaire et de la production de l'ATP intracellulaire, de la force motrice et de la taille des bactéries ainsi qu'une production de toxine limitée ;

- le terpinène-4-ol provoque la perte du matériel cytoplasmique et la formation des invaginations de la membrane plasmique appelées en agissant sur la bactérie.

Les huiles essentielles n'ont pas seulement comme mécanisme d'action la destruction de la paroi bactérienne et de la membrane cytoplasmique. Elles sont aussi capables à travers leur mode d'action d'empêcher la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines (Imane et *al.*, 2020; Maurya et *al.*, 2021; Noudegbessi et *al.*, 2021). En plus des bactéries les huiles essentielles agissent sur la biomasse des levures, la production de pseudo mycéliums, en inhibant la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures (Alabi et *al.*, 2023).

#### 1.4.2. Généralités sur les plantes étudiées

- **Le laurier (*Pimenta racemosa* (Mill.) J. W. Moore)**



**Figure 4 :** *Pimenta racemosa* (Yehouenou et *al.*, 2012)

- **Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques**

- ✓ **Nom latin :** *Pimenta racemosa*
- ✓ **Famille botanique :** Myrtaceae
- ✓ **Synonyme :** *Pimenta acris* Kostel, *Syzygium racemosum* DC
- ✓ **Noms usuels :** bay run tree, « bois d'Inde » en Guadeloupe

C'est une plante qui peut atteindre jusqu'à 15 mètres de hauteur. Son écorce est lisse blanchâtre avec des feuilles elliptiques de longueur de 4 à 12 centimètres et de 2,5 à 8 centimètres de largeur (figure 4). Ses nervures sont saillantes dessus et dessous avec un tube floral cupuliforme, des pétales blancs et longs de 3 millimètres (Yehouenou et *al.*, 2012). Cette plante est d'une grande utilité en industrie agroalimentaire grâce à l'huile essentielle extraite de ses feuilles. Au Bénin, les feuilles de *Pimenta racemosa* communément appelées « laurier sauce » sont utilisées pour aromatiser les mets lors des préparations culinaires. En dehors de son utilisation en restauration, cette plante est aussi utilisée à des fins thérapeutiques en raison de ses diverses propriétés (Noudegbessi et *al.*, 2008 ; Biabany et *al.*, 2012).

En cosmétique cette espèce rentre dans la fabrication des shampoings, lotions, détergents et crèmes. Elle est aussi utilisée en parfumerie. Elle est prise sous forme de tisane préparée avec un morceau de son écorce pour le traitement de l'hypertension (Yehouenou et *al.*, 2012). Connue aussi sous le nom d'« Ozua » cette plante a aussi des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques. Ces feuilles en association avec celles d'*Ocimum basilicum* et de *Chenopodium ambrosoides* ou avec celles de *Pulchea symphitifolia* sont utilisées per os comme fébrifuges (Zaremski et *al.*, 2022).

- **Composition chimique et activités antibactériennes**

- **Composition chimique**

Trois principales variétés de *Pimenta racemosa* ont été décrites en Guadeloupe : la variété « girofle » ayant pour composés majoritaires l'eugénol, la variété « anisée » composé majoritairement d'estragole et de méthyl eugénol, et enfin la variété « lemon » caractérisée par un taux élevé de citral (70 %). Des études effectuées au Bénin ont montré que l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* est dominée par l'eugénol (52,7 %), le mycène (26,6 %) et le chavicol (6,3 %) (Noudogbessi et *al.*, 2008). D'autres chercheurs ont caractérisé les huiles essentielles de différentes Myrtacées de Cuba spécialement celles de *Pimenta racemosa var. racemosa* et ont trouvé comme composant majoritaire le terpinen-4-ol (20,7 %), le 1,8-cinéole (20,4 %) mais avec une importante présence d'eugénol (10,7 %) et d' $\alpha$ -terpinéol (10,0 %) (Bilel et *al.*, 2015). Dans leur étude portant sur la composition chimique des huiles essentielles de deux variétés de *Pimenta racemosa* rencontrées en République Dominicaine : *Pimenta racemosa var. terebinthia* et *Pimenta racemosa var. grisea*. Garcia et *al.* (2002) ont montré que la variété *terebinthia* était composée de 27 % d'acétate de terpinyl, 20 % d'alpha-terpinéol et 12,6 % de 4-méthoxy eugénol (4,5 %) (da Costa et *al.*, 2020).

L'huile essentielle de *Pimenta racemosa* (bay) est composée de 42 à 56 % d'eugénol, 8 à 13 % de chavicol et de 20 à 30 % de Mycènes selon la norme internationale ISO/FDIS 3045 (AFNOR, 2000).

- **Activités antibactériennes**

L'huile essentielle de *Pimenta racemosa* est réputée pour ses nombreuses propriétés antimicrobiennes. Plusieurs études ont montré le pouvoir antimicrobien de cette huile. En effet, dans leur étude (Kim et *al.*, 2010) ont montré que l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* a une activité antifongique sur des champignons pathogènes. La capacité de l'huile essentielle de *Pimenta racemosa var. grisea* à empêcher le développement ou la croissance de plusieurs microorganismes pathogènes Gram négatifs ou Gram positifs grâce à ses composants majoritaires (eugénol à plus ou moins 60 %) ainsi qu'une forte activité antifongique par contact ou par méthode « micro-atmosphère » qui utilise la phase « vapeur » de l'huile essentielle ont été mises en évidence (Burt, 2004; Alitonou et *al.*, 2012). L'huile de *Pimenta racemosa* est plus efficace sur les souches de champignons telles que *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Absidia corymbifera*, *Penicillium verrocosum* et *Cladosporium*

*cladosporiodes* comparé aux bactéries dont *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Mycrobacterium smegmatis* sur lesquelles elle a une activité bactériostatique. Des études effectuées sur les souches bactériennes et fongiques isolées des denrées alimentaires ont montré que cette huile a une puissante activité antibactérienne et antifongique sur ces pathogènes et altérants (Alitonou et al., 2012 ; Yehouenou et al., 2012 Sessou et al., 2015).

▪ **Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.)**



**Figure 5 :** *Syzygium aromaticum* (Goetz, 2021)

• **Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques**

- ✓ **Nom latin :** *Syzygium aromaticum*
- ✓ **Famille botanique :** Myrtaceae
- ✓ **Synonyme :** *Eugenia caryophyllata* L. Merr et Perry
- ✓ **Nom usuel :** Clou de girofle

*Syzygium aromaticum* est un arbre dont l'origine géographique précise n'est pas connue : elle semble être originaire de climats chauds et humides de l'Asie tropicale. Il peut donc être localisé dans les îles de Penande et Ceylan (Yehouenou et al., 2012). Les bourgeons de cette plante (figure 5) sont très riches en huile essentielle souvent utilisées dans la production des produits cosmétiques, des savons, des pâtes dentifrices, des produits dentaires et pour lutter contre les insectes. Elle possède des propriétés antibactériennes, antifongiques et cytotoxiques (Sessou et al., 2015 ; Asma, 2023). Cette huile est reconnue très efficace contre les souches fongiques et bactériennes (Fadhila, 2017). Elle possède aussi des propriétés antimutagène, antiseptique, anticarcinogène, antipasmodique, analgésique, antiallergiques, anesthésique, antiémétique (Yehouenou et al., 2012).

- **Composition chimique et activités antibactériennes**
- **Composition chimique**

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* est riche en composés chimiques (eugénol 75 – 85 %) qui lui confèrent des propriétés thérapeutiques inégalées. En effet, cette huile possède de fortes propriétés antibactériennes (Barour & Derguini, 2022). Elle est composée d'acétate d'eugénol (8 – 15 %) (Khemaissia & Benchikh 2022). Au Bénin des études ont montré que l'huile essentielle du clou de girofle a pour composés majoritaires l'eugénol (Sessou et al., 2013).

- **Activités antibactériennes**

Des études sur les propriétés biologiques de l'huile essentielle du *Syzygium aromaticum* ont montré qu'elle possède une puissante activité antimicrobienne sur un grand nombre de pathogènes isolés d'essais cliniques chez les hommes, des animaux et des produits alimentaires tels que *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* (Sessou et al., 2015 ; Haddadi & Rabhi, 2022). Cette huile possède aussi des propriétés fongicides sur des altérants isolés des aliments (Asma, 2023). Elle inhibe aussi la croissance d'*Aspergillus niger* (Haouarit et al., 2020).

- **L'ail (*Allium sativum* L.)**



**Figure 6 :** *Allium sativum* (Sasidharan & Menon, 2010)

- **Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques**
  - ✓ **Nom latin :** *Allium sativum*
  - ✓ **Famille botanique :** *Aliaceae* ou *Liliaceae*
  - ✓ **Nom usuel :** Ail

Plante originaire d'Asie centrale, *Allium sativum*, appelé de son nom commun « ail », s'est répandue en Egypte, en Arabie Saoudite et dans le bassin méditerranéen. Cette plante est cultivée à des

fins alimentaires et pour la santé (Bekkara et al., 2007). C'est une épice très souvent utilisée en cuisine lors de la préparation des aliments pour son arôme (figure 6). L'ail est surtout utilisé sous plusieurs formes à savoir : les bulbes frais, séchés ou en poudre. Cette épice est utilisée pour aromatiser les plats cuisinés. Par ailleurs, l'ail est une plante très prisée pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques (Bacar, 2014). En effet, *Allium sativum* possède des propriétés anti-inflammatoire, antimicrobienne, anti-spasmodique, antitumorale, antioxydante, anticoagulant.

En agriculture, l'huile essentielle de l'*Allium sativum* rentre dans la composition de plusieurs insecticides en raison de ses caractéristiques de produit naturel, non toxique, biodégradable, très soluble dans l'eau et écologique. Il est aussi utilisé en combinaison avec l'extrait d'autres plantes comme pesticide naturel pour lutter contre les maladies des plantes et les insectes (Boukeria, 2016).

En pharmacie son huile essentielle est utilisée dans la fabrication des produits pour lutter contre l'hypercholestérolémie, pour prévenir le risque d'apparition de l'athérosclérose et de la thrombose et pour réduire le taux de lipides dans le sang. Le vinaigre d'ail est utilisé comme un remède pour le traitement de certaines affections bactériennes (Batah Safa Saaidia Meryem, 2016).

- **Composition chimique et activités antibactériennes**
- **Composition chimique**

La caractérisation chimique de l'huile essentielle de l'*Allium sativum* a révélé que les composés majoritaires tels que allylmethyltrisulfide (26,5 %), diallyldisulfide (21,2 %), diallyltrisulfide (19,6 %), allylmethyldisulfide (18,9 %) et diméthylle trisulfide ((7,5 %) étaient présents comme molécules chimiques très volatiles (Moumene et al., 2016a). D'autres études ont montré la présence des composés tels que : l'alliine ou sulfoxyde de S-allyl-L-(+)-cystéine, le S-(E)-1-propenyl cystéine sulfoxyde et le S-methyl-cysteinesulfoxyde. Il s'agit principalement des composés issus du métabolisme secondaire de l'*Allium sativum* (Boukeria, 2016). En plus de ces composés, l'ail peut aussi renfermer des composants tels que : l'allicine, l'ajoène et des substances stéroïdes dont les saponines (Bacar, 2014). La dégradation de l'ail sous l'action de l'enzyme tel que l'alliinase (S-alkyl-L-cystéine sulfoxyde lyase) aboutit à des composés comme l'acide pyruvique et l'acide 2-propène sulfénique ou l'allicine après transformation pour devenir un diallyl thiosulfinate accompagné d'autres thiosulfates tels que : methane thiosulfates, allyl méthane thiosulfates, propyl propane thiosulfates qui, de façon globale, leur confèrent différentes propriétés biologiques surtout antibactériennes (Boukeria, 2016).

- **Activités antibactériennes**

L'*Allium sativum* est une plante très connue pour ses propriétés biologiques très puissantes sur une gamme très variée de microorganismes pathogènes (Sasidharan & Menon, 2010). Dans les essais cliniques, l'ail est utilisé sous plusieurs formes à savoir en poudre ou par ajout direct de son huile essentielle. L'huile essentielle de l'*Allium sativum* utilisée dans des essais cliniques a montré une activité

bactéricide contre deux souches microbiennes en l'occurrence *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* mais pas très efficace contre *Pseudomonas aeruginosa*. Toutes les souches testées étaient responsables d'infections nosocomiales (Moumene et al., 2016). D'autres chercheurs ont étudié les propriétés biologiques de cette huile et ont montré qu'en plus de ces propriétés antibactériennes, elle possédait aussi des propriétés antifongiques sur certaines souches dont *Candida albicans* par exemple (Belaloui Djilia, 2022). L'huile exerce une activité inhibitrice envers plusieurs souches bactériennes isolées des produits alimentaires, chez les hommes et les animaux. Il s'agit de *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Erwinia carotovora*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus*, *Salmonella* Enteritidis, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'*Allium sativum* est rendue possible grâce à l'alicine, l'un des principes actifs de l'ail qui agit en provoquant le changement du profil des lipides de la membrane de la cellule bactérienne (Sasidharan & Menon, 2010). Il a été montré aussi que l'huile essentielle de l'ail est utilisée pour lutter contre les souches d'entérocoques et d'autres bactéries pathogènes du tractus intestinal qui provoquent des diarrhées autant chez l'homme que chez les animaux (Boukeria, 2016).

- **Le Gingembre (*Zingiber officinale*)**



**Figure 7 :** *Zingiber officinale* var *Roscoe* (Radice et al., 2022)

- **Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques**
  - ✓ **Nom latin :** *Zingiber officinale*
  - ✓ **Famille botanique :** *Zingiberaceae*
  - ✓ **Synonyme :** *Zingiber officinalis* var. *Roscoe*
  - ✓ **Nom usuel :** Gingembre

De la famille des *Zingiberaceae*, *Zingiber officinale* est une plante herbacée souvent rencontrée dans les régions tropicales et subtropicales dont les rhizomes sont largement consommés sous diverses formes (Sakhraoui, 2021). Trois variétés sont principalement rencontrées à savoir : *Zingiber officinale*

*var. Roscoe* (le gingembre), *Zingiber officinale var. Amarum* (le petit gingembre) et *Zingiber officinale var. Rubrum* (le gingembre rouge). *Zingiber officinale var. Roscoe* est une plante médicinale utilisée empiriquement pour traiter plusieurs pathologies telles que la fièvre, les infections, les indigestions, les maux de gorge, les helminthoses, les rhumatismes... dans plusieurs régions du monde dont l'Amérique centrale et du Sud, l'Afrique et l'Asie (figure 7) (Bayala, 2014; Demars, 2022). Cette plante est aussi utilisée en cuisine comme condiment lors de la préparation des aliments pour aromatiser les plats cuisinés. L'huile essentielle de *Zingiber officinale* est utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoire, antalgique, cicatrisante des muqueuses digestives, diurétique, antiémétique, anti-catarrhale, expectorante, aphrodisiaque, antispasmodique, laxative, carminative, stomachique, tonique du système digestif, apéritive, antifongique et antibactérienne (Demars, 2022).

- **Composition chimique et activités antibactériennes**
- **Composition chimique**

La caractérisation chimique de l'huile essentielle de *Zingiber officinale* par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a révélé la présence de l' $\alpha$ -curcumène (59 %) comme composé majoritaire ; le  $\beta$ -myrcène (14 %), le 1,8-cinéole (8 %), le citral (7,5 %) et le zingibérène (7,5 %) comme composés minoritaires (López et al., 2017). D'autres chercheurs ont montré que cette huile renferme aussi les composés tels que : l' $\alpha$ -zingibérène (61%) comme composé majoritaire ;  $\beta$ -sesquiphellandrène (16 %), l' $\alpha$ -curcumène (12 %), le géraniol ou citral (9 %), l'E- $\alpha$ -farnésène (7 %), le cis-carveol (6 %), le camphène (6 %), le  $\beta$ -bisabolène (5 %), le  $\beta$ -phellandrène (4 %) comme des composants minoritaires (Demars, 2022).

- **Activités antibactériennes**

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Zingiber officinale* a été évaluée par plusieurs chercheurs. En effet, une étude réalisée sur cette huile a montré qu'elle est composée de molécules chimiques très actives sur plusieurs bactéries dont *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (Sharma et al., 2016). D'autres chercheurs ont aussi montré dans leur étude basée sur la méthode de diffusion sur disque que l'huile essentielle de *Zingiber officinale* possédait des propriétés antibactériennes contre les souches de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Streptococcus mutans* (Bellik, 2014; Yamamoto-Ribeiro et al., 2013). Les mêmes auteurs ont, entre autres, montré que cette huile possédait aussi des propriétés antifongiques. A cet effet, plusieurs souches fongiques telles que : *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Candida krusei*, *Fusarium verticillioides* étaient très sensibles à l'huile essentielle de *Zingiber officinale*. Par contre cette huile n'a pas été très efficace contre des souches de *Bacillus cereus*. Certaines souches de *Penicillium spp* étaient plus sensibles comparé aux souches d'*Aspergillus niger* (Bellik, 2014; Yamamoto-Ribeiro et al., 2013). Par ailleurs, Demars (2022), dans son étude sur l'évaluation des activités antimicrobiennes de l'huile

essentielle de *Zingiber officinale*, a montré que cette huile était très efficace contre la croissance des souches de *Listeria monocytogenes* et de *Salmonella* Typhimurium isolées des denrées alimentaires.

## **Chapitre 2 : OBJECTIFS ET METHODOLOGIE DE LA THESE**

L'objectif général de cette thèse est de caractériser les microorganismes qui contaminent les aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire dans le département du Mono (Bénin) et la prospection d'une lutte biologique. Les objectifs spécifiques découlant de cet objectif général sont :

- identifier les aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire et les conditions d'hygiène dans lesquelles ils sont produits ;
- caractériser les microorganismes isolés des aliments d'origine animale et des écouvillons de faces palmaires des opératrices ;
- déterminer les gènes de virulence et la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments et des écouvillons de faces palmaires des opératrices ;
- évaluer l'effet antimicrobien des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur les souches d'*Escherichia coli* antibiorésistantes.

## **Méthodologie**

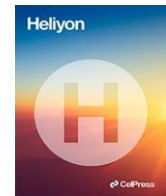
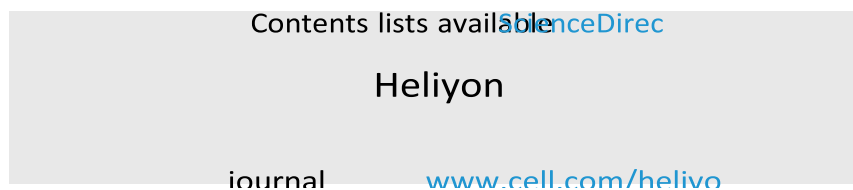
Pour mieux conduire les travaux de recherche inscrits dans cette thèse, une approche méthodologique a été adoptée. Les premiers travaux ont été consacrés à la réalisation d'une enquête auprès des opératrices de cuisine et vendeuses d'aliments dans les écoles pour identifier les aliments d'origine animale vendus aux écoliers, les conditions d'hygiène dans lesquelles ces aliments sont produits et aussi apprécier la connaissance des opératrices en matière de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication à l'aide d'un questionnaire créé sur la plateforme de collecte de données en ligne « Epicolect5 ». La deuxième étude a consisté à collecter des échantillons d'aliments et surfaces (face palmaire des opératrices de cuisine ou vendeuses d'aliments) afin d'évaluer leur qualité microbiologique et le risque qu'ils représentent pour la santé des consommateurs. Pour évaluer la qualité microbiologique, 140 échantillons dont 100 échantillons d'aliments d'origine animale et 40 écouvillons ont été collectés pour des analyses au laboratoire. Des colonies de microorganismes isolées, ont été par la suite caractérisées sur le plan moléculaire et identifiées par séquençage à l'aide de la méthode de Sanger. Dans un troisième temps la virulence des souches d'*Escherichia coli* ainsi que leur résistance aux antibiotiques ont été étudiées. La dernière étape de cette étude a consisté à évaluer les propriétés antibactériennes des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques (des épices) sur les souches d'*Escherichia coli* isolées dans notre étude. D'abord, les huiles ont été caractérisées par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) et par la chromatographie en phase gazeuse couplée au détecteur à ionisation de flamme (GC/FID) pour déterminer leur composition chimique et identifier les molécules chimiques majoritaires qu'elles renfermaient. L'activité antibactérienne des huiles ont été ensuite étudiées sur les souches d'*Escherichia coli* résistantes aux antibiotiques par le système Bioscreen C pour la détermination des CMI (concentration minimale inhibitrice) et des CMB (concentration minimale bactéricide) permettant de juger de l'efficacité des huiles.

## **Chapitre 3 : PARTIE EXPERIMENTALE**

**Etude 1 : PRATIQUES D’HYGIENE DES OPERATRICES DES ALIMENTS D’ORIGINE ANIMALE VENDUS EN MILIEU SCOLAIRE DANS LE DEPARTEMENT DU MONO. UNE ETUDE TRANSVERSALE.**

Eustache Codjo Hounkpè, Philippe Sessou, Souaïbou Farougou, Ignace Dotché, Georges Daube, Véronique Delcenserie, Paulin Azokpota, Nicolas Korsak

Soumis et publié dans Heliyon, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17135>



Hygiene practices of food of animal origin operators in primary schools in the Mono Department of Benin. A cross-sectional study

Eustache C. Hounkpe <sup>a,b,\*</sup>, Philippe Sessou <sup>a</sup>, Souaïbou Farougou <sup>a</sup>, Ignace Dotche <sup>c</sup>, Georges Daube <sup>b</sup>, V'eronique Delcenserie <sup>b</sup>, Paulin Azokpota <sup>d</sup>, Nicolas Korsak <sup>b</sup>

<sup>a</sup> *Communicable Diseases Research Unit, Applied Biology Research Laboratory, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi,*

*01 .O Box 2009 Cotonou, Benin*

<sup>b</sup> *Department of Food Science, Faculty of Veterinary Medicine, FARAH-Veterinary Public Health, University of Liege, Quartier Vall'ee 2, 10 Avenue of Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liege, Belgium*

<sup>c</sup> *Laboratory of Animal Biotechnology and Meat Technology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01 P.O Box 2009 Cotonou, Benin*

<sup>d</sup> *School of Nutrition, Food Sciences, And Technology, Faculty of Agronomic Sciences, University of Abomey-Calavi, 03 P.O Box 2819, Cotonou, Benin*

ARTICLE INFO

*Keywords:*  
Food of animal origin  
Good hygiene and production practices  
Survey  
Food safety

ABSTRACT

Food of animal origin is an important source of proteins for human beings. However, they are subject to microbial contamination. It is essential to ensure the safety of food products intended for school children regarding their vulnerability to food poisoning. Good sanitary quality of these products requires the respect of good practices during their processing and distribution.

This study aims to evaluate the conditions of processing and sale of food of animal origin to school children in public schools, with or without canteens, in the Department of Mono in southern Benin.

In the Department of Mono in the Republic of Benin, 137 operators were interviewed in public schools, with one operator per school, using a questionnaire created on the Epicollect5 platform. The interview showed that the operators involved in the processing and sale of food to school children were women. Most of these operators had primary education and did not undergo a medical examination. They transported food of animal origin mixed with other types of food. Frying and cooking were used to prepare or process the food. Direct observation revealed that food is produced in an unhealthy environment. The operators did not wear gloves during food processing but some wore aprons. All the operators washed their hands with soap and water (tap or well water) after using the toilet. There was

---

not an adequate handwashing facility. The majority of operators used wooden cutting boards. Overall, food operators especially in schools without a canteen do not follow good hygiene and manufacturing practices in the kitchen. To guarantee food safety for school children, training should be organized to make operators aware of good hygiene and manufacturing practices in kitchens.

---

\* Corresponding author. Department of Food Science, Faculty of Veterinary Medicine, FARAH-Veterinary Public Health, University of Liege, Quartier Vall'ée 2, 10 Avenue of Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liege, Belgium. *E-mail address:* [cehounkpe@uliege.be](mailto:cehounkpe@uliege.be) (E.C. Hounkpe).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17135>

Received 6 July 2022; Received in revised form 3 June 2023; Accepted 8 June 2023

Available online 14 June 2023

2405-8440/©2023 Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introduction

Nowadays, street food takes a very important dimension due to the rapid urbanization of cities, its low cost, and the economic difficulties faced by consumers consisting of school children, pupils, students, and employees [1]. The operators involved in the processing and sale of street food are often the same ones who sold the food to school children. Street foods are known by the population because they are cheap, convenient, and attractive [2]. They are defined as “*food and beverages prepared and/or sold by vendors in the streets and other public places for immediate or further consumption without further processing or preparation*” [3]. This sector is defined by the FAO as “*the sector producing food and beverages ready for consumption, prepared and/or sold by vendors, especially in streets and other sanitary public places*” [4]. The food sold appears to be a real source of income as it allows many households to meet daily expenses for necessities [5]. However, the consumption of food of animal origin poses real health risks to consumers due to the lack of quality control of the food sold, the production environment, and the lack of hygiene at the level of food operators [5]. Therefore, foodborne diseases are increasingly recurrent and constitute real public health problems worldwide [6]. Food safety is a global concern with significant implications for human health [7]. For example, the World Health Organization estimates that at least 600 million people worldwide are subjected to illnesses caused by unsafe food each year [8]. At the African level, it is estimated that 91 million of the population are confronted with foodborne diseases among which 425 000 including 125 000 children die every year [9]. Indeed, in most cities in Asia, Africa, and Latin America, more and more people are choosing street food for their daily diet [5]. Thus, there is an increase in meal consumption in restaurants, snack bars, street food shops, and schools [10]. Among the prepared food, we distinguish those of animal origin. Food of animal origin is all products derived from an animal including honey and blood intended for human consumption [11]. Also are included in this category, bivalve mollusks, echinoderms, tunicates, marine gastropods intended for human consumption, and other animals intended to be prepared for

supply to the final consumer. On the other hand, the observed inappropriate and poor conditions under which food of animal origin is produced and sold are of great concern to food safety agencies [12]. Indeed, this category of food because of its richness in protein, under the action of microorganisms can therefore be altered if its produced and sold under conditions where its growth is not perfectly controlled and inhibited (. Foodborne diseases caused by the food of animal origin are due to more than 200 agents, including bacteria, viruses, parasites, and even unconventional agents [13,14]. There are many routes of foodborne disease transmission such as water, person-to-person, direct contact with animals, or other routes following cross-contamination [15]. This type of contamination can occur during the handling of food of animal origin by catering staff or operators through contact with prepared or unprepared food, ready-to-eat dishes, or when they come into contact with dirty work surfaces or utensils in production centers, which represent important factors associated with foodborne outbreaks [16]. Controlling the conditions and environment of production and sale of food of animal origin is fundamental, as inadequate hygiene practices of handlers can lead to their contamination. In Benin especially in nurseries, hospitals, and schools, poor practices are observed during the production and sale of food. These are justified by several factors such as the lack of hygiene, the unavailability of potable water, and the unsanitary conditions of the sale environment. Also, the promiscuity with the garbage dumps or waste evacuation sewers is a concern for the state services and civil society organizations in charge of protecting the health of the populations. To guarantee maximum food safety and quality for the consumer, compliance with sanitary rules by food operators must be strictly regulated and subject to frequent controls, particularly for microbiological risks, and sources of foodborne poisoning.

The purpose of this study is to evaluate the hygiene, production, and sale conditions of food of animal origin in primary schools in the Department of Mono.

To our knowledge, no such study has been conducted in the Mono department. This study was carried out to contribute to the production of scientific data on which the central government could base its decisions on school food quality control.

## Material and methods

### Area of study

This study was conducted in the public primary schools in the Mono Department. The Department of Mono is one of the twelve entities of the administrative division of the Republic of Benin. With an area of 3800 km<sup>2</sup>, it is located in the southwest of the national territory between 6° 7' N and 1° 2' E. It is bordered to the northwest by the Department of Couffo, to the northeast by the Department of Zou, to the south by the Atlantic Ocean, to the east by the Department of Atlantic, and to the west by the Republic of Togo. It is a Department with six municipalities, namely Athieme, Bopa, Come, Grand-Popo, Houeyogbe, and Lokossa. Its municipalities are subdivided into 35 districts and 276 villages [17]. The size of the population in this county is 590 413 of which 301 673 are female and 288 740 are male. The size of the school-age population (primary level) is 152 410.

### Methods

#### Operational definition of some terms

**Public primary school with canteen (n=33):** In abbreviation PS + C, is the set of schools of the elementary course owned by the government where the pupils are fed free of charge at the expense of the government.

**Public primary school without canteen (n=100):** In abbreviation PS-C, is the set of schools of elementary course owned by the government where school children buy food from food operators.

**Private school (n=4):** abbreviated as PRS, is the set of privately owned schools approved by the central government where school children buy food from food operators. This type of school is not included in the study, but we surveyed a small number to serve as a basis for comparison.

**Operators:** This term refers to the women who prepared or sold food for school children in the canteen or not. All the visited schools are mapped in Fig. 1.

### Sampling

Before sampling, a few criteria (inclusion or exclusion) were defined:

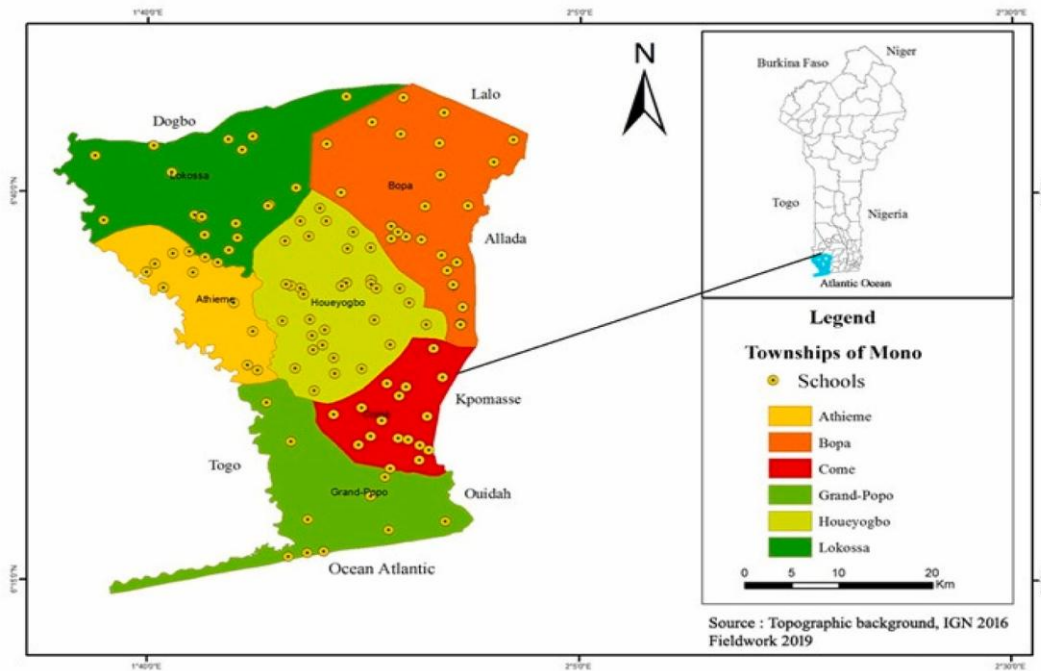
**Inclusion criteria:** any elementary school in the Mono Department with or without a canteen was included in the study sample, as well as women who are allowed to sell food to school children.

**Exclusion criteria:** schools that are not located in the Mono Department, women who sell other kinds of food than prepared food.

For sampling, the method described by Ref. [18] was used. A sampling plan was defined. A simple random sample was taken. There were 486 public schools in the entire Department, based on data obtained from the Departmental Directorate of Nursery and Primary Education. The 486 schools were divided into 159 schools with canteens and 327 schools without canteens. A minimal coefficient of 1/5 was applied to the number of schools in the department. The same coefficient was applied to the number of schools in each municipality to determine the minimum number of schools to survey and the number of schools in the two types of public schools (Table 1). For the survey, one operator was chosen per school because there was at most one operator preparing food of animal origin in each school. The schools were selected at random using the random number table. Schools were surveyed based on the total number of schools in each municipality.

### Data collection

Two different ways were used to collect data such as direct observation (especially hygiene practices) and interview based on a questionnaire created on an online data collection platform "Epicollect 5". It was a semi-open questionnaire. The questionnaire is subdivided into four main parts, including characteristics of food operators and school operators; food of animal origin; conditions of transport, production, and conservation of raw materials or prepared food; and hygiene of staff, the environment, and production equipment all divided into sub-parts composed of questions. It was addressed to the respondents in the form of an interview. The socio-demographic data of the operators were collected as well as those related to the food prepared and sold, their sources of supply, good hygiene, and manufacturing practices. The interviews with the respondents focused mainly on the staff involved in the production and sale of food, the production environment, the raw materials and methods used, and the quality of the utensils used for the production and sale of food.



**Fig. 1.** Map of the study area, yellow dots represent all schools surveyed during fieldwork. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

**Table 1**

Sampling of schools surveyed.

Variables	PS+C		PS-C	
	Total in municipalities	Sample surveyed	Total in municipalities	Sample surveyed
Athieme	29	6	37	12
Bopa	40	8	68	22
Come	20	4	80	23
Grand-popo	19	4	53	14
Houeyogbe	28	6	63	20
Lokossa	23	5	26	9
Total	159	33	327	100

Legend: PS + C: public school with canteen; PS-C: public school without a canteen.

### Ethical statement

This study received approval from the ethics committee of the University of Abomey-Calavi of the Republic of Benin before the research was conducted. During the survey, respondents voluntarily gave their informed consent before beginning the interview. Participants were assured that the data would be collected anonymously and would only be used for the purposes of the study. They were under no obligation to participate in the survey. Participation in the survey was voluntary and free. They had the freedom to stop the interview at any time.

### Statistical analyses

An analysis of variance was performed by the Proc GLM procedure of SAS for quantitative variables. The only variation factor considered in the analysis of the variance model was the school type effect. Fisher's F-test was used to determine the significance of the school type effect and comparisons between the means of each variable by school type were performed using paired Student's t-test. For categorical variables observed frequencies were calculated using the Proc FREQ procedure in SAS. The Chi<sup>2</sup> test was used to highlight the school type effect on the variables of interest and the comparison of relative frequencies between school types in pairs was done using a two-tailed Z test. For each relative frequency, a 95% confidence interval (CI) was calculated using the formula below, where P is the relative frequency and N is the sample size:

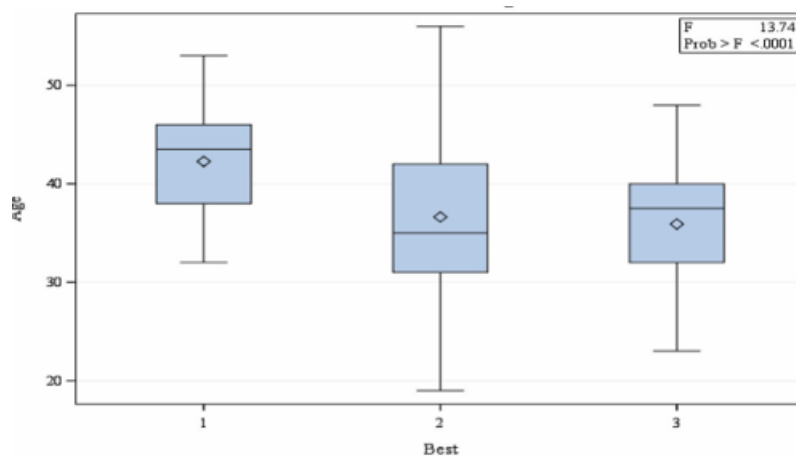
$$CI = P \pm 1,96\sqrt{\frac{P(1 - P)}{N}}$$

### Results

#### Characteristics of food operators and types of food from animal origin

##### Profile of food operators

To illustrate the profile of food operators six parameters were used to provide information on them such as age, activity, gender, level of education, availability of health care, and accessibility to the toilet room. Thus, the average age of food operators was  $38 \pm 7$



**Fig. 2.** Age distribution of food operators in each type of school (1 = PS + C, 2 = PS-C, 3 = average of PS + C and PS-C).

years. Within the types of schools, the average age was  $42 \pm 1$  year PS+ C and  $37 \pm 1$  year for PS-C, with ages ranging from 19 to 53 years (Fig. 2). Whether in schools with canteens (PS + C) or public schools without canteens (PS-C) or private schools (PRS), the actors involved in the production and sale of food to school children are all female. The level of education in the 137 operators surveyed was the primary level for 58% of operators in the PS + C, and 49% in the PS-C. In terms of health, 88% of operators in the PS + C stated that they had no medical check-up, compared to 94% of food operators in the PS-C. All schools visited had toilets rooms and the operators had access to these toilets rooms (Table 2).

##### Description of food from animal origin sold

During the survey, it was observed that all three types of food from animal origins such as egg products, sausage, and fish in PS-C, and PRS as food from animal origin and only fish in PS + C. The production and sale of fish were observed in all types of schools (100%) contrary to eggs products and sausage which were only produced in the PRS and the PS-C. The preparation of egg products was observed at

40% in the PS-C. The sausage was produced by 7% of operators in the PS-C. These two types of food were also produced in private schools (Table 3).

**Purchasing and transport of raw materials**

The operators purchased food of animal origin either at the market or from neighborhood retailers. Thus, it was observed that, depending on the food, 76% of operators in the PS + C bought from the market, compared to 97% respectively in the PS-C. After procurement, operators transported the animal products separately or mixed them with other food products. Thus, in the PS + C, 42% of operators transported separately foodstuffs, compared to 61% in the PS-C. It was also noted that 58% of operators transported animal food mixed with other types of products, compared to 39% in the PS-C. During transportation, the food was covered by most operators (Table 4).

**Production and treatment of prepared food before selling the following day**

Two forms of production were used to prepare food such as frying and cooking. Food operators fried their food 27% in PS + C and PS-C. They also cooked food by boiling 85% in PS + C and 49% in PS-C. Sometimes, not all prepared food is sold on the same day. Thus, they are either eaten by the food operators’ families according to 88% of operators in PS + C, and 25% in PS-C, or kept to be sold the next day at 12% in PS + C, and 25% in PS-C. In addition, four methods were used to treat the remaining food, such as frying, and heating. They were also left at room temperature or kept in the freezer. Food operators frequently used frying 70% in PS + C, and 96% in PS-C to treat cooked food. They also used heating 18% in PS + C, and 28% in PS-C to treat the remaining food before selling it the following day (Table 4).

**Hygiene of the production and sales environment**

In most of the schools visited during the survey, it was noted that the food production environment was either clean or dirty. Thus, the production environment of the majority of schools was clean with 79% for PS + C compared to 80% for PS-C. In addition, garbage and household waste were disposed of in three ways: inside the kitchen, outside, or as soon as they were removed and thrown away. Thus 64% of the operators in the PS + C kept their garbage and household waste outside their kitchens or production environment, compared to 70% in the PS-C. There were food operators who evacuated and immediately disposed of household waste and garbage. These were represented in small proportions (30% in the PS + C, and 20% in the PS-C). Operators produce food in a barely clean environment (Fig. 3) and (Table 5).

**Table 2**  
Characteristics of food operators.

Variables	PS + C (N = 33)			PS-C (N = 100)			Chi <sup>2</sup> test	PRS (N = 4)
	n	%	CI	n	%	CI		
<b>Activities of</b>								
<b>operators</b> Vendors	0	0	[0– 0]	100	100	[100– 100]	***	4
canteen manager	33	100	[100– 100]	0	0	[0– 0]	***	0
<b>Sex</b>								
Female	33	100	[100– 100]	100	100	[100– 100]	NS	4
<b>Study level</b>								
Not in								
school	13	39	[22– 56]	45	45	[35– 55]	NS	0
Primary level	19	58	[41– 75]	49	49	[39– 59]	NS	4
Secondary level	1	3	[-3– 9]	6	6	[1– 11]	NS	0
<b>Availability of health booklet</b>								
Yes	4	12	[1– 23]	6	6	[1– 11]	***	3

**Toilet room**

Present and accessible	33	100	[100– 100]	100	100	[100– 100]	NS	4
------------------------	----	-----	------------	-----	-----	------------	----	---

**Legend:** N = total number of respondents, n = number of respondents, NS= Not Significant (p>0.05), \*\*\*: significant (p<0.001), PS + C: Public Schools with Canteen, PRS: Private School, PS-C: Public Schools without Canteen, CI: Confidence Interval. The percentages of the same line followed by different letters differ significantly at the 5% threshold.

**Table 3**

Food of animal origin produced and sold.

Variables	PS + C (N = 33)			PS-C (N = 100)			Chi² Test	PRS (N = 4)
	n	%	CI	n	%	CI		
Fish	33	100	[100– 100]	100	100	[100– 100]	NS	4
Egg products	0	0	[0– 0]	40	40	[31– 50]	***	4
Sausage	0	0	[0– 0]	7	7	[2– 12]	***	2

**Legend:** N = total number of respondents, n = number of respondents, NS= Not Significant (p>0.05), \*\*\*: significant (p<0.001), PS + C: Public Schools with Canteen, PRS: Private School, PS-C: Public Schools without Canteen, CI: Confidence Interval. The percentages of the same line followed by different letters differ significantly at the 5% threshold.

**Table 4**

Purchasing, transport of raw materials, production, and treatment of prepared food before selling the following day.

Variables	PS + C(N = 33)			PS-C(N = 100)			Chi² Test	PRS(N = 4)
	n	%	CI	n	%	CI		
<b>Suppliers</b>								
Market	25	76	[61– 91]	97	97	[94– 100]	***	4
Neighborhood retailer	28	85	[73– 97]	73	73	[64– 82]	NS	3
<b>Freshness guarantee by the supplier</b>								
Yes	28	85	[73– 97]	100	100	[100– 100]	***	4
<b>Raw material transportation</b>								
Separate	14	42	[25– 59]	61	61	[51– 71]	NS	2
Mixed	19	58	[41– 75]	39	39	[29– 49]	NS	2
<b>Coverage of transported raw materials</b>								
Yes	32	97	[91– 103]	82	82	[74– 90]	NS	4
<b>Raw material treatment</b>								
Frying	4	12	[1– 23]	92	92	[87– 97]	***	2
Ambient temperature	29	88	[77– 99]	33	33	[24– 42]	***	3
Freezing	0	0	[0– 0]	100	100	[100– 100]	***	1
<b>Transformation state</b>								
Washed with tap water	33	95	[88– 102]	81	81	[73– 89]	*	4
Washed with well water	5	15	[3– 27]	42	42	[25– 59]	*	2
<b>Separation of raw material from the prepared food</b>								
Yes	6	30	[14– 46]	16	16	[9– 23]	NS	1
<b>Form of preparation</b>								
Frying	9	27	[12– 42]	100	100	[100– 100]	***	4

Cooking	28	85	[73– 97]	49	49	[39– 59]	***	4
<b>Sale of all production</b>								
Yes	33	100	[100– 100]	87	87	[80– 94]	NS	3
<b>The fate reserved for to rest of the food</b>								
Sold the following day	4	12	[1– 23]	99	99	[97– 101]	***	3
Eaten by the operator's family	29	88	[77– 99]	25	25	[17– 33]	***	3
<b>Treatment of the rest of the food before the following day</b>								
Frying	23	70	[54– 86]	96	96	[92– 100]	***	3
Heating	6	29	[14– 44]	28	28	[19– 37]	*	3
Ambient temperature	4	17	[4– 30]	5	5	[1– 9]	NS	0
Freezing	33	0	[0– 0]	0	0	[0– 0]	***	1
<b>Treatment of the rest of the food before selling</b>								
Frying	9	27	[12– 42]	100	100	[100– 100]	***	4
Cooking	28	85	[73– 97]	49	49	[39– 59]	***	4

**Legend:** N = total number of respondents, n = number of respondents, NS = not significant ( $p > 0.05$ ), \*: significant ( $p < 0.05$ ), \*\*: significant ( $p < 0.01$ ) \*\*\*: significant ( $p < 0.001$ ), PS + C: Public Schools with Canteen, PRS: Private School, PS-C: Public Schools without Canteen CI: confidence interval. The percentages of the same line followed by different letters differ significantly at the 5% threshold.

### Hygiene of staff and production equipment

At the staff level, aprons were worn by 79% and 72% of PS + C and PS-C operators respectively. They did not wear gloves during production (C, Fig. 3). All the operators washed their hands with soap and water (tap or well water) after using the toilet. There wasn't a sink for handwashing. The majority of operators did not have any skin sores. Aprons were washed at least once a week, in 52% of the PS-C and 61% of the PS + C operators. Production materials and surfaces were smooth and easy to clean. The spoons were regularly heated after each use. The cutting boards were made of wood in all schools. Operators always use tap water to prepare food (Fig. 3) and (Table 5).



A : Overview of a canteen kitchen



B : Food vendor surrounded by school children



C: Food vendor without an apron with dishes and spoons exposed to flies



D : food vendor wearing an apron with unzipped buttons and uncovered head

**Fig. 3.** Some observed unhygienic practices [18].

### Discussion

This study on food from animal origin operators in public primary schools helped to understand the conditions under which they were bought, produced, and sold to school children. Indeed, this survey showed that the production and sale of food from animal origin for school children is the prerogative of women in the two categories of public schools considered for the survey. This is consistent with many studies [5,19,20,21,22,23,24]. All of them are between 19 and 53 years old, which were contrary to Refs. [5,22,25,26,27,28] where they were between 40 and 65 years old. This justifies the fact that it is a dynamic sector of activity that deserves special attention for its development. The two groups of food operators showed points of similarity. Indeed, it was found that at the group level the average age was close to forty. The production of fish for sale is common to all operators of any category of school combined. In PS + C, operators ensure that food is produced in good hygiene practices (e.g. regular hand washing). Educationally, food operators in canteen schools are more educated than those in other schools. This explains why they understand and apply food safety hygiene rules better compared to PS-C food operators. These results are similar to those of [29] for whom; respondents with a high school education are four times better at food safety hygiene practices than operators with a primary education or who have never been to school.

They also did or planned to do the medical examination unlike those of other schools. No women have received training on good hygiene and manufacturing practices (GHMP). Difficulties related to non-compliance with GHMP may be due to a lack of information, training, qualification, and awareness [5,30–36]. In addition, the storage conditions of raw materials and prepared food have shown that only in one private school refrigeration is used to preserve unsold prepared food. Still, regarding the treatment of raw material and prepared food, no operator, at the level of all schools, respects good hygiene and manufacturing practices because these two types of food (raw material and prepared food) must be separated during their conservation to limit the risks of cross-contamination by pathogenic microorganisms [37].

The study also showed that almost 100% of food operators, regardless of the type of school, and based on our observations; wash their hands back from the toilet before handling food. This result is contrary to that obtained by Ref. [5] who reported that 29% of operators washed their hands before serving the drinks but were compliant and above that obtained by Ref. [38] who explained that the respondents mastered the rules of food safety about hand washing [29]. also showed that school cooking food handlers washed their hands while cleaning their fingernails during meal cooking. The study showed a significant difference between PS-C and PS + C in hygiene practices. It was found that 79% of food operators didn't wear aprons or clothes reserved for food handling for PS + C, 50% for private schools, and 72% for PS-C. These results are close to those reported by Refs. [5,39] who mentioned that operators served their customers without special clothing and prepared and served drinks with their bare hands. Operators know that refrigeration can be

**Table 5**  
Hygiene of staff, the environment of food processing and sales equipment.

Variables	PS + C (N = 33)			PS-C(N = 100)			Chi <sup>2</sup> Test	PRS(N = 4)
	n	%	CI	n	%	CI		
<b>Environment</b>								
<b>sanitation</b> Good	26	79	[65– 93]	80	80	[72– 88]	NS	4
Bad	7	21	[7– 35]	20	20	[12– 28]	NS	0
<b>Easy surface cleaning</b>								
<b>Yes</b>	32	97	[91– 103]	97	97	[94– 100]	NS	4
<b>Surface cleaning frequency</b>								
Before and after each use	30	91	[81– 101]	87	87	[80– 94]	NS	4
More than three times a day	3	10	[0– 20]	13	13	[6– 20]	NS	0
<b>Spoon's heating</b>								
<b>Yes</b>	20	61	[44– 78]	12	12	[6– 18]	***	4
<b>Aprons wearing</b>								
<b>Yes</b>	26	79	[65– 93]	72	72	[63– 81]	NS	2
<b>Frequency of aprons washing</b>								
More than once a week	20	61	[44– 78]	52	52	[42– 62]	NS	2
Once a week	8	24	[9– 39]	28	28	[19– 37]	NS	0
Don't wear an apron	5	15	[3– 27]	20	20	[12– 28]	NS	2
<b>Intact surfaces</b>								
<b>Yes</b>	33	88	[77– 99]	100	100	[94– 100]	NS	4
<b>Garbage and waste management</b>								
Kept outside	21	64	[48– 80]	70	70	[61– 79]	NS	2
Kept inside	2	6	[-2– 14]	10	10	[4– 16]	NS	0
Removed and thrown away	10	30	[14– 46]	20	20	[12– 28]	NS	2
<b>Refrigerator availability</b>								
<b>No</b>	33	100	[100– 100]	3	3	[0– 6]	*	3
<b>Refrigeration temperature knowledge</b>								
<b>No</b>	33	100	[100– 100]	1	1	[-1– 3]	NS	4

<b>Wearing a glove</b>	No	33	100	[100– 100]	100	100	[100– 100]	NS	4
<b>Hand washing after toilet</b>	Yes	33	100	[100– 100]	99	99	[97– 101]	NS	4
<b>Nature of cutting board</b>	Wood	33	100	[100– 100]	100	100	[100– 100]	NS	4
	Aluminum	33	0	[0– 0]	1	1	[-1– 3]	NS	0
<b>Smooth surfaces</b>	Yes	31	94	[86– 102]	94	94	[89– 99]	NS	4
<b>Environment of Production</b>	Easy cleaning	25	76	[61– 91]	55	55	[45– 65]	*	4
	Difficult cleaning	8	24	[9– 39]	45	45	[35– 55]	*	0
<b>Cleaning other surfaces</b>	Once a week	0	0	[0– 0]	19	19	[11– 27]	*	0
	More than once a week	29	88	[77– 99]	72	72	[63– 81]	NS	2
	Every day	4	12	[1– 23]	9	9	[3– 15]	*	2
<b>Water used for production</b>	Tap water	33	100	[100– 100]	93	93	[88– 98]	NS	4
	Well water	0	0	[0– 0]	14	14	[7– 21]	NS	2
	Fountain water	0	0	[0– 0]	4	4	[0– 9]	NS	0
<b>Staff with a wound on the skin</b>	Yes	1	3	[3– 9]	9	9	[4– 14]	NS	0

**Legend:** N = total number of respondents, n = number of respondents, NS = not significant ( $p > 0.05$ ), \*: significant ( $p < 0.05$ ), \*\*: significant ( $p < 0.01$ ) \*\*\*: significant ( $p < 0.001$ ), PS + C: Public Schools with Canteen, PRS: Private School, PS-C: Public Schools without Canteen CI: confidence interval. The percentages of the same line followed by different letters differ significantly at the 5% threshold.

used to preserve raw materials or prepared foods, but have no refrigerators. Raw materials and prepared foods are often mixed together during storage. Operators do not wear gloves during raw material handling and food cooking. These results are not consistent with those of [29,37] who showed that operators used refrigeration to preserve prepared and unprepared food, did not mix raw materials with prepared foods during preservation, and often wear gloves during raw material handling and food cooking. It was also observed that the food production environment was more or less unsafe; the surfaces used for cooking and handling food are not all intact. These results are similar to those of [40,41,42] who showed that the environmental conditions in which food is prepared are inappropriate for food safety. The food preparation environment is improper, hygiene and manufacturing rules are not followed (poorly cleaned kitchen equipment). This situation would promote the development of pathogenic microorganisms that could subsequently contaminate food and make it unfit for consumption [5,10,23,36,43]. It is therefore crucial that the operators of food intended for school children must be trained in good hygiene and manufacturing practices to avoid contamination of food by pathogenic germs to ensure food safety for school children.

### Conclusion

This study provided an understanding of the hygienic conditions under which food of animal origin is prepared and sold to school children. In most schools, food is prepared and sold under poor hygienic conditions and does not meet international standards. The study, therefore, suggests that government authorities should make greater efforts to improve the collective catering sector in urban, peri-urban,

and rural areas, especially in schools. Operators of food in schools must be trained on good hygiene practices in collective catering. This training will enable them to improve their knowledge of food safety. The establishment of regulations based on requirements for each sector should support the training programs. The study also showed that operators in canteen schools have some knowledge of good hygiene practices and most have at least primary-level education. Good hygiene and manufacturing practices appeared to be better in public schools with canteens than in other schools. For this reason, the government should install canteens in all public schools and at the same time put in place regular monitoring structures that will ensure the effective application of good hygiene practices in these schools. School principals can be made responsible for close monitoring. The government must be more involved to ensure the continuity of training programs for food operators. All this will help to avoid food poisoning in the schools. Finally, our study was conducted in only one of the twelve departments in Benin. We therefore suggest that this study be extended to the other schools in the country. All schools will be surveyed using our methodology. The results obtained will serve as basic data to guide and facilitate the decision-makers' decision-making regarding the rules of hygiene and manufacturing to be respected in community kitchens and during the sale of street food to ensure food safety for school children.

#### **Author contribution statement**

Eustache C. Hounkpe: Conceived and designed the experiments; Performed the experiments; Analyzed and interpreted the data; Contributed reagents, materials, analysis tools or data; Wrote the paper.

Philippe Sessou, Souaïbou Farougou, Georges Daube, Veronique Delcenserie, Paulin Azokpota, Nicolas Korsak: Conceived and designed the experiments; Contributed reagents, materials, analysis tools or data. Ignace Dotche: Analyzed and interpreted the data.

#### **Data availability statement**

Data will be made available on request.

#### **Declaration of competing interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### **Acknowledgment**

This study was supported with scholarship by the research academy for higher education -Committee on Development Cooperation (ARES-CCD) through the outstanding doctoral scholarship. My thanks also to all those who participated in the survey and in the writing of this article.

#### **Appendix A. Supplementary data**

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17135>.

#### **References**

- [1] A.C. Sezgin, N. Sanlier, Street food consumption in terms of the food safety and health, *J. Hum. Sci.* 13 (2016) 4072–4083.
- [2] J. Oliveira, J.F.B. de Sao Jo~s'e, Food handling practices and microbial quality in street food, *J. Food Nutr. Res.* 7 (2019) 319–324.
- [3] L. Isoni Auad, V. Cortez Ginani, E. dos Santos Leandro, P. Farage, A. Costa Santos Nunes, R. Puppim Zandonadi, Development of a Brazilian food truck risk assessment instrument, *Int. J. Environ. Res. Publ. Health* 15 (2018) 2624.

- [4] K. Abrahale, S. Sousa, G. Albuquerque, P. Padrao, N. Lunet, Street food research worldwide: a scoping review, *J. Hum. Nutr. Diet.* 32 (2019) 152–174.
- [5] G.S. Komagbe, P. Sessou, F. Dossa, P. Sossa-Minou, B. Taminiau, P. Azokpota, N. Korsak, G. Daube, S. Farougou, Assessment of the microbiological quality of beverages sold in collective cafes on the campuses of the University of Abomey-Calavi, Benin Republic, *J. Food Saf. Hyg.* 5 (2019) 99–111.
- [6] H.C. Enunwaonye, A.C. Olugbade, Factors hindering compliance with food safety among food handlers in Benin city markets, Edo state, Nigeria, *Food Saf. Hyg.* (2020).
- [7] A. Colagiorgi, R. Festa, P.A. Di Ciccio, M. Gogliettino, M. Balestrieri, G. Palmieri, A. Anastasio, A. Ianieri, Rapid biofilm eradication of the antimicrobial peptide 1018-K6 against *Staphylococcus aureus*: a new potential tool to fight bacterial biofilms, *Food Control* 107 (2020), 106815.
- [8] WHO, World Health organization, WHO key food safety benchmarks, (n.d.). <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> (accessed March 2, 2022).
- [9] A. Belfar, C. Ferahtia, Conditions et modalités de commercialisation des produits laitiers crus et dérivés dans la région de M'Sila, PhD Thesis, Université Mohamed Boudiaf-m'sila, 2020.
- [10] R.D.M. Cortese, M.B. Veiros, C. Feldman, S.B. Cavalli, Food safety and hygiene practices of vendors during the chain of street food production in Florianopolis, Brazil: a cross-sectional study, *Food Control* 62 (2016) 178–186.
- [11] R. European, Règlement (UE) no 1169/2011 du parlement européen et du conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, *Journal Officiel de l'Union Européenne* L 304 (2011) 18–63.
- [12] M. Oliveira, F.R. Dias, C. Pomba, Biofilm and fluoroquinolone resistance of canine *Escherichia coli* uropathogenic isolates, *BMC Res. Notes* 7 (2014) 1–5. [13] M. Al Mamun, S.M.M. Rahman, T.C. Turin, Microbiological quality of selected street food items vended by school-based street food vendors in Dhaka, Bangladesh, *Int. J. Food Microbiol.* 166 (2013) 413–418.
- [14] T. Mohamed, S. Zhao, D.G. White, S. Parveen, Molecular characterization of antibiotic resistant *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Kentucky isolated from pre-and post-chill whole broilers carcasses, *Food Microbiol.* 38 (2014) 6–15.
- [15] H. de Valk, N. Jourdan-Da Silva, L. King, G. Delmas, V. Goulet, V. Vaillant, Les infections d'origine alimentaire en France, *Bull. Acad. Natl. Med.* 196 (2012) 1645–1657.
- [16] K. Bogdanovicova, J. Kamenik, K. Dorotikova, J. Strejcek, S. Krepelova, M. Duskova, D. Harustiakova, Occurrence of foodborne agents at food service facilities in the Czech Republic, *J. Food Protect.* 82 (2019) 1096–1103.
- [17] D.E. Yaï, J.A. Yabi, P. Degla, G. Biaou, A. Floquet, Productivité agricole et sécurité alimentaires des ménages agricoles du Bénin: Approche des hétérodoxes [Agricultural productivity and food security of agricultural households in Benin, 2020.
- [18] B. Toma, B. Dufour, M. Sanaa, J.-J. B'enet, P. Ellis, F. Moutou, A. Louza, *Epidemiologie appliquée a la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures* Une publication de l'Association pour l'étude de l'épidémiologie animale, imprimée et diffusée par l'Office International des Epizooties, 1996, p. 551, 92-9044-401-0.
- [19] C.O. Chukuezi, Food safety and hygienic practices of street food vendors in Owerri, Nigeria, *Stud. Sociol. Sci.* 1 (2010) 50–57.
- [20] S.A. da Silva, R. de C.V. Cardoso, J.A.W. Goes, J.N. Santos, F.P. Ramos, R.B. de Jesus, R.S. do Vale, P.S.T. da Silva, Street food on the coast of Salvador, Bahia, Brazil: a study from the socioeconomic and food safety perspectives, *Food Control* 40 (2014) 78–84.
- [21] W.Y. Low, R. Jani, H.A. Halim, F.M. Moy, Determinants of food hygiene knowledge among youths: a cross-sectional online study, *Food Control* 59 (2016) 88–93.
- [22] C. Muyanja, L. Nayiga, N. Brenda, G. Nasinyama, Practices, knowledge and risk factors of street food vendors in Uganda, *Food Control* 22 (2011) 1551–1558.
- [23] A.M. Omemu, S.T. Aderoju, Food safety knowledge and practices of street food vendors in the city of Abeokuta, Nigeria, *Food Control* 19 (2008) 396–402.

- [24] S. Samapundo, R. Climat, R. Xhaferi, F. Devlieghere, Food safety knowledge, attitudes and practices of street food vendors and consumers in Port-au-Prince, Haiti, *Food Control* 50 (2015) 457–466.
- [25] A. Hanashiro, M. Morita, G.R. Matte, M.H. Mat' t'e, E.A. Torres, Microbiological quality of selected street foods from a restricted area of Sao Paulo city, Brazil, *Food Control* 16 (2005) 439–444.
- [26] O.K. Muinde, E. Kuria, Hygienic and sanitary practices of vendors of street foods in Nairobi, Kenya, *Afr. J. Food, Agr. Nutr. Dev* 5 (2005).
- [27] B.N. Nunes, A.G. Cruz, J.A. Faria, A.S. Sant, R. Silva, M.R. Moura, A survey on the sanitary condition of commercial foods of plant origin sold in Brazil, *Food Control* 21 (2010) 50–54.
- [28] I. Proietti, C. Frazzoli, A. Mantovani, Identification and management of toxicological hazards of street foods in developing countries, *Food Chem. Toxicol.* 63 (2014) 143–152.
- [29] L.S. Tuglo, P.D. Agordoh, D. Tekpor, Z. Pan, G. Agbanyo, M. Chu, Food safety knowledge, attitude, and hygiene practices of street-cooked food handlers in North Dayi District, Ghana, *Env. Health Prev. Med.* 26 (2021) 1–13.
- [30] G. Caggiano, V. Marcotrigiano, P. Trerotoli, G. Diella, S. Rutigliano, F. Apollonio, A. Marzella, F. Triggiano, M. Gramegna, D. Lagravinese, Food hygiene surveillance in Italy: is food ice a public health risk? *Int. J. Environ. Res. Publ. Health* 17 (2020) 2408.
- [31] A.A. Doutoum, A. Tidjani, N.A. Markhous, D. Kimassoum, B. Nadlaou, Microbiological quality assessment of the main food consumed in collective catering in the city of N'Djamena-Chad, *J. Trop. Med. Hyg. P.* 139 (2019).
- [32] V. Milicevic, G. Colavita, M. Castrica, S. Ratti, A. Baldi, C.M. Balzaretto, Risk assessment in the recovery of food for social solidarity purposes: preliminary data, *Italian J. Food Saf.* 5 (2016).
- [33] E. Pereira, M.F. Lopes-da-Silva, A.F. da Silva, E. Ramalhosa, Sanitary-hygienic control of two collective catering units in north of Portugal, in: *1st International Meeting on Innovation & Development in the Food Sector*, 2018, pp. 136–137.
- [34] M.J. de V. Pinto, A.C. Barbosa, C.M. Alcobia Gomes, F. Mendes, H. Simoes, J. Joaquim, P. Servo, R. Lopes, Social and Collective Catering in the Context of COVID-19, 2021.
- [35] K. Retmi, F. Ouzayd, C. Gode, B. Ennafah, Hospital food supply chain: when digitalization supports hygiene requirements in hospital catering, *Manag. Data Sci.* 5 (2021).
- [36] E. Toe, A. Dadi'e, E. Dako, G. Loukou, M.K. Dje, Y.C. Bl'e, Prevalence and potential virulence of *Escherichia coli* in ready-to-eat raw mixed vegetable salads in collective catering in Abidjan, Cote ^ d'Ivoire, *Br. Food J.* (2018).
- [37] F. Ncube, A. Kanda, M. Chijokwe, G. Mabaya, T. Nyamugure, Food safety knowledge, attitudes and practices of restaurant food handlers in a lower-middle- income country, *Food Sci. Nutr.* 8 (2020) 1677–1687.
- [38] S.L. Reddi, R.N. Kumar, N. Balakrishna, V.S. Rao, Microbiological quality of street vended fruit juices in Hyderabad, India and their association between food safety knowledge and practices of fruit juice vendors, *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sc.* 4 (2015) 970–982.
- [39] M.E. Tshipamba, N. Lubanza, M.C. Adetunji, M. Mwanza, Molecular characterization and antibiotic resistance of foodborne pathogens in street-vended ready-to- eat meat sold in South Africa, *J. Food Protect.* 81 (2018) 1963–1972.
- [40] A.J. Toth, A. Bitt' sanszky, A comparison of hygiene standards of serving and cooking kitchens in schools in Hungary, *Food Control* 46 (2014) 52' 0–524.
- [41] K. Serrem, C.B. Ill'es, C. Serrem, B. Atubukha, A. Dunay, Food safety and sanitation challenges of public university students in a developing country, *Food Sci. Nutr.* 9 (2021) 4287–4297, <https://doi.org/10.1002/fsn3.2399>.
- [42] K. Serrem, A. Dunay, C. Serrem, B. Atubukha, J. Olah, C.B. Ill'es, Paucity of nutrition guidelines and nutrient quality of meals served to Kenyan boarding high ' school students, *Sustainability* 12 (2020) 3463, <https://doi.org/10.3390/su12083463>.

- [43] N. Bemrah, H. Bergis, C. Colmin, A. Beaufort, Y. Millemann, B. Dufour, J.J. Benet, O. Cerf, M. Sanaa, Quantitative risk assessment of human salmonellosis from the consumption of a Turkey product in collective catering establishments, *Int. J. Food Microbiol.* 80 (2003) 17–30.

**Etude 2 : QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE ET DES SURFACES DES MAINS DES OPERATRICES EN MILIEU SCOLAIRE DANS LE DEPARTEMENT DU MONO.**

## Résumé

Les aliments d'origine animale sont très riches en protéines et indispensables dans l'alimentation des hommes surtout pour la croissance des enfants. Dans les cuisines de collectivité des écoles primaires il est observé le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène lors de la production de ces types d'aliments et de ce fait ils sont exposés à des contaminations microbiennes pouvant entraîner des toxi-infections alimentaires (TiA) souvent plus graves chez les enfants. La présente étude a eu pour but d'évaluer la qualité microbiologique des mains des opératrices ainsi que des aliments d'origine animale vendus aux écoliers dans le département du Mono au Bénin. Pour atteindre cet objectif, le plan d'échantillonnage suivant a été mis en œuvre : un total de 100 échantillons d'aliments composés de 40 poissons frits, 30 saucisses frites et 30 œufs bouillis ; et 40 échantillons de surfaces (face palmaire de la main avant et après lavage) dans 20 écoles primaires. L'analyse microbiologique classique basée sur les méthodes conventionnelles de tous les échantillons a, dans un premier temps, consisté au dénombrement de la flore totale, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs, et à la recherche de *Salmonella* spp. Ensuite les souches présumées de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella* spp ont été caractérisées sur le plan moléculaire par la PCR universelle 16S après une étude biochimique. Enfin l'identification des bactéries isolées a été confirmée par séquençage de l'ARNr 16S. L'étude a montré un taux de non-conformité à 100 % de tous les échantillons de poisson des écoles publiques sans cantine (PS-C) pour la flore totale. Des souches présumées *Escherichia coli* (38 %), *Staphylococcus aureus* (20 %) et 17 souches présumées de *Salmonella* spp ont été détectées dans les échantillons. Le séquençage des souches isolées a confirmé la présence d'*Escherichia coli* pour 100 % des souches isolées, *Staphylococcus aureus* n'était pas présente dans les échantillons mais d'autres espèces de staphylocoques ont été identifiées. *Salmonella* spp était représentée par l'espèce *Salmonella enterica subsp enterica* pour 100 % des souches isolées. La présence de ces agents dans les aliments nécessite des études complémentaires pour évaluer les risques de toxi-infections auxquels les consommateurs sont confrontés.

**Abstract**

Foods of animal origin are very rich in protein and essential to human nutrition, especially for children's growth. In primary school kitchens, good hygiene practices are not observed during the production of these types of food, and as a result, they are exposed to microbial contamination that can lead to foodborne diseases, which is often more serious in children. This study aimed to assess the microbiological quality of food of animal origin sold to schoolchildren and hands in the Mono department of Benin. To achieve this objective, a total of 100 food samples consisting of 40 fried fish, 30 fried sausages, and 30 boiled eggs; and 40 surface samples (palmar surface of the hand before and after washing) were taken in 20 primary schools. The conventional microbiological analysis of all the samples consisted firstly of counting the total flora, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, sulfite-reducing anaerobes spores, and detection of *Salmonella*. The presumed *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella* isolates were then molecularly characterized using universal 16S PCR following a biochemical study. Finally, the identification of the isolated bacteria was confirmed by 16S rRNA sequencing. The study showed a 100% non-compliance rate for total flora in all public school without canteen (PS-C) fish samples. Presumptive *Escherichia coli* (38 %), *Staphylococcus aureus* (20 %), and 17 presumptive *Salmonella* strains were detected in the samples. Sequencing of the isolated strains confirmed the presence of *Escherichia coli* for 100% of the isolated strains, *Staphylococcus aureus* was not present in the samples but other staphylococcus species were identified. The species *Salmonella enterica subsp enterica* represented *Salmonella* for 100 % of the strains isolated. The presence of these agents in food requires further studies to assess the risk of toxic infections consumers face.

**Keywords:** food of animal origin, microbiological quality, primary school, Benin

## Introduction

Les aliments d'origine animale sont très riches en protéines. Ils peuvent très rapidement être altérés sous l'action des microorganismes devenant ainsi impropres à la consommation humaine. Leur consommation peut entraîner des toxi-infections d'origine alimentaire souvent causées par des microorganismes pathogènes tels que *Escherichia coli* (formes pathogènes), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Candida albicans*, *Salmonella* qui sont de plus en plus récurrents de nos jours avec des formes diarrhéiques qui représentent les principaux cas d'hospitalisation en Afrique au sud du Sahara (Salamandane et al., 2021). En santé publique, la sécurité alimentaire est un domaine d'importance capitale et de grande préoccupation surtout quand les aliments d'origine animale sont manipulés dans un environnement hautement contaminé (Bahir et al., 2022; Soriyi et al., 2008). Dans les pays en développement, les établissements alimentaires tels que les restaurants collectifs ou les cantines scolaires sont caractérisés par l'absence d'hygiène et de moyens financiers suffisants pour investir dans des équipements plus sûrs. Il y a aussi le manque d'éducation des opératrices de cuisine ainsi que les mauvaises pratiques de manipulation des aliments qui peuvent contribuer à l'augmentation significative de l'incidence des maladies d'origine alimentaire (Gurmu & Gebretinsae, 2013; Olasaju et al., 2021 ; Tuglo et al, 2021). Les pathogènes tels que *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et bien d'autres sont des microorganismes qui proviennent de différents habitats dont l'environnement de production des aliments, les surfaces corporelles du personnel ou les équipements de production, le tube digestif des animaux spécialement dans la flore intestinale. *E. coli* par exemple peut survivre pendant 4 à 12 semaines dans l'eau et est utilisée comme indicateur pour déterminer la contamination d'origine fécale dans les aliments et l'eau de boisson (Kaper et al., 2004 ; Bhardwaj et al., 2013 ; Asadi et al., 2023). Ces agents pathogènes peuvent entraîner des toxi-infections d'origine alimentaire lorsque les conditions d'hygiène ne sont pas parfaitement respectées (Fathi et al, 2017 ; Komagbe et al, 2019 ; Karama et al, 2019 ; Ritcher et al, 2021). Ces pathogènes sont responsables de zoonoses. Ces microorganismes sont transmis aux humains par la consommation d'aliments contaminés avec des symptômes caractéristiques comme des vomissements, des troubles digestifs, des douleurs abdominales, de fortes fièvres, des nausées, des céphalées, le syndrome hémolytique, des diarrhées sanglantes et une mortalité élevée (Jaja et al., 2020 ; Ajuwon et al., 2021 ; Minda Asfaw & Shimelis, 2021). Ces agents pathogènes sont capables de produire des biofilms particulièrement résistants aux agents antimicrobiens (Asadi et al, 2023). Les aliments d'origine animale permettent de satisfaire les besoins en protéines des écoliers. Ils sont produits dans les conditions d'hygiène inadéquates, malsaines et, par conséquent, peuvent être contaminés par des microorganismes pathogènes. La présence des agents pathogènes dans ces aliments confère à ceux-ci un caractère dangereux pour les consommateurs surtout pour les enfants des écoles primaires qui sont très sensibles aux maladies d'origine alimentaire et, de ce fait, constituent des personnes particulièrement à risque. Cette étude vise à caractériser les microorganismes pathogènes présents dans

les aliments d'origine animale vendus aux écoliers des écoles primaires du Département du Mono (Sud du Bénin). Elle permettra d'appréhender les microorganismes pathogènes présents dans ce type d'aliment et les toxi-infections d'origine alimentaire auxquels peuvent être exposés les consommateurs en général et les écoliers en particulier. Plusieurs études sur la qualité sanitaire des aliments ont été conduites sur les campus de l'Université d'Abomey-Calavi. Cependant, il existe peu ou pas d'études ayant trait aux aliments d'origine animale en matière de sécurité sanitaire des aliments dans les écoles primaires au Bénin. Cette étude vient donc à point nommé pour faciliter la tâche aux décideurs politiques grâce à la production des données scientifiques sur lesquelles ils peuvent se baser pour prendre des décisions idoines et appropriées dans la lutte contre les éventuels problèmes de toxi-infections d'origine alimentaires dans les écoles primaires.

## Matériel et méthodes

### Sources et collecte des échantillons d'aliments

Les échantillons d'aliments d'origine animale prêts à être consommés présentant un risque de contamination par les bactéries pathogènes et couramment consommés par les écoliers ont été identifiés et prélevés lors de la réalisation d'une enquête. Ils ont été collectés de façon aseptique dans des sachets Stomacher et mis dans une glacière contenant des blocs réfrigérants congelés. Au total, 100 échantillons d'aliments dont 40 poissons frits, 30 œufs bouillis et 30 saucisses de volaille frites ont été collectés dans 20 établissements scolaires situés dans le département du Mono et transportés dans une glacière contenant des blocs réfrigérants pendant environ 2 heures de route au laboratoire de l'Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles (URMAT) de l'Université d'Abomey-Calavi pour y être analysés (figure 1). Une colonie caractéristique de chaque souche (*Escherichia coli*, *Salmonella* et présumés Staphylocoques) de chaque échantillon a été prélevée et mise en culture dans un tube Eppendorf contenant du Brain Heart Infusion Broth (BHI OXOID CM1135), du glycérol à 10 % et conservée à -80 °C pour des analyses ultérieures. Cinq communes ont été choisies au hasard pour l'échantillonnage, décrit dans le tableau 1.



Met de pâte rouge au poisson



Met de riz blanc à l'œuf



Met de riz blanc à la saucisse

**Figure 1** : Aperçu des aliments d'origine animale (Houknpè et al, 2023)

### Sources et collecte des échantillons de surfaces des mains

Quarante échantillons de la face palmaire de la main avant et après lavage des opératrices de cuisine ont été collectés dans les écoles. L'écouvillonnage a été réalisé avant et après nettoyage et désinfection des mains avec des tampons de deux cotons stériles, dont l'un mouillé avec du Maximum Recovery Diluent (MRD, Oxoid CM0733, Belgium) et l'autre sec le tout introduit dans un sachet *Stomacher* contenant 25 mL du milieu MRD. Les gants étaient portés et changés entre chaque échantillonnage. Le coton humidifié a été préalablement placé dans le sachet *Stomacher* et a été sorti à l'aide d'une pince stérile pour l'écouvillonnage. L'écouvillonnage a été effectué par la méthode décrite (figure 2) par Lahou et Uyttendaele (2014). Une fois l'écouvillonnage effectué, le coton mouillé a été réintroduit dans le sachet *Stomacher*. Ensuite l'écouvillonnage de la même surface a été réalisé avec un coton sec toujours à l'aide d'une pince stérile et placé dans le même sachet *Stomacher* que le coton humidifié, et ainsi de suite. Après transport au laboratoire, les échantillons ont été homogénéisés pendant 2 minutes afin de récupérer le maximum de liquide dans un Falcon pour analyses. Cinq communes ont été choisies au hasard pour l'échantillonnage, décrit dans le tableau 1.



**Figure 2.** Méthode d'échantillonnage des surfaces. Les échantillons sont prélevés par des mouvements horizontaux, verticaux et diagonaux, et sur les bords. (Lahou et Uyttendaele, 2014).

### Analyse microbiologique des aliments et des faces palmaires

Réalisée au laboratoire de l'Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles (URMAT), cette analyse a pris en compte le dénombrement de la flore totale, des ASR (anaérobies sulfite-réducteurs), d'*Escherichia coli*, de *Staphylococcus* à coagulase positive et la recherche de *Salmonella* suivant des méthodes normalisées ISO. Ces méthodes sont résumées dans les tableaux 1, 2 et 3.

**Tableau 1 :** Description de la collecte des échantillons d'aliments et des mains

Communes	Ecoles	Poissons	Œufs	Saucisses	Echantillons des mains
Lokossa	PS-C	4	4	4	4
	PRS	2	2	2	2
	PS+C	2			2
Comé	PS-C	4	4	4	4
	PRS	2	2	2	2

	PS+C	2			2
Grand-popo	PS-C	4	4	4	4
	PRS	2	2	2	2
	PS+C	2			2
Houéyogbé	PS-C	4	4	4	4
	PRS	2	2	2	2
	PS+C	2			2
Bopa	PS-C	4	4	4	4
	PRS	2	2	2	2
	PS+C	2			2
Total		40	30	30	40

**Légende :** PS-C (école publique sans cantine), PS+C (école publique avec cantine), PRS (école privée)

**Tableau 2 :** Méthodes d'analyses des aliments et des surfaces

Paramètres microbiologiques		Milieux utilisés et Normes	Ensemencement	Conditions d'incubation
Flore totale aérobie mésophile	Aliments	PCA (PCA OXOID CM0463)/ NF	1 mL de la suspension mère et des dilutions décimales successives en profondeur	30 °C pendant 72 h
	Face palmaires	EN ISO 4833-2 : 2013	1 mL de la suspension mère	
<i>Staphylococcus aureus</i>		BP + RPF, Bio-Rad, 3578618/ ISO 68883: 2003	0,1 mL de la suspension mère et des dilutions décimales successives en surface	37 °C pendant 48 h
<i>Escherichia coli</i>		Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX) BAC ISO-16649-2,3	1 mL de la suspension mère et des dilutions décimales successives en profondeur et 1 mL de la suspension mère pour les écouvillons des mains en profondeur	37 °C pendant 24h
Spores d'anaérobies sulfito-réducteurs	Aliments et faces palmaires	Trypticase-SulfiteNeomycin Agar (TSN Biokar	1 ml des inocula a été réparti dans des tubes stériles. Ensuite les tubes ont été mis au bain-marie à 80 °C pendant 10 minutes	37 °C pendant 24 heures

(ASR) 001HA)/ NF V  
08061 : 2009

*Salmonella spp* Aliments -EPT (OXOID  
CM0509)  
-Rapaport-  
Vassiliadis  
(OXOID  
CM0669)  
-Hektoen  
(OXOID  
CM0419)  
-XLD (OXOID  
CM0469)  
NF EN ISO les  
6579-1: 2017

Après les lectures, le nombre N de microorganismes présents dans l'échantillon a été calculé. Les résultats ont été exprimés selon la norme (NFV 08 - 102 1998) en utilisant la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{V (n_1 + 0,1n_2)d}$$

**Avec** N: nombre de microorganismes par millilitre de produit,  $\Sigma C$  = somme des colonies des boîtes comptées, V = volume de l'inoculum,  $n_1$  = nombre boîtes comptées à la plus faible dilution,  $n_2$  = nombre boîtes comptées à la plus forte dilution, 0,1 : facteur de dilution, d = dilution correspondant à la dilution la plus faible

**Tableau 3 :** Critères microbiologiques applicables aux aliments d'origine animale

Paramètres	UFC/g
<b>Germes Aérobie Mésophile</b>	10 <sup>6</sup>
<i>E. coli</i>	10 <sup>2</sup>
<i>S. aureus</i> coagulase positive	10 <sup>4</sup>
ASR	10 <sup>4</sup>
<i>Salmonella</i>	Absence dans 25 g

Source : FDR/Canada, 2019.

**Tableau 4** : Critères microbiologiques applicables aux surfaces

Microorganismes	Acceptable	Inacceptable
<b>Germes totaux aérobies</b>	0 - 10/cm <sup>2</sup>	>10 /cm <sup>2</sup>
<b>Entérobactéries</b>	0 – 1/cm <sup>2</sup>	> 1/cm <sup>2</sup>

Source : FEBEV/Guide générique d'autocontrôle 2008

### Caractérisation moléculaire des souches présumées d'*Escherichia coli*

Les souches présumées d'*Escherichia coli* ont été identifiées au plan moléculaire par la PCR universelle 16 S suivi d'un séquençage par la méthode de SANGER.

### Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN des souches d'*Escherichia coli* a été faite dans l'Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles (URMAT) en utilisant le kit d'extraction NucleoSpin<sup>R</sup> obtenu chez Macherey Nagel. Le protocole du fabricant a été suivi à cet effet. Les échantillons d'ADN ont été mis en conservation à -80 °C jusqu'à utilisation.

### PCR universelle 16S

Cette opération a été réalisée dans l'unité de recherche en biologie moléculaire du Département des Sciences des Denrées alimentaires de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège. Les ADN des échantillons des souches bactériennes ont été amplifiés par la méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction). Le milieu réactionnel de 20 µL était composé de 2 µL de tampon de PCR 10 x ; 2 µL de dNTP (2 mM) ; 1,6 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mM) ; 0,2 µL de la Taq polymérase (5 U/µL) et 0,8 µL de chacun des deux (02) amorces (amorce sens (5'GAGTTTGATCMTGGCTCAG3' et amorce inverse 5'TACGGTTACCTTGTTACGAC3') ; 10,6 µl d'eau moléculaire et 2µl d'échantillon d'ADN. L'amplification quant à elle a été effectuée à l'aide d'un thermocycleur avec les conditions suivantes : 94 °C pendant 5 minutes pour une dénaturation initiale suivie de 35 cycles de dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, suivie ensuite d'une hybridation à 56 °C pendant 30 secondes et d'une élongation à 72 °C pendant une minute avec une extension finale à 72 °C pendant 5 minutes suivies d'une phase de conservation à 4 °C. La migration a été faite sur gel d'agarose à 0,6 % avec un agent intercalant fluorescent ayant une affinité non spécifique pour l'ADN de 5 µg/ml et un marqueur de poids moléculaire (DNA ladder small fragments - Eurogentec) à 100 Volts pendant 30 minutes et la visualisation des fragments obtenus après migration a été faite avec le Gel Doc EZ Imager BIO-RAD. Les produits PCR ont été soumis au séquençage après une étape de purification (Chong et al., 2017) au moyen du Kit Wizard (genomic DNA purification Kit Wizard®). Un mélange équimolaire de chaque produit et de l'amorce sens (forward) a été utilisé pour le séquençage par la méthode de SANGER.

## Analyses statistiques

Dans le logiciel SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), le calcul des moyennes a été effectué à l'aide de la Procédure Proc Means. Afin de comparer les différents aliments ciblés par rapport aux valeurs moyennes des paramètres microbiologiques considérés, une analyse descriptive a été réalisée. Une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée pour la comparaison de la variation du taux des paramètres microbiologiques d'une vendeuse à une autre et d'une école à une autre à l'aide de la procédure Proc GLM. Les données obtenues pour la FAMT, *Escherichia coli*, les staphylocoques et les anaérobies sulfite-réducteurs ont subi une transformation logarithmique afin de respecter les conditions d'application de l'analyse de la variance. Le test t de Student a été utilisé pour la comparaison deux à deux des moyennes.

## Résultats

### Qualité microbiologique des échantillons d'aliments et des échantillons de face palmaire des mains analysés

#### ➤ Échantillons d'aliments

Pour l'analyse microbiologique des aliments d'origine animale, un total de 100 échantillons à raison de 40 plats de poissons, 30 de saucisses et 30 d'œufs a été collecté (figure 1). L'analyse a révélé que tous les aliments étaient contaminés par la flore aérobie mésophile totale (FAMT) témoin de l'hygiène des procédés de fabrication avec une variation allant de 3,3 à 6,5 log<sub>10</sub> ufc/g pour les poissons ; de 3,5 à 6,6 log<sub>10</sub> ufc/g pour les œufs et de 4,6 à 6,5 log<sub>10</sub> ufc/g pour les saucisses. Les contaminations en *Escherichia coli*, en staphylocoques, en *Salmonella* et en anaérobies sulfite-réducteurs ont été aussi enregistrées avec des dénombrements différents. Pour les échantillons de face palmaire des mains, différences valeurs ont été également observées pour les trois types de microorganismes dénombrés en fonction de l'état de propreté de la face palmaire des mains.

#### • Qualité microbiologie des poissons

Les résultats de comptage des échantillons de poissons analysés en flore totale variaient entre 3,3 log<sub>10</sub> ufc/g et 6,5 log<sub>10</sub> ufc/g. Par ailleurs une différence significative au seuil de 5 % a été notée pour ce paramètre microbiologique entre les 3 différents types d'écoles. Les dénombrements en flore totale obtenus pour les échantillons de poissons prélevés dans les écoles primaires publiques à cantine (PS+C) 3,3 log<sub>10</sub> ufc/g sont inférieurs à ceux des PS-C et des PRS. En effet, les résultats de comptage élevés ont été observés au niveau des échantillons de poissons prélevés dans PS-C (6,5 log<sub>10</sub> ufc/g). En ce qui concerne les isolats présumés d'*Escherichia coli*, témoins d'une contamination fécale, ils ont été dénombrés dans tous les échantillons d'aliments analysés. Les dénombrements les plus élevés ont été obtenus pour les aliments provenant des PS-C dont 3,3 log<sub>10</sub> ufc/g. Une différence statistiquement significative au seuil de 5 % a été observée entre les dénombrements obtenus au niveau des trois types

d'école. Par ailleurs, les staphylocoques, les ASR et les salmonelles ont été aussi dénombrés ou recherchés dans les échantillons de poissons. Pour les staphylocoques on note qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les trois types d'écoles. Cependant les dénombrements les plus élevées  $3,7 \log_{10} \text{ ufc/g}$  ont été observées dans les échantillons prélevés dans les PRS. Les PS+C, quant à elles, ont enregistré les plus faibles comptages en staphylocoques. S'agissant des ASR, elles ont été dénombrées dans tous les échantillons d'aliments prélevés. Les dénombrements les plus élevées ( $4,1 \log_{10} \text{ ufc/g}$ ) ont été constatés pour les poissons prélevés dans les PRS avec une différence statistiquement significative au seuil de 5 % observée entre les trois types d'écoles. Les salmonelles quant à elles, ont été détectées dans quatre échantillons prélevés dont une dans PS+C et trois dans les PS-C (A, figure 3).

- **Qualité microbiologique des œufs**

Pour les œufs une différence significative au seuil de 5 % a été obtenue entre les écoles primaires privées (PRS) et les PS-C pour la flore totale. Les tendances sont telles que les dénombrements les plus élevées en flore totale  $6,6 \log_{10} \text{ ufc/g}$  sont observées au niveau des échantillons provenant des PRS et les plus faibles ont été enregistrées dans les écoles avec cantine. Pour ce qui est des résultats de comptage d'*E. coli*, une différence significative au seuil de 5 % a été également observée entre les PRS et les PS-C. Les dénombrements les plus élevés ont été constatés au niveau des échantillons d'œufs prélevés dans les PRS ( $3,1 \log_{10} \text{ ufc/g}$ ). Il a été aussi remarqué que seuls les échantillons d'aliments prélevés au niveau des PS-C sont en-dessous des critères microbiologiques. S'agissant des staphylocoques, une différence significative au seuil de 5 % entre les PS-C et les PRS a été observée avec les plus forts taux de comptage  $4,7 \log_{10} \text{ ufc/g}$  pour les PRS. Pour les ASR, aucune différence statistiquement significative n'a pas été observée au seuil de 5 %. Les forts taux de comptage  $2,1 \log_{10} \text{ ufc/g}$  sont observés dans les PRS. En ce qui concerne les salmonelles, elles ont été détectées dans 8 échantillons d'œufs à raison de cinq dans les PS-C et trois dans les PRS (B, figure 3).

- **Qualité microbiologique des saucisses**

Les mêmes tendances ont été observées pour les échantillons de saucisses avec une différence significative au seuil de 5 % entre les dénombrements en flore totale obtenus dans les PRS et PS-C qui variaient entre  $4,6$  et  $6,5 \log_{10} \text{ ufc/g}$ . Seuls les échantillons d'aliments collectés dans les PRS ont des dénombrements en flore totale supérieurs aux critères microbiologiques ( $6,5 \log_{10} \text{ ufc/g}$ ). En ce qui concerne *E. coli* les résultats de comptage étaient compris entre  $1,1$  et  $2,2 \log_{10} \text{ ufc/g}$  en l'absence de différence significative au seuil de 5 %. S'agissant des staphylocoques et des ASR les dénombrements variaient respectivement entre  $1,4$  et  $1,6 \log_{10} \text{ ufc/g}$ , et entre  $1,3$  et  $3,2 \log_{10} \text{ ufc/g}$ . Une différence statistiquement significative au seuil de 5 % a été notée entre les résultats de comptage des ASR tandis qu'aucune différence significative n'a été observée entre ceux des staphylocoques. Pour ce qui est des

salmonelles, elles ont été détectées dans cinq échantillons dont quatre dans les saucisses prélevées au niveau des PS-C et une détection dans les PRS (C, figure 3).

➤ **Échantillons des écouvillons des mains des opératrices**

Trois principaux germes ont été dénombrés sur les surfaces des mains écouvillonnées dont la flore totale, *Escherichia coli* et les staphylocoques. Une différence significative au seuil de 5 % entre les faces palmaires des opératrices d'une même école avant et après lavage d'une part et entre celles des opératrices des trois types d'écoles a été observée. Il a été constaté que les écouvillons prélevés sur des mains avant lavage ont été plus contaminés en flore totale ( $5,6 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$ ) que ceux après lavage ( $3,1 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$ ) dans les PS-C. Les charges obtenues avant lavage des faces palmaires dans les PS+C et dans les PRS ont été également plus élevées que celles obtenues après lavage des mains respectivement de  $3,5 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$  et  $2,9 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$  et de  $4,6 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$  et  $3,1 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$ . Les tendances similaires ont été constatées pour les écouvillons des mains avant et après lavage respectivement en *Escherichia coli* ( $2,3 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$  et  $1,7 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$ ), en staphylocoques ( $3,8 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$  et  $1,8 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$ ) pour les trois types d'écoles. Les plus faibles charges après lavage des mains des opératrices ont été observées dans les PS+C avec  $2,9 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$  pour la flore totale ;  $0,6 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$  pour *Escherichia coli* et  $0,5 \log_{10} \text{ ufc/cm}^2$  pour les staphylocoques (D, figure 3).

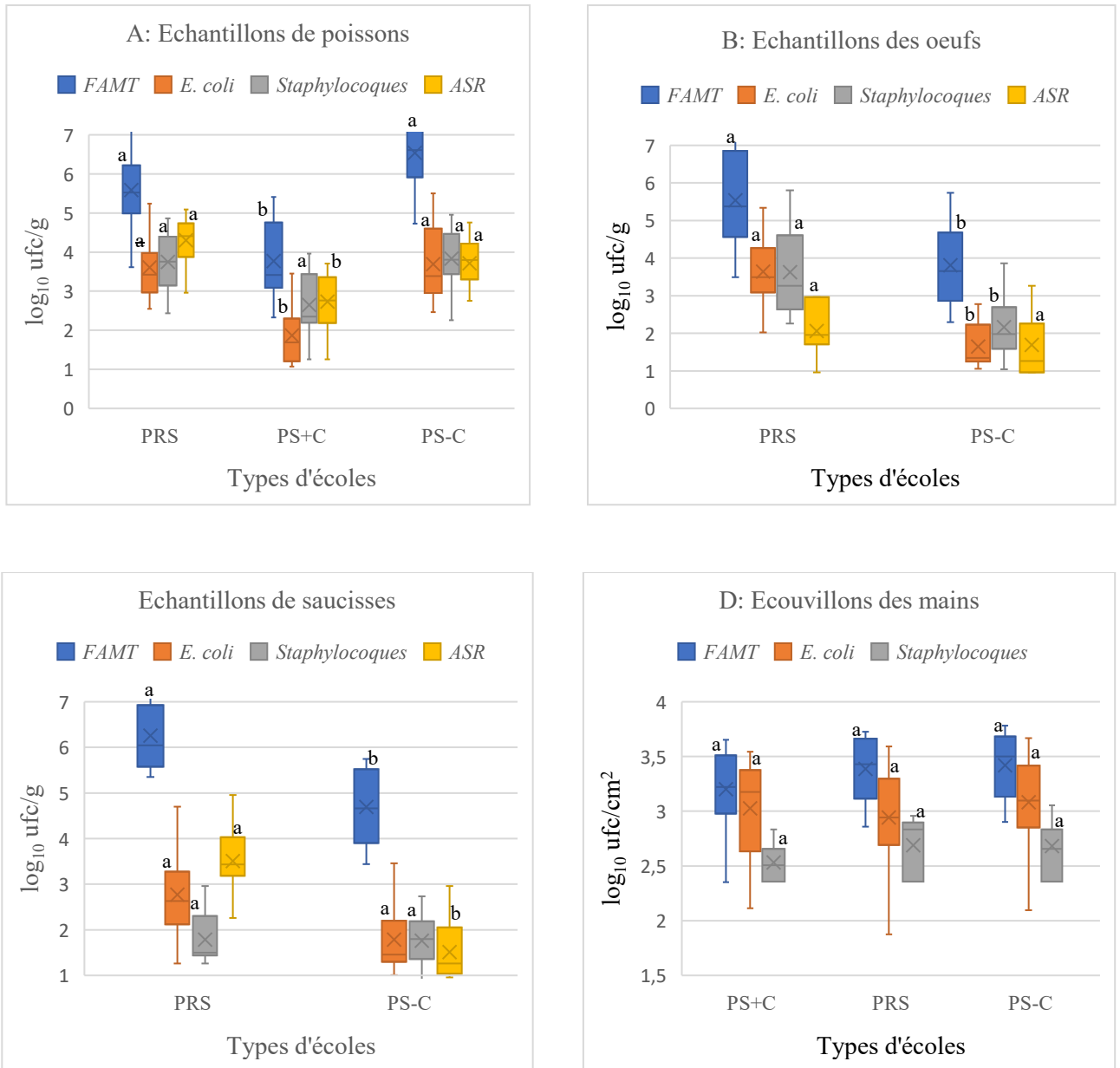


Figure 3 : Représentation graphique des résultats d'analyses microbiologiques des échantillons. Pour un paramètre donné, il n'y a pas de différence statistiquement significative au seuil de 5 % entre deux boîtes portant la même lettre, mais il y a une différence statistiquement significative entre les boîtes portant différentes lettres au seuil de 5 %.

### Caractéristique moléculaire des isolats et séquençage

L'analyse par PCR universelle 16S de 118 isolats, suivie du séquençage de l'ARNr 16S a confirmé la présence des souches d'*Escherichia coli* et de *Salmonella*. Les staphylocoques sont aussi présents. *Staphylococcus aureus* n'était pas présent dans les souches isolées (tableau 8).

**Tableau 9** : Bactéries identifiées par séquençage de l'ARNr 16S

Isolats	Code	Code séquençage	Germes espérés	Confirmation Ugene et NCBI
LPRS5	22	GS16-H147	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (97 %)
LPRS6	25	GS16-H148	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (97 %)
LSCP11	27	GS16-H149	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (97 %)
LSCS13	29	GS16-H150	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (97 %)
LSCS14	30	GS16-H151	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (97 %)
HACMA93	33	GS16-H152	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (96 %)
HPRMA99	34	GS16-H153	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (96 %)
CPRP148	46	GS16-H154	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (97 %)
CPRS150	55	GS16-H155	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (98 %)
CPRS151	68	GS16-H156	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (98 %)
CPRP45	75	GS21-F733	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus sp. (in:bacteria)</i> (93 %)
CPRP62	86	GS21-F734	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i> (97 %)
ASCP71	98	GS21-F735	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus sp.</i> (92 %)
HSCS77	103	GS21-F736	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> (91 %)
HSCS89	111	GS21-F737	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i> (93 %)
GPRP25	124	GS21-F772	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella enterica subsp.</i> (97 %)
BPRS33	133	GS21-F773	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella enterica</i> (98 %)
CSCP47	139	GS21-F774	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella enterica subsp.</i> (96 %)
GSCS58	141	GS21-F775	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella enterica subsp</i> (91 %)
LSCS63	156	GS21-F776	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella enterica subsp.</i> (97 %)

## Discussion

Les aliments d'origine animale sont d'une importance capitale dans l'alimentation humaine. Aussi faut-il que ces aliments soient propres à la consommation et ne constituent pas une source de maladie pour les consommateurs. De plus, la contamination microbienne des aliments est un problème majeur de longue date car les agents pathogènes d'origine alimentaire posent de sérieux soucis de santé publique à travers le monde. La présente étude a permis d'analyser sur le plan microbiologique des échantillons d'aliments d'origine animale et des mains des opératrices collectés en milieu scolaire. Cette analyse a révélé de fortes charges microbiennes.

Les charges microbiennes obtenues après le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale, témoin de l'hygiène des procédés, sur les aliments collectés dans les PS+C et PRS sont toutes inférieures aux critères définis par le règlement des aliments et drogues du Canada (6 log<sub>10</sub> ufc/g). Par contre, celles obtenues dans les PRS sont satisfaisantes car légèrement supérieures aux critères avec un taux de 40 %. L'investigation de ce paramètre microbiologique donne une idée de la contamination globale et de l'hygiène des produits alimentaires investigués selon Komagbe et al, 2019. Ces résultats confirment les constats faits lors de l'enquête sur les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication (BPH et BPF) qui a précédé cette étude pendant laquelle le non-respect des BPH et des BPF a été attesté, ce qui est confirmé par d'autres auteurs. Ce non-respect est caractérisé par l'inefficacité du lavage des mains, le

non-port de tablier par les opératrices au cours de la production des aliments et de la vente, un environnement de production insalubre, la gestion inadéquate des déchets ménagers ou le nettoyage irrégulier des surfaces, éléments qui ont été beaucoup plus observés dans les PS-C que dans les autres établissements (Okareh & Erhahon, 2015 ; Lee et al., 2017 ; Liu et al., 2018 ; Mihafu et al., 2020). Les résultats obtenus peuvent être également liés à une mauvaise qualité de la matière première ou des conditions dans lesquelles elles sont conservées (conditionnement, température, temps...). Ils sont cependant contraires à ceux de Komagbe et al. (2019) et Candoğan et al. (2021) pour qui respectivement 66,7 et 96,9 % des échantillons d'aliments analysés avaient des teneurs en FAMT supérieures à 6 log ufc/g les rendant ainsi non conformes aux critères. L'environnement de production peut aussi en être la cause. De plus l'enquête a révélé que les vendeuses surtout dans les PS-C mettent en vente le lendemain les restes des aliments produits la veille sans les avoir bien conservés. Cet élément peut aussi contribuer à expliquer les fortes charges en flore totale observées sur les aliments provenant de ces écoles (Osimani et al., 2015 ; Da Silva et al., 2018; Khattab et al., 2019).

Les fortes charges *Escherichia coli* dénombrées pour tous les échantillons d'aliments collectés au niveau des PRS et les poissons prélevés au niveau des PS-C ont engendré des non-conformités au regard des critères microbiologiques (2 log<sub>10</sub> ufc/g) en raison de leurs taux très élevés (100 % des échantillons). Les résultats de comptage observés étaient 3,3 log<sub>10</sub> ufc/g pour les échantillons de poissons collectés dans les PRS où les conditions d'hygiène de production d'aliments étaient inadéquates. Ce résultat est contraire à celui de Aguidissou et al. (2019) chez qui les échantillons de crabes fumés analysés avaient une contamination en *Escherichia coli* de 2 log<sub>10</sub> ufc/g. La contamination par *Escherichia coli* témoigne d'une source fécale et est le reflet de la qualité hygiénique non satisfaisante de ces aliments et des conditions d'hygiène insuffisantes lors de leur préparation (Mota et al., 2021). Les souches d'*E. coli* ont été retrouvés dans 38 % des échantillons. *Escherichia coli* est un hôte normal présent en grand nombre dans la flore intestinale de l'homme et des animaux (Bennani et al., 2016). Il est aussi considéré comme étant le meilleur indicateur de contamination fécale (Omebije et al., 2016 ; Lupindu, 2018). De ce fait, les fortes teneurs en *Escherichia coli* constatées peuvent être causées par les opératrices qui manipulaient ces aliments lors de leur préparation ou de leur vente, et qui soit ne se lavaient pas convenablement les mains soit ne se lavaient pas du tout les mains. Il peut y avoir aussi des contaminations croisées par les équipements mal entretenus. D'ailleurs il n'y avait pas de dispositif de lavage des mains adéquat dans les écoles. Les souches d'*Escherichia coli* pathogènes font partie des bactéries responsables de la grande majorité des épidémies de toxi-infections d'origine alimentaire collectives et de maladies d'origine alimentaire survenues sur le plan mondial surtout en Afrique subsaharienne (Chahed et al., 2006 ; Buisson et al., 2008 ; Raji et al., 2008 ; Montso et al., 2019). Certaines souches d'*Escherichia coli* étant souvent incriminées dans les épidémies de TIAC et de maladies d'origine alimentaires, une attention particulière a été accordée à cette bactérie dans la suite

de l'étude pour mieux la caractériser afin de savoir si les souches dénombrées possédaient des gènes de résistance qu'elles pourraient transmettre aux autres bactéries.

Les résultats d'analyses microbiologiques ont aussi révélé la présence des staphylocoques. La présence de ces microorganismes dans les aliments analysés peut résulter de la contamination par le personnel qui manipulait ces derniers. L'espèce redoutée dans ce groupe de microorganismes est *Staphylococcus aureus* (Lima et al., 2013 ; Gumbo et al., 2015). Cette bactérie à coagulase positive était absente de tous les échantillons analysés. Une éventuelle présence de cet agent pathogène dans les aliments conservés pendant une longue durée à la température ambiante peut conduire à la toxinogénèse (sécrétion des toxines staphylococciques) responsable des intoxications alimentaires souvent graves (Argudín et al., 2010; Fetsch et al., 2014; Puaah et al., 2018). En effet, une grande attention doit être accordée à la manipulation des aliments qui constitue une étape primordiale présentant de grandes opportunités de contaminations dans 80 à 90 % des cas (Abulreesh & Organji, 2011 ; Bennani et al., 2016). La présence des staphylocoques dans les aliments témoigne de l'insalubrité dans laquelle ils sont produits. Les souches à coagulase négative telles que *Staphylococcus xylosum* et *Staphylococcus cohnii* présentes dans les échantillons d'aliments d'origine animale et des surfaces font partie de la flore commensale cutanée donc d'origine animale et humaine et sont normalement sans danger pour les consommateurs. Ainsi leur présence dans les aliments constitue un indice supplémentaire qui plaide pour la contamination des aliments analysés par les opératrices, car la transmission de ces microorganismes est très souvent due à des manipulations manuelles à partir de réservoirs humains (Komagbe et al., 2019 ; Asiegbe et al., 2020).

Les colonies caractéristiques des bactéries anaérobies sulfite-réductrices (ASR) ont été trouvées dans 22 % des échantillons d'aliments analysés. Les souches pathogènes souvent évoquées dans les épidémies de TIAC sont *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens* (Chukwu et al., 2016; Owusu-Kwarteng et al., 2020; Pernu et al., 2020). La contamination par les bactéries du genre *Clostridium* sous la forme sporulée se produit souvent lors des manipulations au sol puisque ce sont des microorganismes communs à l'environnement (Grenda et al., 2017; Poortmans et al., 2022). Bennani et al. (2016) ont montré dans leurs études effectuées au Maroc sur des échantillons d'aliments et de surfaces que 47 % des manipulateurs dans les services alimentaires étaient porteurs de *C. perfringens* et que 13 % des souches isolées étaient entérotoxigènes. Les opératrices de cuisine porteurs de germes représentent donc de potentiels risques dans les cas d'épidémies de TIAC et de maladies d'origine alimentaires (Bhunja, 2018; Munir et al., 2023). Dans la présente étude, les colonies des bactéries anaérobies sulfite-réductrices dénombrées n'avaient pas fait l'objet d'analyses poussées pour leur caractérisation. Pour des raisons de sécurité alimentaire et de santé publique, des études portant sur la caractérisation de ce groupe de microorganismes à l'aide des méthodes de biologie moléculaire seront nécessaires pour mieux caractériser les souches présentes dans les échantillons étudiés. Aussi, il est capital de respecter les BPH et BPF dans les services alimentaires pour éviter le risque représenté par

les porteurs de germes (Micali, 2016 ; Maikanov et al., 2019 ; Milton et al., 2020 ; Mehdizadeh Gohari et al., 2021 ; Koukou et al., 2022 ; Hamad et al., 2023).

S'agissant de la recherche des salmonelles dans les échantillons d'aliments et de surfaces, les résultats ont révélé que 9 % des échantillons analysés étaient contaminés par cette catégorie de germes. *Salmonella* a pour hôte ou habitat naturel les intestins des animaux vertébrés et sa transmission à l'homme se fait souvent par la consommation d'aliments contaminés (Ashrafudoulla et al., 2021 ; Guo et al., 2022). Des études ont montré que les œufs constituaient l'une des principales sources des cas de salmonelloses humaines (Effler et al., 2001 ; Ghafir & Daube, 2007 ; Sakarikou et al., 2020). Les critères microbiologiques prévoient l'absence de *Salmonella* dans 25 g d'un aliment. Les échantillons concernés par la présence de cette bactérie étaient donc impropres à la consommation. Par ailleurs, les souches de *Salmonella* présentes dans les aliments semblaient être apportées par les opératrices, les surfaces dues à des contaminations croisées car les échantillons étaient des aliments cuits. Ainsi, la présence des salmonelles témoigne de l'insalubrité des aliments et des conditions d'hygiène de production inappropriées (Anderson et al., 2017 ; Lauteri et al., 2022). Les salmonelloses font partie des maladies d'origine alimentaire les plus redoutées en matière de sécurité sanitaire des aliments et surviennent souvent suite à la consommation des plats froids ou de crudités contaminés par viande ou poisson crus manipulés dans des conditions hygiéniques inadéquates (Zhao et al., 2021). Elles sont caractérisées par des gastro-entérites et des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes (Agregán et al., 2021 ; Raza et al., 2021). Les salmonelloses sont aussi appelées « maladie des mains sales » car ce sont des affections qui surviennent lorsque les mesures d'hygiène (lavage des mains surtout) ne sont pas respectées pendant les procédés de transformation des aliments. L'agent pathogène responsable peut, dans certains cas, être présent dans les intestins et est détruit dans les aliments à la cuisson à au moins 65 °C pendant 5 à 10 minutes (Gargano et al., 2021 ; Morasi et al., 2022).

Globalement les contaminations microbiennes élevées qui ont été observées pour les échantillons de mains analysés avaient eu des répercussions négatives sur la qualité microbiologique des aliments. Elles laissent supposer qu'elles sont causées par les opératrices de cuisine qui les avaient manipulés puisque les surfaces analysées étaient des écouvillons des mains avant et après lavage. Les opératrices n'utilisent pas les gants et servent les repas aux écoliers à mains nues. Ces résultats prouvent que le lavage des mains n'était pas du tout efficace et les ustensiles de cuisine de mauvaise qualité hygiénique. Sensibiliser les vendeuses d'aliments sur la nécessité de bien laver les mains lors de la manipulation des aliments après chaque contact avec les surfaces sales afin d'éviter leur contamination par les microorganismes pathogènes se révèle nécessaire et contribuerait à réduire les risques d'insécurité alimentaire et les problèmes de santé publique.

## Conclusion

Au Bénin, les aliments d'origine animale sont de plus en plus consommés en milieu scolaire. La sécurité sanitaire des aliments est un maillon important pour garantir la sécurité alimentaire des consommateurs. Il ressort de cette étude que le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène et de production observé en amont, en cours et en aval chez les opératrices impliqués dans la production et la vente des aliments d'origine animale dans la précédente étude a eu des répercussions fâcheuses sur la qualité microbiologique des aliments. En effet, l'évaluation de la qualité microbiologique des aliments a montré la présence dans ceux-ci des germes comme *Escherichia coli*, témoin d'une contamination fécale, des staphylocoques qui peuvent résulter d'une contamination par le personnel ayant manipulé les aliments et des salmonelles qui peuvent notamment avoir pour origine les mains sales des opératrices. La présence de ces bactéries permet de remettre en cause l'efficacité du lavage des mains en particulier et l'application des règles d'hygiène en général chez les opératrices qui produisent les aliments. Le point positif est que parmi les staphylocoques identifiés il a été noté l'absence de *Staphylococcus aureus* après la caractérisation moléculaire des souches suivi du séquençage. Au regard des critères microbiologiques, la présence des salmonelles dans les aliments (les œufs principalement) rend ceux-ci impropres à la consommation car ils peuvent entraîner des risques de toxi-infections d'origine alimentaire collectives chez les écoliers posant de sérieux problèmes de santé publique. Aussi cette étude doit être élargie aux autres départements que celui du Mono pour avoir une idée globale de la situation dans le pays.

Pour finir, une prise de conscience est nécessaire auprès des autorités en charge du contrôle de qualité des aliments pour répondre efficacement aux problèmes liés à la sécurité alimentaire afin de garantir des aliments sûrs aux consommateurs en général et aux écoliers en particulier. C'est pour cette raison que nous proposons les suggestions suivantes :

- une campagne de sensibilisation sur les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication au profit des opératrices impliqués dans la restauration collective dans les écoles et de l'alimentation de rue dans le Département du Mono pour prévenir les cas de TIAC dans les écoles primaires ;
- des contrôles réguliers et spontanés des restaurants et cantines scolaires sans avertir les opératrices pour s'assurer de l'application effective des bonnes pratiques d'hygiène lors la production et de la vente des aliments ;
- la responsabilisation des directeurs d'école pour le suivi de l'application effective des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication par les opératrices alimentaires dans les écoles ;
- une réorganisation du secteur de l'alimentation dans les écoles par l'installation des cantines scolaires dans toutes les écoles pour que n'importe qui ne s'élève pas un beau matin et décide de préparer des aliments à vendre aux écoliers ;

- la mise à disposition par l'Etat au profit des écoles des équipements de cuisine y compris les éviers de qualité (de préférence en acier inoxydable) pour éviter qu'ils soient rouillés et faciliter leur bon nettoyage ;
- l'obligation d'un carnet de santé à jour pour les opératrices de cuisine afin de garantir le contrôle régulier de leur état de santé.

Au regard des résultats obtenus et pour voir si les écoliers sont exposés aux risques de toxi-infections d'origine alimentaire collectives lorsqu'ils consomment des aliments contaminés dans le département du Mono, en perspectives il est prévu :

- de déterminer les gènes de virulence des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des surfaces ;
- d'étudier l'antibiorésistance des mêmes souches ;
- et d'évaluer les propriétés antibactériennes d'huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur les mêmes souches.

**Etude 3 : VIRULENCE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES D'*ESCHERICHIA COLI* ISOLEES DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE ET DES SURFACES DES MAINS DES OPERATRICES.**

## Résumé

La résistance aux antibiotiques des bactéries pathogènes est devenue un sujet de grande importance au niveau mondial. Elle impacte négativement la médecine humaine et vétérinaire posant ainsi de réels problèmes de santé publique. L'objectif de cette étude est de déterminer la résistance aux antibiotiques et la virulence des souches d'*Escherichia coli* isolées à partir des mains des opératrices ainsi que des aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire et dans le département du Mono au Bénin. Pour cela, une liste de 10 antibiotiques a été sélectionnée pour effectuer l'antibiogramme de 55 souches d'*Escherichia coli*. La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour la réalisation de l'antibiogramme. Ensuite, les gènes *eae*, *stx1* et *stx2* de facteurs de virulence ont été recherchés par PCR à l'aide d'amorces spécifiques dans les 55 isolats. Il ressort de cette étude que les isolats d'*Escherichia coli* ont montré des taux de résistance variables en fonction de l'antibiotique testé. Un total de 63,6 % ( $n = 35$ ) des isolats ont été multirésistants à au moins deux antibiotiques à la fois. La caractérisation moléculaire des gènes de virulence a montré la présence de *stx1* dans 16,4 % ( $n = 9$ ) des isolats testés. Les gènes de virulence *stx2* et *eae* étaient absents dans tous les isolats. Étant donné que les problèmes de résistance aux antibiotiques sont de plus en plus observés chez la plupart des bactéries pathogènes dont *Escherichia coli*, il s'avère indispensable d'étudier le réservoir de germes dans la flore commensale avec transfert potentiel des gènes de résistance aux autres bactéries et de rechercher des solutions alternatives afin d'empêcher la croissance des bactéries pathogènes après contamination des aliments pour une lutte efficace contre les toxi-infections d'origine alimentaire collectives causées par ces microorganismes.

**Mots clés :** antibiogramme, *Escherichia coli*, aliments d'origine animale, gène de virulence.

## Abstract

Antibiotic resistance in pathogenic bacteria has become an issue of major global importance, which has hurt human and veterinary medicine, causing real public health problems. This study aimed to determine the antibiotic resistance and virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from foods of animal origin sold in schools and from hand surfaces of food operators in the Mono department of Benin. For this purpose, a list of 10 antibiotics was selected for the antibiotic susceptibility test of 55 *Escherichia coli* strains. The disk diffusion method was used to perform the antibiotic susceptibility test. Virulence factors such as *stx1* and *stx2* were then searched by using their specific primers in the 55 isolates by PCR. This study showed that *Escherichia coli* isolates were resistant to ampicillin, tetracycline, and amoxicillin-clavulanic acid (64.82 %). Thus, the phenotype AMP-AMC-CEP was present in most of the predominant multidrug resistance (MDR). Molecular characterization of the virulence genes showed the presence of *stx1* in 16.4% (n=9) of the isolates tested. Virulence factors *stx2* and *eae* were absent in all isolates. Given that problems of antibiotic resistance are increasingly being observed in most pathogenic bacteria, including *Escherichia coli*, it is essential to explore alternative solutions to prevent the growth of pathogenic agents after food contamination, to effectively fight against collective foodborne infections caused by these pathogenic micro-organisms.

**Keywords:** antibiogram, *Escherichia coli*, foods of animal origin, virulence factors

## Introduction

Les toxi-infections d'origine alimentaire causées par *Escherichia coli* pathogène sont de plus en plus récurrentes dans le monde entier avec les formes diarrhéiques qui représentent les principaux cas d'hospitalisation en Afrique (Salamadane et al, 2022). En santé publique, la sécurité alimentaire est un domaine d'importance capitale et de grande préoccupation surtout quand les aliments d'origine animale sont manipulés dans un environnement hautement contaminé (Soriyi et al, 2008 ; Bahir et al, 2022). Dans les pays en développement, les établissements alimentaires tels que les restaurants de collectivité ou les cantines scolaires sont caractérisés par un déficit d'hygiène et de moyens financiers pour investir dans des équipements plus sûrs. A cela s'ajoute le manque d'éducation des opératrices de cuisine ainsi que les mauvaises pratiques de manipulation des aliments qui peuvent contribuer à l'augmentation significative de l'incidence des maladies d'origine alimentaire (Gurmu et Gebretinsae, 2013 ; Olasoju et al, 2021 ; Tuglo et al, 2021). *Escherichia coli* est une bactérie localisée dans le tube digestif de l'homme et des animaux spécialement dans la flore intestinale et peut survivre pendant 4 à 12 semaines dans l'eau. Pour cela, elle est utilisée comme indicateur pour déterminer la contamination d'origine fécale dans les aliments et l'eau de boisson (Kaper et al, 2004 ; Bhardwaj et al, 2013, Asadi et al, 2023). Dans les infections alimentaires dues à *Escherichia coli*, les formes pathogènes les plus rencontrées sont les *E. coli* entéropathogènes (EPEC), les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) et les *E. coli* à adhérence diffuse (Fathi et al, 2017 ; Komagbe et al, 2019 ; Karama et al, 2019 ; Ritcher et al, 2021). Au niveau zoonotique, un des agents les plus importants en termes de santé publique est constitué par les *E. coli* EHEC qui peuvent être transmis aux humains par la consommation d'aliments contaminés conduisant à des diarrhées sanglantes et à une mortalité élevée (Jaja et al, 2020 ; Geresu et al, 2021 ; Ajuwon et al, 2021). Cette bactérie est capable de produire un biofilm particulièrement résistant aux agents antimicrobiens (Asadi et al, 2023). Par ailleurs, l'utilisation inappropriée et abusive des antibiotiques a augmenté la résistance des bactéries aux agents antimicrobiens (Ochoa et al, 2007 ; Beyi et al, 2017). Des études ont montré la résistance et la multirésistance aux antibiotiques des *E. coli* EHEC isolées des aliments d'origine animale dans plusieurs restaurants de collectivité dans certains pays africains (Abdissa et al., 2017; Mohammed et al., 2014). Or dans le cas d'infection à EHEC, le traitement antibiotique est rarement préconisé car les souches résistantes d'*E. coli* sélectionnées par le traitement pourraient transférer leurs gènes de résistance à d'autres bactéries pathogènes (Havelaar et al., 2015; Iwu et al., 2021; Jaja et al., 2020; Sallam et al., 2014). L'objectif de cette étude a été de déterminer la résistance aux antibiotiques et certains gènes de virulence des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire et des surfaces dans le département du Mono au Bénin. Elle permettra de compléter les données déjà existantes, ce qui est nécessaire pour mieux sensibiliser les éleveurs, les médecins vétérinaires et ceux intervenant dans la médecine humaine pour une utilisation responsable des antibiotiques.

## Méthodes

### ❖ Définition, rôle et détermination des gènes de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* dans les souches d'*Escherichia coli*

#### • Définition et rôle des gènes de virulence *stx1*, *stx2* et *eae*

Les gènes *stx1*, *stx2* et *eae* sont des facteurs de virulence importants associés aux *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), un des sous-groupes des *E. coli* producteurs de shiga-toxines (STEC).

Ci-dessous un aperçu de leur rôle :

- *Stx1* (Shiga-toxine 1) : code pour la production d'une toxine proche de celle de *Shigella dysenteriae*. Elle intervient dans l'inhibition de la synthèse protéique des cellules hôtes, provoquant leur mort et contribuant aux lésions intestinales et aux complications systémiques.
- *Stx2* (Shiga-toxine 2) : souvent plus virulente que *stx1*, est une variante de la Shiga-toxine, fortement associée au syndrome hémolytique et urémique (SHU), une complication grave affectant les reins.
- *Eae* (gène de l'intimine) : code pour l'intimine, une protéine d'adhésion essentielle à l'attachement de la bactérie aux cellules intestinales. Ce gène est impliqué dans la formation des lésions dites "attaching and effacing" (A/E), caractéristiques des infections par EHEC et EPEC (Enteropathogenic *E. coli*).

La présence combinée de ces gènes augmente le pouvoir pathogène des souches, rendant les infections plus sévères, notamment en provoquant des diarrhées sanglantes et des complications rénales graves.

#### • Détermination des gènes de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* dans les échantillons d'*Escherichia coli*

Les gènes de facteurs de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* ont été recherchés dans 55 souches d'*Escherichia coli* à l'aide d'amorces spécifiques (tableau 1). Pour cela, une PCR classique a été réalisée dans l'unité de recherche en biologie moléculaire du Département des Sciences des Denrées alimentaires de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège dans les conditions décrites ci-après. Le mélange réactionnel était composé de 2 µL de tampon de PCR 10 x ; 2 µL de dNTP (2 mM) ; 1,6 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mM) ; 0,25 µL de la Taq polymérase (5 U/µL) et 0,75 µL de chacune des trois paires d'amorces spécifiques. L'amplification des gènes *stx1*, *stx2* et *eae* a été réalisée à travers une dénaturation initiale à 94 °C pendant 1 minute, suivie de 30 cycles à 94 °C pendant 30 secondes de dénaturation, à 58 °C pendant 30 secondes d'hybridation, à 68 °C d'élongation pendant 30 secondes. L'extension finale a été réalisée à 68 °C pendant 5 min et maintenue à 4 °C. Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,6 % avec un agent intercalant fluorescent ayant une affinité non spécifique pour l'ADN de 5 µg/ml, et un marqueur de poids moléculaire (DNA ladder

small fragments - eurogentec). La migration a été réalisée à une échelle de 100 V/cm pendant 30 minutes. Les bandes d'amplification ont été visualisées avec le Gel Doc EZ Imager BIO-RAD.

**Tableau 1** : Amorces de gènes de virulence recherchés

Gènes de virulence	Primer	Séquence (5' – 3')	Taille de l'amplicon (pb)	Sources
<i>stx1</i>	F	CGCTGAATGTCATTCGCTCTGC	302	Dougnon et al, 2021
	R	CGTGGTATAGCTACTGTCACC		
<i>stx2</i>	F	CCTCGGTATCCTATTCCCGG	516	Dougnon et al, 2021
	R	CTGCTGTGACAGTGACAAAACGC		
<i>eae</i>	F	ACCAGATCGTAACGGCTGCCT	499	Salamadane et al, 2022
	R	AGTTTGGGTTATAACGTCTTCATTG		

### Antibiogramme

Le test de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* a été effectué dans l'unité de recherche en Microbiologie des Aliments du Département des Sciences des Denrées alimentaires de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège pour déterminer leur profil de résistance par la méthode de diffusion sur disque (CLSI, 2022). Une suspension bactérienne  $10^8$  ufc/g à 0,5 McFarland a été préparée et incubée pendant 18 à 24h à partir de souches fraîchement remises en culture pendant 24 heures sur un milieu contenant de la gélose au sang. Ensuite 0,1 mL de l'inoculum a été prélevé et étalé en surface sur milieu MHA (Mueller Hinton agar) préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Les disques d'antibiotique ont été déposés à la surface des boîtes de Pétri à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes ont été incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C. Les disques d'antibiotiques (ampicilline (10 µg), amoxicilline-clavulamic acid (20/10 µg), aztréonam (30µg), cephalotin (30 µg), cefoxitin (30 µg), cefotaxime (30 µg), chloramphénicol (30 µg), ciprofloxacine (5 µg), gentamicine (10 µg) et tétracycline (30 µg)) ont été achetés chez Becton, Dickinson and Company (USA) (tableau 2). Les diamètres d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse numérique. Les résultats obtenus ont été utilisés pour classer les isolats en « résistant », « intermédiaire » ou « sensible » à un antibiotique particulier en utilisant les valeurs de référence de l'EUCAST (Turnidge & Abbott, 2022).

**Tableau 2 : Antibiotiques testés et leurs classes**

Antibiotiques	Classes
<b>Ampicillin (AMP) 10 µg</b>	Bêta lactamine
	Pénicilline groupe A
<b>Amoxicillin-clavulanic acid (AMC) 20/10 µg</b>	Bêta lactamine + Acide clavulanic
	Pénicilline groupe A
<b>Aztreonam (ATM) 30 µg</b>	Bêta lactamine
	Monobactame
<b>Cephalothin (CEP) 30 µg</b>	Bêta lactamine
	Céphalosporine 1 <sup>ère</sup> génération
<b>Cefoxitin (FOX) 30 µg</b>	Bêta lactamine
	Céphalosporine 2 <sup>ème</sup> génération
<b>Cefotaxime (CTX) 30 µg</b>	Bêta lactamine
	Céphalosporine 3 <sup>ème</sup> génération
<b>Chloramphenicol (CHL) 30 µg</b>	Phénocolé
<b>Ciprofloxacin (CIP) 5 µg</b>	Quinolone
<b>Gentamicin (GMN) 10 µg</b>	Aminoside
<b>Tetracycline (TET) 30 µg</b>	Tétracycline

Sources : (CASFM, 2013; Turnidge & Abbott, 2022)

**Tableau 3 : Diamètres d'inhibition de référence**

Antibiotiques	Diamètres d'inhibition de référence en mm	
	S ≥	R <
Amoxicilline	19	19
Ampicilline	19	19
Aztréonam	26	21
Céfotaxime	20	17
Céfoxitin	19	19
Chloramphénicol	17	17
Ciprofloxacine	25	22
Gentamicine	17	17
Tétracycline	-	-

Source : (Turnidge & Abbott, 2022)

## Analyses statistiques

Les diamètres d'inhibition obtenus après la réalisation de l'antibiogramme ont été enregistrés et encodés dans Excel (Microsoft Corporation). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel le SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Dans ce logiciel les analyses de statistiques descriptives telles que le calcul des fréquences, de pourcentages ou de proportions ont été calculées pour évaluer la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des mains (écouvillonnage des faces palmaires) des opératrices.

## Résultats

### Résistances aux antibiotiques et virulence des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des mains

#### Profil de résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des mains (écouvillonnages des faces palmaires) des opératrices aux antibiotiques

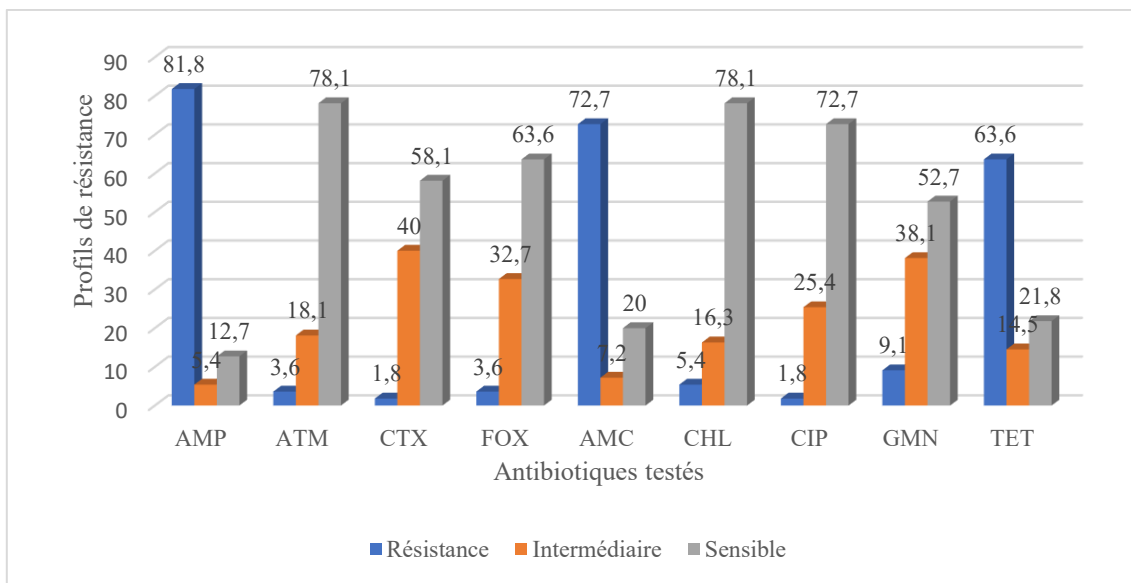
Les résultats obtenus pour tous les antibiotiques testés sur les souches de microorganismes sont représentés sur la figure 1. On peut observer que trois antibiotiques ont été fréquemment inefficaces sur les souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des mains. Il s'agit de l'ampicilline, de l'acide amoxicilline-acide clavulanique et de la tétracycline avec des taux de résistance respectivement de 81,8 % ( $n = 45$ ), 72,7 % ( $n = 40$ ), 63,6 % ( $n = 35$ ). Contrairement à ces agents antibactériens, les souches d'*E. coli* ont été plus souvent sensibles à l'aztréonam, au céfotaxime, à la céfoxitine, au chloramphénicol, à la ciprofloxacine et à la gentamicine respectivement dans les proportions suivantes : 78,2 % ( $n = 43$ ), 58,2 % ( $n = 32$ ), 63,6 % ( $n = 35$ ), 78,2 % ( $n = 43$ ), 72,7 % ( $n = 40$ ), 52,7 % ( $n = 29$ ).

#### Profil de multirésistance des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des mains des opératrices aux antibiotiques

Les multirésistances présentées par chaque isolat sont décrites dans le tableau 4. Sur les 55 isolats testés, 35 ont été isolés des aliments et 20 des mains. Il faut remarquer que plusieurs souches ont été multirésistantes à au moins deux antibiotiques. En effet, il a été constaté qu'environ 11,4 % ( $n = 4$ ) des souches isolées des aliments ont été multirésistantes à 5 antibiotiques par rapport à 10 % ( $n = 2$ ) de celles isolées des mains. De plus, 35,1 % ( $n = 13$ ) des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments ont été multirésistantes à 4 antibiotiques contrairement à 60 % ( $n = 12$ ) de celles isolées des mains. La multirésistance à 3 antibiotiques a été aussi constatée pour 20 % ( $n = 7$ ) des souches isolées des aliments et 5 % ( $n = 1$ ) de celles isolées des mains. Seulement 22,9 % ( $n = 8$ ) des isolats isolés des aliments et 5 % ( $n = 1$ ) de celles isolées des mains sont multirésistantes à deux antibiotiques.

**Profil des gènes de virulence des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des mains**

Les gènes de virulence détectés dans les souches d'*Escherichia coli* se présentent comme suit. La recherche des gènes de virulence sur un total de 55 souches d'*Escherichia coli* analysés a montré que *stx1* était présent dans 16,4 % ( $n = 9$ ) des isolats dont 20 % ( $n = 7$ ) des isolats des aliments et 10 % ( $n = 2$ ) de ceux isolés des surfaces. S'agissant des gènes de virulence *stx2* et *eae*, ils n'ont pas été présents dans tous les isolats analysés.



**Figure 1 :** Résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des surfaces palmaires AMP: Ampicilline ; ATM : Aztréonam ; CTX : Cefotaxime ; FOX : Cefoxitin ; AMC : Amoxicilline-clavulamic acid ; CHL : Chloramphénicol ; CIP : Ciprofloxacine ; GMN : Gentamicine ; TET : Tétracycline

**Tableau 4 :** Profil de multi-résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments et des mains

Type de résistance	Groupe d'antibiotiques	Nombre d'isolats	
		Aliments (n=35)	Mains (n=20)
Multi-résistance	AMP, AMC, CEP, GNM, TET	2 (5,7 %)	-
	AMP, AMC, CEP, CTX, TET	1 (2,9 %)	1 (5 %)
	AMP, AMC, CEP, FOX, TET	-	1 (5 %)
	AMP, AMC, CEP, CIP, TET	1 (2,9 %)	-
	AMP, AMC, CEP, TET	9 (25,7 %)	10 (50 %)
	AMP, AMC, FOX, TET	1 (2,9 %)	-
	AMP, CEP, GNM, TET	1 (2,9 %)	-
	AMP, AMC, CEP, CIP	-	1 (5 %)
	AMP, CEP, FOX, TET	1 (2,9 %)	1 (5 %)
	AMP, AMC, CEP, GNM	1 (2,9 %)	-
	AMP, AMC, CEP	3 (8,6 %)	4 (20 %)

AMC, CEP, TET	6 (17,1 %)	1 (5 %)
AMP, CEP, GNM	1 (2,9 %)	-
AMC, CEP	8 (22,9 %)	1 (5 %)

Avec AMP : Ampicilline ; ATM : Aztréonam ; CTX : Cefotaxime ; FOX : Cefoxitin ; AMC : Amoxicilline-clavulamic acid ; CHL : Chloramphénicol ; CIP : Ciprofloxacine ; GMN : Gentamicine ; TET : Tétracycline

## Discussion

Les toxi-infections d'origine alimentaire collectives (TIAC) sont d'une importance capitale en matière de sécurité sanitaire et de santé publique. La plupart des études effectuées sur la prévalence des TIAC ou des maladies d'origine alimentaire au Bénin s'est beaucoup plus limitée au dénombrement, à la recherche et à l'identification des microorganismes pathogènes responsables de ces maladies dans les aliments (Amente *et al.*, 2022; Sessou *et al.*, 2015). En Afrique, plusieurs études ont été rapportées sur la résistance aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolées des aliments, de l'eau, des échantillons animaux et humains (Onyeka *et al.*, 2021; Estaleva *et al.*, 2021; Salamadane *et al.*, 2022 ; Amin *et al.*, 2022 ; Abebe *et al.*, 2023). Au Bénin, les informations sur la résistance aux antibiotiques de cette bactérie isolée des aliments d'origine animale et des mains sont pratiquement inexistantes et les rares travaux de recherche effectués sont des études cliniques (Ahoyo *et al.*, 2010).

Cette étude sur l'antibiorésistance des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des surfaces a montré des fréquences élevées de résistance de la bactérie à trois principaux agents antimicrobiens testés à savoir l'ampicilline, l'amoxicilline - acide clavulanique et la tétracycline avec des fréquences comprises entre 60 et 90 %. Ces résultats sont semblables à ceux de Geresu *et al.* (2021) qui, dans leur étude sur les souches d'*Escherichia coli* O157 : H7 isolées des aliments d'origine animale vendus en restauration collective en Ethiopie, avaient observé la résistance de cette bactérie à ces trois antibiotiques dans les proportions variant entre 50 et 100 %. Par contre, nos résultats sont contraires à ceux de Komagbé *et al.* (2019) qui avaient constaté des résistances dont les fréquences étaient comprises entre 16 et 40 % pour des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments sur les campus de l'Université d'Abomey-Calavi au Bénin et à ceux de Salamadane *et al.* (2022) qui avaient des fréquences de résistance comprises entre 25 et 50 % pour des souches isolées de l'eau de boisson et des aliments de rue à Maputo au Mozambique. Dougnon *et al.* (2021) avaient obtenu une fréquence de résistance à l'amoxicilline - acide clavulanique estimée à 57,1 % pour la même bactérie dans leur étude effectuée sur les souches isolées des échantillons environnementaux et des produits alimentaires au Bénin. Ce résultat est différent à ce qui était obtenu dans cette étude pour le même antibiotique qui était de 72,7 %. Ces différentes fréquences de résistances observées peuvent être dues soit à une mutation génétique spontanée ou favorisée par l'exposition répétée aux antibiotiques des animaux et des humains par leur alimentation ou lors du traitement des maladies bactériennes. Cependant, parmi les souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments et des mains (écouvillonnages des surfaces palmaires) dans la

présente étude, il y en avaient qui étaient sensibles à l'aztréonam, à la céfotaxime, à la céfoxitine, au chloramphénicol, à la ciprofloxacine et à la gentamicine dans les proportions variant entre 50 et 80 %. Ces résultats sont proches de ceux de Shecho *et al.* (2017) qui avaient observé des sensibilités de 100 % pour la ciprofloxacine, la céfoxitine pour des souches isolées des produits carnés vendus au détail en Ethiopie ; et Geresu *et al.* (2021) pour qui les sensibilités de la bactérie à la tétracycline et au chloramphénicol étaient aussi de 100 % pour les souches isolées de la volaille, de la viande de bœuf collectées dans les abattoirs et des restaurants en Ethiopie. Contrairement à ces résultats, d'autres études ont montré que *Escherichia coli* était résistante au céfotaxime, à l'aztréonam, à la gentamicine, à la ciprofloxacine et au chloramphénicol (Adefisoye & Okoh, 2016; Pillay & Olaniran, 2016; Malema *et al.*, 2018; Diab *et al.*, 2021; Agbagwa *et al.*, 2022).

Par ailleurs, de forts taux de multirésistance d'*Escherichia coli* isolées des aliments et des mains ont été observés dans cette étude impliquant jusqu'à cinq antibiotiques à la fois. Les fréquences de multirésistance variaient entre 12 et 38 % pour les souches isolées des aliments d'origine animale et entre 5 et 60 % pour celles isolées des mains. Ces résultats sont en adéquation avec plusieurs études effectuées en Afrique dans lesquelles les fréquences de multirésistance de cette bactérie impliquaient au moins quatre antibiotiques dans à peu près les mêmes proportions (Ahoyo *et al.*, 2010 ; Adenipekun *et al.*, 2015; Karama *et al.*, 2019 ; Jaja *et al.*, 2020 ; Dougnon *et al.*, 2021; Salamadane *et al.*, 2022). La variation des fréquences de multirésistance de la bactérie dans les différentes études peut être liée à l'utilisation non maîtrisée des antibiotiques pour traiter les maladies d'origine alimentaire, de la dose et de la voie d'administration de l'antibiotique, de la présence des antibiotiques dans les additifs alimentaires, de la situation géographique des études, de la réponse immunitaire du patient traité et de la différence entre les antibiotiques testés (Chissaque *et al.*, 2018 ; Berendes *et al.*, 2019; Abebe *et al.*, 2023 ; Hounkpe *et al.*, 2023). Toutes ces formes de résistances d'*Escherichia coli* observées sont les vraies causes des échecs thérapeutiques rencontrés lors des traitements des maladies d'origine alimentaire causées par cette bactérie. Il est donc indispensable de procéder à l'identification précise des agents pathogènes en cause dans les cas de toxi-infections d'origine alimentaire avant de prescrire les antibiotiques pour leur traitement. Toute utilisation hasardeuse des antibiotiques doit être évitée.

En plus de la résistance de cette bactérie aux antibiotiques, les études portant sur la détermination des facteurs de virulence ont montré la présence de *stx1* dans 16,4 % des isolats. Les isolats possédant ce facteur de virulence peuvent donc contribuer à la production de vérocytotoxine caractéristique de la pathogénicité de la bactérie. Cette toxine est à la base du syndrome hémolytique urémique (SHU) causé par les VTEC. Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Dougnon *et al.* (2021) qui, dans leurs travaux portés sur les isolats dont *Escherichia coli* provenant d'aliments vendus dans les restaurants de collectivité et de l'environnement au sud du Bénin, n'avaient pas trouvé le facteur de virulence *stx1* dans leurs isolats. Cependant les résultats obtenus pour la recherche de ce facteur de virulence dans cette étude sont semblables à ceux de plusieurs auteurs qui ont aussi travaillé sur des

souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale, des échantillons animaux et humains (Ombarak et al., 2016 ; Fayemi et al., 2021; Madoroba et al., 2022 ; Jaja et al., 2020 ; Karama et al., 2019). Par contre, les facteurs de virulence tels que *stx2* et *eae* n'ont pas été retrouvés dans les isolats testés dans la présente étude. Ces résultats sont similaires à ceux de plusieurs auteurs qui ont travaillé sur la même bactérie isolée des aliments d'origine animale (Abong'o & Momba, 2008; Thonda et al., 2015; Omoruyi et al., 2018; Okechukwu et al., 2020).

Les échecs thérapeutiques rencontrés lors du traitement des toxi-infections d'origine alimentaire collectives et des maladies d'origine alimentaire causées par les bactéries possédant des facteurs de virulence et résistantes aux antibiotiques en général et *Escherichia coli* en particulier sont de plus en plus récurrents (Vaillant et al., 2012; Smith & Fazil, 2019 ; Racloz et al., 2020). Le profil épidémiologique de chaque épisode de toxi-infection d'origine alimentaire dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels le taux d'infection et le taux de mortalité. Le taux de mortalité dépend essentiellement des conditions dans lesquelles les malades sont pris en charge et surtout de la virulence du microorganisme pathogène incriminé (Moore et al., 2008; Dubois-Brissonnet et Guillier, 2020). La virulence des agents pathogènes est donc un paramètre très important à prendre en considération pour la gestion efficace et efficiente des cas de toxi-infections d'origine alimentaire collectives ou des maladies d'origine alimentaires (OMS, 2015 ; John-Onwe et al., 2022). Il faut aussi rappeler que le respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication dans les restaurants de collectivité font partie des mesures à prendre en amont pour éviter la survenue des épidémies de TIAC ou de maladies d'origine alimentaire. Par ailleurs des solutions alternatives aux traitements antibiotiques doivent être encouragées pour permettre davantage d'affiner les stratégies de lutte contre les maladies d'origine alimentaire.

## Conclusion

La résistance aux antibiotiques des bactéries pathogènes et leur virulence font partie des facteurs qui contribuent aux forts taux de mortalité observés dans les épidémies de toxi-infections d'origine alimentaire dans le monde en général et en Afrique en particulier. En Afrique subsaharienne en général et surtout au Bénin, plusieurs facteurs observés en amont sont à la base de la survenue des épidémies de toxi-infections d'origine alimentaire parmi lesquels le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication, la non-règlementation du secteur alimentaire y compris dans les secteurs de la restauration collective (dans les lieux comme les maisons de repos, les prisons, les services publics et les écoles), ainsi que le manque de contrôle de la qualité des aliments vendus. A ceux-ci s'ajoutent la résistance aux antibiotiques des bactéries qui font que les traitements thérapeutiques ne sont plus efficaces. La présente étude sur la résistance aux antibiotiques des bactéries a montré que les souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des mains dans les écoles primaires ont développé des multirésistances impliquant au moins deux antibiotiques. L'étude sur la détermination des gènes de virulence des mêmes

isolats a révélé la présence du facteur de virulence *stx1* dans 16,4 % des isolats testés. On peut conclure que la consommation des aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire présente des risques potentiels de toxi-infections d'origine alimentaire pouvant causer des préjudices graves en termes de santé publique. Pour éviter la survenue des TIAC dans les écoles, les autorités chargées de la sécurité sanitaire des aliments doivent :

- veiller au respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication dans les cantines scolaires et par les vendeuses d'aliments dans les écoles ;
- réglementer le secteur alimentaire dans les écoles ;
- assurer un contrôle de qualité régulier des aliments vendus.

Pour une meilleure gestion des épidémies de maladies d'origine alimentaires ou de TIAC tous les acteurs impliqués doivent efficacement jouer leur rôle. Pour cela, il faudrait que :

- les microbiologistes identifient clairement l'agent pathogène en cause en le caractérisant sur le plan moléculaire, en étudiant sa résistance aux antibiotiques et sa virulence ;
- les médecins se basent sur les résultats des études des microbiologistes avant de prescrire les antibiotiques nécessaires pour le traitement des infections qui nécessitent le recours aux antibiotiques, toutes choses qui permettraient d'éviter des échecs thérapeutiques.

Pour mieux prévenir et affiner les stratégies de lutte contre les éventuelles TIAC et les maladies d'origine alimentaire causées par *Escherichia coli* qui peuvent survenir dans les écoles primaires, en perspectives il est suggéré de :

- réaliser le séquençage du génome entier des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale vendus et des mains des opératrices dans les écoles primaires du département du Mono au Bénin pour identifier les gènes de résistance et virulence présents dans ces souches ;
- rechercher les solutions alternatives axées sur les huiles essentielles des plantes aromatiques qui sont reconnues pour leurs fortes propriétés bactériostatiques et bactéricides pour ralentir la multiplication des microorganismes pathogènes dans les aliments.

**Etude 4 :** EFFETS ANTIBACTERIENS DES HUILES  
ESSENTIELLES DE QUELQUES PLANTES AROMATIQUES SUR  
LES ISOLATS D'*ESCHERICHIA COLI*

## Résumé

L'étude de l'antibiorésistance et la virulence de souches d'*Escherichia coli* isolées d'aliments d'origine animale et de mains au Bénin a révélé la présence de souches résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques testés et du gène de virulence *stx1* dans certaines souches rendant ainsi possible la survenue de toxi-infections d'origine alimentaire (TIA). Les huiles essentielles des plantes aromatiques sont utiles pour ralentir ou empêcher la multiplication des bactéries pathogènes dans les aliments. La présente étude a été réalisée pour étudier les propriétés antibactériennes des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* (Clou de girofle), *Allium sativum* (Ail), *Pimenta racemosa* (bois d'Inde) et *Zingiber officinale* (Gingembre), des plantes aromatiques couramment utilisés en tant qu'épices dans l'art culinaire béninois. Pour cela, les quatre plantes ont été collectées après une identification botanique. Ensuite, les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger suivi d'une caractérisation par GC/SM et GC/FID pour identifier les composés chimiques qu'elles renferment. Les huiles caractérisées ont été testées sur les souches d'*Escherichia coli* par la méthode de diffusion sur disque à l'aide des disques stériles pour évaluer leur activité sur les isolats. Ensuite, des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides (CMB) ont été déterminées par le système Bioscreen C pour évaluer leurs propriétés bactériostatiques et bactéricides. L'étude a montré que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* était composée d'eugénol (80,2 %), d'eugényl acetate (14,5 %) et de caryophyllène (3,6 %). Celle de *Zingiber officinale* renfermait du citral (14,3 %), de l'eucalyptol (13,4 %), du camphène (12,3 %), du neral (10,0 %) et du bêta-phellandène (9,4 %), celle de l'*Allium sativum* était riche en diallyl trisulfide (26 %) mais contient aussi du méthyl allyl trisulfide (14,7 %), du diallyl disulfide (11,7 %) et du 1,2-dithiole (8,6 %). L'huile essentielle de *Pimenta racemosa* était composée d'eugénol (35,2 %), de bêta-myrcène (23,3 %), de 4-allylphenol (14,9 %) et de limonène (7,1 %). Ces molécules chimiques sont reconnues actives sur les bactéries. L'activité antibactérienne et la détermination des CMI et des CMB a révélé que toutes les huiles étaient actives sur les isolats avec des CMI comprises entre 0,25 et 1 µL/mL et des CMB comprises entre 1 et 2,5 µL/mL avec l'huile de l'*Allium sativum* étant donc la plus active sur les isolats testés. Un intérêt particulier doit être accordé à ces plantes pour encourager leur culture et l'extraction de leurs huiles essentielles afin qu'elles soient accessibles et disponibles pour leur utilisation en industries agroalimentaires. Les opératrices de cuisine des écoles doivent être aussi sensibilisées aux bienfaits de l'utilisation de ces épices lors de la préparation des aliments pour assurer la santé des écoliers.

**Mots clés :** huiles essentielles, activités bactériennes, *Escherichia coli*, aliments d'origine animale, école primaire

**Abstract**

A study of the antibiotic resistance and virulence of *Escherichia coli* strains isolated from foods of animal origin and from the hands revealed the presence of strains resistant and multi-resistant to the antibiotics tested and of the *stxI* virulence gene in certain strains, making it possible for foodborne disease to occur. Essential oils from aromatic plants are alternatives to antibiotics for preventing the multiplication of pathogenic bacteria in food. The present study was carried out to investigate the antibacterial properties of the essential oils of *Syzygium aromaticum*, *Allium sativum*, *Pimenta racemosa* and *Zingiber officinale*, aromatic plants that are commonly used in Beninese cooking as spices. The four plants were collected after botanical identification. The essential oils were then extracted by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus, followed by GC/MS and GC/FID characterization to identify the chemical compounds they contain. The characterized oils were tested on *Escherichia coli* isolates using the disk diffusion method with sterile disks to assess their antibacterial activity, followed by determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using the Bioscreen C system to assess their bacteriostatic and bactericidal properties. The study showed that the essential oil of *Syzygium aromaticum* is composed of eugenol (80.15 %), eugenyl acetate (14.49 %) and caryophyllene (3.61 %), that of *Zingiber officinale* contains citral (14.31 %), eucalyptol (13.35 %), camphene (12.29 %), neral (10.01 %) and beta-phellandrene (9, 38 %), *Allium sativum* is rich in diallyl trisulfide (26 %), methyl allyl trisulfide (14.74 %), diallyl disulfide (11.73 %) and 1,2-dithiole (8, 64 %) and that of *Pimenta racemosa* is made up of eugenol (35.15%), beta-myrcene (23.29 %), 4-allylphenol (14.91 %) and limonene (7.10 %). These chemical molecules are known to be active against bacteria. Antibacterial activity and the determination of MICs and BMCs revealed that all the oils were active on strains with MIC of between 0.25 and 1  $\mu\text{L}/\text{mL}$  and BMC of between 1 and 2.5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , with *Allium sativum* oil being the most active on the isolates tested. Special attention should be paid to these plants to encourage their cultivation and the extraction of their essential oils so that they are accessible and available for use in the food industry. School kitchen staff should also be made aware of the benefits of using these spices in food preparation, to ensure the health of schoolchildren.

**Keywords:** essential oils, bacterial activities, *Escherichia coli*, food of animal origin, primary school

## Introduction

Les aliments d'origine animale sont d'une grande importance dans l'alimentation humaine surtout chez les enfants qui en ont besoin pour leur croissance en raison de leur forte teneur en protéines (Iko Afe et al, 2020 ; Sonon et al, 2023). Les aliments d'origine animale consommés par les écoliers dans les écoles primaires sont produits et vendus dans de mauvaises conditions d'hygiène caractérisées par des équipements de cuisine mal nettoyés et mal entretenus, un environnement de production insalubre, un personnel non qualifié et qui ne maîtrise pas les normes en matière de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication dans les cuisines de collectivité (Doutoum et al, 2019 ; Serrem et al, 2021 ; Retmi et al, 2021 ; Hounkpe, et al., 2023). Lorsqu'ils sont manipulés, produits et vendus dans des conditions inadéquates les aliments d'origine animale peuvent être contaminés par des microorganismes pathogènes (Hanashiro et al, 2005). Parmi les bactéries qui contaminent les aliments on distingue *Escherichia coli* souvent responsable des maladies d'origine alimentaire rencontrées dans le monde en général et en Afrique en particulier (Okechukwu et al, 2020). La présence de cette bactérie dans les aliments pose donc de sérieux problèmes de santé publique. Les différentes formes pathogènes rencontrées pendant les toxi-infections d'origine alimentaire sont les *E. coli* enteropathogènes (EPEC), *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) et les *E. coli* à adhérence diffuse (Fathi et al, 2017 ; Komagbe et al, 2019 ; Karama et al, 2019 ; Ritcher et al, 2021). Dans les zoonoses, l'agent responsable est l'EHEC qui peut être transmis aux humains par la consommation d'aliments contaminés conduisant à des diarrhées sanglantes et une mortalité élevée (Jaja et al, 2020 ; Geresu et al, 2021 ; Ajuwon et al, 2021). Cette bactérie est capable de produire un biofilm hautement pathogène et particulièrement résistant aux agents antimicrobiens (Asadi et al, 2023). L'utilisation inappropriée et abusive des antibiotiques a augmenté la résistance des bactéries aux agents antimicrobiens (Beyi et al., 2017; Ochoa et al., 2007). Des études ont montré la résistance et la multirésistance aux antibiotiques des EHEC isolés des aliments d'origine animale dans plusieurs restaurants de collectivité dans certains pays africains (Mohammed et al, 2014 ; Abdissa et al, 2017). Les maladies d'origine alimentaire sont souvent associées à la résistance aux antibiotiques des bactéries dans les pays en développement (Ahmed et al, 2014 ; Havelaar et al, 2015 ; Iwu et al, 2016 ; Jaja et al, 2022). Face au développement des bactéries résistantes aux antibiotiques ces dernières années les chercheurs s'accordent sur l'utilisation des huiles essentielles en technologie alimentaire pour minimiser le niveau de contamination des aliments par les microorganismes pathogènes (Sessou et al, 2016). Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles de *Pimenta racemosa*, *Allium sativum*, *Zingiber officinale* et *Syzygium aromaticum* sont riches en composés volatiles qui leur confèrent de fortes propriétés antibactériennes (Aissani Fatine, 2015; Alitonou et al., 2012; Imane et al., 2020; Selles et al., 2020; Ayoub et al., 2022). Peu de chercheurs ont prouvé que les huiles essentielles peuvent être utilisées pour empêcher le développement des microorganismes dans les aliments. Cette étude vise donc à évaluer les propriétés antibactériennes des huiles de *Pimenta racemosa*, *Allium sativum*, *Zingiber officinale* et *Syzygium aromaticum* sur des souches d'*Escherichia coli* isolées de mains d'opératrices préparant les

aliments pour les écoliers et provenant d'aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire. Elle contribuera à la production de données scientifiques nécessaires pour faire des recommandations dans la lutte contre la propagation des *Escherichia coli* pathogènes résistants aux antibiotiques au Bénin et en Afrique par une lutte efficace et efficiente respectueuse de l'environnement.

## Matériels et méthodes

### Activités antibactériennes des huiles essentielles

Pour évaluer les activités antibactériennes des huiles essentielles sur des souches d'*Escherichia coli* quatre plantes aromatiques (essentiellement des épices) dont *Pimenta racemosa*, *Syzygium aromaticum*, *Allium sativum* et *Zingiber officinale* ont été identifiées suite à une enquête ethnobotanique (figure 1). Les huiles essentielles des épices ont été extraites par hydrodistillation à l'aide du Clevenger puis caractérisées par la chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).



*Syzygium aromaticum* (le clou de girofle)



*Zingiber officinale* (le gingembre)



*Allium sativum* (l'ail)



*Pimenta racemosa* (le laurier)

**Figure 1** : les plantes aromatiques étudiées (Hounkpè et al, 2022)

### **Extraction des huiles essentielles**

Cette extraction a été réalisée au laboratoire de Chimie de la Faculté Gembloux Agro-Bio Tech de l'Université de Liège. Une masse de 100 g de chaque plante séchée a été pesée et mise dans une fiole à fond rond à laquelle a été ajoutée 1,5 L d'eau pour éviter que le matériel végétal ne soit affecté négativement. L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger à plage d'ébullition de l'eau et sous pression atmosphérique a été réalisée pour l'optimisation des conditions d'extraction telles que le chauffage, temps d'extraction, capacité et rapport eau – matériau pendant 2 à 4 heures. Enfin les huiles essentielles ont été collectées et stockées au réfrigérateur (4 °C).

### **Analyse chimique des huiles essentielles**

La détermination de la composition chimique des huiles essentielles a été réalisée en prélevant 10 mg de chaque huile essentielle qui ont été dissoutes dans 5 mL d'éther diethyl et analysée par GC et GC/SM.

### **Chromatographie en phase gazeuse (GC-FID)**

Cette analyse a été effectuée au laboratoire de Chimie de Gembloux Agro-Bio Tech à l'aide d'un chromatographe équipé d'une flamme détectrice à ionisation (Thermo-Trace, Interscience, Belgique) composé d'une colonne capillaire optima-5-MS Accent d'Agilent (Belgique) (30 m de long, 0,25 mm de diamètre et 0,50  $\mu\text{m}$  d'épaisseur de film pour une résolution complète de 1,8-cinéole et de limonène co-elué avec un diluant en phase stationnaire). La température du four variait de 40 à 250 °C selon le programme suivant : 40 °C pour 3 min puis une programmation à 5 °C/min jusqu'à 250 °C avec une prise finale de 5 min à cette température. L'hélium (He) a été utilisé comme gaz porteur à un débit de 1,1 mL/min. Un injecteur en mode splitless a été utilisé et réglé à 280 °C. La température du détecteur (FID) était de 280 °C. Le fonctionnement du FID nécessitait de l'air comprimé à un débit de 350 mL/min et de l'hydrogène à 35 mL/min. Un gaz d'appoint (N<sub>2</sub>) a été utilisé avec un débit de 30 mL/min (Ndiaye et al, 2018).

### **Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM)**

Elle a été réalisée au laboratoire de Chimie de Gembloux Agro-Bio Tech. Les huiles essentielles ont été caractérisées par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM) pour déterminer leur composition en molécules chimiques. Le chromatographe en phase gazeuse (Agilent 6890-USA) composé d'un détecteur sélectif de masse MS (Agilent 5973 NETWORK) avec impact électronique (70 eV) a été utilisé. Les températures quadripolaires utilisées ont été respectivement de 280 et 150 °C avec une plage de masse balayée fixée à 35-350 UMA. La même colonne que celle du GC-FID a été utilisée. Au niveau du four,

la température a été programmée comme suit : isotherme de 5 min à 40 °C ensuite une progression de 8 °C/min jusqu'à 280 °C et une prise finale de 5 min à 280 °C. L'injecteur en mode splitless utilisé, était à 240 °C puis une injection de 1 µL de chaque échantillon. De l'hélium a été également utilisé comme gaz porteur à un débit constant de 1,1 mL/min. Les composés ont été identifiés à l'aide des données de la bibliothèque informatique (Wiley 275L) connecté au GC-MS. Les indices de rétention des composés ont été calculés à l'aide de la rétention temps des n-alcane (C7-C30) et comparés à ceux de la littérature. Les composés identifiés ont été confirmés en comparant les données de rétention enregistrées avec celles de composés étalons purs tels que le  $\alpha$ -pinène (268 070), le  $\beta$ -pinène (402 753) myrcène (64 643),  $\alpha$ -phalloendène (W285609), p-cymène (C121452), limonène (62 118), 1,8-cinéole (C80601)  $\alpha$ -terpinolène (586 485),  $\gamma$ -terpinène (86 478), bornéol (15 598), linalol (L2602),  $\alpha$ -terpinéol (30 627), terpinène-4-ol (86 477) et  $\beta$ -cariophilène (W225207) de SIGMA ALDRICH (Boornem, Belgique) injecté dans les mêmes conditions (Ndiaye et al., 2018).

### Activités antibactériennes des huiles essentielles (HE)

Après extraction et détermination des composés chimiques des huiles essentielles, les activités antimicrobiennes ont été évaluées dans l'unité de recherche de Microbiologie des Aliments du Département des Sciences des Denrées alimentaires de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège par la méthode de diffusion sur disque à l'aide des disques en papier stérile (figure 2) afin de déterminer l'efficacité des HE sur les bactéries isolées des aliments et surfaces des mains suivant la méthode de (Mith et al., 2015). En effet, les HE ont été diluées avec de l'éthanol comme suit : 1, 1/1, 1/10, 1/20 et 1/40 (v/v). Les disques en papier stériles de 6 mm de diamètre (Biomérieux, Marcy-l'Etoile, France), ont été respectivement imbibés dans 20 µL de chaque dilution d'HE puis déposés dans des boîtes de Pétri contenant au préalable du milieu Mueller-Hinton agar (MHA, Oxoid, Badhoevedorp, Pays-Bas), et ensemencées de 200 µL de  $10^6$  ufc/mL correspondant à 0,5 McFarland d'une suspension bactérienne d'*Escherichia coli*. Toutes les boîtes de Pétri ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition en millimètres ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et les moyennes calculées pour évaluer les activités antibactériennes des HE (Mith et al, 2015).

### Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides

Après l'évaluation des activités antimicrobiennes des HE par la méthode de diffusion sur disque en papier stérile, la détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides a été effectuée dans l'unité de recherche de Microbiologie des Aliments du Département des Sciences des Denrées alimentaires de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège par la méthode de microdilution de bouillon à l'aide du système Bioscreen C (Oy Growth Curves Ab Ltd., Helsinki, Finland) pendant 24 heures à 37 °C suivant la méthode décrite par (Antonić et al., 2020; Si et al.,

2006). Une colonie fraîche (overnight) de chaque souche (une *stx1* et une souche sans *stx1*) a été prélevée et déposée dans un tube contenant 5 mL de BHI pour obtenir une suspension bactérienne à  $10^8$  ufc/mL. Cette suspension bactérienne a été ajustée au moyen de dilutions pour obtenir une suspension bactérienne à  $10^6$  ufc/mL. L'HE de chaque plante a été dissoute dans 50 % d'éthanol (v/v). Des dilutions suivant les concentrations de 0,125 – 5  $\mu$ L/mL des HE ont été préparées. Chaque concentration obtenue a été mélangée à 100  $\mu$ L de suspension bactérienne dans chacun des puits d'une microplaque de 100 puits en triplicate (trois répétitions). Ensuite la microplaque a été incubée dans le système Bioscreen C (Oy Growth Curves Ab Ltd., Helsinki, Finland) pendant 24 heures à 37 °C. Le témoin négatif était le BHI alors que de l'ampicilline a été utilisée comme témoin positif. La croissance bactérienne a été mesurée grâce à la mesure de la densité optique à la longueur d'onde de 600 nm. La valeur de la CMI a été définie comme étant la plus faible concentration des huiles essentielles à laquelle il y a eu inhibition de la croissance de *Escherichia coli*. Pour déterminer les CMB, les puits ayant montré une inhibition de la croissance bactérienne ont été repiqués sur des boîtes de Pétri contenant au préalable du milieu PCA et incubées pendant 24 heures à 37 °C. Les valeurs des CMB ont été définies comme les plus faibles concentrations où il y a eu au moins 99,9 % de réduction de la croissance bactérienne (Antonić et al., 2020; Si et al., 2006).

### Analyses statistiques

Dans le logiciel SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), le calcul des moyennes a été effectué à l'aide de la Procédure Proc Means. Afin de comparer les différentes huiles étudiées par rapport aux valeurs moyennes des diamètres d'inhibition, une analyse descriptive a été réalisée. Une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée pour la comparaison de la variation des diamètres d'inhibition d'une huile sur la souche testée à une autre à l'aide de la procédure Proc GLM. Le test t de Student a été utilisé pour la comparaison deux à deux des moyennes.

## Résultats

### Composition chimique des huiles essentielles des plantes étudiées

Les résultats obtenus pour l'huile essentielle de chaque plante sont repris dans les tableaux 1 à 4.

#### *Syzygium aromaticum* (le clou de girofle)

Le tableau 1 décrit les résultats obtenus après la caractérisation de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*. La description de ce tableau a révélé la présence dans cette huile de neuf molécules chimiques majoritaires et minoritaires. Les molécules chimiques majoritaires étaient l'eugénol (80,1 %), l'eugényl acetate (14,4 %) et le caryophyllène (3,6 %). Les composés minoritaires

sont constitués de l'humulene (0,5 %), du caryophyllene oxide (0,3 %), du méthyl salicylate (0,3 %), de l'isoeugénol (0,3 %), du copaene (0,1 %) et du 2-heptanol, acétate (0,1 %).

### ***Zingiber officinale* (le gingembre)**

La composition chimique de l'huile essentielle du gingembre est reportée dans le tableau 2. Il a été constaté que cette huile essentielle renfermait un total de trente-deux composés chimiques. Nous avons remarqué parmi les trente-deux composés, des molécules chimiques majoritaires telles que : le citral (14,3 %), l'eucalyptol (13,3 %), le camphène (12,2 %), le neral (10,1 %), le bêta-phellandrène (9,3 %), l'endo-bornéol (6,5 %), l'alpha-pinène (3,7 %), l'alpha-curcumène (3,3 %), l'alpha-terpinéol (3,3 %), l'alpha-zingiberène (2,7 %), le bêta-sequiphellandrène (2,5 %), le 5-hepten-2-one, 6-methyl- (2,2 %), le bêta-myrcène (2,1 %), le linalool (1,8 %), le citronellol (1,2 %), le bêta-bisabolène (1,2 %) et le géraniol (1,2 %). On y retrouve aussi des composés minoritaires dont le 2-heptanol (0,4 %), le bêta-pinène (0,5 %), l'alpha-phellandrène (0,5 %), le bornanone (0,7 %), l'alpha-elemol (0,8 %).

### ***Allium sativum* (l'ail)**

La caractérisation de l'huile essentielle de l'ail a révélé la présence de vingt-six composés chimiques décrits dans le tableau 3. Cette huile est riche en composés chimiques majoritaires tels que : le diallyl trisulfide (26 %), le méthyl allyl trisulfide (14,7 %), le diallyl disulfide (11,7 %), le 1,2-dithiole (8,6 %), le 4H-1,2,3-trithiine (5,9 %), l'allyl méthyl sulfide (5,3 %), le 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene (4,1 %) et le vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene (3,4 %). Cette huile renferme aussi des molécules chimiques minoritaires dont le diméthylsulfide (0,14 %), le 2,4-diméthylfuran (0,2 %), le méthyl propyl trisulfide (0,2 %), le 4-méthyl-1,2,3-trithiolane (0,3 %).

### ***Pimenta racemosa* (le laurier)**

Comme pour l'huile essentielle de l'*Allium sativum*, celle de *Pimenta racemosa* contient 26 molécules chimiques décrites dans le tableau 4. Parmi ces molécules, on y retrouve des substances chimiques majoritaires et minoritaires. Comme molécules chimiques majoritaires nous avons l'eugénol (35,1 %), le bêta-myrcène (23,2 %), le 4-allylphenol (14,9 %) et le limonène (7,1 %). Les composés minoritaires présents dans cette huile sont, entre autres, le bêta-pinène (0,1 %), le bêta-thujène (0,2 %), l'alpha-terpinène (0,5 %), le gamma-terpinène (0,5 %), le terpinolène (0,6 %), le delta-cadinène (0,6%) et le cymène (0,7 %).

**Tableau 1** : Composition chimique des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum*

Peak	R.T.	Name	Area	Pct Total
1	11,244	2-heptanol, acetate	758951	0,09
2	15,116	Methyl salicylate	2795761	0,33
3	19,133	Eugenol	669331146	80,15

4	19,358	Copaene	882811	0,11
5	20,32	Caryophyllene	30182228	3,61
6	20,86	Isoeugenol	2632789	0,32
7	21,016	Humulene	4404764	0,53
8	22,486	Eugenyl acetate	120963632	14,49
9	23,647	Caryophyllene oxide	3119474	0,37
			835071556	

---

Avec RT : temps de rétention

**Tableau 2** : Composition chimique des huiles essentielles de *Zingiber officinale*

Peak	R.T.	Name	Area	Pct Total
1	7,542	2-heptanol	2527237	0,47
2	8,414	Alpha-pinene	19937156	3,72
3	8,81	Camphene	65819498	12,29
4	9,532	Beta-pinene	2988559	0,56
5	9,81	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	12031512	2,25
6	9,917	Beta-myrcene	11555045	2,16
7	10,259	Alpha-phellandrene	3094171	0,58
8	10,805	Cymene	2075519	0,39
9	10,928	Beta-phellandrene	50200473	9,38
10	10,992	Eucalyptol	71494053	13,35
11	12,447	Terpinolene	2186300	0,41
12	12,725	Linalool	10055971	1,88
13	13,886	2-Bornanone	3928069	0,73
14	13,977	Camphene hydrate	1764451	0,33
15	14,068	Citronellal	2239839	0,42
16	14,426	Endo-borneol	35038124	6,54
17	14,693	Terpinen-4-ol	2955991	0,55
18	15,02	Alpha-terpineol	18004742	3,36

19	15,886	Citronellol	6893061	1,29
20	16,239	Neral	53601750	10,01
21	16,501	Geraniol	6599445	1,23
22	16,94	Citral	76605011	14,31
23	17,282	Bornyl acetate	1324598	0,25
24	21,54	Alpha-curcumene	18048904	3,37
25	21,791	Alpha-zingiberene	14542902	2,72
26	22,005	Alpha-farnesene	5487239	1,02
27	22,058	Beta-bisabolene	6851626	1,28
28	22,379	Beta-sequiphellandrene	13892159	2,59
29	22,903	Alpha-elemol	4318461	0,81
30	23,112	Nerolidol	2343153	0,44
31	24,128	Zingiberenol	3326653	0,62
32	24,904	Beta-eudesmol	3657519	0,68
			535389191	

Avec RT : temps de rétention

**Tableau 3** : Composition chimique des huiles essentielles d'*Allium sativum*

Peak	R.T.	Name	Area	Pct Total
1	4,146	Dimethyldisulfide	1336333	0,14
2	4,248	2,4-dimethylfuran	1870525	0,19
3	6,499	Diallyl sulfide	8089551	0,83
4	7,96	Allyl methyl sulfide	52291436	5,37
5	8,318	(Z)-1-propenyl methyl disulfide	2165752	0,22
6	8,553	(E)-1-propenyl methyl disulfide	3160760	0,32
7	9,002	1,2-Dithiole	84217970	8,64
8	9,345	Dimethyl trisulfide	23750653	2,44
9	11,623	3-methyl-1,2-dithiole	3961373	0,41
10	12,287	Diallyl disulfide	114258593	11,73
11	12,613	(Z)-allyl 1-propenyl disulfide	15793021	1,62

12	12,773	(E)-allyl 1-propenyl disulfide	21866800	2,24
13	13,811	Methyl allyl trisulfide	143651318	14,74
14	14,046	Methyl propyl trisulfide	2122876	0,22
15	14,11	4-Methyl-1,2,3-trithiolane	3545029	0,36
16	14,292	(Z)-1-propenyl methyl trisulfide	1064049	0,11
17	14,421	(E)-1-propenyl methyl trisulfide	1298700	0,13
18	14,961	3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene	40536901	4,16
19	15,255	4H-1,2,3-Trithiine	58070882	5,96
20	15,576	3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene	33744544	3,46
21	15,667	Dimethyl tetrasulfide	2289134	0,23
22	17,758	Diallyl trisulfide	253314693	26,00
23	17,929	Allyl propyl trisulfide	6279195	0,64
24	19,122	5-Methyl-1,2,3,4-tetrathiane	55339254	5,68
25	19,497	3H-1,2-dithiole-3-thione	12069392	1,24
26	22,775	1,2-Dithiolane	28198733	2,89
			974287467	

Avec RT : temps de rétention

**Tableau 4 :** Composition chimique des huiles essentielles de *Pimenta racemosa*

Peak	R.T.	Name	Area	Pct Total
1	8,232	Beta-thujene	2030453	0,17
2	8,403	Alpha-pinene	14182013	1,16
3	9,527	Beta-pinene	1722633	0,14
4	9,644	1-Octen-3-ol	25823564	2,12
5	10,04	Beta-myrcene	284214946	23,29
6	10,302	Alpha-phellandrene	25538453	2,09
7	10,591	Alpha-terpinene	6416862	0,53
8	10,805	Cymene	9565637	0,78
9	10,949	Limonene	86706355	7,10
10	10,998	Eucalyptol	21875032	1,79
11	11,409	Beta-ocimene	16518570	1,35
12	11,688	Gamma-terpinene	6641395	0,54

13	12,447	Terpinolene	8200511	0,67
14	12,747	Linalool	31621727	2,59
15	13,03	1-octen-3-yl acetate	1015250	0,08
16	14,693	Terpinen-4-ol	13661693	1,12
17	15,02	Alpha-terpineol	13386310	1,10
18	15,335	Decanal	6594236	0,54
19	16,566	4-Allylphenol	182000396	14,91
20	19,234	Eugenol	428952903	35,15
21	20,326	Caryophyllene	9475691	0,78
22	21,026	Humulene	3783206	0,31
23	21,465	Gamma-muurolene	4895057	0,40
24	22,01	Alpha-farnesene	4944558	0,41
25	22,401	Delta-cadinene	7148378	0,59
26	24,958	Alpha-cadinol	3474786	0,28
			1220390615	

---

**Avec RT :** temps de rétention

### Activités antibactériennes des huiles essentielles sur les souches d'*Escherichia coli*

Après la détermination de la composition chimique des huiles essentielles, leurs propriétés bactériostatiques et bactéricides ont été évaluées sur des isolats d'*Escherichia coli*. Deux catégories de souches bactériennes ont servi à cet effet. Il s'agissait des souches possédant le gène de virulence *stxI* et des souches sans *stxI*. Les résultats ont révélé que toutes les huiles essentielles étudiées ont agi efficacement sur toutes les souches bactériennes. Les diamètres d'inhibition obtenus pour chaque huile essentielle en fonction de leur taux de dilutions sont décrits dans les tableaux 5 et 6. De ces tableaux il ressort que l'activité bactériostatique ou bactéricide des huiles essentielles dépend de leur concentration. Les valeurs des diamètres d'inhibition variaient de  $0,6 \pm 0$  cm à  $2,5 \pm 0,2$  cm pour toutes les huiles essentielles sur les souches testées. Les grands diamètres d'inhibition synonymes d'une bonne activité bactériostatique de l'huile essentielle sur les souches étaient pour l'*Allium sativum*  $2,2 \pm 0,1$  cm et  $2,5 \pm 0,2$ . L'huile essentielle de l'*Allium sativum* s'est significativement distinguée des autres huiles en termes de diamètres d'inhibition. Les huiles de *Syzygium aromaticum*, de *Zingiber officinal* et de *Pimenta racemosa* n'ont pas montré de différences significatives entre elles.

**Tableau 5 :** Activités antibactériennes des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et de *Zingiber officinale* sur les souches de *Escherichia coli*

	Concentrat ions (v/v)	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Allium sativum</i>	<i>Pimenta racemosa</i>
<i>E. coli</i> sans <i>stx1</i> (diamètre d'inhibition en cm, n=10)	1	1,2 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,18 ± 0,09 <sup>a</sup>
	1/1	0,96 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,80 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,95 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,97 ± 0,09 <sup>a</sup>
	1/10	0,75 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,75 ± 0,04 <sup>a</sup>
	1/20	0,7 ± 0 <sup>a</sup>	0,7 ± 0 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,21 <sup>b</sup>	0,7 ± 0 <sup>a</sup>
	1/40	0,7 ± 0 <sup>a</sup>	0,6 ± 0 <sup>a</sup>	1 ± 0,13 <sup>b</sup>	0,6 ± 0 <sup>a</sup>

Avec : n : le nombre de souches testées, NS : non significative, \* : p<0,05. Les moyennes de la même ligne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % et les moyennes de la même ligne suivies de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5 %.

**Tableau 6 :** Activités antibactériennes des huiles essentielles d'*Allium sativum* et de *Pimenta racemosa* sur les souches d'*Escherichia coli*

	Concentrations (v/v)	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Allium sativum</i>	<i>Pimenta racemosa</i>
<i>E. coli</i> avec <i>stx1</i> (diamètre d'inhibition en cm, n=10)	1	1,27 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,13 <sup>a</sup>	2,58 ± 0,20 <sup>b</sup>	1,30 ± 0,07 <sup>a</sup>
	1/1	0,98 ± 0,13 <sup>a</sup>	1,02 ± 0,13 <sup>a</sup>	2,19 ± 0,13 <sup>b</sup>	1,03 ± 0,02 <sup>a</sup>
	1/10	0,77 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,81 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,86 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,79 ± 0,06 <sup>a</sup>
	1/20	0,7 ± 0 <sup>a</sup>	0,7 ± 0 <sup>a</sup>	1,54 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,7 ± 0 <sup>a</sup>
	1/40	0,7 ± 0 <sup>a</sup>	0,6 ± 0 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,6 ± 0 <sup>a</sup>

Avec : n : le nombre de souches testées, NS : non significative, \* : p<0,05. Les moyennes de la même ligne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % et les moyennes de la même ligne suivies de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5 %.

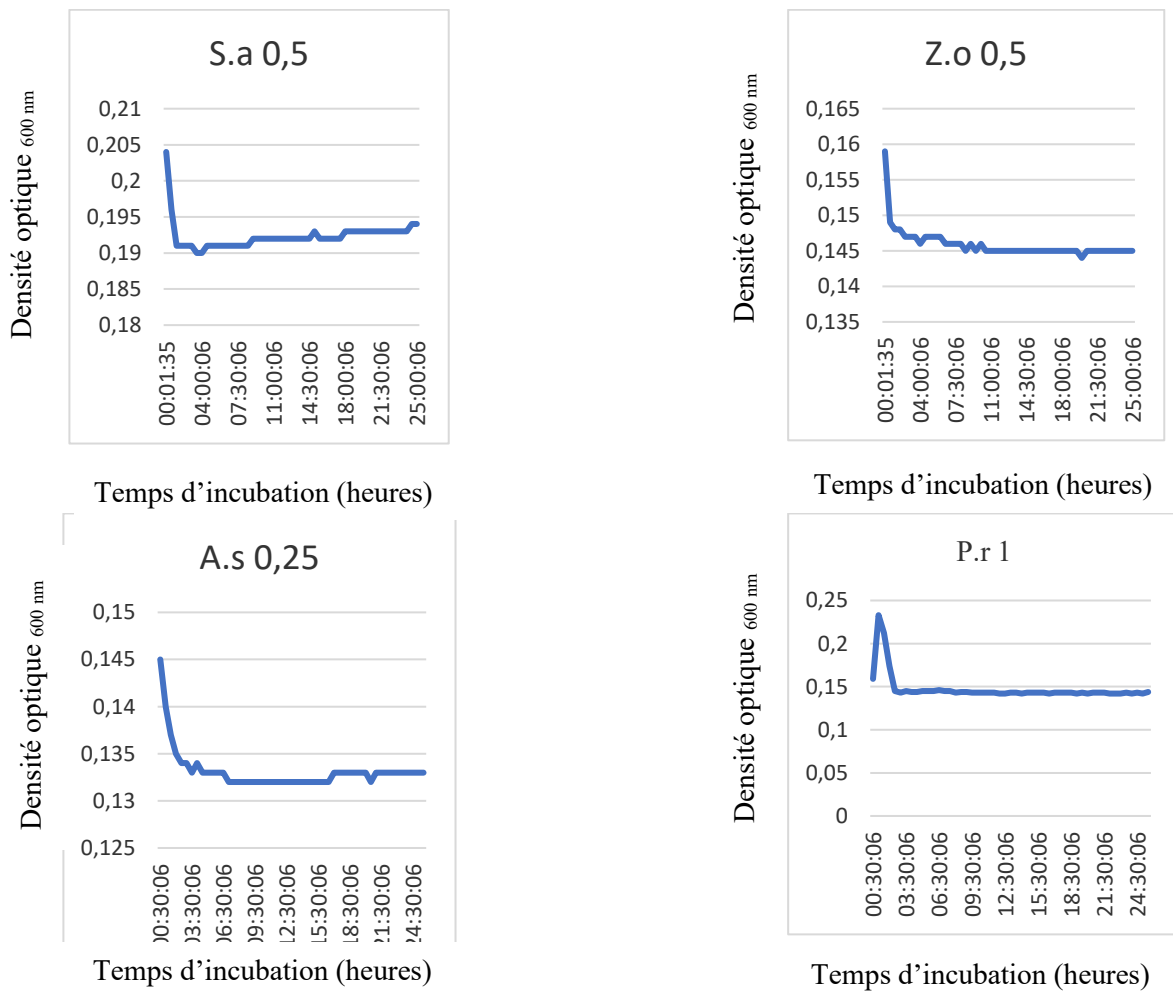
### Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des huiles essentielles

L'analyse par le système Bioscreen C a permis de tracer les courbes de croissance bactérienne (figure 3). En effet, il a été constaté que la croissance bactérienne des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments et des mains est en relation directe avec la concentration de l'huile essentielle testée. Les souches ont été testées à partir de six concentrations d'huile essentielle en µL/mL à savoir : 0,125 ; 0,250 ; 0,5 ; 1 ; 2,5 et 5. Les CMI ont été obtenues grâce aux courbes de croissance bactérienne pour chacune des quatre huiles essentielles testées. Les CMB obtenues à partir du contenu des puits des CMI repiqués sur des boîtes contenant de la gélose et les CMI sont enregistrées dans le tableau 7. Aucune différence n'a été observée entre les CMI et les CMB des isolats possédant le facteur de virulence *stx1* et celles sans *stx1*. Les valeurs des CMI des huiles essentielles variaient entre 0,25 et 1 µL/mL tandis que celles des CMB variaient entre 1 et 2,5 µL/mL. L'huile essentielle de l'*Allium sativum* a enregistré la valeur la plus faible observée pour la CMI (0,25 µL/mL). Parmi les valeurs des CMB, les plus faibles ont été observées au niveau des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et *Allium sativum* (1 µL/mL). Les quatre huiles ont été toutes très actives sur les souches testées à faibles concentrations

surtout l'huile de l'*Allium sativum*. L'antibiotique (ampicilline) utilisé comme témoin positif a nécessité de fortes concentrations sans pour autant agir efficacement sur les souches testées.

**Tableau 7 :** Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des huiles essentielles sur les souches d'*Escherichia coli* ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )

Huiles essentielles	<i>E. coli</i> sans <i>stx1</i>		<i>E. coli</i> avec <i>stx1</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S. aromaticum</i>	0,5	1	0,5	1
<i>Z. officinale</i>	0,5	2,5	0,5	2,5
<i>A. sativum</i>	0,25	1	0,25	1
<i>P. racemosa</i>	1	2,5	1	2,5
Ampicilline	>5	>5	>5	>5



**Figure 3 :** Courbes d'inhibition de la croissance bactérienne obtenues par Bioscreen C représentant les densités optiques à 600 nm pendant 24h des huiles essentielles sur *E. coli* à chacune des concentrations suivantes (0,25 ; 0,5 et 1 µL/mL). S.a (*Syzygium aromaticum*), Z.o (*Zingiber officinale*), A.s (*Allium sativum*) et P.r (*Pimenta racemosa*).

## Discussion

Face à la recrudescence des épidémies de TIAC et de maladies d'origine alimentaire et des échecs thérapeutiques dus à la résistance des bactéries aux antibiotiques, plusieurs chercheurs proposent l'utilisation des huiles essentielles pour empêcher la croissance des agents pathogènes dans les aliments ce qui peut diminuer la survenue des TIAC et des maladies d'origine alimentaire (Sessou et al, 2016 ; Selles et al, 2020 ; Kolypetri et al., 2023). En effet, les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques sont reconnues par communauté scientifique comme GRAS (General Recognised As Safe) c'est-à-dire sans danger pour la santé des consommateurs et leur utilisation est recommandée en agroalimentaire pour leurs excellentes propriétés antimicrobiennes et antifongiques afin d'assurer des aliments de qualité sanitaire acceptable (Burt, 2004 ; Cauchie et al., 2020).

Dans la présente étude, les activités antibactériennes des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum*, de *Zingiber officinale*, d'*Allium sativum* et de *Pimenta racemosa* ont été évaluées sur des souches d'*Escherichia coli* isolées des mains des opératrices préparant les repas à destination des enfants et d'échantillons d'aliments d'origine animale collectés en milieu scolaire. Dans un premier temps, la composition chimique des huiles essentielles a été déterminée pour identifier les molécules chimiques présentes dans chacune d'elles. A cet effet, l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* était majoritairement composée d'eugénol, d'eugenyl acetate, de caryophyllène dans des proportions comprises entre 3,6 et 80,2 %. L'eugénol était la molécule prédominante à hauteur de plus de 80 %. Ces résultats sont supérieurs à ceux de (Alitonou et al., 2012 ; Sessou et al., 2013 ; Selles et al., 2020) qui avaient pratiquement identifié les mêmes composants avec des proportions en eugénol respectivement estimées à 60,4 %, 75,2 % et 78,7 %. D'autres chercheurs ont également étudié la composition chimique de cette huile et ont aussi constaté que l'eugénol est le principal composé majoritaire mais les proportions varient d'une étude à l'autre (Oliveira et al., 2016 ; Hamad et al., 2017 ; Kaur et al., 2019 ; Haro-González et al., 2021). S'agissant de la composition chimique de l'huile essentielle de *Zingiber officinale*, elle renfermait plusieurs molécules chimiques majoritaires à savoir le citral, l'eucalyptol, le camphène, le neral, le bêta-phellandrène, l'endo-bornéol, l'alpha-pinène, l'alpha-curcumène, l'alpha-terpinéol, l'alpha-zingiberène, le bêta-sequiphellandrène, le 5-hepten-2-one, 6-méthyl- et le bêta-myrcène dans les proportions comprises entre 2,2 et 14,3 %. Ces composants varient selon les études. Sharma et al. (2016) ont montré que l'huile essentielle de *Zingiber officinale* était riche en sesquiterpène (66,7 %), en monoterpène (17,3 %) et en composés aliphatiques (13,6 %). Les sesquiterpènes étaient dominées par l'alpha-zingiberène (46,8 %), les monoterpènes avaient pour composants majoritaires le citronellyl *n*-butyrate (19,3 %), le bêta-phellandrène (3,7 %), le camphène (2,6 %) et l'alpha-pinène (1,1 %). Ces résultats sont contraires à ceux de la présente étude qui étaient de 2,72 % pour l'alpha-zingiberène, 9,38 % pour le bêta-phellandrène, 12,29 % pour le camphène et 3,72 % pour l'alpha-pinène. Plusieurs études effectuées sur cette huile ont rapporté la présence à quelques différences près des mêmes composés chimiques (Wang et al., 2012 ; Munda et al., 2018 ; Liu et al., 2019 ; Teles et al., 2019 ; Jayasundara & Arampath, 2021). Concernant l'huile essentielle de l'*Allium sativum* elle était majoritairement composée du diallyl trisulfide, de méthyl allyl trisulfide, de diallyl disulfide, de 1,2-dithiole, de 4H-1,2,3-trithiine, d'allyl méthyl sulfide, le 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ène, le vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ène avec des proportions qui variaient entre 3,5 et 26 %. Contrairement à ces résultats, Moumene et al. (2016) avaient identifié dans ces huiles les mêmes molécules chimiques mais les proportions étaient comprises entre 16 et 45 %. A ceux-ci s'ajoutent les résultats d'études qui ont montré que les composés majoritaires de l'huile essentielle de l'*Allium sativum* varient d'une étude à l'autre. Pour Lan et al. (2022) le composé majoritaire était le 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ène et pour Satyal et al. (2017) les composés majoritaires étaient des polysulfures d'allyle. La plupart des études effectuées sur l'*Allium sativum* ont montré que ses huiles essentielles étaient majoritairement composées de polysulfures (El-Saber Batiha et al., 2020 ; Dehariya et al., 2021 ; Rauf et al., 2022 ; Garcia et al., 2023).

Par ailleurs, l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de *Pimenta racemosa* a révélé qu'elle renfermait des molécules telles que l'eugénol, le bêta-myrcène, le 4-allylphenol, le limonène. L'eugénol était le composé majoritaire à 35,2 %. Pour Senouci et *al.* (2020) qui avaient travaillé sur la même huile, elle était riche en eugénol à 91,5 %. Ces résultats sont appuyés par d'autres études qui avaient trouvé dans à peu près les mêmes proportions la présence d'eugénol dans l'huile essentielle de *Pimenta racemosa*. Les différences observées dans la composition chimique des huiles et au niveau des proportions sont dues à plusieurs facteurs à savoir la zone de collecte des plantes, la saison de la collecte, la nature du sol sur lequel les plantes ont été collectées, le stade de croissance des plantes, etc. Deux mêmes plantes peuvent être collectées sur le même sol, dans la même période et avoir des compositions chimiques différentes (Yèhouéno et *al.*, 2012 ; Kačániová et *al.*, 2021; Adli et *al.*, 2018). Des études ont montré que les molécules chimiques telles que l'eugénol, le carvacrol, le citral, le néral, le camphène, les polysulfures d'allyle, les sesquiterpènes sont très actives envers les souches bactériennes et fongiques (Sessou et *al.*, 2013 ; Yasin et *al.*, 2022; da Costa et *al.*, 2020). Leur présence dans les huiles essentielles confère à celles-ci de fortes propriétés antibactériennes et antifongiques (Mith et *al.*, 2015 ; Cauchie et *al.*, 2020).

Dans un deuxième temps, les activités antibactériennes des huiles essentielles des quatre plantes ont été étudiées sur des isolats d'*Escherichia coli* par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats ont révélé que les quatre huiles étaient très actives sur les souches testées. Dans leurs travaux portés sur les activités antibactériennes, antifongiques et antioxydantes et radicalaires de plusieurs plantes aromatiques plusieurs chercheurs avaient montré que les huiles essentielles de *Syzygium aromaticum*, de *Zingiber officinale*, de l'*Allium sativum* et de *Pimenta racemosa* étaient très actives sur les souches bactériennes et fongiques testées et possédaient les meilleures propriétés antioxydantes et antiradicalaires (Khadri et *al.*, 2010; Moumene et *al.*, 2016, Oueslati et *al.*, 2018 ; Garcia et *al.*, 2023) ; Selles et *al.*, 2020 ; Ayoub et *al.*, 2022 ; Asadi et *al.*, 2023). Dans la présente étude, les tests d'efficacité des huiles essentielles ont montré que les quatre huiles essentielles étaient actives sur les souches testées en raison de la forte richesse des huiles en molécules chimiques qui possèdent de puissants pouvoirs antimicrobiens. En effet, en se basant sur les diamètres d'inhibition, l'huile essentielle de l'*Allium sativum* était la plus active suivie des huiles de *Syzygium aromaticum*, de *Pimenta racemosa* et *Zingiber officinale*. Les zones d'inhibition (indicateur d'activités antibactériennes) obtenues pour les quatre plantes variaient entre  $(0,6 \pm 0)$  et  $(2,58 \pm 0,20)$  cm. Ces résultats sont proches de ceux de (Aouni et *al.*, 2013), (Chekki et *al.*, 2014) et (Chebaibi et *al.*, 2016) qui avaient obtenu des diamètres d'inhibition qui variaient entre 0,9 et 2 cm pour leur étude effectuée sur l'efficacité de l'huile essentielle de l'*Allium sativum* sur les souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments. D'autres chercheurs ont montré que les diamètres d'inhibition étaient compris entre 0,4 et 1,4 cm (Lawrence & Lawrence, 2011; Oyawoye et *al.*, 2022; Radulović et *al.*, 2015 ; . Chen et *al.*, 2018). Des travaux effectués sur les activités antibactériennes de l'huile essentielle de *Zingiber officinale* ont révélé des résultats similaires à ceux de

la présente étude (Oueslati *et al.*, 2018 ; Ahmed *et al.*, 2022). Les huiles essentielles de ces quatre plantes sont reconnues très actives sur les souches microbiennes et sont par conséquent très efficaces pour le traitement de plusieurs maladies dont les rhumes, la tuberculose, les infections parasitaires et bronchiques, la fièvre typhoïde, les maladies respiratoires et diarrhéiques, (Modaresi & Heidari, 2015; Martins *et al.*, 2016; Ren *et al.*, 2017; Anyanwu & Okoye, 2017; Mahboubi, 2019 ; Ayawoye *et al.*, 2022).

Enfin, la détermination des CMI par le système d'analyse Bioscreen C a permis de confirmer les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur disque concernant les activités antibactériennes et l'efficacité des huiles essentielles sur les souches testées. En effet, les huiles essentielles ont inhibé la croissance bactérienne à de faibles concentrations. Les CMI varient entre 0,25 et 1 µL/mL. Ces résultats sont semblables de ceux de Kolypetri *et al.* (2023) qui avaient obtenu des CMI comprises entre 0,3 et 0,6 mg/mL. Des études effectuées sur les activités biologiques de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* ont montré que cette huile possédait des effets bactériostatiques sur les souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments et des échantillons humains avec des CMI comprises entre 0,20 et 1,36 mg/mL (Alitonou *et al.*, 2012 ; Touati & Chhairi, 2015; Oulkheir *et al.*, 2017 ; Imane *et al.*, 2020 : Asma, 2023). Plusieurs études ont été effectuées pour évaluer les pouvoirs antibactériens de l'huile essentielle et les extraits aqueux de *Zingiber officinale* où les CMI et les CMB étaient comparables à celles obtenues dans la présente étude (Bedoux *et al.*, 2011; Lopez *et al.*, 2017 ; Bashige *et al.*, 2020). Pour l'huile essentielle de l'*Allium sativum*, Selles *et al.* (2020) avaient montré dans leur étude une efficacité bactériostatique et bactéricide sur les souches microbiennes sans pour autant déterminer les CMI et les CMB. La plupart des études réalisées sur l'*Allium sativum* et qui ont montré ses fortes propriétés antibactériennes sur les souches d'*Escherichia coli*, ont été faites à partir des extraits méthanoliques et aqueux qui avaient des CMI et des CMB comprises entre 0,25 et 1 mg/mL (Aissani Fatine, 2015 ; Batah, 2016). Quant à l'huile de *Pimenta racemosa*, Alitonou *et al.* (2012) ont relevé des CMI qui variaient entre 0,13 et 2,24 mg/mL. D'autres études ont montré l'efficacité biologique de l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* et avaient enregistré des CMI et CMB variant entre 0,36 et 2,50 mg/mL. L'étude sur les activités antibactériennes des huiles essentielles des quatre plantes aromatiques et la détermination de leurs CMI et CMB ont montré des résultats très satisfaisants. Des travaux plus approfondis sur les huiles essentielles de ces plantes comme le fractionnement bioguidé seront nécessaires pour leur utilisation effective en agroalimentaire et en médecine humaine.

## Conclusion

Au terme de cette quatrième étude portant sur les activités antibactériennes des huiles essentielles sur les souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des surfaces palmaires, des résultats très prometteurs ont été obtenus qui méritent d'être vulgarisés pour une prise de conscience collective générale sur les bienfaits des épices couramment utilisées dans l'art culinaire mondial en général et béninois en particulier. Les résultats ont montré que les quatre huiles essentielles étudiées possédaient d'excellentes propriétés antibactériennes et bactéricides sur les souches testées grâce à leur composition en molécules chimiques (eugénol, carvacrol, citral...) très puissantes sur les souches bactériennes. Des études supplémentaires doivent être encouragées pour leur utilisation sans risque en agroalimentaire. Pour cela, et en perspectives, les suggestions suivantes sont faites. Il s'agit de :

- sensibiliser les opératrices du secteur alimentaire sur les bienfaits de l'utilisation de ces épices dans les aliments produits ;
- faire le fractionnement bioguidé des huiles essentielles des quatre plantes étudiées pour isoler et déterminer leurs principes actifs pour leur utilisation en industrie agroalimentaire et pharmaceutique et cosmétique comme véritables alternatives aux antibiotiques ;
- encourager la culture de ces épices et l'extraction de leur huile essentielle pour leur permanente disponibilité ;
- étendre l'étude sur d'autres épices et tester des bactéries autres qu'*Escherichia coli* voire des champignons.

## **Chapitre 4 : DISCUSSION GENERALE**

#### 4. Discussion générale

Le présent chapitre est consacré à la discussion générale où sont renseignées les importantes conclusions issues des différentes études et les champs d'applications pratiques.

##### 4.1. Systèmes de surveillance dans les restaurants collectifs et les entreprises agroalimentaires

Le secteur de la restauration collective est en plein essor en Afrique en général et au Bénin en particulier. Ce secteur d'activité est souvent rencontré dans les écoles, les hôpitaux, les prisons et dans la plupart des services publics. Dans ces milieux, il existe des mécanismes de surveillance du service alimentaire mais qui ne sont pas vraiment structurés comme dans les entreprises agroalimentaires et grandes surfaces. En effet, ces systèmes de contrôle sont souvent assurés par des responsables qui ne sont pas forcément du domaine du contrôle de la qualité des aliments. Dans les écoles primaires publiques par exemple, les directeurs s'auto-responsabilisent pour s'assurer que les opérateurs du service alimentaire respectent les règles élémentaires en matière d'hygiène telles que : le nettoyage régulier de l'environnement de production, le port de tablier, la mise à jour des carnets médicaux individuels par les visites médicales régulières. Par ailleurs, depuis quelques années, à l'Université d'Abomey-Calavi (UAC), sous initiative du Recteur de l'époque, le Service de l'Hygiène et de la Sûreté Alimentaire (SHSA) a été mis en place. Ce service a pour rôle de sensibiliser les opérateurs du service alimentaire sur les bonnes pratiques d'hygiène et de procéder au contrôle de la qualité sanitaire des aliments vendus sur tous les Campus de l'UAC. Pour cela, les agents du SHSA/UAC procèdent de façon périodique à des visites inopinées auprès des opérateurs du service alimentaire et à la collecte d'échantillons d'aliments qui sont convoyés vers les laboratoires de microbiologie pour leur analyse. Ensuite, en fonction des résultats obtenus, les opérateurs du service alimentaire sont exhortés à améliorer le mécanisme de BPH et BPF en amont, en cours et en aval du processus de transformation alimentaire pour garantir un aliment sûr aux consommateurs constitués d'étudiants, d'enseignants et d'autres usagers. S'agissant des structures gouvernementales, elles sont sous tutelle du ministère de l'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche. Il s'agit de l'Agence Béninoise de Sécurité Sanitaire des Aliments (ABSSA) et des Directions Départementales de l'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche (DDAEP). Les agents de ces structures n'interviennent pas dans les écoles et services publics pour la surveillance du service alimentaire dans les restaurants collectifs. Cependant, ils sont plus orientés vers les grandes surfaces et les grandes chaînes de distribution des denrées alimentaires (grands restaurants, supermarchés, entreprises agroalimentaires et au niveau des ports). En effet, dans l'accompagnement des entreprises agroalimentaires, l'ABSSA, par l'intermédiaire du Laboratoire Central de Sécurité Sanitaire des Aliments (LCSSA) qui s'occupe du contrôle de la qualité sanitaire (qualité microbiologique et physico-chimique) des denrées alimentaires, oblige les opérateurs à faire contrôler les denrées alimentaires destinées au marché béninois et à l'exportation. De plus, les agents de l'ABSSA et des DDAEP font des visites inopinées dans les entreprises agroalimentaires pour le contrôle de qualité des denrées

alimentaires. Le contrôle consiste en l'appréciation de l'hygiène de l'environnement de production et de vente, l'hygiène du personnel, les températures de conservation, des cahiers d'enregistrement des températures, de la qualité des produits (animaux et végétaux) par des observations physiques à l'aide de protocoles bien définis. L'ABSSA et les DDAEP n'interviennent en amont, pendant et en aval seulement pour des produits d'exportation tels que l'ananas. Ces structures n'interviennent pas forcément dans la mise en place de l'autocontrôle. La démarche qualité n'est pas bien structurée pour le moment.

En Belgique, suite à la mise en place de réglementations européennes, il est devenu obligatoire de mettre en place un système de gestion de la sécurité des produits alimentaires depuis quelques années. Pour cela, l'Agence Fédérale de Sécurité de la Chaîne Alimentaire a été créée suivie de la mise en place d'une législation en matière d'autocontrôle de notification obligatoire et de traçabilité (Belleflamme et al, 2007). L'une des méthodes de contrôle recommandée aux entreprises agroalimentaires et aux opérateurs de l'Hôtellerie, Restauration et des Cafés (HORECA) est le Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP). Dans une entreprise agroalimentaire, des informations sont nécessaires pour la mise en place de l'autocontrôle qui repose sur le système HACCP. La mise en place d'un système HACCP repose sur des préalables tels que la conception des locaux et des équipements, l'hygiène du personnel, la formation du personnel, le nettoyage et la désinfection et la lutte contre les nuisibles. Le système HACCP repose sur 7 principes (figure 1). Une fois mise en place dans une entreprise agroalimentaire, le système HACCP doit faire objet d'une amélioration continue au fil du temps pour la maîtrise de la sécurité dans la chaîne alimentaire. Ce système est en cours d'expérimentation dans plusieurs entreprises agroalimentaires au Bénin. De plus, l'AFSCA en s'inspirant de ses mécanismes de contrôle, travaille en étroite collaboration avec l'ABSSA en l'appuyant dans la mise en place des systèmes de contrôle efficaces car au Bénin, à l'heure actuelle, les systèmes de surveillance des entreprises agroalimentaires et de l'HORECA ne sont pas bien encore structurés et proactifs.

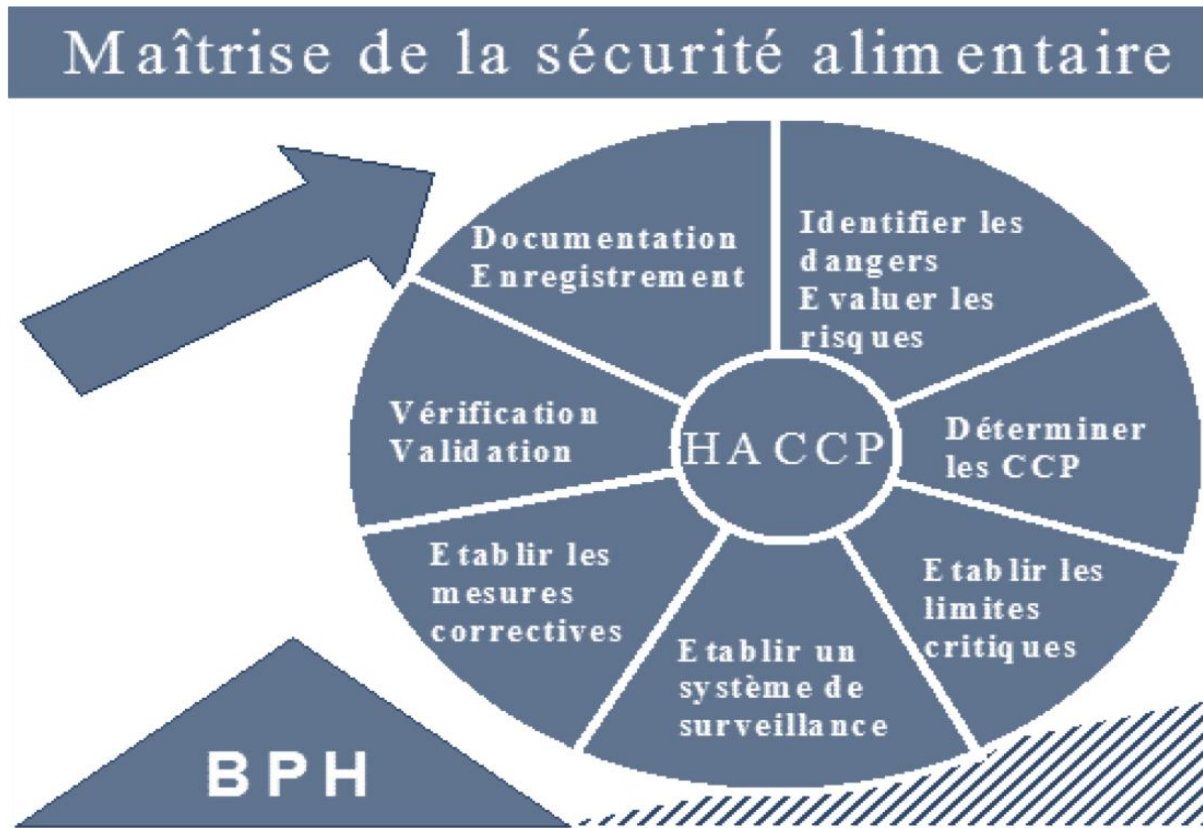


Figure 1 : Principes du système HACCP (QHSA, 2024)

#### 4.2. Qualité microbiologique des aliments d'origine animale et TIACs

Les aliments d'origine animale sont d'une importance capitale dans l'alimentation des êtres humains surtout les enfants. Aussi faut-il que ces aliments soient propres à la consommation et ne constituent pas une source de maladie pour les consommateurs. De plus, la contamination microbienne des aliments est un problème majeur de longue date car les agents pathogènes d'origine alimentaire posent de sérieux soucis de santé publique à travers le monde. La présente étude a permis d'analyser sur le plan microbiologique des échantillons d'aliments d'origine animale et des prélèvements sur les mains des opératrices collectés en milieu scolaire. De façon globale, les résultats obtenus dans la présente étude ont révélé une forte contamination en flore totale, *Escherichia coli*, anaérobies sulfite-réducteurs, en staphylocoques et en *Salmonella* spp dans les PS+C, PS-C et PRS. En effet, les forts taux ou niveaux de contamination obtenus pour ces différents paramètres microbiologiques sont très peu satisfaisants. Ces contaminations renseignent sur la qualité hygiénique globale des aliments et des mains des opératrices. Elles indiquent un manque d'hygiène lors des procédés de transformation caractérisé par la faible efficacité du lavage des mains, le non-port de tablier par les opératrices au cours de la production des aliments et de la vente, un environnement de production insalubre, la gestion inadéquate des déchets ménagers ou le nettoyage irrégulier des surfaces. Plusieurs auteurs ont montré que l'hygiène des procédés et de l'environnement lors de la transformation des aliments a un impact important sur leur qualité sanitaire (Kpodekon et al, 2014 ; Komagbe et al, 2019 ; Ritcher et al, 2020). Les fortes charges

d'*Escherichia coli* peuvent indiquer des contaminations d'origine fécale ou être dues aux contaminations croisées occasionnées par les ustensiles de qualité hygiénique douteuse et aux opératrices qui n'observaient pas un lavage efficace des mains. Par ailleurs, *Escherichia coli* est un hôte normal présent en grand nombre dans la flore intestinale de l'homme et des animaux (Bennani et al., 2016). Cependant sa présence dans les aliments d'origine animale peut présenter des risques de toxico-infections d'origine alimentaire. En effet, plusieurs types pathogènes d'*Escherichia coli* telles que les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC), *E. coli* entéro-agrégatifs (EAEC) et surtout *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables de TIAC qui se manifestent par des diarrhées aqueuses parfois sanguinolentes, de colites hémorragiques et de syndromes hémolytiques et urémiques caractérisés par des insuffisances rénales suivies de décès éventuel du malade (Abikè et al., 2015 ; Okechukwu et al., 2020 ; Geresu et Regassa, 2021).

L'analyse microbiologique des aliments et des écouvillons des moins (faces palmaires) des opératrices a montré la présence des staphylocoques comme *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus cohnii* qui appartiennent à la flore commensale cutanée d'origine animale et humaine. Ils sont sans danger pour les consommateurs. Leur présence peut indiquer une contamination croisée par les opératrices. *Staphylococcus aureus*, l'espèce des staphylocoques redoutée, était absente dans tous les échantillons. Une éventuelle présence de *Staphylococcus aureus* dans les aliments pourrait entraîner des intoxications alimentaires ayant pour symptômes des nausées suivies de vomissements, des chutes de tension, des douleurs abdominales et des diarrhées (Fetsch et al., 2014; Puah et al., 2018 ; Asiegbu et al., 2020).

Des colonies caractéristiques des ASR ont été dénombrées dans les échantillons analysés. Parmi les ASR, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens* sont les espèces qui peuvent provoquer des TIAC. Les intoxications alimentaires provoquées par ces pathogènes sont caractérisées par des diarrhées, une affection bénigne de courte durée pour *C. perfringens* et, dans le cas de *C. botulinum* une vision double, des vertiges, de la soif, de la constipation, des difficultés de déglutition et de parole, une paralysie, des problèmes respiratoires allant jusqu'au décès du malade (Chukwu et al., 2016 ; Pernu et al., 2020 ; Poortmans et al., 2022).

S'agissant de *Salmonella*, elle a été retrouvée dans certains échantillons. C'est une bactérie qui a pour habitat naturel les intestins des animaux vertébrés et sa transmission à l'homme se fait par la consommation d'aliments contaminés (Ashrafudoulla et al., 2021 ; Guo et al., 2022). *Salmonella* est responsable des TIAC qui sont caractérisées par les gastro-entérites et des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. Ces maladies se manifestent par de fortes fièvres, des diarrhées, des céphalées, des crampes abdominales, des nausées et vomissements. Les salmonelloses sont aussi appelées « maladie des mains sales » car ce sont des affections qui surviennent lorsque les mesures d'hygiène (lavage des

maines surtout) ne sont pas respectées pendant les procédés de transformation des aliments (Gargano *et al.*, 2021; Morasi *et al.*, 2022).

Une toxi-infection alimentaire collective est une maladie qui survient chez au moins deux personnes présentant une même symptomatologie, souvent gastro-intestinale, provoquée par la consommation du même aliment contaminé par un microorganisme pathogène. Elle est soumise à une déclaration obligatoire à l'exception du botulisme pour lequel l'alerte doit être donnée dès l'apparition du premier cas (Dubois-Brissonnet & Guillier, 2020). Au Bénin, aucun cas d'épidémie de toxi-infections d'origine alimentaire n'a été officiellement rapportée. Cependant, plusieurs cas individuels de toxi-infection d'origine alimentaire, mettant souvent en cause *Salmonella* sont répertoriés de façon sporadique. En réalité, les systèmes gouvernementaux de surveillance épidémiologiques, s'ils existent, ne sont pas proactifs. Pour cela, la vigilance doit être de mise car les règles d'hygiène sont très peu respectées dans les cuisines collectives installées dans les écoles. L'Autorité européenne de Sécurité des Aliments a rapporté en 2021 plus de 4.000 foyers de toxi-infections d'origine alimentaire dans toute l'Europe (EFSA, 2024). Les scientifiques au niveau européen et africain en général et béninois en particulier doivent effectuer les travaux d'évaluation du risque pour avoir un fondement solide aux politiques et aux législations alimentaires pouvant aider les gestionnaires du risque à prendre des décisions pour protéger efficacement les consommateurs

#### 4.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les échecs thérapeutiques des infections parasitaires, bactériennes ou des infections causées par champignons sont souvent dus à la résistance aux antimicrobiens. La résistance aux antibiotiques est un problème majeur qui menace la santé publique mondiale (OMS, 2018 ; Lupo et Angot, 2020). Au Bénin, plusieurs études ont été rapportées sur la résistance aux antibiotiques impliquant la plupart des pathogènes responsables des TIAC dont *Escherichia coli* (Ahoyo *et al.*, 2010 ; Dougnon *et al.*, 2021). La résistance aux antibiotiques est un phénomène qui se produit naturellement. Cependant les antibiotiques utilisés sans contrôle peuvent rapidement amener les pathogènes à ne plus être sensibles aux agents antimicrobiens. Dans ces conditions, les pathogènes deviennent résistants aux antibiotiques. De plus, *Escherichia coli* a la faculté de transmettre ses gènes de résistance aux autres bactéries. Les mécanismes de résistance varient d'une zone à une autre en fonction des pathogènes et des molécules médicamenteuses utilisées pour traiter les infections. Au Bénin, un plan national de surveillance de la résistance aux antimicrobiens a été institué suivi de la mise en place des points focaux dans tout le pays, sous financement de l'USAID. Aussi, depuis une dizaine d'années plus personne ne peut acheter des antibiotiques dans les pharmacies sans présenter une ordonnance délivrée par un médecin assermenté. Cependant il y a toujours des indéclicats qui arrivent à se faufiler à travers les mailles du filet en raison de la proximité géographique du Bénin avec le Nigéria où les produits médicamenteux sont produits en quantité industrielle et abondamment déversés sur le marché béninois. Cette situation fait que certaines

personnes peuvent encore se procurer des antibiotiques et des médicaments vétérinaires sans ordonnance chez les vendeurs ambulants. Avec ce secteur informel très développé, la résurgence et la propagation de la résistance sont aggravées en raison du manque d'une législation forte et de directives pouvant réglementer rigoureusement la distribution et l'utilisation des agents antimicrobiens. Par ailleurs, notre étude a montré que les souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des mains des opératrices ont développé des multirésistances face à certains antibiotiques. Aussi plusieurs études effectuées au Bénin ou en Afrique ont rapporté le même constat (tableau 1). En Europe l'ECDC et l'EFSA rapportent, en 2022, que la persistance de la résistance aux antimicrobiens dans l'espace de l'Union Européenne est due au transport des animaux. En effet, il a été rapporté que des millions d'animaux dont approximativement 4 millions de bovins et 33 millions de porcs ont été annuellement transportés à travers les pays de l'UE. Pour les maintenir en bonne santé, ces animaux recouvrent des traitements antibiotiques avant leur embarquement ou à leur arrivée à destination malgré le fait que le règlement (UE) n°2019/64 prévoit que l'utilisation d'antimicrobiens à des fins prophylactiques ou métaphylactiques doit être limitée (ECDC, 2022). En 2018, une étude de l'ECDC a ainsi rapporté que la résistance bactérienne était à l'origine d'environ 33.000 décès en Europe (ECDC, 2018). Pour remédier aux problèmes de résistance antimicrobienne il est important de miser sur une bonne politique de surveillance basée sur l'application rigoureuse des législations et des directives au plan national appuyées par les activités de suivi-évaluation et de formation. De plus, des alternatives aux traitements antibiotiques comme les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques doivent être privilégiées dans les pathologies infectieuses.

Le tableau ci-dessous résume les informations de 64 études effectuées dans certains pays africains dont 19 articles (Nigeria, Afrique du Sud) ; 5 articles (Égypte) ; 4 articles (Bénin, Éthiopie) ; 3 articles (Maroc), 2 articles (Tanzanie, Kenya), 1 article (Ghana, Tunisie, Algérie, Ouganda, Rwanda, Mozambique) (figure 1 et figure 2). Plus de 72 % (n=46) des articles ont été publiés au cours des dix dernières années (2012-2022). Toutes les régions d'Afrique sont presque représentées dans cette étude. Au total, 16 % (n=10) des articles de recherche ont été publiés en Afrique du Nord (Égypte, Maroc, Tunisie, Algérie), 38 % (n=24) en Afrique de l'Ouest (Nigeria, Bénin, Ghana), 30 % (n=19) en Afrique du Sud et 17 % (n=11) en Afrique de l'Est (Éthiopie, Ouganda, Tanzanie, Rwanda, Kenya, Mozambique) (figure 3). L'Afrique centrale n'est pas représentée dans ce tableau. Sur les 64 articles sélectionnés, 73 % (n=47) portaient sur la résistance aux antibiotiques et la caractérisation ou sur la caractérisation et la détermination des gènes de virulence d'*E. coli*. Il a également été constaté que 44 % (n=28) des études traitaient à la fois de la caractérisation, de la résistance aux antimicrobiens et de la détermination des gènes de virulence d'*E. coli*. En outre, 45 % (n=29) des échantillons collectés pour les études provenaient de denrées alimentaires, 34 % (n=22) du bétail, 33 % (n=21) de la surveillance des maladies humaines et 13 % (n=8) de l'environnement. Plus de 28 % (n=18) des articles inclus dans cette étude indiquent que les échantillons collectés proviennent de deux matrices ou plus.

**Tableau :** État des lieux de la résistance aux antibiotiques d'*Escherichia coli* en Afrique

Type of sample	Settings	Type of AMR	Countries	Authors
Food and food products	street food, water	Multidrug-resistant	Mozambic	Salamandane et al 2022
	fresh and ready to eat meat	Multidrug-resistant	Nigeria	Fayemi et al 2021
	meat and fish	Multidrug-resistant	Nigeria	Alu et al 2021
	minced meat, egg sandwich and cream cake	Multidrug-resistant	Ethiopia	Geresu and Regassa 2021
	fresh vegetables	Multidrug-resistant	South Africa	Richter et al 2020
	raw cow milk	Multidrug-resistant	Nigeria	Okechukwu et al 2020
	beverage	Multidrug-resistant	Benin	komagbe et al 2019
	ready to eat foods	Multidrug-resistant	Nigeria	Oje et al 2019
	milk and milk products	Multidrug-resistant	Nigeria	Abike et al 2015
	meat and meat product	Multidrug-resistant	South Africa	Abong'o et Momba 2009
Human	Human stool	Multidrug-resistant	Egypt	Amin et al 2022
	human (urine)	Multidrug-resistant	Nigeria	John-Onwe et al 2022
	human feces	Multidrug-resistant	Nigeria	Omebije et al 2021
	poultry wokers	Multidrug-resistant	Nigeria	Aworh et al 2019
	human feces	Multidrug-resistant	South Africa	Karama et al 2019
	human feces	Multidrug resistant	South Africa	Kalule et al 2018
	human feces	Multidrug-resistant	Kenya	Too et al 2017
	human (stool, pus, sperm, vaginal, blood, urine)	Multidrug-resistant	Benin	Anago et al 2015
	human stool	Multidrug-resistant	Nigeria	Raji et al 2008

	Human stool	Multidrug-resistant	Tunisa	Al-Gallas <i>et al</i> 2006
	Human stool	Multidrug-resistant	Nigeria	Olorunshola <i>et al</i> 2000
	pig	Multidrug-resistant	South Africa	Abdalla <i>et al</i> 2021
	cattle, sheep, pigs	Multidrug-resistant	South Africa	Jaja <i>et al</i> 2020
	feces of goats, pig and poultry	Multidrug-resistant	Rwanda	Manishimwe <i>et al</i> 2021
	cattle	Multidrug-resistant	South Africa	Karama <i>et al</i> 2019
	cattle feces	Multidrug-resistant	South Africa	Montso <i>et al</i> 2019
	cattle meat and feces	Multidrug-resistant	Nigeria	Ojo <i>et al</i> 2010
	cattle feces	Multidrug-resistant	Nigeria	Adamu <i>et al</i> 2018
	swine feces	Multidrug-resistant	South Africa	Iwu <i>et al</i> 2017
	Beef and goat feces	Multidrug-resistant	Ethiopia	Hiko <i>et al</i> 2008
	cattle feces	Multidrug-resistant	South Africa	Iweriebor <i>et al</i> 2015
	cattle, sheep, pigs	Multidrug-resistant	South Africa	Jaja <i>et al</i> 2020
	cattle feces	Multidrug-resistant	Nigeria	Adenipekun <i>et al</i> 2015
	cattle, milk	Tetracycline resistant	Kenya	kang'ethe <i>et al</i> 2007
Environmental	waste water	Multidrug-resistant	South Africa	Pillay and Olaniran 2016
	waste water	Multidrug-resistant	South Africa	Adefisoye <i>et al</i> Okoh 2015
	water and grab sediments	Multidrug-resistant	South Africa	Abia <i>et al</i> 2015
	water	Multidrug-resistant	South Africa	Malema <i>et al</i> 2018
Food products, human, animal, environmental and surfaces	poultry, waste water, soil, cloaca carcass, caecum content and surfaces	Multidrug-resistant	Nigeria	Agbagwa <i>et al</i> 2022
	surfaces, faeces and food products	Multidrug-resistant	Nigeria	Ajuwon <i>et al</i> 2021
	products	Multidrug-resistant	Benin	Dougnon <i>et al</i> 2021
	human feces, Camels milk and feces	Multidrug-resistant	Egypt	Diab <i>et al</i> 2021

cattle, pigs and humans stool	Multidrug-resistant	South Africa	Ateba et al 2008
cattle, human, soil, water	Multidrug-resistant	Tanzania	Lupindu et al 2014
food, human and animal feces, water, urine	Multidrug-resistant	Egypt	El-Alfy et al 2013
human, water	Multidrug-resistant	Nigeria	Chigor et al 2010
humans and surfaces	Multidrug-resistant	Benin	Ahoyo et al 2010

Source : (Hounkpe et al, 2023)

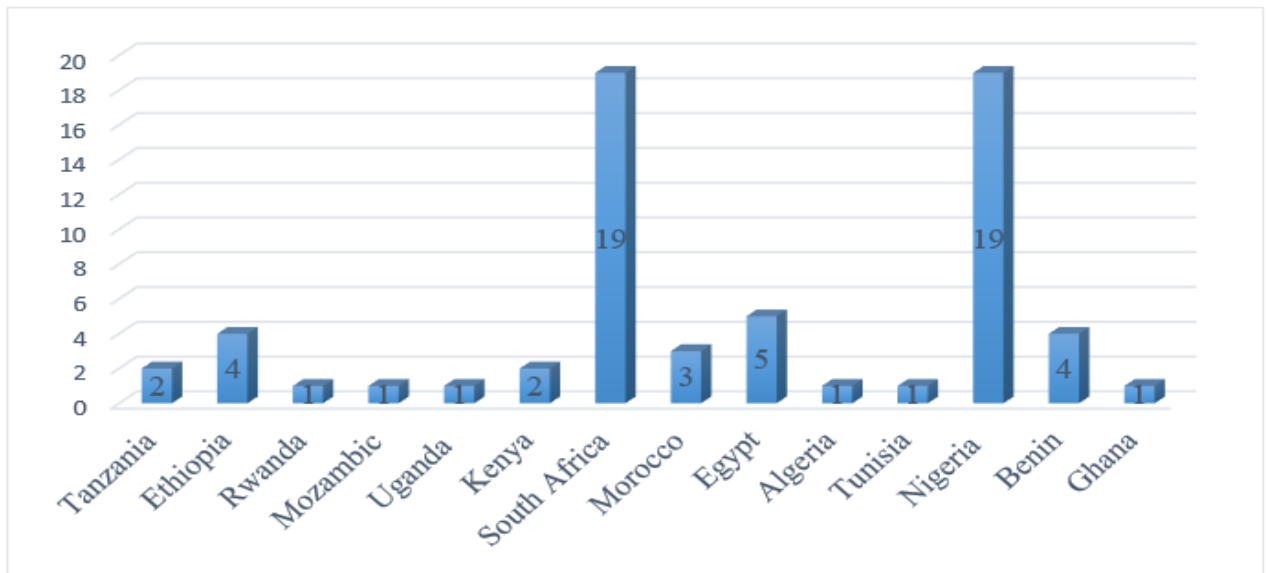
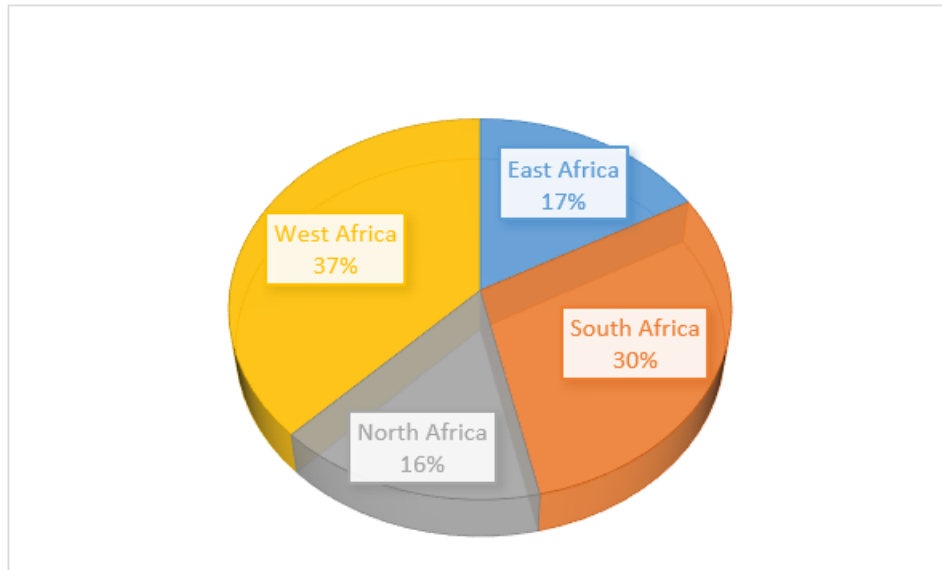


Figure 2 c: Répartition du nombre des études en fonction des pays (Hounkpe et al, 2023)



**Figure 3** : Proportions des articles collectés dans chaque région d’Afrique (Hounkpe et *al*, 2023)

#### 4.4. Fardeau relatif à *Escherichia coli* pathogène et aux pathogènes transmis par les aliments au Bénin, en Afrique et dans le reste du monde

Les toxi-infections d’origine alimentaire collectives sont d’une importance capitale en matière de sécurité sanitaire des aliments et de santé publique. Les études effectuées jusque-là se sont surtout focalisées sur le dénombrement, la recherche et l’identification des microorganismes pathogènes responsables de ces maladies dans les aliments (Kpodekon et *al*, 2014 ; Sessou et *al*, 2016 ; Amente et *al*, 2022). En plus de la résistance aux antibiotiques développée par les souches d’*Escherichia coli* caractérisées dans cette étude, certaines souches (09) possèdent le gène de virulence *stx1* leur conférant ainsi un caractère pathogène. Cependant la pathogénicité de ces souches n’est pas avérée en raison de l’absence du gène de virulence *eae*. *Escherichia coli* peut héberger un ou plusieurs gènes de virulence à la fois. Bien que la plupart des souches d’*Escherichia coli* soit non pathogène (car il s’agit d’une bactérie naturellement présente dans la microflore digestive des Hommes et des animaux à sang chaud) certaines souches comme les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) provoquent des infections qui peuvent s’avérer sévères et parfois mortelles (Agbawa et *al*, 2022). La symptomatologie de l’infection d’origine alimentaire provoquée est souvent en rapport avec le gène de virulence hébergé par la bactérie. La maladie peut se manifester par des troubles variés partant d’une diarrhée bénigne pour des formes plus graves comme les diarrhées hémorragiques et/ou des atteintes rénales aiguës appelées syndrome hémolytique et urémique (SHU) principalement chez les enfants de moins de 5 ans, causées par les EHEC. Chez les personnes âgées, on parle de micro-angiopathie thrombotique (MAT). Les formes diarrhéiques ont augmenté à partir du moment où elles ont été liées à des maladies humaines (Amin et *al*, 2022). La voie orale est la principale voie de transmission. Les aliments d’origine animale sont souvent contaminés lors de l’abattage et de l’éviscération des animaux à l’abattoir pour les viandes, de l’éviscération des poissons et lors de la traite des animaux (surtout bovins) dans la production laitière. Les contaminations croisées entre l’homme et les aliments ou les surfaces et les aliments sont aussi

possibles. Par ailleurs, le fort taux de mortalité observé chez les enfants de moins de 5 ans qui consomment du lait ou les produits laitiers comparée aux enfants âgés entre 5 et 12 ans peut être lié au fait que le système immunitaire des enfants de moins de 5 ans ne soit pas encore bien développé. Quant aux personnes âgées, elles ont un système immunitaire affaibli (Fayemi et al, 2021).

Par ailleurs, en 2010, une étude de l'OMS a montré que plus de 600 millions de cas de maladies à travers le monde, ont été causées par 31 dangers d'origine alimentaire parmi lesquels 12 ont été considérés par les groupes de travail du FERG (Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group) de l'OMS comme 100 % d'origine alimentaire. Pour les 19 dangers restants, une consultation structurée d'experts par la méthode classique de Cooke a été réalisée pour estimer leur charge de morbidité liée aux aliments (Havelaar et al, 2015). Parmi les maladies causées, les maladies diarrhéiques étaient en grande majorité représentées à hauteur de 550 millions provoqués surtout par les norovirus (120 millions de cas) et *Campylobacter* spp (96 millions de cas). D'autres dangers tels que le virus de l'hépatite A, *Ascaris* spp et *Salmonella* Typhi étaient responsables des causes fréquentes de maladies d'origine alimentaire estimées respectivement à 14, 12 et 7,6 millions (Havelaar et al, 2015). S'agissant de la charge de mortalité, elle était estimée à environ 420.000 décès dus à des risques d'origine alimentaire. Les agents pathogènes incriminés étaient *Salmonella enterica* (59.000 décès), 37.000 et 26.000 décès respectivement pour *E. coli* entéropathogène (EPEC), *E. coli* entérotoxigène (ETEC) et 35.000 pour les norovirus. Parmi les décès par *S. enterica*, 32.000 incluant 22.000 cas de maladies invasives ont été enregistrés dans deux sous-régions africaines où on retrouve entre autres les pays tels que le Bénin, le Nigéria, le Mali, le Niger, la Côte d'Ivoire, le Burkina-Faso (Havelaar et al, 2015). Les décès causés par les maladies d'origine alimentaires non diarrhéiques étaient dues à *S. Typhi* (52.000), au *Taenia solium* (28.000), au virus de l'hépatite A (28.000) et à l'aflatoxine (20.000). Au niveau mondial en 2010, la charge de morbidité par jour, provoquée par les 31 dangers, était de 33 millions, dont 54 % attribués aux pathogènes responsables des maladies diarrhéiques avec 4 millions pour *S. enterica*, 1,4 millions pour le norovirus, *Campylobacter* spp, ETEC, EPEC, *Vibrio cholerae* et *Shigella* spp, 3,7 millions pour *S. Typhi* ; 2,8 millions pour *T. solium*, 1,4 millions pour le virus de l'hépatite A, 1 million pour *Paragonimus* spp et seulement 550 pour *Trichinella* spp, entraînant plus de 75 % de décès prématurés (Havelaar et al, 2015).

Pour cela, la surveillance des maladies d'origine alimentaire doit être de mise et une attention particulière basée sur le respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication telles les 5M, doit être observée lors des différentes opérations de transformation des aliments en général, et ceux d'origine animale en particulier. Dans les industries agroalimentaires le système HACCP qui permet d'analyser les risques ou dangers et de maîtriser les points critiques de contrôle doit être mis en place avec une amélioration continue du système.

#### 4.5. Efficacité biologique des huiles essentielles sur les bactéries pathogènes

Les TIAC sont de plus en plus récurrentes de nos jours. De plus, les médecins sont confrontés à des échecs thérapeutiques à cause du phénomène de résistance aux antibiotiques. Plusieurs études ont montré la résistance des bactéries isolées des cas cliniques, des aliments et des échantillons environnementaux aux antibiotiques (Selles et *al*, 2020 ; Kolypetri et *al*, 2023). Pour faire face à la résistance aux antimicrobiens, la plupart des chercheurs s'accordent sur l'utilisation des huiles essentielles comme alternatives aux traitements antibiotiques dans les pathologies infectieuses. En effet, les huiles essentielles sont généralement reconnues sans danger pour les consommateurs. Elles possèdent aussi d'excellentes propriétés antimicrobiennes et antifongiques. Pour cela, elles sont recommandées en agroalimentaire pour des aliments de qualité sanitaire acceptable (Burt, 2004 ; Cauchie et *al*, 2020).

Dans la présente étude, les huiles essentielles de *Syzygium aromaticum*, *Zingiber officinale*, *Allium sativum* et *Pimenta racemosa* ont été caractérisées et testées sur des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments et des écouvillons des mains (faces palmaires) des opératrices avec des résultats probants. Les activités biologiques des huiles essentielles sont à mettre en relation avec leur composition chimique. En effet, les huiles étudiées renfermaient des molécules chimiques telles l'eugénol (*Syzygium aromaticum* et *Pimenta racemosa*), le citral et le camphène (*Zingiber officinale*), le méthyl allyl trisulfide et le diallyl trisulfide qui sont des composés ayant un large spectre antibactérien et antifongique donc très actives sur la plupart des pathogènes (Mth et *al*, 2014 ; Sessou et *al*, 2016). La présence de ces molécules chimiques dans les huiles essentielles leur confère de fortes propriétés antibactériennes. Il a été montré dans une étude que sur un total de 91 huiles essentielles 78 avaient un effet inhibiteur sur des bactéries résistantes notamment *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline soit 86 %. Par contre, quinze huiles essentielles ont développé un effet inhibiteur sur *Streptococcus pneumoniae* soit environ 15 % (Mounène et *al*, 2016).

En agroalimentaire, les huiles essentielles sont utilisées pour la conservation des denrées alimentaires en empêchant la contamination et la croissance des microorganismes pathogènes dans les aliments grâce à leurs propriétés antibactériennes, antifongiques et anti-oxydantes sous l'action des phénols et polyphénols. Elles sont aussi utilisées pour aromatiser les préparations alimentaires (Haddouchi et Benmansour, 2008). Par ailleurs, une étude effectuée en France basée sur le développement d'un revêtement nano-émulsion (un mélange d'huile essentielle et de l'eau) comestible ayant une forte activité antibactérienne à partir de l'huile essentielle de *Zingiber officinale* (le gingembre) pour conserver la viande de poulet a montré que la nano-émulsion avait une forte activité inhibitrice sur la croissance de *Salmonella Typhimurium* isolée de la viande de poulet (Demars, 2022).

En pharmacie et en cosmétique, les huiles sont très utiles grâce à leurs propriétés anti-infectieuses, anti-inflammatoires, digestives, régulatrices du système nerveux, cicatrisantes, et

drainantes respiratoires. En effet, sur le plan des pathologies infectieuses, les huiles essentielles possèdent non seulement des propriétés antibactériennes grâce aux composés phénoliques mais elles sont également antivirales, antiseptiques antifongiques, insecticides et antiparasitaires, grâce aux molécules chimiques telles que le phénol, le monoterpénol, les aldéhydes, les alcools et les cétones (Bapha, 2012). Elles sont donc utilisées dans la formulation de plusieurs produits médicamenteux et des produits cosmétiques favorisant ainsi le développement de l'aromathérapie.

#### 4.6. Limites de cette étude

La présente étude a été réalisée dans le cadre d'une thèse de doctorat qui a pour objectif général de caractériser les microorganismes responsables des toxi-infections alimentaires et la prospection d'un essai de lutte biologique. Pour atteindre cet objectif, quatre études ont été réalisées dont une enquête auprès des opératrices du secteur des aliments de rue et de collectivité (cantine scolaire) pour appréhender les conditions de production des DAOA, deux études sur la caractérisation des pathogènes et une étude portant sur les propriétés antibactériennes des huiles essentielles sur les souches d'*E. coli* isolées des échantillons analysés.

Cette étude fournit des données actualisées mais pour la partie portant sur la caractérisation des bactéries, la taille des échantillons analysés est relativement faible. En effet, seulement 20 écoles sur un total de 486 ont été prises en compte pour l'échantillonnage des aliments (n=100) et des écouvillons des mains des opératrices (n=40). Aussi, en plus des bactéries caractérisées d'autres pouvaient être considérées pour permettre d'avoir une idée plus large sur les microorganismes pathogènes qui circulent réellement dans le secteur des aliments de rue et de collectivité de la zone d'étude. Bien que cette étude ne soit pas représentative de la zone d'étude en raison du peu d'échantillons d'écoles, d'aliments et d'écouvillons des mains des opératrices collectés, elle est actuelle et permet de comprendre la situation dans la zone d'étude. Par ailleurs, les échantillons d'aliments analysés étaient seulement des DAOA, une partie du plat consommé par les écoliers. Une analyse microbiologique du plat complet permettrait d'avoir idée sur la qualité microbiologique des aliments consommés par les enfants. Aussi, tous les facteurs de risque (ustensiles, eaux, environnement) n'ont pas été pris en compte pour les analyses microbiologiques pour mieux caractériser les sources de contamination et les types de contamination des aliments.

S'agissant de l'antibiorésistance et de la virulence des bactéries, cela aurait été plus pertinent si un nombre conséquent d'antibiotiques avaient été testés sur toutes les bactéries isolées et que tous les gènes de virulence associés aux bactéries isolées avaient été investigués. Cependant, il n'est pas toujours facile d'aborder tous les aspects d'une étude pour diverses raisons.

Pour l'étude sur les huiles essentielles, la composition des plantes étudiées est variable selon l'origine, la méthode d'extraction des huiles et les conditions de culture des plantes ne sont pas les mêmes partout. Il est aussi difficile d'avoir des formulations homogènes pour des essais reproductibles

entraînant ainsi un problème de manque de standardisation. L'étude aurait été plus pertinente si nous avions effectué des essais cliniques à grande échelle dans les aliments et pas seulement des études *in vitro*. Il n'existe pas pratiquement de données sur les doses optimales et les risques à long terme. Aussi, des interactions sont possibles avec des médicaments en cas de mélange des ingrédients. Les effets révélés des huiles essentielles sont parfois subjectifs et les essais cliniques *in vitro* ne reflètent pas les formes et les conditions réelles dans lesquelles les ingrédients sont utilisés. Les huiles essentielles sont considérées comme des compléments alimentaires et non comme des médicaments.

Pour finir, une analyse du risque ou socio-économique préalable n'a pas été effectuée avant la formulation des recommandations, alors que la décision est basée sur le risque et non sur le danger.

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

### Conclusion générale

Cette étude avait pour objectif d'évaluer la qualité microbiologique des aliments d'origine animale et des mains en milieu scolaire dans le département du Mono au Bénin et la prospection des solutions alternatives à l'utilisation des antibiotiques pour lutter contre la propagation des microorganismes indicateurs et pathogènes responsables de la plupart des toxi-infections et des maladies d'origine alimentaire.

Les résultats auxquels nous sommes parvenus à la fin de cette thèse ont confirmé que les aliments d'origine animale étaient manipulés dans les conditions d'hygiène inadéquates. Par conséquent, les microorganismes qu'ils hébergeaient, caractérisés sur le plan moléculaire grâce au séquençage de leur ARNr 16S, étaient susceptibles de causer des TIAC et des maladies d'origine alimentaire. Ces microorganismes semblent être apportés par les opératrices du secteur alimentaire puisque les échantillons de la face palmaire de leurs mains étaient contaminés par les mêmes microorganismes. Par la suite, l'étude sur la détermination de la virulence et la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des aliments d'origine animale et des surfaces a aussi confirmé que la consommation de ces aliments pouvait entraîner des risques de TIA en raison de la présence de cette bactérie. Par ailleurs, les activités antimicrobiennes des huiles essentielles étudiées ont, à leur tour, confirmé que ces huiles étaient des puissants antimicrobiens grâce à leur richesse en molécules chimiques et peuvent donc constituer des alternatives aux antibiotiques pour empêcher le transfert des gènes de résistance entre les bactéries.

Tous ces résultats nous amènent à dire que la consommation des aliments d'origine animale dans les écoles peut être dangereuse pour la santé des consommateurs.

Pour cela, les recommandations suivantes sont à formuler :

**A l'endroit des chercheurs :** ils doivent mettre en place des projets pour la vulgarisation des résultats de recherche au profit des opératrices du secteur alimentaire sur les bonnes pratiques d'hygiène et les bienfaits de l'utilisation des épices étudiés dans leur production culinaire pour aromatiser bien sûr mais, surtout, pour empêcher la croissance des agents pathogènes dans les aliments préparés. Ils doivent rechercher et obtenir des financements pour réaliser les études évoquées en perspectives afin aborder tous les contours de la question pour une utilisation judicieuse des huiles essentielles et une contribution effective à la lutte contre les pathogènes responsables des TIAC par les résultats issus de ces études.

**Aux décideurs politiques :** ils doivent mettre en place les réglementations adaptées aux conditions des cuisines de collectivité des écoles et responsabiliser les directeurs d'école pour le suivi de proximité du respect par les opératrices de cuisine des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication pour limiter voire prévenir les épidémies de TIA. Ils doivent aussi mettre à disposition des écoles des ustensiles de cuisine en matériels inoxydables. Les décideurs politiques et les autorités à divers niveaux doivent encourager la culture des plantes aromatiques étudiées et l'extraction de leurs huiles essentielles pour qu'elles soient disponibles et accessibles à tout moment.

## Perspectives

### **Evaluation de la qualité microbiologique des DAOA vendues dans les écoles primaires publiques des autres départements du Bénin**

Etant donné que peu d'études sont effectuées sur la qualité microbiologique des DAOA au Bénin, il est important d'étendre cette étude aux autres départements pour avoir une idée globale de la situation dans le pays. Cette étude aura pour objectif d'évaluer la qualité microbiologique des DAOA vendues dans chacun des départements restants à investiguer. Les résultats de recherche permettront de contribuer à la constitution des bases de données nécessaires pour que les autorités à divers niveaux prennent des décisions idoines pour le secteur.

### **Fractionnement bio guidé des huiles essentielles**

L'objectif de cette étude sera de contribuer à une meilleure valorisation des huiles essentielles des quatre plantes aromatiques étudiées. En effet, elle va permettre d'identifier les principes actifs des huiles essentielles ou de nouvelles substances valables aussi bien pour des luttés biologiques qu'à des fins thérapeutiques. Cette étude permettra donc de regrouper les molécules chimiques valorisables pour leurs excellentes et nombreuses propriétés (anti-inflammatoire, antioxydantes, antibactériennes, acaricides, antifongiques etc...).

### **Sérotypage et antibiorésistance des souches de *Salmonella* spp**

Les TIA causées par *Salmonella* sont aussi de grande importance en matière de sécurité des aliments et de santé publique. L'objectif de cette étude sera de rechercher les sérotypes de *Salmonella* effectivement présents dans les souches de *Salmonella* isolées des aliments d'origine animale et des mains, et d'étudier leur résistance aux antibiotiques pour appréhender les différents types de TIAC auxquels les consommateurs sont exposés.

### **Caractérisation génomique des souches d'*Escherichia coli* et de *Salmonella* isolées des aliments d'origine animale et des surfaces des mains des opératrices**

Dans cette étude les souches d'*Escherichia coli* et de *Salmonella* isolées des aliments d'origine animale et des surfaces seront caractérisées par le séquençage de leur génome entier pour identifier tous leurs gènes de résistance aux antibiotiques et tous leurs gènes de virulence pour une meilleure surveillance de l'utilisation des antibiotiques dans les élevages et pendant la prise en charge des cas de TIAC et de maladies d'origine alimentaire.

## Références bibliographiques

- Abdissa, R., Haile, W., Fite, A. T., Beyi, A. F., Agga, G. E., Edao, B. M., Tadesse, F., Korsu, M. G., Beyene, T., & Beyene, T. J. (2017). Prevalence of *Escherichia coli* O157 : H7 in beef cattle at slaughter and beef carcasses at retail shops in Ethiopia. *BMC infectious diseases*, 17(1), 1-6.
- Abebe, E., Gugsu, G., Ahmed, M., Awol, N., Tefera, Y., Abegaz, S., & Sisay, T. (2023). Occurrence and antimicrobial resistance pattern of *E. coli* O157 : H7 isolated from foods of Bovine origin in Dessie and Kombolcha towns, Ethiopia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 17(1), e0010706.
- Abong'o, B. O., & Momba, M. N. B. (2008). Prevalence and potential link between *E. coli* O157 : H7 isolated from drinking water, meat and vegetables and stools of diarrhoeic confirmed and non-confirmed HIV/AIDS patients in the Amathole District–South Africa. *Journal of applied microbiology*, 105(2), 424-431.
- Abulreesh, H. H., & Organji, S. R. (2011). The prevalence of multidrug-resistant staphylococci in food and the environment of Makkah, Saudi Arabia. *Res J Microbiol*, 6(6), 510-523.
- Achiba, M. (2022). Connaissances et attitudes des consommateurs et des vendeurs des aliments de rue aux environs de Biskra, mémoire de master, Université de Biskra, Algérie, 1-42.
- Adam, R. D. (2021). *Giardia duodenalis* : Biology and Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(4), e00024-19.
- Adamu, M. S., Ugochukwu, I. C. I., Idoko, S. I., Kwabugge, Y. A., Sa'ad Abubakar, N., & Ameh, J. A. (2018). Virulent gene profile and antimicrobial susceptibility pattern of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from humans in Maiduguri, Borno State, North-Eastern Nigeria. *Comparative Clinical Pathology*, 27(2), 341-351.
- Adefisoye, M. A., & Okoh, A. I. (2016). Identification and antimicrobial resistance prevalence of pathogenic *Escherichia coli* strains from treated wastewater effluents in Eastern Cape, South Africa. *Microbiologyopen*, 5(1), 143-151.
- Adenipekun, E. O., Jackson, C. R., Oluwadun, A., Iwalokun, B. A., Frye, J. G., Barrett, J. B., Hiott, L. M., & Woodley, T. A. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from food animals in Lagos, Nigeria. *Microbial Drug Resistance*, 21(3), 358-365.
- Adli, D. E. H., Kahloula, K., Slimani, M., Brahmi, M., & Benreguiég, M. (2018). Effets prophylactiques de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* chez les rats wistar en développement coexposés au plomb et au manganèse. *Phytothérapie*, 16(S1), S1-S7.
- Agbagwa, O. E., Chinwi, C. M., & Horsfall, S. J. (2022). Antibigram and multidrug resistant pattern of *Escherichia coli* from environmental sources in Port Harcourt. *African Journal of Microbiology Research*, 16(6), 217-222.
- Agbo, G. M., Dokui, F., Dedome, S. L., Salifou, C. F. A., Toleba, S. S., & Tchobo, F. P. (2023). Qualité physique et nutritionnelle du lait des vaches Borgou nourries avec des pierres à lécher mise au point au Bénin. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 11(3).
- Agregán, R., Munekata, P. E., Zhang, W., Zhang, J., Pérez-Santaescolástica, C., & Lorenzo, J. M. (2021). High-pressure processing in inactivation of *Salmonella* spp. in food products. *Trends in Food Science & Technology*, 107, 31-37.
- Aissani Fatine, C. M. (2015). Etude de l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de l'ail (*Allium sativum* L.). (14)12.

- Ajuwon, B. I., Babatunde, S. K., Kolawole, O. M., Ajiboye, A. E., & Lawal, A. H. (2021). Prevalence and antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157 : H7 in beef at a commercial slaughterhouse in Moro, Kwara State, Nigeria. *Access Microbiology*, 3(11).
- Alabi, O. Y., Odeyemi, E. F., Buari, R. A., Ogunsowo, A. O., & Olorundare, B. O. (2023). Efficacy of botanicals in the control and management of insect pests of cashew (*Anacardium occidentale*): A Review. *Journal of Research in Forestry, Wildlife and Environment*, 15(2), 220-229.
- Alitonou, G. A., Noudogbessi, J.-P., Sessou, P., Tonouhewa, A., Avlessi, F., Menut, C., & Sohounhloue, D. C. (2012). Chemical composition and biological activities of essential oils of *Pimenta racemosa* (Mill.) JW Moore. From Benin. *Int J Biosci*, 2(9), 1-12.
- Alitonou, G. A., Tchobo, F. P., Avlessi, F., Yehouenou, B., Yedomonhan, P., Koudoro, A. Y., Menut, C., & Sohounhloue, D. K. (2012). Chemical and biological investigations of *Syzygium aromaticum* L. essential oil from Benin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(3), 1360-1367.
- Almeria, S., & Dubey, J. P. (2021). Foodborne transmission of *Toxoplasma gondii* infection in the last decade. An overview. *Research in veterinary science*, 135, 371-385.
- Amente, D. T., Shimelis Mangistu Hailu, D. D. B., Kitila, A. H. W., & Musa, S. A. (2022). Assessment of meat handling practices and occurrence of *Escherichia coli* O157 : H7 in beef meat and meat associated contact surfaces along the meat supply chain in Haramaya District, Eastern Ethiopia. *IJBB*, 4(1), 06-21.
- Anderson, J. L., Asche, F., Garlock, T., & Chu, J. (2017). Aquaculture : Its role in the future of food. In *World Agricultural Resources and Food Security : International Food Security* (p. 159-173).
- Ankri, S. (2021). *Entamoeba histolytica*—gut microbiota interaction : More than meets the eye. *Microorganisms*, 9(3), 581.
- Antonić, B., Dordević, D., Jančiková, S., & Kushkevych, I. (2020). Antimicrobial activity of natural soaps tested by Bioscreen methodology. *Біологічні студії/Studia Biologica*, 14(1), 23-32.
- Anyanwu, M. U., & Okoye, R. C. (2017). Antimicrobial activity of Nigerian medicinal plants. *Journal of intercultural Ethnopharmacology*, 6(2), 240.
- Aouni, M., Pelen, F., & Soulimani, R. (2013). Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*, 11(4), 225-236.
- Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751-1773.
- Asadi, S., Nayeri-Fasaei, B., Zahraei-Salehi, T., Yahya-Rayat, R., Shams, N., & Sharifi, A. (2023). Antibacterial and anti-biofilm properties of carvacrol alone and in combination with cefixime against *Escherichia coli*. *BMC microbiology*, 23(1), 55.
- Ashrafudoulla, M., Na, K. W., Byun, K.-H., Kim, D. H., Yoon, J. W., Mizan, M. F. R., & Kang, I. (2021). Isolation and characterization of *Salmonella* spp. From food and food contact surfaces in a chicken processing factory. *Poultry Science*, 100(8), 101234.
- Asiegbu, C. V., Lebelo, S. L., & Tabit, F. T. (2020). Microbial quality of ready-to-eat street vended food groups sold in the Johannesburg Metropolis, South Africa. *Journal of food quality and hazards control*, 24(48).
- Asma, B. (2023). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du girofle (*Syzygium aromaticum*) et du romarin (*Rosmarinus officinalis*), PhD Thesis, University center of abdalhafid boussouf-MILA], 1-123.

- Ayoub, I. M., Abdel-Aziz, M. M., Elhady, S. S., Bagalagel, A. A., Malatani, R. T., & Elkady, W. M. (2022). Valorization of *Pimenta racemosa* essential oils and extracts: GC-MS and LC-MS Phytochemical Profiling and Evaluation of Helicobacter pylori Inhibitory Activity. *Molecules*, 27(22), 7965.
- Bacar Elia, M. H. (2014). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de l'ail (*Allium sativum* L.). 15(71).
- Bahir, M. A., Errachidi, I., Hemlali, M., Sarhane, B., Tantane, A., Mohammed, A., Belkadi, B., & Filali-Maltouf, A. (2022). Knowledge, Attitude, and Practices (KAP) Regarding Meat Safety and Sanitation among Carcass Handlers Operating and Assessment of Bacteriological Quality of Meat Contact Surfaces at the Marrakech Slaughterhouse, Morocco. *International Journal of Food Science*, 150-155.
- Bai, X., Chen, T., Liu, X., Liu, Z., Ma, R., Su, R., Li, X., Lü, X., Xia, X., & Shi, C. (2023). Antibacterial activity and possible mechanism of *Litsea cubeba* essential oil against *Shigella sonnei* and Its Application in Lettuce. *Foodborne Pathogens and Disease*, 41-52.
- Banjara, N., Nickerson, K. W., Suhr, M. J., & Hallen-Adams, H. E. (2016). Killer toxin from several food-derived *Debaryomyces hansenii* strains effective against pathogenic *Candida* yeasts. *International journal of food microbiology*, 222, 23-29.
- Bariselli, S., Maioli, G., Pupillo, G., Calzolari, M., Torri, D., Cirasella, L., Luppi, A., Torreggiani, C., Garbarino, C., & Barsi, F. (2023). Identification and phylogenetic analysis of *Taenia* spp. Parasites found in wildlife in the Emilia-Romagna region, northern Italy (2017–2022). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 22, 20-27.
- Barour, R., & Derguini, A. (2022). Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du clou de girofle (*syzygium aromaticum*), PhD Thesis, École Nationale Supérieure Vétérinaire, 24(205).
- Bashige, V. C., Bakari, A. S., Okusa, P. N., Kalonda, E. M., & Lumbu, J. B. S. (2020). Criblage phytochimique et activité antimicrobienne de six rhizomes comestibles utilisés en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(4), 1367-1380.
- Batah Safa Saaidia Meryem, Y. S. (2016). Etude de l'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique de l'ail «*Allium sativum* L.», 11(99)
- Batonon-Alavo, D. I., Bastianelli, D., Chrysostome, C. A., Duteurtre, G., & Lescoat, P. (2015). Sécurisation des flux d'approvisionnement en matières premières et de mise en marché des produits dans le secteur avicole : Cas de la filière œufs au Bénin. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 68(1), 3-18.
- Bayala, B. (2014). Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes, PhD Thesis, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II; Université Ouaga 1, 32(231).
- Bedoux, G., Ceapraz, H., Marty, C., Mainguy, C., Bedoux, M.-F., Lejeune, A., Bourgougnon, N., & Marculescu, A. (2011). Essential oils of *Zingiber officinale* and *Angelica archangelica* plants, 23-31.
- Begum, S., Gorman, H., Chadha, A., & Chadee, K. (2021). Entamoeba histolytica. *Trends in Parasitology*, 37(7), 676-677.
- Bekkara, F. A., Bousmaha, L., Bendiab, S. T., Boti, J. B., & Casanova, J. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, 7(1).

- Belaloui Djilia, B. F. (2022). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique de l'ail (*Allium sativum*) et son application dans la conservation des viandes de poulets; PhD Thesis, 26(178).
- Bellik, Y. (2014). Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(1), 40-44.
- Bencheikh, R. S. (s. d.). Sécurité sanitaire des aliments : Une priorité mondiale, centre anti poison du Maroc, 1-16.
- Bennani, L., Berrada, S., Salame, B., Aabouch, M., & Lalami, A. E. O. (2016). Evaluation de la qualité hygiénique des viandes et de certains produits carnés prélevés de la ville de Fès, Maroc/[Evaluation of the hygienic quality the meat and some meat products collected from Fez city, Morocco]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 15(3), 547.
- Berendes, D., Knee, J., Sumner, T., Capone, D., Lai, A., Wood, A., Patel, S., Nalá, R., Cumming, O., & Brown, J. (2019). Gut carriage of antimicrobial resistance genes among young children in urban Maputo, Mozambique : Associations with enteric pathogen carriage and environmental risk factors. *PLoS One*, 14(11), e0225464.
- Beyi, A. F., Fite, A. T., Tora, E., Tafese, A., Genu, T., Kaba, T., Beyene, T. J., Beyene, T., Korsá, M. G., & Tadesse, F. (2017). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* O157 in beef at butcher shops and restaurants in central Ethiopia. *BMC microbiology*, 17, 1-6.
- Bhunia, A. K. (2018). *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*. In A. K. Bhunia, *Foodborne Microbial Pathogens*, p. 209-228.
- Bilel, H., Boubakri, L., Zagrouba, F., & Hamdi, N. (2015). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essentials oils from flowers of *Salvia sharifii*. *European Journal of Chemistry*, 6(3), 301-304.
- Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J. E., Mora, A., Gonzalez, E. A., Bernardez, M. I., Alonso, M. P., Coira, A., Rodriguez, A., & Rey, J. (2003). Verotoxin-producing *Escherichia coli* in Spain : Prevalence, serotypes, and virulence genes of O157: H7 and non-O157 VTEC in ruminants, raw beef products, and humans. *Experimental biology and medicine*, 228(4), 345-351.
- Boudaud, N., Bouteaux, P., La Carbona, S., & Pawlak, B. (2021). Contamination primaire des salades par les microorganismes pathogènes : Points critiques et leviers. *Innovations Agronomiques*, 82, 301-314.
- Boukeria, S. (2016). Etude de l'effet de la variabilité génétique de l'espèce *Allium cepa* L. et *Allium sativum* L. sur la production et l'accumulation des huiles essentielles et sur leurs effets antibactériens 1-237.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- Bouvarel, I., Nys, Y., Panheleux, M., & Lescoat, P. (2010). Comment l'alimentation des poules influence la qualité des oeufs. *INRAE Productions Animales*, 23(2), 167-182.
- Buisson, Y., Marié, J. L., & Davoust, B. (2008). Ces maladies infectieuses importées par les aliments. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 101(4), 343.
- Burt, S. (2004). Essential oils : Their antibacterial properties and potential applications in foods, a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

- Byakya, D., Masumu, J., Sibitali, C., Tshipambe, S. M., Dorny, P., & Dermauw, V. (2022). The prevalence of *Taenia* spp. in pigs slaughtered in Kinshasa. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 36, 100794.
- Candela, E., Goizueta, C., Periago, M. V., & Muñoz-Antoli, C. (2021). Prevalence of intestinal parasites and molecular characterization of *Giardia intestinalis*, *Blastocystis* spp. And *Entamoeba histolytica* in the village of Fortín Mbororé (Puerto Iguazú, Misiones, Argentina). *Parasites & Vectors*, 14(1), 510.
- Candoğan, K., Altuntas, E. G., & İğci, N. (2021). Authentication and quality assessment of meat products by fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Food Engineering Reviews*, 13(1), 66-91.
- Carloni, E., Rotundo, L., Brandi, G., & Amagliani, G. (2018). Rapid and simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157, and *Listeria monocytogenes* by magnetic capture hybridization and multiplex real-time PCR. *Folia microbiologica*, 63, 735-742.
- Société Française de Microbiologie. (2013). Recommandations, comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, 1-60.
- Cauchie, E., Delhalle, L., Taminiau, B., Tahiri, A., Korsak, N., Burteau, S., Fall, P. A., Farnir, F., Baré, G., & Daube, G. (2020). Assessment of spoilage bacterial communities in food wrap and modified atmospheres-packed minced pork meat samples by 16S rDNA metagenetic analysis. *Frontiers in microbiology*, 10, 3074.
- Chahed, A., China, B., Mainil, J., & Daube, G. (2006). Prevalence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* from serotype O157 and other attaching and effacing *Escherichia coli* on bovine carcasses in Algeria. *Journal of applied microbiology*, 101(2), 361-368.
- Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6), 355-362.
- Chekki, R. Z., Snoussi, A., Hamrouni, I., & Bouzouita, N. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(4), 947-956.
- Chen, C., Liu, C.-H., Cai, J., Zhang, W., Qi, W.-L., Wang, Z., Liu, Z.-B., & Yang, Y. (2018). Broad-spectrum antimicrobial activity, chemical composition and mechanism of action of garlic (*Allium sativum*) extracts. *Food Control*, 86, 117-125.
- Chen, Y., Li, H., Yang, L., Wang, L., Sun, R., Shearer, J. E., & Sun, F. (2021). Rapid detection of *Clostridium botulinum* in food using loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(9), 4401.
- Chigor, V. N., Umoh, V. J., Smith, S. I., Igbinosa, E. O., & Okoh, A. I. (2010). Multidrug resistance and plasmid patterns of *Escherichia coli* O157 and other E. coli isolated from diarrhoeal stools and surface waters from some selected sources in Zaria, Nigeria. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(10), 3831-3841.
- Chissaque, A., De Deus, N., Vubil, D., & Mandomando, I. (2018). The Epidemiology of Diarrhea in Children Under 5 Years of Age in Mozambique. *Current Tropical Medicine Reports*, 5(3), 115-124.
- Chukwu, E. E., Nwaokorie, F. O., Coker, A. O., Avila-Campos, M. J., Solis, R. L., Llanco, L. A., & Ogunsola, F. T. (2016). Detection of toxigenic *Clostridium perfringens* and *Clostridium botulinum* from food sold in Lagos, Nigeria. *Anaerobe*, 42, 176-181.
- Compaore, H., Sawadogo-Lingani, H., Savadogo, A., Dianou, D., & Traore, A. S. (2016). Isolement et caractérisation morphologique de moisissures productrices de substances antibactériennes à partir

d'aliments locaux au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 198-210.

Da Silva, N., Taniwaki, M. H., Junqueira, V. C., Silveira, N., Okazaki, M. M., & Gomes, R. A. R. (2018). Microbiological examination methods of food and water : A laboratory manual. CRC Press. 10(11).

da Costa, J. S., da Cruz, E. de N. S., Setzer, W. N., da Silva, J. K. do R., Maia, J. G. S., & Figueiredo, P. L. B. (2020). Essentials oils from Brazilian *Eugenia* and *Syzygium* species and their biological activities. *Biomolecules*, 10(8), 1155.

Dagnas, S. (2015). Développement d'une méthode de quantification du risque d'altération de produits alimentaires par les moisissures. applications aux produits de boulangerie, viennoiserie, pâtisserie, PhD Thesis, Nantes, 1-251.

Dahlsten, E., Lindström, M., & Korkeala, H. (2015). Mechanisms of food processing and storage-related stress tolerance in *Clostridium botulinum*. *Research in microbiology*, 166(4), 344-352.

Dehariya, N., Guha, P., & Gupta, R. K. (2021). Extraction and characterization of essential oil of garlic (*Allium sativum* L.). *Int. J. Chem. Stud*, 9(1), 1455-1459.

Dekkar, L., Saidj, K., & Souidi, H. (2022). Evaluation de la consommation des antibiotiques entre 2018 et 2021 au sein du CHU Nedir Mohamed, CHU Nafissa Hamoud et l'EPH Hassen Badi en Algérie. 445-451.

Demars, V. (2022). Gingembre : *Zingiber officinale* Roscoe. *Hegel*, 3, 236-239.

Diab, M. S., Tarabees, R., Elnaker, Y. F., Hadad, G. A., Saad, M. A., Galbat, S. A., Albogami, S., Hassan, A. M., Dawood, M. A., & Shaaban, S. I. (2021). Molecular Detection, Serotyping, and Antibiotic Resistance of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* Isolated from She-Camels and In-Contact Humans in Egypt. *Antibiotics*, 10(8), 1021.

Dognon, S. R., Douny, C., Salifou, C. F. A., Ahounou, G. S., Dougnon, J., Sessou, P., Karim, A. Y. A., Karim, I. Y. A., & Scippo, M.-L. (2018). 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), 5858-5877.

Dognon, S. R., Salifou, C. F. A., Dougnon, J., Dahouda, M., Scippo, M.-L., & Youssao, A. K. I. (2018). Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin, 12476-12488.

Dougnon, V., Houssou, V. M. C., Anago, E., Nanoukon, C., Mohammed, J., Agbankpe, J., Koudokpon, H., Bouraima, B., Deguenon, E., & Fabiyi, K. (2021). Assessment of the presence of resistance genes detected from the environment and selected food products in Benin. *Journal of Environmental and Public Health*, 2021, 1-10.

Dubois-Brissonnet, F., & Guillier, L. (2020). Les maladies microbiennes d'origine alimentaire. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 55(1), 30-38.

Effler, E., Isaäcson, M., Arntzen, L., Heenan, R., Canter, P., Barrett, T., Lee, L., Mambo, C., Levine, W., & Zaidi, A. (2001). Factors contributing to the emergence of *Escherichia coli* O157 in Africa. *Emerging infectious diseases*, 7(5), 812.

El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., G. Wasef, L., Elewa, Y. H., A. Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M. E., Taha, A. E., M. Abd-Elhakim, Y., & Prasad Devkota, H. (2020). Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.) : A review. *Nutrients*, 12(3), 872.

- Estaleva, C. E. L., Zimba, T. F., Sekyere, J. O., Govinden, U., Chenia, H. Y., Simonsen, G. S., Haldorsen, B., Essack, S. Y., & Sundsfjord, A. (2021). High prevalence of multidrug resistant ESBL- and plasmid mediated AmpC-producing clinical isolates of *Escherichia coli* at Maputo Central Hospital, Mozambique. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 16.
- Fadhila, B. (2017). Activité antibactérienne de l'huile essentielle de deux épices : *Syzygium aromaticum* et *Illicium Verum*. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature, 12(145).
- Farougou, S. (2017). Techniques d'échantillonnage en microbiologie alimentaire, support de cours, UAC/EPAC, 5-33.
- Fayemi, O. E., Akanni, G. B., Elegbeleye, J. A., Aboaba, O. O., & Njage, P. M. (2021). Prevalence, characterization and antibiotic resistance of Shiga toxigenic *Escherichia coli* serogroups isolated from fresh beef and locally processed ready-to-eat meat products in Lagos, Nigeria. *International Journal of Food Microbiology*, 347, 109191.
- Fetsch, A., Contzen, M., Hartelt, K., Kleiser, A., Maassen, S., Rau, J., Kraushaar, B., Layer, F., & Strommenger, B. (2014). *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. *International journal of food microbiology*, 187, 1-6.
- Fradette, M.-S., Culley, A. I., & Charette, S. J. (2022). Detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in environmental water samples : A journey into the past and new perspectives. *Microorganisms*, 10(6), 1175.
- Fremaux, C. (1990). Application de la biologie moléculaire à la connaissance des bactéries lactiques du vin : Identification par sondes nucléiques: étude de plasmides de *Leuconostoc oenos*, PhD Thesis, Bordeaux 2, 178p.
- Ganz, K. R., Clime, L., Farber, J. M., Corneau, N., Veres, T., & Dixon, B. R. (2015). Enhancing the Detection of *Giardia duodenalis* Cysts in Foods by Inertial Microfluidic Separation. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(12), 3925-3933.
- Garcia, A. R., Amorim, M. M., Amaral, A. C. F., da Cruz, J. D., Vermelho, A. B., Nico, D., & Rodrigues, I. A. (2023). Anti-*Leishmania amazonensis* activity, cytotoxic features, and chemical profile of *Allium sativum* (garlic) essential oil. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(7), 375.
- Gargano, V., Sciortino, S., Gambino, D., Costa, A., Agozzino, V., Reale, S., Alduina, R., & Vicari, D. (2021). Antibiotic susceptibility profile and tetracycline resistance genes detection in *Salmonella* spp. Strains isolated from animals and food. *Antibiotics*, 10(7), 809.
- Gaur, V. K., Regar, R. K., Dhiman, N., Gautam, K., Srivastava, J. K., Patnaik, S., Kamthan, M., & Manickam, N. (2019). Biosynthesis and characterization of sophorolipid biosurfactant by *Candida* spp. : Application as food emulsifier and antibacterial agent. *Bioresource technology*, 285, 121314.
- Geletu, U. S., Usmael, M. A., & Bari, F. D. (2021). Rotavirus in Calves and Its Zoonotic Importance. *Veterinary Medicine International*, 2021, 1-18.
- Ghafir, Y., & Daube, G. (2007). Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 151, 79-100.
- Gleason, A., Kumar, C. K., Klein, E., Laxminarayan, R., & Nandi, A. (2024). Effect of rotavirus vaccination on the burden of rotavirus disease and associated antibiotic use in India : A dynamic agent-based simulation analysis. *Vaccine*, 42(22), 126211.
- Goetz, P. (2021). *Syzygium aromaticum* (L.)-Giroflie. *Phytothérapie*, 19(1), 55.

- Gondek, M., Bilaska-Zajac, E., Szczepankiewicz, A. A., Barba, F. J., Witrowa-Rajchert, D., & Wiktor, A. (2025). Pulsed electric field treatment of muscle tissue inactivates *Trichinella spiralis* larvae. Pig and wild boar muscles as a case study. *Food Control*, 171, 111117.
- Gondek, M., Knysz, P., Pyz-Łukasik, R., Łukomska, A., Kuriga, A., & Pomorska-Mól, M. (2021). Distribution of *Trichinella spiralis*, *Trichinella britovi*, and *Trichinella pseudospiralis* in the Diaphragms and *T. spiralis* and *T. britovi* in the Tongues of Experimentally Infected Pigs. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 696284.
- Grenda, T., Grabczak, M., Kwiatek, K., & Bober, A. (2017). Prevalence of *C. botulinum* and *C. perfringens* spores in food products available on Polish market. *Journal of Veterinary Research*, 61(3), 287-291.
- Guan-Zhide, V., Houdayer, C., Rochefort-Morel, C., & Hoarau, C. (2023). Un cas d'anaphylaxie alimentaire au Fusarium. *Revue Française d'Allergologie*, 63(3), 103363.
- Guenifi, W., Gasmi, A., & Lacheheb, A. (2022). Les manifestations extra-hépatiques de l'hépatite A. *La Revue de Médecine Interne*, 43(10), 603-607.
- Gumbo, A., Bangure, D., Gombe, N. T., Mungati, M., Tshimanga, M., Hwalima, Z., & Dube, I. (2015). *Staphylococcus aureus* food poisoning among Bulawayo City Council employees, Zimbabwe, 2014. *BMC Research Notes*, 8(1), 485.
- Guo, W., Yang, Q., Liu, J., Chen, X., Zhang, Y., & Zhang, W. (2022). Multiple fluorescent saltatory rolling circle amplification (SRCA) for simultaneous and sensitive detection of *Salmonella* spp. And *Shigella* spp. In food. *LWT*, 168, 113875.
- Gurmu, E. B., & Gebretinsae, H. (2013). Assessment of bacteriological quality of meat contact surfaces in selected butcher shops of Mekelle city, Ethiopia. *Journal of Environmental and Occupational Health*, 2(2), 61-66.
- Haddadi, K., & Rabhi, H. (2022). Extraction des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et d'*Eucalyptus globulus*: Activité antioxydante et antibactérienne vis-à-vis de deux pathogènes de l'homme, PhD Thesis, Université Mouloud Mammeri, 1-96.
- Hamad, G., Hafez, E. E., Sobhy, S. E., Mehany, T., Elfayoumy, R. A., Elghazaly, E. M., Eskander, M., Tawfik, R. G., Hussein, S. M., & Pereira, L. (2023). Detection of *Clostridium botulinum* in some Egyptian fish products, its control in vitro using *Citrus* leaves extracts, and applicability of *Citrus* limon leaf extract in Tuna. *Foods*, 12(7), 1466.
- Haouarit, K. F. Z., Khattou, N., & Kouadria, H. (2020). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et *Cinnamomum zeylanicum* sur les souches de *Staphylococcus aureus* productrices de biofilms isolées à partir des cas de mammite bovine [PhD Thesis, université ibn khaldoun-tiaret], 51(171).
- Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. *Myrtaceae*): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, 26(21), 6387.
- Hassan, E. M., Örmeci, B., DeRosa, M. C., Dixon, B. R., Sattar, S. A., & Iqbal, A. (2021). A review of *Cryptosporidium* spp. And their detection in water. *Water Science and Technology*, 83(1), 1-25.
- Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., Praet, N., Bellinger, D. C., De Silva, N. R., & Gargouri, N. (2015). World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS medicine*, 12(12), e1001923.

- Heida, F. H., van Zoonen, A. G., Hulscher, J. B., Te Kieffe, B. J., Wessels, R., Kooi, E. M., Bos, A. F., Harmsen, H. J., & de Goffau, M. C. (2016). A necrotizing enterocolitis-associated gut microbiota is present in the meconium : Results of a prospective study. *Clinical infectious diseases*, *62*(7), 863-870.
- Hellberg, R. S., & Chu, E. (2016). Effects of climate change on the persistence and dispersal of foodborne bacterial pathogens in the outdoor environment : A review. *Critical Reviews in Microbiology*, *42*(4), 548-572.
- Houedjofonon, E. M., Adjovi, N. R. A., Chogou, S. K., Honfoga, B., Mensah, G. A., & Adegbidi, A. (2020). Scale economies and total factor productivity growth on poultry egg farms in Benin : A stochastic frontier approach. *Poultry science*, *99*(8), 3853-3864.
- Houkpatin, W. A., Mizehoun-Adissoda, C., Lokonon, J., Tougan, U. P., Gbondje, J. L. S., Padonou, G., Houindote, A., & Bodjrenou, S. (2020). Update of the nutritional situation in Benin Republic. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*, *4*(9), S116-S123.
- Houkpe, E. C., Sessou, P., Farougou, S., Daube, G., Delcenserie, V., Azokpota, P., & Korsak, N. (2023). Prevalence, antibiotic resistance, and virulence gene profile of *Escherichia coli* strains shared between food and other sources in Africa : A systematic review. *Veterinary World*, *16*(10), 2016-2028.
- Houkpe, E. C., Sessou, P., Farougou, S., Dotche, I., Daube, G., Delcenserie, V., Azokpota, P., & Korsak, N. (2023). Hygiene practices of food of animal origin operators in primary schools in the Mono Department of Benin. A cross-sectional study. *Heliyon*, 1-10, e17135.
- Ibtissam, B., & Benchercher Besema, B. R. (2021). Evaluation de l'activité antibactérienne de deux types d'huiles essentielles de la carotte sauvage (*Daucus carota L.*), *12*(268).
- Imane, N. I., Fouzia, H., Azzahra, L. F., Ahmed, E., Ismail, G., Idrissa, D., Mohamed, K.-H., Sirine, F., L'Houcine, O., & Noureddine, B. (2020). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of some essential oils against multidrug resistant bacteria. *European Journal of Integrative Medicine*, *35*, 101074.
- Ingenbleek, L., Jazet, E., Dzossa, A. D., Adebayo, S. B., Ogunbangbe, J., Dansou, S., Diallo, Z. J., Kouebou, C., Adegboye, A., & Hossou, E. (2017). Methodology design of the regional sub-Saharan Africa total diet study in Benin, Cameroon, Mali and Nigeria. *Food and Chemical Toxicology*, *109*, 155-169.
- Iwu, C. D., du Plessis, E., Korsten, L., & Okoh, A. I. (2021). Prevalence of *E. coli* O157 : H7 strains in irrigation water and agricultural soil in two district municipalities in South Africa. *International Journal of Environmental Studies*, *78*(3), 474-483.
- Jaja, I. F., Oguttu, J., Jaja, C.-J. I., & Green, E. (2020). Prevalence and distribution of antimicrobial resistance determinants of *Escherichia coli* isolates obtained from meat in South Africa. *Plos One*, *15*(5), e0216914.
- Jansen, F., Dorny, P., Gabriël, S., Dermauw, V., Johansen, M. V., & Trevisan, C. (2021). The survival and dispersal of *Taenia* eggs in the environment : What are the implications for transmission? A systematic review. *Parasites & Vectors*, *14*(1), 88.
- Jayasundara, N. D. B., & Arampath, P. (2021). Effect of variety, location & maturity stage at harvesting, on essential oil chemical composition, and weight yield of *Zingiber officinale roscoe* grown in Sri Lanka. *Heliyon*, *7*(3).
- Ježková, J., Prediger, J., Holubová, N., Sak, B., Konečný, R., Feng, Y., Xiao, L., Rost, M., McEvoy, J., & Kváč, M. (2021). *Cryptosporidium ratti* (Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) and genetic diversity of

*Cryptosporidium* spp. in brown rats (*Rattus norvegicus*) in the Czech Republic. *Parasitology*, 148(1), 84-97.

Johansen, P., & Jespersen, L. (2017). Impact of quorum sensing on the quality of fermented foods. *Current Opinion in Food Science*, 13, 16-25.

John-Onwe, B. N., Iroha, I. R., Moses, I. B., Onuora, A. L., Nwigwe, J. O., Adimora, E. E., Okolo, I. O., Uzoeto, H. O., Ngwu, J. N., & Mohammed, I. D. (2022). Prevalence and multidrug-resistant ESBL-producing *E. coli* in urinary tract infection cases of HIV patients attending Federal Teaching Hospital, Abakaliki, Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, 16(5), 196-201.

Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. (2019). Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(15), 2467-2480.

Jung, J. K. H., & Skinner, K. (2017). Maladies d'origine alimentaire et hydrique dans les populations canadiennes autochtones : Examen de la portée. *Can Comm Dis Rep*, 43(1), 7-14.

K Bhardwaj, A., Vinothkumar, K., & Rajpara, N. (2013). Bacterial quorum sensing inhibitors : Attractive alternatives for control of infectious pathogens showing multiple drug resistance. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, 8(1), 68-83.

Kačániová, M., Galovičová, L., Borotová, P., Valková, V., Ďúranová, H., Kowalczewski, P., \Lukasz, Said-Al Ahl, H. A., Hikal, W. M., Vukic, M., & Savitskaya, T. (2021). Chemical composition, in vitro and in situ antimicrobial and antibiofilm activities of *Syzygium aromaticum* (Clove) essential oil. *Plants*, 10(10), 2185.

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.

Karama, M., Mainga, A. O., Cenci-Goga, B. T., Malahlela, M., El-Ashram, S., & Kalake, A. (2019). Molecular profiling and antimicrobial resistance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O45, O103, O121, O145 and O157 isolates from cattle on cow-calf operations in South Africa. *Scientific Reports*, 9(1), 1-15.

Kaur, K., Kaushal, S., & Rani, R. (2019). Chemical Composition, Antioxidant and Antifungal Potential of Clove (*Syzygium aromaticum*) Essential Oil, its Major Compound and its Derivatives. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(5), 1195-1217.

Khadri, S., Boutefnouchet, N., & Dekhil, M. (2010). Antibacterial activity evaluation of *Allium sativum* essential oil compared to different *Pseudomonas aeruginosa* strains in eastern Algeria. *Scientific Study & Research: Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 11(4), 421-428.

Khan, I. A., & Moretto, M. (2022). Immune responses to *Toxoplasma gondii*. *Current opinion in immunology*, 77, 102226.

Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., & Farag, M. A. (2019). Cheese ripening : A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 343-360.

Khemaissia, O., & Benchikh, A. (2022). Etat des connaissances portant sur Les activités biologiques de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* [PhD Thesis, Université Larbi Tébessi-Tébessa], 67(189).

Kim, H. J., Kim, J. H., Kim, Y. I., Choi, J. S., Park, M. Y., Nam, H.-M., Jung, S.-C., Kwon, J. W., Lee, C. H., & Kim, Y. H. (2010). Prevalence and characterization of *Campylobacter* spp. Isolated from domestic and imported poultry meat in Korea, 2004–2008. *Foodborne pathogens and disease*, 7(10), 1203-1209.

- Kiu, R., & Hall, L. J. (2018). An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerging microbes & infections*, 7(1), 1-15.
- Koffi, K. F. (2021). Etude nutritionnelle du «garba»: Aliment de rue à base de manioc (*Manihot esculenta crantz*, 1766) couramment consommé à Abidjan, Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan-Cocody, Côte d'Ivoire, 1-245.
- Kolypetri, S., Kostoglou, D., Nikolaou, A., Kourkoutas, Y., & Giaouris, E. (2023). Chemical composition, antibacterial and antibiofilm actions of oregano (*Origanum vulgare subsp. Hirtum*) essential oil against *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes*. *Foods*, 12(15), 2893.
- Komagbe, G. S., Sessou, P., Dossa, F., Sossa-Minou, P., Taminiou, B., Azokpota, P., Korsak, N., Daube, G., & Farougou, S. (2019). Assessment of the microbiological quality of beverages sold in collective cafes on the campuses of the University of Abomey-Calavi, Benin Republic. *Journal of Food Safety and Hygiene*, 5(2), 99-111.
- Korsak, N., Clinquart, A., & Daube, G. (2004). *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : Un réel problème de santé publique. *Ann. Méd. Vét*, 148, 174-193.
- Koukou, I., Stergioti, T., la Cour, R., Gkogka, E., & Dalgaard, P. (2022). *Clostridium sporogenes* as surrogate for proteolytic *C. botulinum*-Development and validation of extensive growth and growth-boundary model. *Food Microbiology*, 107, 104060.
- Lan, W., Zhao, X., Chen, M., & Xie, J. (2022). Antimicrobial activity and mechanism of oregano essential oil against *Shewanella putrefaciens*. *Journal of Food Safety*, 42(1), e12952.
- Latifou, A. B., Toko, I. I., Abdel-Rahamane, B., Gandaho, D. M. F., Djibril, L., & Tougan, P. U. (2019). Changements post mortem et évaluation de la qualité du poisson destiné à la consommation humaine : Revue de la Littérature. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, 17(1), 111-141.
- Lauteri, C., Festino, A. R., Conter, M., & Vergara, A. (2022). Prevalence and antimicrobial resistance profile in *Salmonella* spp. Isolates from swine food chain. *Italian Journal of Food Safety*, 11(2).
- Lawrence, R., & Lawrence, K. (2011). Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 51-54.
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and molecular research: GMR*, 2(1), 63-76.
- Lee, H. K., Abdul Halim, H., Thong, K. L., & Chai, L. C. (2017). Assessment of food safety knowledge, attitude, self-reported practices, and microbiological hand hygiene of food handlers. *International journal of environmental research and public health*, 14(1), 55.
- Lima, G. C., Loiko, M. R., Casarin, L. S., & Tondo, E. C. (2013). Assessing the epidemiological data of *Staphylococcus aureus* food poisoning occurred in the State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 759-763.
- Liu, H., Whitehouse, C. A., & Li, B. (2018). Presence and Persistence of Salmonella in Water : The Impact on Microbial Quality of Water and Food Safety. *Frontiers in Public Health*, 6, 159.
- Liu, Y., Liu, J., & Zhang, Y. (2019). Research progress on chemical constituents of *Zingiber officinale* Roscoe. *BioMed research international*, 1-21.
- López, E. I. C., Balcázar, M. F. H., Mendoza, J. M. R., Ortiz, A. D. R., Melo, M. T. O., Parrales, R. S., & Delgado, T. H. (2017). Antimicrobial activity of essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe (*Zingiberaceae*). *American Journal of Plant Sciences*, 8(7), 1511-1524.

- Lupindu, A. M., Olsen, J. E., Ngowi, H. A., Msoffe, P. L., Mtambo, M. M., Scheutz, F., & Dalsgaard, A. (2014). Occurrence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 and other non-sorbitol-fermenting e. coli in cattle and humans in urban areas of Morogoro, Tanzania. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(7), 503-510.
- Lupindu, A. M. (2018). Epidemiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 : H7 in Africa in review. *Southern African Journal of Infectious Diseases*, 33(1), 24-30.
- Madoroba, E., Malokotsa, K. P., Ngwane, C., Lebelo, S., & Magwedere, K. (2022). Presence and Virulence Characteristics of Shiga Toxin *Escherichia coli* and Non-Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 in Products from Animal Protein Supply Chain Enterprises in South Africa. *Foodborne Pathogens and Disease*, 386-393.
- Mahboubi, M. (2019). *Zingiber officinale* Rosc. Essential oil, a review on its composition and bioactivity. *Clinical Phytoscience*, 5(1), 6.
- Maikanov, B., Mustafina, R., Auteleyeva, L., Wiśniewski, J., Anusz, K., Grenda, T., Kwiatek, K., Goldsztejn, M., & Grabczak, M. (2019). *Clostridium botulinum* and *Clostridium perfringens* occurrence in Kazakh honey samples. *Toxins*, 11(8), 472.
- Malema, M. S., Abia, A. L. K., Tandlich, R., Zuma, B., Mwenge Kahinda, J.-M., & Ubomba-Jaswa, E. (2018). Antibiotic-resistant pathogenic *Escherichia coli* isolated from rooftop rainwater-harvesting tanks in the Eastern Cape, South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5), 892.
- Manishimwe, R., Moncada, P. M., Musanayire, V., Shyaka, A., Scott, H. M., & Loneragan, G. H. (2021). Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* spp from the Feces of Food Animals in the East Province of Rwanda. *Animals*, 11(4), 1013.
- Martins, N., Petropoulos, S., & Ferreira, I. C. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre-and post-harvest conditions: A review. *Food chemistry*, 211, 41-50.
- Matta, S. K., Rinkenberger, N., Dunay, I. R., & Sibley, L. D. (2021). *Toxoplasma gondii* infection and its implications within the central nervous system. *Nature Reviews Microbiology*, 19(7), 467-480.
- Maurya, A., Prasad, J., Das, S., & Dwivedy, A. K. (2021). Essential oils and their application in food safety. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 653420.
- Mehdizadeh Gohari, I., A. Navarro, M., Li, J., Shrestha, A., Uzal, F., & A. McClane, B. (2021). Pathogenicity and virulence of *Clostridium perfringens*. *Virulence*, 12(1), 723-753.
- Meng, J., LeJeune, J. T., Zhao, T., & Doyle, M. P. (2012). Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*, 287-309.
- Micali, M. (2016). *C. Botulinum* and *C. perfringens* in Vegetable Foods : Chemistry of Related Toxins. Paris, *Foods of Non-Animal Origin*, Springer International Publishing, p. 19-39).
- Mihafu, F. D., Issa, J. Y., & Kamiyango, M. W. (2020). Implication of sensory evaluation and quality assessment in food product development : A review. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 8(3), 690-702.
- Milton, A. A. P., Priya, G. B., Momin, K. M., Angappan, M., Ghatak, S., & Kannan, P. (2020). Foodborne Pathogenic Anaerobes. In *Food Product Optimization for Quality and Safety Control* p. 31-52.

- Minda Asfaw, G., & Shimelis, R. (2021). *Escherichia coli* O15 : H7 from food of animal origin in Arsi: Occurrence at catering establishments and antimicrobial susceptibility profile. *The Scientific World Journal*, 1-10.
- Mith, H., Clinquart, A., Zhiri, A., Daube, G., & Delcenserie, V. (2015). The impact of oregano (*Origanum heracleoticum*) essential oil and carvacrol on virulence gene transcription by *Escherichia coli* O157 : H7. *FEMS microbiology letters*, 362(1), 1-7.
- Mnif, I., & Ghribi, D. (2016). Glycolipid biosurfactants : Main properties and potential applications in agriculture and food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4310-4320.
- Modaresi, M., & Heidari, M. (2015). The effect of *Allium sativum* extract on pituitary-gonad axis in heat stressed female mice. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(6), 7-9.
- Moghaddami, R., Mahdipour, M., & Ahmadpour, E. (2024). Inflammatory pathways of *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 62, 102760.
- Mohammed, O., Shimelis, D., Admasu, P., & Feyera, T. (2014). Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of *E. coli* isolates from raw meat samples obtained from abattoirs in Dire Dawa City, eastern Ethiopia. *International Journal of Microbiological Research*, 5(1), 35-39.
- Montso, P. K., Mlambo, V., & Ateba, C. N. (2019). The first isolation and molecular characterization of Shiga Toxin-producing virulent multi-drug resistant atypical enteropathogenic *Escherichia coli* O177 serogroup from South African Cattle. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 333.
- Moore, D. L. (2008). Les infections d'origine alimentaire. *Paediatrics & Child Health*, 13(9), 785-788.
- Morasi, R. M., Rall, V. L. M., Dantas, S. T. A., Alonso, V. P. P., & Silva, N. C. C. (2022). *Salmonella* spp. in low water activity food : Occurrence, survival mechanisms, and thermoresistance. *Journal of Food Science*, 87(6), 2310-2323.
- Mota, J. D. O., Boué, G., Prévost, H., Maillet, A., Jaffres, E., Maignien, T., Arnich, N., Sanaa, M., & Federighi, M. (2021). Environmental monitoring program to support food microbiological safety and quality in food industries : A scoping review of the research and guidelines. *Food Control*, 130, 108283.
- Mouawad, C., Nielsen-Leroux, C., Awad, M. K., Sanchis-Borja, V., & El Chamy, L. (2021). Etude du processus pathologique des infections intestinales à *Bacillus thuringiensis*-*Bacillus cereus* sur le modèle drosophile. *Journées de la recherche franco-libanaise*. 36-47
- Moumene, F., Benali-Toumi, F., Benabderrahman, M., Benyamina, A., Selem, H., & Dif, M. M. (2016a). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Allium vineale* and *Allium sativum* of west Algerian. *Phytothérapie*, 14, 170-175.
- Moumene, F., Benali-Toumi, F., Benabderrahman, M., Benyamina, A., Selem, H., & Dif, M. M. (2016b). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Allium vineale* et *Allium sativum* de l'Ouest Algérien. *Phytothérapie*, 14(3), 170-175.
- Moumeni, N. E. Y., Medjani, A., & Meradi, L. (2022). *Caractérisation de l'antibiorésistance dans la région de Souk-Ahras*. 14-37.
- Munda, S., Dutta, S., Haldar, S., & Lal, M. (2018). Chemical Analysis and Therapeutic Uses of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) Essential Oil : A Review. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(4), 994-1002.
- Munir, M. T., Mtimet, N., Guillier, L., Meurens, F., Fravallo, P., Federighi, M., & Kooh, P. (2023). Physical treatments to control *Clostridium botulinum* hazards in food. *Foods*, 12(8), 1580.

- Nani, B. D., Sardi, J. D. C. O., Lazarini, J. G., Silva, D. R., Massariolli, A. P., Cunha, T. M., De Alencar, S. M., Franchin, M., & Rosalen, P. L. (2020). Anti-inflammatory and anti- *candida* effects of brazilian *Organic propolis*, a promising source of bioactive molecules and functional food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(10), 2861-2871.
- Ndiaye, E. H. B., Diop, M. B., Gueye, M. T., Ndiaye, I., Diop, S. M., Fauconnier, M.-L., & Lognay, G. (2018). Characterization of essential oils and hydrosols from senegalese *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. *Journal of essential oil research*, 30(2), 131-141.
- Necib, M., & Brai, S. (2019). *Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées des viandes de volaille* [PhD Thesis, Université laarbi tebessi tebessa], 21(222)
- Nestor, A. O., Cyrille, B. K., Philippe, S., Mahudro, Y., Gwladys, K. S., Yannick, A., Alain, A. G., Felicien, A., Souaïbou, F., & Dominique, S. K. C. (2019). Antibacterial activity of essential oil of *aeollanthus pubescens* on multidrug resistant strains of *Salmonella* and *Escherichia coli* isolated from laying hens farming in Benin. *Advances in Microbiology*, 9(09), 804.
- Noudegbessi, A. M., Alabi, O. Y., & Sikirou, R. (2021). Olfactory responses of *Sitophilus zeamais L.* to bushmint leaf powder and methanol extract on stored maize. *African Crop Science Journal*, 29(1), 1-12.
- Obiero, K., Meulenbroek, P., Drexler, S., Dagne, A., Akoll, P., Odong, R., Kaunda-Arara, B., & Waidbacher, H. (2019). The contribution of fish to food and nutrition security in Eastern Africa : Emerging trends and future outlooks. *Sustainability*, 11(6), 1636.
- Ochoa, T. J., Chen, J., Walker, C. M., Gonzales, E., & Cleary, T. G. (2007). Rifaximin does not induce toxin production or phage-mediated lysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(8), 2837-2841.
- Offoumon, O. T. L. F., Seidou, A. A., Worogo, S. H. S., Soule, F., Assobga, B., Gbangboche, A. B., & Traore, I. A. (2023). Facteurs influençant la production laitière des chèvres Saanen, Rousse de Maradi et des croisés Saanen x Rousse de Maradi en zone soudano-guinéenne du Nord-Bénin. *Annales de l'Université de Parakou-Série Sciences Naturelles et Agronomie*, 13(1), 121-128.
- Ojo, O. E., Ajuwape, A. T. P., Otesile, E. B., Owoade, A. A., Oyekunle, M. A., & Adetosoye, A. I. (2010). Potentially zoonotic shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in the faeces and meat of food-producing animals in Ibadan, Nigeria. *International journal of food microbiology*, 142(1-2), 214-221.
- Okareh, O. T., & Erhahon, O. O. (2015). Microbiological assessment of food and hand-swabs samples of school food vendors in Benin City, Nigeria, 23-28.
- Okechukwu, E. C., Amuta, E. U., Gberikon, G. M., Chima, N., Yakubu, B., Igwe, J. C., & Njoku, M. (2020). Genetic Characterization of Multiple Antibiotics Resistance Genes of *Escherichia coli* Strain from Cow Milk and Its Products Sold in Abuja, Nigeria. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 23(7), 40-50.
- Olasoju, M. I., Olasoju, T. I., Adebowale, O. O., & Adetunji, V. O. (2021). Knowledge and practice of cattle handlers on antibiotic residues in meat and milk in Kwara State, Northcentral Nigeria. *Plos one*, 16(10), e0257249.
- Omaima, B., & Chifa, H. (2020). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du milieu hospitalier cas de l'hôpital Khaledi Abdelaziz-Tébessa, p1-84.

- Omarak, R. A., Hinenoya, A., Awasthi, S. P., Iguchi, A., Shima, A., Elbagory, A.-R. M., & Yamasaki, S. (2016). Prevalence and pathogenic potential of *Escherichia coli* isolates from raw milk and raw milk cheese in Egypt. *International Journal of Food Microbiology*, 221, 69-76.
- Omebije, P. E., Adogo, L. Y., & Ajide, B. (2016). Prevalence and Antibiotic Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* 0157: H7 Associated with Gastroenteritis in Minna, Niger State, Nigeria. *British Microbiol. Res. J*, 17(5), 1-7.
- Omoruyi, I. M., Uwadiae, E., Mulade, G., & Omoruku, E. (2018). Shiga toxin producing strains of *Escherichia coli* (STEC) associated with beef products and its potential pathogenic effect. *Microbiology Research Journal International*, 23(1), 1-7.
- Onyeka, L. O., Adesiyun, A. A., Keddy, K. H., Manqele, A., Madoroba, E., & Thompson, P. N. (2021). Prevalence, risk factors and molecular characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef abattoirs in Gauteng, South Africa. *Food Control*, 123, 107746.
- Orou Seko, M., Ossebi, W., Laré, N., & Bonfoh, B. (2021). Understanding the Relationships Between the Consumer Perception on Food Risks, Quality, and Safety Indicators of Braised Meat Sold in “Dibiterie” Restaurants in Dakar, Senegal. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 788089.
- Osimani, A., Aquilanti, L., & Clementi, F. (2015). Microbiological quality of meat-based meals and operation of control systems within a food service environment. *International Food Research Journal*, 22(4), 1692.
- Oulkheir, S., Aghrouch, M., El Mourabit, F., Dalha, F., Graich, H., Amouch, F., Ouzaid, K., Moukale, A., & Chadli, S. (2017). Antibacterial activity of essential oils extracts from cinnamon, thyme, clove and geranium against a gram negative and gram positive pathogenic bacteria. *J. Dis. Med. Plants*, 3, 1-5.
- Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Agyei, D., & Jespersen, L. (2020). Microbial safety of milk production and fermented dairy products in Africa. *Microorganisms*, 8(5), 752.
- Oyawoye, O. M., Olotu, T. M., Nzekwe, S. C., Idowu, J. A., Abdullahi, T. A., Babatunde, S. O., Ridwan, I. A., Batiha, G. E., Idowu, N., & Alorabi, M. (2022). Antioxidant potential and antibacterial activities of *Allium cepa* (onion) and *Allium sativum* (garlic) against the multidrug resistance bacteria. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 1-7.
- Pandey, A. K., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N. N., & Bajpai, V. K. (2017). Essential oils : Sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in microbiology*, 7, 228506.
- Pateiro, M., Munekata, P. E., Sant’Ana, A. S., Domínguez, R., Rodríguez-Lázaro, D., & Lorenzo, J. M. (2021). Application of essential oils as antimicrobial agents against spoilage and pathogenic microorganisms in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 337, 108966.
- Peck, M. W., & van Vliet, A. H. (2016). Impact of *Clostridium botulinum* genomic diversity on food safety. *Current Opinion in Food Science*, 10, 52-59.
- Pernu, N., Keto-Timonen, R., Lindström, M., & Korkeala, H. (2020). High prevalence of *Clostridium botulinum* in vegetarian sausages. *Food microbiology*, 91, 103512.
- Perricone, M., Arace, E., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A. (2015). Bioactivity of essential oils : A review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1-7.
- Pillay, L., & Olaniran, A. O. (2016). Assessment of physicochemical parameters and prevalence of virulent and multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* in treated effluent of two wastewater treatment plants and receiving aquatic milieu in Durban, South Africa. *Environmental monitoring and assessment*, 188(5), 1-20.

- Poortmans, M., Vanoirbeek, K., Dorner, M. B., & Michiels, C. W. (2022). Selection and development of nontoxic nonproteolytic *Clostridium botulinum* surrogate strains for food challenge testing. *Foods*, *11*(11), 1577.
- Postollec, F., Herbin, S., Cauquil, A. S., Louarn, S., Guinebretière, M.-H., Vidal, R., Thuillier, B., & Coroller, L. (2021). BtID-Outils pour identifier, tracer et contrôler les contaminants de *Bacillus thuringiensis* de la fourche à la fourchette. *Innovations Agronomiques*, *82*, 53-65.
- Puah, S. M., Tan, J. A. M. A., Chew, C. H., & Chua, K. H. (2018). Diverse profiles of biofilm and adhesion genes in *Staphylococcus aureus* food strains isolated from sushi and sashimi. *Journal of Food Science*, *83*(9), 2337-2342.
- Racloz, V., Waltner-Toews, D., & Stärk, K. D. (2020). Evaluation intégrée des risques Maladies d'origine alimentaire. *One health*, *129*, p585.
- Radice, M., Maddela, N. R., & Scalvenzi, L. (2022). Biological activities of *Zingiber officinale roscoe* essential oil against fusarium spp. : a minireview of a promising tool for biocontrol. *Agronomy*, *12*(5).
- Radulović, N. S., Milojević, A. B., Stojković, M. B., & Blagojević, P. D. (2015). New volatile sulfur-containing compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L., *Liliaceae*). *Food Research International*, *78*, 1-10.
- Rae, A., & Nayga, R. (2010). Trends in consumption, production and trade in livestock and livestock products. Island Press, 12-35.
- Raji, M. A., Minga, U. M., & Machang'u, R. S. (2008). Prevalence and characterization of verotoxin producing *Escherichia coli* O157 from diarrhoea patients in Morogoro, Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research*, *10*(3), 151-158.
- Ramdani, N., & Boukoucha, M. (2014). Caractérisation phénotypique et moléculaire des salmonelles isolées à partir des aliments et d'origine humaine responsables de gastro-entérites, p201.
- Randriamalala, N. C., Rafalimino, H. N., Andrianjafinoro, T. H., Rakotonirina, F. P., Rabarijaona, H. S. N., Pamphile, M., Rakoto, A. S., Ralison, F., Rasoamananjara, J., & Ramaroson, J. (2019). Pratiques d'hygiène et microbiologie des denrées alimentaires dans les gargotes à Ankatso. *Revue d'odontomatologie malgache en ligne* ISSN, 47-59.
- Organisation Mondiale de la Santé. (2020). Document d'informations sur la sécurité sanitaire des aliments, Rapport final, p35.
- Rauf, A., Abu-Izneid, T., Thiruvengadam, M., Imran, M., Olatunde, A., Shariati, M. A., Bawazeer, S., Naz, S., Shirooie, S., & Sanches-Silva, A. (2022). Garlic (*Allium sativum* L.): Its chemistry, nutritional composition, toxicity, and anticancer properties. *Current topics in medicinal chemistry*, *22*(11), 957-972.
- Raza, J., Asmat, T. M., Mustafa, M. Z., Ishtiaq, H., Mumtaz, K., Jalees, M. M., Samad, A., Shah, A., Khalid, S., & ur Rehman, H. (2021). Contamination of ready-to-eat street food in Pakistan with *Salmonella* spp. : Implications for consumers and food safety. *International Journal of Infectious Diseases*, *106*, 123-127.
- Ren, F., Reilly, K., Gaffney, M., Kerry, J. P., Hossain, M., & Rai, D. K. (2017). Evaluation of polyphenolic content and antioxidant activity in two onion varieties grown under organic and conventional production systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *97*(9), 2982-2990.
- Richter, L., Plessis, E. D., Duvenage, S., & Korsten, L. (2021). High prevalence of multidrug resistant *Escherichia coli* isolated from fresh vegetables sold by selected formal and informal traders in the most densely populated Province of South Africa. *Journal of Food Science*, *86*(1), 161-168.

- Rojas-López, L., Marques, R. C., & Svärd, S. G. (2022). *Giardia duodenalis*. *Trends in Parasitology*, 38(7), 605-606.
- Rood, J. I., Adams, V., Lacey, J., Lyras, D., McClane, B. A., Melville, S. B., Moore, R. J., Popoff, M. R., Sarker, M. R., & Songer, J. G. (2018). Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. *Anaerobe*, 53, 5-10.
- Ryan, U., Hijjawi, N., Feng, Y., & Xiao, L. (2019). *Giardia* : An under-reported foodborne parasite. *International Journal for Parasitology*, 49(1), 1-11.
- Sakarikou, C., Kostoglou, D., Simões, M., & Giaouris, E. (2020). Exploitation of plant extracts and phytochemicals against resistant *Salmonella* spp. In biofilms. *Food Research International*, 128, 108806.
- Sakhraoui Ahlam, T. C. (2021). *Propriétés biologiques du Zingiber officinale* [PhD Thesis], 1-57.
- Salamandane, A., Alves, S., Chambel, L., Malfeito-Ferreira, M., & Brito, L. (2022). Characterization of *Escherichia coli* from water and food sold on the streets of Maputo : molecular typing, virulence genes, and antibiotic resistance. *Applied Microbiology*, 2(1), 133-147.
- Salamandane, A., Silva, A. C., Brito, L., & Malfeito-Ferreira, M. (2021). Microbiological assessment of street foods at the point of sale in Maputo (Mozambique). *Food Quality and Safety*, 5, 1-9.
- Sallam, K. I., Mohammed, M. A., Hassan, M. A., & Tamura, T. (2014). Prevalence, molecular identification and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* serovars isolated from retail beef products in Mansoura, Egypt. *Food control*, 38, 209-214.
- Sare, O. E. B. N., Hongbete, F., Kindossi, M. J., Houssou, P. A. F., & Tchobo, P. F. (2023). Evaluation de la qualité microbiologique et chimique du Toubani, un mets traditionnel africain à base de niébé. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 11(4), 395-400.
- Sasidharan, I., & Menon, A. N. (2010). Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (*Zingiber officinale Roscoe*). *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 2(4), 40-43.
- Satyral, P., Craft, J. D., Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. (2017). The chemical compositions of the volatile oils of garlic (*Allium sativum*) and wild garlic (*Allium vineale*). *Foods*, 6(8), 63.
- Selles, S. M. A., Kouidri, M., Belhamiti, B. T., & Ait Amrane, A. (2020). Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4), 2352-2358.
- Senouci, H., Benyelles, N. G., Dib, M. E., Costa, J., & Muselli, A. (2020). Chemical composition and combinatory antifungal activities of *Ammoides verticillata*, *Allium sativum* and *Curcuma longa* essential oils against four fungi responsible for tomato diseases. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 23(3), 196-204.
- Sessou, P., Farougou, S., Yéhouéno, B., Agniwo, B., Alitonou, G., Azokpota, P., Youssao, I., & Sohounhloue, D. (2013). Biological control of spoilage and pathogens moulds in culture medium and Beninese traditional cheese wagashi by *Syzygium aromaticum* essential oil. *African Journal of Microbiology Research*, 7(21), 2454-2463.
- Sessou, P., Klotoe, J. R., Dougnon, V., Osseni, S. D., Hounkpe, E., Azokpota, P., Issaka, Y., Loko, F., Sohounhloue, D., & Farougou, S. (2015). Safety evaluation of traditional cheese wagashi treated with essential oils in wistar rats : a subchronic toxicity study. *Food and Public Health*, 5(4), 138-143.

- Sharma, P. K., Singh, V., & Ali, M. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of fresh rhizome essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe. *Pharmacognosy Journal*, 8(3).
- Shaw, A. G., Cornwell, E., Sim, K., Thrower, H., Scott, H., Brown, J. C., Dixon, R. A., & Kroll, J. S. (2020). Dynamics of toxigenic *Clostridium perfringens* colonisation in a cohort of prematurely born neonatal infants. *BMC pediatrics*, 20(1), 1-11.
- Si, W., Gong, J., Tsao, R., Zhou, T., Yu, H., Poppe, C., Johnson, R., & Du, Z. (2006). Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 100(2), 296-305.
- Six, S. C., Buysier, M., Vignaud, M., Dao, T. T., Messio, S., & Payraud, S. (2012). Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus* : Bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010. *Bull. Épidémiol. Anim. Aliment*, 50, 57-61.
- Smith, B. A., & Fazil, A. (2019). Quelles seront les répercussions des changements climatiques sur les maladies microbiennes d'origine alimentaire au Canada. *Relevé des maladies transmissibles au Canada*, 45(4), 119-125.
- Sonon, P., Imorou, R. S., Adjibade, N., Arame, H., & Adite, A. (2023). Demographic characteristics and exploitation rate of *Dormitator lebretonis* (Pisces: Eleotridae: Steindachner, 1870) from four coastal lagoons of Southern Benin, West Africa. *Aquatic Research*, 6(2), 97-108.
- Soriyi, I., Agbogli, H. K., & Dongdem, J. T. (2008). A pilot microbial assessment of beef sold in the Ashaiman market, a suburb of Accra, Ghana. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 8(1), 91-103.
- Sossa-Minou P. C. (2018). Evaluation de la qualité microbiologique des aliments solides de grande consommation vendus en restauration collective sur les campus de l'Université d'Abomey-Calavi, mémoire de master, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi de l'Université d'Abomey-Calavi, 1-90.
- Sossouve, E. E., Yassegoungbe, F. P., Ahozonlin, M. C., Houessou, S. O., Onanyemi, T., Oloukoi, D., Mensah, G. A., & Dossa, L. H. (2023). Évaluation de la production laitière des vaches allaitantes de races locales élevées sur pâturage naturel en milieu péri-urbain au sud du Bénin. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) Juin*, 33(02).
- Sun, X.-M., Hao, C.-Y., Wu, A.-Q., Luo, Z.-N., El-Ashram, S., Alouffi, A., Gu, Y., Liu, S., Huang, J.-J., & Zhu, X.-P. (2024). *Trichinella spiralis*-induced immunomodulation signatures on gut microbiota and metabolic pathways in mice. *PLoS Pathogens*, 20(1), e1011893.
- Tarazi, Y. H., Al Dwekat, A. F., & Ismail, Z. B. (2021). Molecular characterization of *Salmonella* spp. Isolates from river and dam water, irrigated vegetables, livestock, and poultry manures in Jordan. *Veterinary World*, 14(3), 813.
- Teles, A. M., dos Santos, B. A., Ferreira, C. G., Mouchreck, A. N., da Silva Calabrese, K., Abreu-Silva, A. L., & Almeida-Souza, F. (2019). Ginger (*Zingiber officinale*) antimicrobial potential: A review. *Ginger Cultivation and Its Antimicrobial and Pharmacological Potentials*, p101.
- Thonda, O. A., Oluduro, A. O., & Oriade, K. D. (2015). Prevalence of multiple antibiotic resistant *Escherichia coli* serotypes in cow raw milk samples and traditional dairy products in Osun State, Nigeria. *British Microbiology Research Journal*, 5(2), 117.
- Touati, H., & Chhairi, O. (2015). L'activité antibactérienne des essentielles de Syziguin Aromaticum et Mentha Spicata contre trois souches E. coli responsables des diarrhées néonatales du veau [PhD Thesis, université ibn khaldoun TIARET], p57.

- Trudel-Ferland, M. (2024). Approches pour la détection des virus d'origine alimentaire : Développement de méthodes de détection et étude de la persistance de l'ARN provenant de virus non infectieux, Doctorat en sciences des aliments, Université Laval, Québec, Canada, 1-249.
- Turnidge, J., & Abbott, I. J. (2022). EUCAST breakpoint categories and the revised "I" : A stewardship opportunity for "I" mproving outcomes. *Clinical Microbiology and Infection*, 28(4), 475-476.
- Usuda, D., Tsuge, S., Sakurai, R., Kawai, K., Matsubara, S., Tanaka, R., Suzuki, M., Takano, H., Shimozawa, S., & Hotchi, Y. (2022). Amebic liver abscess by *Entamoeba histolytica*. *World journal of clinical cases*, 10(36), 13157.
- Vaillant, V., De Valk, H., & Saura, C. (2012). Systèmes de surveillance des maladies d'origine alimentaire : Sources, méthodes, apports, limites. *Santé animale-alimentation*, 3, 1-5.
- Voillot, H. (2018). Résistance et consommation des antibiotiques en ville, thèse en pharmacie, Université de Rouen, p122.
- Waker, E., Ambrozkiwicz, F., Kulecka, M., Paziewska, A., Skubisz, K., Cybula, P., Targoński, Ł., Mikula, M., Walewski, J., & Ostrowski, J. (2020). High Prevalence of Genetically Related *Clostridium difficile* Strains at a Single Hemato-Oncology Ward Over 10 Years. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1618.
- Wang, W., Zhang, L., Li, N., & Zu, Y. (2012). Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxicity activities of *Zingiber officinale Roscoe* essential oil. *African journal of biochemistry research*, 6(6), 75-80.
- Weill, V. V., & de Valk, H. (2019). Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008, bulletin épidémiologique hebdomadaire-BEH, Institut de veille sanitaire, Saint Maurice, 344-348.
- Wilson, C., Mdegela, R. H., Nonga, H. E., Makingi, G., Churi, A. J., Stelzle, D., Mkupasi, E. M., Schmidt, V., Carabin, H., & Winkler, A. S. (2023). Seroprevalence and risk factors for *Taenia* spp infection in pigs in Kongwa and Songwe districts, Tanzania : A cross-sectional study. *Food and Waterborne Parasitology*, 33, e00215.
- Wu, Y.-D., Li, L., Fan, Y.-L., Ni, X.-W., Ohiolei, J. A., Li, W.-H., Li, J.-Q., Zhang, N.-Z., Fu, B.-Q., & Yan, H.-B. (2021). Genetic evolution and implications of the mitochondrial genomes of two newly identified *Taenia* spp. In rodents from Qinghai-Tibet Plateau. *Frontiers in Microbiology*, 12, 647119.
- Yamamoto-Ribeiro, M. M. G., Grespan, R., Kohiyama, C. Y., Ferreira, F. D., Mossini, S. A. G., Silva, E. L., de Abreu Filho, B. A., Mikcha, J. M. G., & Junior, M. M. (2013). Effect of *Zingiber officinale* essential oil on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food chemistry*, 141(3), 3147-3152.
- Yao, K. R. (2019). Caractérisation phénotypique et moléculaire de *Salmonella* sp et *Escherichia coli* isolées chez les bovins dans le district d'Abidjan (Côte d'Ivoire) : impact biologique de l'utilisation des antibiotiques, PhD Thesis, Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire), p242.
- Yasin, G., Jasim, S. A., Mahmudiono, T., Al-Shawi, S. G., Shichiyakh, R. A., Shoukat, S., Kadhim, A. J., Iswanto, A. H., Saleh, M. M., & Fenjan, M. (2022). Investigating the effect of garlic (*Allium sativum*) essential oil on foodborne pathogenic microorganisms. *Food Science and Technology*, 42, e03822.
- Yehouenou, B., Ahoussi, E., Sessou, P., Alitonou, G. A., Toukourou, F., & Sohounhloue, C. K. D. (2012). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils (EO) extracted from leaves of *Lippia rugosa* A. Chev against foods pathogenic and adulterated microorganisms. *African Journal of Microbiological Research*, 6(26), 5496-5505.
- Zaremski, A., Amusant, N., & Zaremski, C. (2022). Bilan du colloque" Arbres et autres plantes de la Cosmétopée : Perspectives d'innovation et de valorisation des filières en Outre-mer", du 28 mars au 30 mars 2022, Guyane, 1-57.

Zhao, L., Wang, J., Sun, X. X., Wang, J., Chen, Z., Xu, X., Dong, M., Guo, Y., Wang, Y., & Chen, P. (2021). Development and evaluation of the rapid and sensitive RPA assays for specific detection of *Salmonella* spp. In food samples. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 631921.

**Annexe :** Valorisation des résultats de recherche

➤ **Liste des articles publiés**

**Houkpe CE, Sessou P, Dotche I Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Hygiene practices of food from animal origin operators in primary schools in the Mono Department of Benin. A cross-sectional study, 2405-8440/© 2023 Published by Elsevier Ltd, Available online at <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17135>.**

**Houkpe CE, Sessou P, Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Prevalence, Antibiotic resistance virulence genes profiles of *Escherichia coli* shared between food and human sample: A systematic review. Veterinary World, EISSN: 2231-0916. [www.veterinaryworld.org/Vol.16/October-2023/2.pdf](http://www.veterinaryworld.org/Vol.16/October-2023/2.pdf).**

➤ **Liste des projets d'articles**

**Houkpe CE, Sessou P, Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Characterization of *Escherichia coli* strains isolated from foods of animal origin and hand surface samples of school kitchen operators in the Mono Department of Benin.**

**Houkpe CE, Sessou P, Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Chemical composition and biological activities of essential oils of spices against *Escherichia coli* isolated from food of animal origin and hand surface samples of school kitchen operators in the Mono Department of Benin.**

➤ **Communications orales**

**Houkpe CE, Sessou P, Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Inventory of the production conditions of food of animal origin sold in primary schools in the Mono department of Benin. 7<sup>th</sup> Farah day, Liège (Belgium), 20 November 2020.**

**Houkpe CE, Sessou P, Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Conditions d'hygiène de production et de vente des aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire dans le département du Mono au Bénin. Journées scientifiques de l'Institut Régional de Santé Publique (IRSP) Ouidah/Bénin, 4<sup>e</sup> édition, 3 – 4 décembre 2020.**

**Houkpe CE, Sessou P, Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Evaluation de la qualité microbiologique des aliments d'origine animale vendus en milieu scolaire dans le département du Mono au Bénin.** Journées scientifiques du Centre Béninois de Recherche Scientifique et d'Innovation (CBRSI), 10<sup>e</sup> édition, Cotonou/Bénin, 28 – 30 juin 2021. Journées scientifiques du Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur (JS/CAMES), 5<sup>e</sup> édition, Dakar/Sénégal, 6 – 9 décembre 2021.

**Houkpe CE, Sessou P, Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Microbiological quality of food from animal origin and kitchen operator's hand surface in the department of Mono in Benin.** Journée des doctorants, 1<sup>ère</sup> édition, Lille/France, 17 mai 2022.

**Houkpe CE, Sessou P, Farougou S, Daube G, Delcenserie V, Azokpota P, Korsak N. Characterization of *Escherichia coli* strains isolated from foods of animal origin and kitchen operator's hand surface in the Mono Department of Benin.** Colloque des Sciences, Cultures et Technologies de l'Université d'Abomey-Calavi, 9<sup>e</sup> édition.

**Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège**

4000 Liège (Belgique)

D/2025/0480/13

ISBN 978-2-87543-241-4

