



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Prévalence des souches de salmonelles dans les graines de sésame et leurs produits dérivés au Burkina Faso

Zoénabo DOUAMBA^{1*}, Mamoudou OUARME², Sidbewendé Clarisse COMPAORE¹,
Namwin Siourimè SOMDA³, Donatien KABORE¹, Hagrétou SAWADOGO/LINGANI¹
et Jacques SIMPORE²

¹Département Technologie Alimentaire de l'Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

²Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (LaBioGene) de l'Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³Département Technologie Alimentaire de l'Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), 03 BP 2393 Bobo Dioulasso 03, Burkina Faso.

*Auteur correspondant ; E-mail : zeynadouamba@gmail.com ; Tél.: 00226 70 74 65 18

Received: 21-02-2022

Accepted: 21-06-2022

Published: 30-06-2022

RESUME

Le sésame constitue le deuxième produit d'exportation agricole au Burkina Faso mais sa qualité n'est pas toujours satisfaisante à cause de la présence d'impuretés et parfois de microorganismes pathogènes notamment les salmonelles. La présente étude a pour objectif d'évaluer la prévalence des salmonelles dans le sésame et ses produits dérivés. Au total, 107 échantillons dont 73 échantillons de graines de sésame et 34 échantillons de produits dérivés de sésame (biscuits, croquettes, pâtes, pains) ont été soumis à la recherche de salmonelles selon la norme internationale ISO 6579-1, 2017. La recherche de gènes de virulences (*invA*, *pipD*, *orfL*, *misL*, *spvR*) de *Salmonella* spp. a été réalisée par la méthode de la *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Les résultats ont montré une contamination aux salmonelles du sésame et de ses produits dérivés de 10,28%. Le taux de contamination est de 10,96% (8/73) dans les graines de sésame et 8,82% (3/34) dans les produits dérivés. Le taux de contamination globale est passé à 13,08% par l'analyse moléculaire. Les facteurs de virulence *invA*, *pipD*, *orfL*, *misL* et *spvR* ont été retrouvés respectivement à 92,86% ; 92,86% ; 85,71% ; 64,28% et 0%. Ces contaminations aux salmonelles du sésame pourraient être dues à une défaillance dans le respect des bonnes pratiques culturales et/ou des contaminations post-récoltes.

© 2022 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: Sésame, *Salmonella*, gènes de virulence, Burkina Faso.

Prevalence of *Salmonella* strains isolated from sesame seeds and its derived products in Burkina Faso

ABSTRACT

Sesame is the second agricultural export product in Burkina Faso, but its quality is not always satisfactory due to the presence of impurities and sometimes pathogenic microorganisms, particularly *Salmonella*. This study

© 2022 International Formulae Group. All rights reserved.

9073-IJBCS

DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v16i3.16>

aimed to assess the prevalence of *Salmonella* in sesame and its derivatives. A total, 107 samples including 73 sesame seed samples and 34 sesame derived products samples (biscuits, croquettes, pasta and breads) were tested for *Salmonella* according to standard ISO 6579-1, 2017. The search for virulence genes (*InvA*, *pipD*, *orfL*, *misL*, *spvR*) of *Salmonella* Spp. was carried out by the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The results showed contamination of sesame and its derived products to the salmonella of 10.28%. The contamination rate is 10.96% (8/73) in sesame seeds and 8.82% (3/34) in its derived products. The overall contamination rate increased to 13.08% by molecular analysis. The virulence factors *invA*, *pipD*, *orfL*, *misL* and *spvR* were detected respectively at 92.86%; 92.86%; 85.71%; 64.28% and 0%. These *Salmonella* contaminations of sesame could be due to a failure in the respect of good cultural practices and/or post-harvest contamination.

© 2022 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Sesame, *Salmonella*, virulence genes, Burkina Faso.

INTRODUCTION

Au Burkina Faso, le sésame constitue le 2^{ème} produit d'exportation agricole après le coton et constitue aujourd'hui une source de revenus pour les producteurs, les exportateurs et les transformateurs de la filière (DSS/DGESS, 2020). Ainsi, de 2011 à 2020, la production de sésame est passée de 84 759 tonnes à 384 614 tonnes (DGESS/MAAH, 2021). Les recettes d'exportation du sésame ont été évaluées à plus de 350 milliards de FCFA de 2010 à 2016, positionnant ainsi le Burkina Faso au quatrième rang mondial des pays exportateurs de sésame, après l'Éthiopie, l'Inde et le Soudan (IMCG, 2017). La graine de sésame est classée parmi les principales graines oléagineuses tropicales, capable de constituer des sources commerciales d'huiles comestibles et de protéines, après celle du coton et de l'arachide. La teneur en huile est d'environ 35 à 60% selon les variétés et les conditions de culture (Ali, et al., 2007 ; Sene et al., 2018). Les tourteaux de sésame ou la farine dégraissée contiennent respectivement une forte proportion de protéines d'environ 40 à 50% et 56 à 60% et constituent des aliments de grande valeur nutritive pour les vaches laitières (Suhastini, 2006). La demande mondiale de sésame graine est constamment en hausse et l'accès à ce marché est conditionné par le respect des normes sanitaires. Les exigences de qualité portent sur l'absence de moisissures, de matières étrangères, de résidus de pesticides et de contaminants microbiologiques notamment les salmonelles (Nitidae, 2019). Les salmonelles représentent l'une des principales causes d'intoxication alimentaire dans le

monde. Environ seize (16) millions de cas de fièvres typhoïdes, 1,3 milliard de cas de gastro-entérites et trois (3) millions de décès impliquant cette bactérie est signalé chaque année dans le monde (Dos Santos et al., 2019). Les salmonelles détectées dans les graines de sésame constituent les microorganismes pathogènes les plus notifiés au cours des alertes ces dernières années en Europe (Somorin et al., 2021). Des cas d'épidémie à *Salmonella enterica* été ont rapportés en Grèce, en Allemagne, en République Tchèque, au Luxembourg et au Royaume-Uni suite à la consommation de produits à base des graines de sésame importées du Nigéria et du Soudan (Meinen et al., 2019). Une épidémie à *Salmonella* Montevideo en Australie et en Nouvelle Zélande due à la consommation de tahini (pâte de sésame) importé d'Égypte et de Liban a également été signalée (Unicomb et al., 2005). Les contaminations aux salmonelles du sésame et ses produits transformés constituent un problème important pour le développement de la filière sésame au Burkina Faso et l'exportation de ce produit. En effet, d'après les acteurs du secteur privé et des services de contrôle qualité, les contaminations par les salmonelles sont actuellement très répandues dans la filière burkinabè rendant les exportations et l'accès vers l'Union Européenne complexes et peu sûrs (Nitidae, 2019). C'est le cas du sésame burkinabè refoulé en 2005 du marché européen en raison de sa contamination par les salmonelles (Iefaso.net, 2006). Au Burkina Faso, des recherches axées sur les conditions climatiques et l'amélioration de la productivité du sésame

ont été menées (Bambara et al., 2011 ; Haro et Sanon, 2020 ; Miningou et al., 2020). Cependant, des investigations sur la qualité sanitaire et la valorisation du sésame sont peu réalisées. De ce fait, l'objectif général de cette étude a été d'évaluer la prévalence des salmonelles dans le sésame et ses produits dérivés au Burkina Faso.

MATERIEL ET METHODES

Collecte des échantillons

Les échantillons ont été collectés dans plusieurs localités du Burkina Faso de Novembre 2019 à Décembre 2019. Au total 107 échantillons dont 73 échantillons de graines sésame et 34 échantillons de produits dérivés de sésame ont été collectés (Tableau 1). Ces échantillons sont répartis comme suit :

- trente-sept (37) échantillons de graines de sésame collectées dans deux (02) laboratoires de contrôle qualité à Ouagadougou, soit 22 au Labo 1 et 15 au Labo 2. Ces échantillons ont été envoyés par des exportateurs de sésame pour un contrôle de la qualité microbiologique ;
- vingt (20) échantillons de graines de sésame collectées dans des stocks destinés au marché national dont cinq (05) dans la ville de Dédougou, quatre (04) dans la ville de Ouahigouya, deux (02) à Fada N'Gourma, deux (02) à Nouna, deux (02) à Kompienga et cinq (05) à Ouagadougou (marché de Sankaryaar) ;
- douze (12) échantillons de graines de sésame destinées à être exportées, collectés à Ouagadougou ;
- quatre (04) échantillons de graines de sésame collectées dans les entreprises de transformation du sésame à Ouagadougou ;
- trente-quatre (34) échantillons de produits dérivés du sésame collectés dans les entreprises de transformation du sésame, dans des marchés et dans des boulangeries à Ouagadougou.

La collecte a consisté à prélever aseptiquement 500 g de graines de sésame ou de produits dérivés. Les échantillons ont été conditionnés dans des sachets stériles tout en conservant leur emballage primaire et acheminés au laboratoire pour les analyses.

Cadre de l'étude

Les analyses microbiologiques ont été réalisées au laboratoire de microbiologie du Département Technologie Alimentaire de l'Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (DTA/IRSAT) du Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) à Ouagadougou au Burkina Faso. Les analyses moléculaires ont été réalisées au Laboratoire de Biologie moléculaire et de Génétique (LaBioGène) de l'Université Joseph KI-ZERBO à Ouagadougou.

Détection et isolement de présumées salmonelles

La recherche de présumées salmonelles a été réalisée selon la Norme ISO 6579-1, 2017 qui repose principalement sur quatre étapes : le pré-enrichissement dans l'eau taponnée (Buffered Peptone Water, Italy), l'enrichissement dans le bouillon Rappaport-Vassiliadis Soy (RVS, Broth Base, Italy) et dans le milieu Muller Kaufman au Tetrathionate novobiochine (MKTTn, Broth Base Italy), l'isolement et l'identification sur la gélose *Salmonella-Shigella* (SS Agar, Italy) et sur la gélose Xylose Lysine Désoxycholate (XLD Agar Italy). Les colonies présumées de salmonelles ont été isolées et conditionnées dans des cryotubes contenant du bouillon Brain Heart Infusion (BHI, liofilchem, Italy) avec du glycérol 30% puis conservées à -20°C pour la caractérisation biochimique, moléculaire et pour la recherche des gènes de virulence.

Caractérisation biochimique des isolats par la galerie API 20E

Les colonies caractéristiques de présumées salmonelles isolées sur milieux géloses SS et XLD, ont été repiquées sur de la gélose nutritive puis incubées 37°C pendant 24 h. Une suspension bactérienne a été réalisée dans 5 mL de solution saline de NaCl (0,85%) avec une colonie de cette culture pour l'identification biochimique à l'aide de la galerie Api 20 E.

Extraction de l'ADN par la méthode de thermolyse

Les souches conservées à -20°C ont été repiquées par strie sur la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C. Les colonies obtenues ont été utilisées pour l'extraction de l'ADN par la méthode de chauffage (Mthembu et al., 2019). Pour cela, une petite masse de culture bactérienne provenant des colonies pures et fraîches de 18 à 24 h a été suspendue dans 300 µL d'eau distillée stérile. Le tout placé dans un bain marie bouillant pendant 10 min. Le mélange refroidi a ensuite été centrifugé à 12 000 g pendant 10 min. Le surnageant a été recueilli dans un tube eppendorf stérile conservé à 4°C pour les analyses par PCR. La qualité de chaque extrait a été évaluée par la mesure de la densité optique à 260 nm et à 280 nm au Bio-Dro (Cambridge CB4, England).

Confirmation de *Salmonella* spp et identification de *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* par PCR

Trois paires d'amorces ont été utilisées pour la détection de *Salmonella* spp, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* par PCR multiplex (Thung et al., 2017). Les amorces et les tailles des gènes d'intérêt sont indiquées dans le Tableau 2.

Le mélange réactionnel, d'un volume total de 20 µL était constitué de 4 µL de Master Mix (SOLIS BIODYNE 5x FIRE Pol) ; 0,5 µL de chacune des amorces F et R des trois gènes (3 µL pour les amorces) ; 10,5 µL de l'eau PCR et de 2,5 µL de l'ADN de chaque échantillon. L'ADN a été amplifié à l'aide du thermocycleur (GeneAmp PCR System 9700 Applied Biosystems Singapore) selon le programme suivant : une dénaturation initiale à 94°C pendant 2 min, puis 35 cycles de dénaturation à 94°C pendant 45 s, d'hybridation à 53°C pendant 1 min, d'extension à 72°C pendant 1 min et d'extension finale à 72°C pendant 7 min. Les contrôles positifs utilisés étaient *S. Typhimurium* ATCC 14028 et *S. Enteritidis* ATCC 13076. *Escherichia coli* ATCC 25922 a été utilisé comme contrôle négatif.

Recherche de gène de virulence de *Salmonella*

La recherche des gènes de virulence *spvR* (Niang et al., 2020), *invA* (Nayak et al., 2004), *orfL*, *pipD* et *misL* (Hughes et al., 2008) a été réalisée par PCR simplex sur les souches présumées de *Salmonella*. Les amorces spécifiques des gènes de virulence, les tailles attendues des amplicons sont consignées dans le Tableau 3.

Le mélange réactionnel d'un volume total de 20 µL était constitué de 4 µL de Master Mix (SOLIS BIODYNE 5x FIRE Pol) ; 0,5 µL de chacune des amorces F et R du gène d'intérêt ; 12,5 µL de l'eau PCR et de 2,5 µL de l'ADN de chaque échantillon. L'ADN a été amplifié à l'aide du thermocycleur (GeneAmp PCR System 9700 Applied Biosystems Singapore). L'amplification PCR a été réalisée dans les conditions suivantes : une dénaturation initiale à 95°C pendant 5 min puis 35 cycles de dénaturation à 95°C pendant 1 min, d'hybridation (Température varie en fonction du couple d'amorces) pendant 1 min, d'extension à 72°C pendant 1 min et extension finale à 72°C pendant 7 min. Les souches *S. Typhimurium* ATCC 14028 et *S. Enteritidis* ATCC 13076 ont été utilisées comme contrôles positifs et *Escherichia coli* ATCC 25922 comme contrôle négatif.

Migration électrophoretique et visualisation des produits PCR

Un volume de dix (10 µl) de produits PCR a été utilisé pour l'électrophorèse sur un gel d'agarose à 2% dans du tampon TAE 1X (40 mM Tris Acétate, 1 mM EDTA, pH 8) pendant 45 min à 120 volts (APELEX PS 304XL). Les souches de *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Typhimurium* O:103634OP/T49 et *S. Enteritidis* P167807 ont été utilisées comme contrôles positifs et *E. coli* ATCC 25922 comme contrôle négatif. Après la migration, la lecture du gel a été faite par visualisation directe sous UV à l'aide du Gène Flash (E-BOX VILBER 77090 COLLEGIEN France).

Tableau 1 : Site d'échantillonnage, nature et nombre d'échantillons de sésame.

Site d'échantillonnage	Nature de l'échantillon	Nombre d'échantillons	
Labo 1 Ouagadougou		22	
Labo 2 Ouagadougou		15	
Marché Sankaryar Ouagadougou		05	
Dédougou		05	
Ouahigouya	Graines de sésame	04	
Kompienga		02	
Fada N'Gourma		02	
Nouna		02	
Exportateurs (Ouagadougou)		12	
Transformatrices (Ouagadougou)		04	
		Graines de sésame lavées et séchées	04
		Graines de sésame décortiquées	04
		Pâte de sésame	02
Entreprises de transformation du sésame, marchés (Ouagadougou)	Croquette de sésame	06	
	Caramel du sésame au miel	01	
	Biscuit au sésame	01	
	Gâteau au sésame	03	
	Farine infantile au sésame	01	
	Tourteaux après extraction d'huile	09	
	Boulangeries (Ouagadougou)	Pain saupoudré de grains de sésame	03
Total		107	

Tableau 2 : Amorces utilisées pour l'identification moléculaire.

<i>Salmonella</i>	Gènes ciblés	Séquences nucléotidiques (5'-3')	Température d'hybridation	Tailles attendues	Sources	
<i>Salmonella</i> spp	<i>F</i>	GCCAACCATTGCTAAATTGGCGCA	61°C	429 pb	(Soumet et al., 1999)	
	<i>R</i>	GGTAGAAATCCAGCGGGTACTGG				
<i>S. Enteritidis</i>	<i>sdjL-F</i>	TGTGTTTTATCTGATGCAAGAGG	54°C	304 pb		
	<i>sdjL-R</i>	TGAACTACGTTTCGTTCTTCTGG				
<i>S. Typhimurium</i>	<i>fliC-F</i>	CGGTGTTGCCAGGTTGGTAAT	53°C	620 pb		(Alvarez et al., 2004)
	<i>fliC-R</i>	ACTGGTAAAGATGGCT				

Tableau 3: Liste des amorces spécifiques utilisées pour la recherche des gènes de virulence.

Gènes de virulence	Séquences nucléotidiques (5'-3')	Température d'hybridation	Tailles attendues (pb)
<i>invA-F</i> <i>R</i>	TATCGCCACGTTTCGGCAA TCGCACCGTCAAAGGAACC	58°C	275
<i>orfL-F</i> <i>R</i>	GGAGTATCGATAAAGATGTT GCGCGTAACGTCAGAATCAA	52°C	332
<i>spvR-F</i> <i>R</i>	CCCCGGGAATTCGCTGCATAAGGTCAGAAGG CCCCGGGATCCATGGATTTCTTGATTAATAA	63°C	820
<i>misL-F</i> <i>R</i>	GTCGGCGAATGCCGCGAATA GCGCTGTAAACGCTAATAGT	57°C	550
<i>pipD-F</i> <i>R</i>	CGGCGATTCATGACTTTGAT CGTTATCATTTCGGATCGTAA	52°C	399

RESULTATS

Isolement et caractérisation biochimique de présumées salmonelles

L'analyse microbiologique des 107 échantillons a permis d'isoler 20 colonies présumptives de salmonelles. La caractérisation biochimique par la galerie API 20 E (Tableau 4) a permis d'identifier des salmonelles dans 10,28% (11/107) des échantillons collectés (Tableau 5) soit un taux de contamination aux salmonelles de 10,95% (08/73) dans le sésame grains et de 8,82% (3/34) dans les produits dérivés de sésame. Dans ces produits dérivés, seuls les tourteaux de sésame après extraction de l'huile étaient contaminés à 33,33% (03/09). Le taux de contamination des graines sésame prélevées chez les exportateurs était de 25% (03/12).

Présence de *Salmonella* spp, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium*

La PCR multiplex a permis d'identifier sur 20 colonies présumptives isolées, 14 souches de *Salmonella* spp (Figure 1) dont deux (02) *S. Enteritidis* (provenant d'échantillons de tourteaux) et un *S. Typhimurium* (provenant d'échantillon de graines de sésame). Elle a ainsi permis d'identifier trois (03) souches supplémentaires

de salmonelles dont un dans les échantillons de graines de sésame issus des laboratoires de contrôle qualité, un dans les échantillons de graines de sésame des exportateurs et un dans les tourteaux. Les résultats de biologie moléculaire ont montré une contamination aux salmonelles des échantillons de sésame de 13,08% (14/107) soit 13,70% (10/73) pour les graines de sésame et 11,76% (4/30) pour les produits dérivés de sésame. Le taux de contamination des graines de sésame prélevées directement chez les exportateurs était de 33,33% (04/12). Quant aux produits dérivés de sésame, les salmonelles ont été uniquement identifiées dans les tourteaux (04/09).

Les facteurs de virulences

De façon globale, les facteurs de virulence *invA*, *pipD*, *orfL* et *misL* ont été retrouvés respectivement à 92,86% (13/14), 92,86% (13/14) 85,71% (12/14) et 64,29% (9/14). Dans cette étude, tous les isolats portaient au moins un facteur de virulence (figure 1). Cependant le gène *spvR* n'a pas été détecté. Toutes les souches de *S. Enteritidis* portaient tous les gènes sauf le gène *spvR*, par contre les souches de *S. Typhimurium* ne portaient que les gènes *invA* et *orfL*. Les résultats sont consignés dans le Tableau 6.

Tableau 4: Caractères biochimiques des souches de salmonelles sur la galerie API 20 E.

N°	Test	Réactions / Enzymes	Résultats
1	ONPG	β-galactosidase (Ortho nitrophényl-βD- galactopyranosidase)	(+ pour 3 isolats)
2	ADH	Arginine dihydrolase	+
3	LDC	Lysine décarboxylase	+
4	ODC	Ornithine décarboxylase	+
5	CIT	Utilisation du citrate	+
6	H ₂ S	Production d'H ₂ S	+
7	URE	Uréase	(+ pour 3 isolats)
8	TDA	Tryptophane désaminase	-
9	IND	Production d'indole	(+ pour 2 isolats)
10	VP	Production d'acétoïne (Voges Proskauer)	-
11	GEL	Gélatinase	-
12	GLU		+
13	MAN		+
14	INO		-
15	SOR		+
16	RHA		+
17	SAC	Fermentation / oxydation des différents sucres	-
18	MEL		+
19	AMY		-
20	ARA		+

Tableau 5 : Taux de contamination aux salmonelles des échantillons collectés.

Site d'échantillonnage	Nature de l'échantillon	Nombre d'échantillons	Positifs aux salmonelles
Labo 1 Ouagadougou		22	0
Labo 2 Ouagadougou		15	3 (20%)
Marché Sankaryaar Ouagadougou		05	2 (40%)
Dédougou		05	0
Ouahigouya		04	0
Kompienga		02	0
Fada N'Gourma	Graines de sésame	02	0
Nouna		02	0
Exportateurs (Ouagadougou)		12	3 (25%)
Transformatrices (Ouagadougou)		04	0
	Graines de sésame lavées et séchées	04	0
	Graines de sésame décortiquées	04	0

Entreprises de transformation du sésame, marchés (Ouagadougou)	Pâte de sésame	02	0
	Croquette de sésame	06	0
	Caramel du sésame au miel	01	0
	Biscuit au sésame	01	0
	Gâteau au sésame	03	0
	Farine infantile au sésame	01	0
	Tourteaux après extraction d'huile	09	3 (33,33%)
Boulangeries Ouagadougou	Pain saupoudré de graines de sésame	03	0
Total		107	11 (10,28%)

Tableau 6 : Facteurs de virulence de *Salmonella* spp, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* isolés.

Souches de salmonelles	Souches porteuses du gène <i>invA</i>	Souches porteuses du gène <i>pipD</i>	Souches porteuses du gène <i>orfL</i>	Souches porteuses du gène <i>misL</i>	Souches porteuses du gène <i>spvR</i>
<i>Salmonella</i> spp (n = 14)	13 (92,86%)	13 (92,86%)	12 (85,71%)	9 (64,29%)	00
<i>S. Typhimurium</i> (n = 01)	01	00	01	00	00
<i>S. Enteritidis</i> (n = 02)	02	02	02	02	00

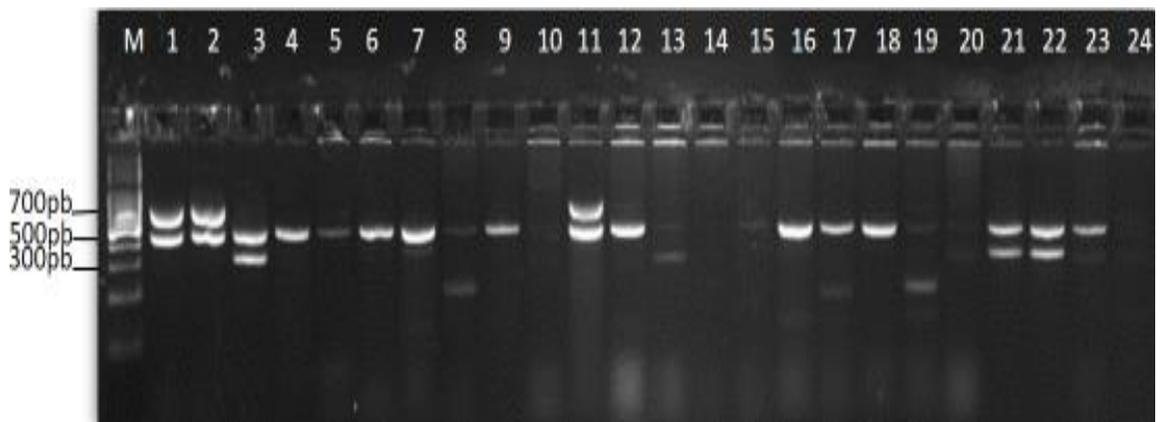


Figure 1 : Identification moléculaire de *Salmonella* spp, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium*.

Les bandes : 429 pb identifie *Salmonella* spp ; 304 pb identifie *S. Enteritidis* et 620 pb identifie pour *S. Typhimurium* ; Colonne M : Marqueur de Poids Moléculaire ; Colonne 1 et 2: *Salmonella* spp et *S. Typhimurium* utilisés comme contrôles positifs ; Colonne 3 : *Salmonella* spp et *S. Enteritidis* utilisés comme contrôles positifs ; Colonne 4 à 23 les échantillons de sésame et ses dérivés ; Echantillons positifs : 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23 ; Echantillons négatifs : 10, 14, 20 ; Les échantillons 8, 10, 13, 14, 15, 19, 20 ont été repris avant de confirmer le résultat ; Colonne 24 *E. coli* (contrôle négatif).

DISCUSSION

La culture microbiologique et la caractérisation biochimique ont permis d'isoler des salmonelles dans 11 échantillons de sésame et ses produits dérivés sur les 107 échantillons analysés soit un taux de contamination de 10,28% dont 10,96% (8/73) dans les graines de sésame et 8,82% (03/34) dans les produits dérivés (exclusivement dans les tourteaux). Des taux de contaminations aux salmonelles de 12,5% et 9,87% avaient été obtenus dans les graines de sésame respectivement en Allemagne par Brockmann et al. (2004) et aux Etats Unis Van Doren et al. (2013). Au Burkina Faso, une étude rétrospective des graines de sésame reçues en contrôle qualité de 2007 à 2017 dans un laboratoire à Ouagadougou avait donné un taux de contamination aux salmonelles de 26,46% (Compaoré et al., 2020). Les produits dérivés de sésame analysés (Graines de sésame décortiquées, pâte de sésame, croquettes de sésame, caramel de sésame au miel, biscuits au sésame, gâteaux au sésame, farine infantile enrichie au sésame, pains saupoudrés aux sésames) dans cette étude n'étaient pas contaminés par les salmonelles. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que ces produits subissent une étape de traitement thermique au cours de la transformation à des températures qui ne sont pas favorables à la survie et à la croissance des salmonelles. Compaoré et al. (2021) au Burkina Faso également n'avaient pas pu mettre en évidence des salmonelles dans des produits transformés du sésame prêts à être consommés. Les résultats de cette étude sont cependant différents de ceux obtenus par Brockmann et al. (2004) qui avaient obtenu un taux de contamination de 11,27% de salmonelles dans les biscuits à base de sésame («Halvah») en Allemagne. Cette contamination s'expliquerait par une manipulation non hygiénique du Halvah après sa production (Brockmann et al., 2004). Des salmonelles ont été isolées dans les tourteaux (3/9) destinés à l'alimentation animale. Cette contamination pourrait être due aux mauvaises conditions de collecte et de stockage des tourteaux ou à la présence initiale de salmonelles dans les graines de sésame utilisées pour l'extraction d'huile. Elle représente un risque pour la santé animale et

pour celle des consommateurs. Dans cette étude, les échantillons de graines de sésame destinés à être exportés étaient contaminés par les salmonelles à 33,33% (4/12) et ceux envoyés dans les laboratoires par les exportateurs pour le contrôle de qualité à 10,81% (4/37). Ces résultats montrent qu'il y'a un véritable problème de contamination aux salmonelles du sésame au Burkina Faso. Ce qui témoigne d'une non-maitrise ou d'un non-respect des bonnes pratiques culturales, de récoltes et de traitements post-récoltes du sésame. L'irrigation et la fertilisation avec du fumier, les boues et les déjections animales sont des sources potentielles de contamination aux salmonelles (Brockmann et al., 2004). Les contaminations croisées lors des traitements pots-récoltes (main d'œuvre infectée) ont été aussi mentionnées (Brockmann et al., 2004). Les grains de sésame contaminés aux salmonelles pourraient constituer une perte énorme pour l'économie nationale en général et pour les exportateurs en particulier si le sésame exporté est détecté contaminé aux salmonelles par les pays importateurs. Cela engendrerait des coûts supplémentaires pour la destruction des lots contaminés et pourrait ternir l'image du pays pour la commercialisation du sésame. En outre, du sésame contaminé vendu sur le marché national pourrait constituer un risque pour la santé du consommateur.

La PCR multiplex a permis d'identifier 14 souches de *Salmonella* spp sur les 20 colonies présomptives de salmonelles. Parmi les 14 souches de *Salmonella* spp, il y'avait deux souches de *S. Enteritidis* et d'une souche de *S. Typhimurium*. *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium prédominent dans le domaine alimentaire et sont potentiellement pathogènes pour l'homme (Anses, 2021). Dans l'union européenne certaines mesures de prophylaxie sont prises pour lutter spécifiquement contre la présence de *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* dans les aliments (Anses, 2021).

Les trois souches supplémentaires que la PCR a permis d'identifier ont fait passer le taux de contamination du sésame et ses produits dérivés de 10,28% à 13,08%. Les taux de contamination des graines de sésame et du

sésame prélevé chez les exportateurs sont passés de 10,95% à 13,70% et de 25% à 33,33%, respectivement. Contrairement à la majorité des souches isolées, ces trois souches supplémentaires ont présenté un profil biochimique différent selon les résultats de la galerie API 20 E. Ces souches sont positives aux tests du β -galactosidase (ONPG +), à l'uréase (Urée +) et à la production de l'indole (IND +). Ces résultats montrent que la PCR est plus sensible et plus spécifique que la caractérisation biochimique. Dans cette logique il serait important de faire une identification moléculaire des salmonelles afin de détecter toutes les souches qui pourraient échapper à la caractérisation biochimique. Les pays importateurs de sésame notamment les pays développés peuvent utiliser des méthodes plus sensibles que la culture microbiologique pour la recherche de salmonelles et pourraient détecter un lot contaminé qui était testé négatif aux salmonelles. Des études antérieures avaient montré l'efficacité des méthodes PCR pour la détection des salmonelles dans les denrées alimentaires. En effet, Thung et al. (2017) ont fait la détection par PCR des salmonelles dans la viande à partir du bouillon d'enrichissement. La PCR pourrait donc être une méthode plus avantageuse dans la détection des salmonelles parce qu'elle est rapide et permettrait de sauter les étapes de culture sur les milieux XLD et SS ainsi que les étapes de caractérisation biochimique par la galerie API 20E. Le saut de ces étapes permettra de réduire le coût de la PCR. En effet, la détection des salmonelles par la culture nécessite de multiples étapes de sous-culture suivies de tests de confirmation biochimiques et sérologiques, peut prendre jusqu'à 7 jours pour obtenir un résultat positif confirmé. Cependant, un pré-enrichissement de l'aliment dans l'eau peptonée tamponnée pendant 6 heures suivi de la détection des salmonelles par PCR permet de détecter les souches de *Salmonella spp.* dans un délai maximum de 12 heures à compter de la réception des aliments (Ahmed et al., 2014).

La recherche des gènes de virulence (*invA*, *misL*, *pipD*, *orfL* et *spvR*) de *Salmonella* a montré que la majorité des souches de salmonelles identifiées hébergeaient ces gènes

de virulence et peuvent ainsi provoquer la salmonellose. Les facteurs de virulence *invA*, *misL* et *pipD* sont nécessaires pour la pénétration bactérienne dans les cellules épithéliales de l'intestin et pour la croissance et la survie des bactéries chez l'hôte (Garai et al., 2012). Les gènes *invA* contiennent des séquences qui sont uniques aux salmonelles et ont été jugées comme un marqueur fiable pour la recherche des salmonelles dans certains laboratoires de diagnostic et de recherche (Smith et al., 2012). Des études en Afrique ont montré des résultats similaires comme celle de Somda et al. (2018) sur les laitues. Le gène *orfL* spécifique a été trouvé chez 85,71% de souches. Ce gène est impliqué dans la sécrétion de toxines qui induisent l'apoptose des cellules immunitaires. Il est nécessaire pour la survie des bactéries dans les macrophages (Schultz et al., 2017). Dans la présente étude, aucune souche provenant d'échantillons de sésame et ses produits dérivés ne portait les gènes *spvR* qui sont portés par des plasmides. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Smith et al. (2015). Cela pourrait s'expliquer par le fait que les plasmides sont des éléments mobiles et transférables. Par ailleurs il est possible qu'il y ait transfert des plasmides des souches non typhiques vers les souches typhiques.

Conclusion

Cette étude a permis d'évaluer la prévalence des salmonelles dans le sésame et ses produits dérivés au Burkina Faso. Les résultats obtenus montrent que les lots de graines de sésame et les tourteaux pour bétail présentaient des contaminations par les salmonelles. Par contre les produits dérivés du sésame ne présentent pas de contamination. La PCR multiplex a permis d'identifier les souches de *Salmonella spp.*, *S. Enteritidis* et *S. Typhumirium*. Elle a permis de détecter plus d'échantillons contaminés aux salmonelles que la caractérisation biochimique ce qui montre qu'elle peut être une méthode alternative parce qu'elle permet de réduire le coût et le temps des analyses. Les souches de salmonelles isolées portaient tous les gènes de virulence recherchés sauf le gène *spvR*. Ces contaminations seraient dues au non-respect des bonnes pratiques agricoles et/ou le manque d'hygiène dans les

procédés de séchage et de nettoyage des graines de sésame. Il est donc nécessaire de veiller au respect des bonnes pratiques agricoles et des bonnes pratiques de traitements post-récolte du sésame.

CONFLITS D'INTERETS

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

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

ZD a conçu, supervisé l'étude et a rédigé le manuscrit, MO a collecté et analysé les échantillons dans le cadre de son master, SCC a encadré MO en analyse microbiologique et a corrigé le manuscrit, NSS a encadré MO dans les analyses biomoléculaires et a corrigé le manuscrit, DK et HSL ont corrigé le manuscrit.

REMERCIEMENTS

Cette étude a bénéficié du soutien du Pr Jacques SIMPORE, Directeur du Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (LABIOGENE) de l'Université Joseph KI-ZERBO pour le financement ; de M. Boureima BARRY de APEX-Burkina pour l'accès aux exportateurs de sésame ; du DG du LNSP Pr Elie KABRE, du Directeur Technique de la Direction du Contrôle des Aliments et de la Nutrition Appliquée (DCANA) M. Fulbert NIKIEMA du LSNP et du Dr Daouda DOULGOU Chef du service des contaminations des pesticides et des engrais du LNSP pour l'accès aux échantillons au sein de leur structure.

REFERENCES

Ahmed OB, Asghar HA, Abd El-Rahim IHA, AIH. 2014. Detection of *Salmonella* in Food Samples by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. *Journal of Bacteriology and Parasitology*, **5**(3): 187-189. DOI: 10.4172/2155-9597.1000187.

Ali GM, Yasumoto S, Seki-Katsuta M. 2007. Assessment of genetic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.) detected by Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers using PAGE. *Electronic Journal of*

Biotechnology, **10**(1): 12-23. DOI: 10.2225/vol10-issue1-fulltext-1.

- Alvarez J, Sota M, Vivanco AB, Perales I, Cisterna R, Rementeria A, Garaizar J. 2004. Development of a multiplex PCR technique for detection and epidemiological typing of *Salmonella* in human clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, **42**(4): 1734-1738. DOI: 10.1128/JCM.42.4.1734-1738.2004
- ANSES. 2021. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Salmonella* spp. Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, Saisine n°2016-SA-0080, 4 p.
- Bambara D, Bilgo A, Lompo F, Hien V. 2011. Influence du changement climatique sur la diversité inter et intra-spécifique des plantes cultivées à Tougou au nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **5**(6): 2415-2433. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i6.21>
- Brockmann SO, Piechotowski I, Kimmig P. 2004. *Salmonella* in sesame seed products. *Journal of Food Protection*, **67**(1): 178-180. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.1.178>.
- Compaoré MKA, Bazié BSR, Nikièma MEM, Dakéné VM, Dembélé R, Kpoda DS, Kabré E, Barro N. 2021. Assessment of the sanitary quality of ready to eat sesame, a low moisture street food from Burkina Faso. *BMC Microbiology*, **21**(1): 207. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02269-0>.
- Compaoré MKA, Yougbaré, VM, Dembélé R, Nikièma F, Kabré E, Barro, N. 2020. Retrospective study of the contamination of exported sesame by *Salmonella* species from 2007 to 2017 in Burkina Faso. *African Journal of Agricultural Research*, **16**(8): 1141-1147. DOI: 10.5897/AJAR2020.14917.
- DGESS/MAAH. 2021. Annuaire des statistiques agricoles 2020. Ministère de l'Agriculture et des Aménagements Hydro-agricoles (MAAH), Direction Générale des Études et des Statistiques

- Sectorielles (DGESS), Burkina Faso, 437 p.
- Dos-Santos AMP, Ferrari RG, Conte-Junior CA. 2019. Virulence factors in *Salmonella* Typhimurium: the sagacity of a bacterium. *Current Microbiology*, **76**(6): 762-773. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1510-4>. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1510-4>.
- DSS/DGESS. 2020. Tableau de bord statistique de l'agriculture 2019. Ministère de l'Agriculture et des Aménagements Hydro-agricoles/ Direction Générale e des Études et des Statistiques Sectorielles, Burkina Faso, 88 p.
- Garai P, Gnanadhas DP, Chakravorty D. 2012. *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Typhi as model organisms Revealing paradigm of host-pathogen interactions. *Virulence*, **3**(4): 377-388. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/viru.21087>.
- Haro H, Sanon KB. 2020. Réponse du sésame (*Sesamum indicum* L.) à l'inoculation mycorhizienne avec des souches des champignons mycorhiziens arbusculaires indigènes du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **14**(2): 417-423. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v14i2.9>.
- Hughes LA, Shopland S, Wigley P, Bradon H, Leatherbarrow AH, Williams NJ, Bennett M, De Pinna E, Lawson B, Cunningham AA, Chantrey J. 2008. Characterisation of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from wild birds in northern England from 2005 - 2006. *BMC Veterinary Research*, **4**: 4. DOI: 10.1186/1746-6148-4-4.
- IMCG. 2017. Analyse de la chaîne de valeur du sésame au Burkina Faso. Management Consulting Group (IMCG), Burkina Faso, 221 p.
- Lefaso.net. 2006. Burkina - Union Européenne : Visa refusé pour un sésame à la salmonelle. Lefaso.net, Burkina Faso. <https://lefaso.net>.
- Meinen A, Simon S, Banerji S, Szabo I, Malorny B, Borowiak M, Hadziabdic S, Becker N, Lubber P, Lohr D, Harms C, Plenge-Boenig A, Mellou K, Mandilara G, Mossong J, Ragimbeau C, Weicherding P, Hau P, Dědičová D, Stark K. 2019. Salmonellosis outbreak with novel *Salmonella enterica* subspecies enterica serotype (11:z41:e,n,z15) attributable to sesame products in five European countries, 2016 to 2017. *Eurosurveillance*, **24**: 10. DOI: 10.2807/1560-917.ES.2019.24.36.1800543.
- Miningou A, Golane V, Traoré AS, Kambiré H. 2020. Determination of the optimal dose and date of application of mineral manure on sesame (*Sesamum indicum* L.) in Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **14**(9): 2992-3000. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v14i9.3>.
- Mthembu T, Zishiri O, EL Zowalaty M. 2019. Molecular Detection Of Multidrug-Resistant *Salmonella* Isolated From Livestock Production Systems In South Africa. *Infection and Drug Resistance*, **12**: 3537-3548. DOI: <https://dx.doi.org/10.2147/IDR.S211618>.
- Nayak R, Stewart T, Wang RF, Lin J, Cerniglia CE, Kenney PB. 2004. Genetic diversity and virulence gene determinants of antibiotic-resistant *Salmonella* isolated from preharvest turkey production sources. *International Journal of Food Microbiology*, **91**(1): 51-62. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00330-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00330-1).
- Niang AA, Sambe BB, Seck A, Diop A, Fall NK, Wane AA, Bercion R, Ka R, Sow AI, Gassama-Sow, A., 2020. Phenotypic and Genotypic Characterization of *Salmonella* Isolated from Asymptomatic Carriers in the Suburb of Dakar. *Journal of Tropical Diseases and Public Health*, **8**(2): 346-358. DOI: 10.35248/2329-891X.20.8.346
- Nitidae. 2019. Projet sésame : Guide de formation sur les exigences de qualité du sésame au niveau international et du Burkina Faso destiné aux institutionnels. Nitidae, Burkina Faso, 41 p.

- Norme ISO 6579-1. 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* : Recherche des *Salmonella* spp. International Organization for Standardization, 60 p.
- Schultz BM, Paduro CA, Salazar GA, Salazar-Echegarai FJ, Sebastián VP, Riedel CA, Kalergis AM, Alvarez-Lobos M, Bueno SM. 2017. A Potential Role of *Salmonella* Infection in the Onset of Inflammatory Bowel Diseases. *Frontiers in Immunology*, **8**(191): 12.
- Sene B, Sarr F, Diouf D, Sow MS, Traoré D, Kane A, Niang M. 2018. Synthèse des connaissances et quelques acquis de recherche sur le sésame (*Sesamum Indicum* L.) au Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **12**(3): 1469-1483. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i3.3>.
- Smith S, Opere B, Fowora M, Aderohunmu A, Ibrahim R, Omonigbehin E, Bamidele M, Adeneye A. 2012. Molecular characterization of *Salmonella* spp directly from snack and food commonly sold in Lagos, Nigeria. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, **43**: 718-723. doi: 10.11648/j.av.s.20150301.15.
- Smith SI, Fowora MA, Atiba A, Anejo-Okopi J, Fingesi T, Adamu ME, Omonigbehin EA, Ugo-Ijeh MI, Bamidele M, Odeigah P. 2015. Molecular Detection of Some Virulence Genes in *Salmonella* Spp Isolated from Food Samples in Lagos, Nigeria. *Animal and Veterinary Sciences*, **3**(1): 22. DOI: 10.11648/j.av.s.20150301.15
- Somda NS, Savadogo A, Bonkougou IJO, Gassama-Sow A. 2018. Molecular detection of some virulence and resistance genes in *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi isolated from human diarrhea and lettuce samples in Burkina Faso. 26th International colloquium of Food Microbiology, Berlin, Germany, September 3-6, 2018. DOI: 10.13140/RG.2.2.25629.56803.
- Somorin YM, Odeyemi OA, Ateba CN. 2021. *Salmonella* is the most common foodborne pathogen in African food exports to the European Union: analysis of the rapid alert system for food and feed (1999-2019). *Food Control*, **123**(20): 107849. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107849>.
- Soumet C, Ermel G, Rose N, Rose V, Drouin P, Salvat G, Colin P. 1999. Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of *Salmonella* sp., *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium from environmental swabs of poultry houses. *Letters in Applied Microbiology*, **28**(2): 113-117. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00488.x.
- Suhasini KS. 2006. Characterization of sesame genotypes through morphological, chemical and rapid markers. MSc Thesis. Dharwad University of Agricultural Sciences, Dharwad, India.
- Thung TY, Radu S, Mahyudin NA, Rukayadi Y, Zakaria Z, Mazlan N, Tan BH, Lee E, Yeoh, SL, Chin YZ, Tan CW, Kuan CH, Basri DF, Wan Mohamed RADZI CWJ. 2017. Prevalence, Virulence Genes and Antimicrobial Resistance Profiles of *Salmonella* Serovars from Retail Beef in Selangor, Malaysia. *Frontiers in Microbiology*, **8**(11): 2697. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02697
- Van Doren JM, Blodgett RJ, Pouillot R, Westerman A, Kleinmeier D, Ziobro GC, Ma Y, Hammack TS, Gill V, Muckenfuss MF, Fabbri L. 2013. Prevalence, level and distribution of *Salmonella* in shipments of imported capsicum and sesame seed spice offered for entry to the United States: observations and modeling results. *Food Microbiology*, **36**(2): 149-160. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.05.003>