

## IDENTIFICATION DES MICROFLORES ET TENEURS EN EAU DES ECHANTILLONS DE MIEL PRODUITS ET COMMERCIALISES AU BENIN

SOSSOU Prosper<sup>1</sup>, AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO Micheline<sup>2\*</sup>,  
AYI-FANOU Lucie<sup>3</sup>, AKOEGNINO E. Akpovi<sup>1</sup>, AHISSOU Hyacinthe<sup>3</sup>,  
TOUKOUROU Fatou<sup>4</sup>

1. Université d'Abomey-Calavi, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire de Biologie Végétale, 04 BP. 0320, Cotonou, Bénin.

2.\* Université d'Abomey-Calavi, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies, 01 BP 1636 Cotonou, RP Bénin, Tél : +229 90 04 85 66 / +229 21 03 78 31; [tchibowo@yahoo.fr](mailto:tchibowo@yahoo.fr)

3. Université d'Abomey-Calavi, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, 04 BP 0320 Cotonou, RP Bénin.

4. Université d'Abomey-Calavi, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires, 01 BP 1636 Cotonou, RP Bénin.

\* **Correspondance:** Pr AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO Micheline 01BP1636 Cotonou, RP Bénin; tél : +229 90 04 85 66 / +229 21 03 78 31, Email: [tchibowo@yahoo.fr](mailto:tchibowo@yahoo.fr)

### RESUME

Le miel est très utilisé dans l'alimentation ainsi que dans le traitement des affections microbiennes. Nous avons étudié la qualité microbiologique et physico-chimique de 26 échantillons de miel produits et commercialisés au Bénin. Nos résultats montrent que 100% des échantillons sont contaminés par la flore mésophile totale, 65% par les espèces fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ustus*, *Geotrichum candidum*, *Mucor sp.* et *Penicillium sp.*) et 7,69% par *Clostridium perfringens*. Quant aux analyses physico-chimiques, elles révèlent une variation de pH comprise entre 4,58±0,01 et 5,75±1,34 ; une teneur en eau qui oscille entre 17,67±0,01% et 22,45±0,01%. Ces résultats montrent que l'utilisation du miel vendu sur les marchés et dans les pharmacies au Bénin comporte des risques de toxi-infection pour les consommateurs.

**Mots clés :** Miel, Qualité microbiologique et Teneurs en eau, Microflores, Toxi-infection, Bénin.

**Title: IDENTIFICATION OF MICROFLORA AND WATERS CONTENTS OF HONEY SOLD IN BENIN.**

### ABSTRACT

Honey is really used as additive food and in the treatment of microbe's diseases. We analyze microbiological and Physico-chemical quality of 26 samples of honey produced in Benin. The results from microbiological analysis showed that 100% of the samples were contaminated by total mesophilic flora while 65% by mould species (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ustus*, *Geotrichum candidum*, *Mucor sp.* and *Penicillium sp.*) and 7.69% by *Clostridium perfringens*. The samples bought from beekeepers (apiarists) were less contaminated comparatively to that obtained from markets and drug stores. The physical and chemical analysis showed that the pH of the honey varied from 4.58±0.01 and 5.75±1.34; the level of humidity ranges from 17.67±0.01% to 22.45±0.01%. These results showed that use of honey sold in markets and drugstores in Benin can provoke toxi-infection for consumers.

**Key Word:** Honey, Microbiological and water contents, Microflora - Toxi-infection, Benin.

### INTRODUCTION

Le miel est une substance naturelle sucrée produite par les abeilles (*Apis mellifera*, Apidae) à partir du nectar des fleurs ou de la sécrétion des parties vivantes des plantes que les abeilles butinent et transforment (Codex, 1981, 2001 ; Vierling, 2003). Il contient environ 80% de glucides, 18% d'eau, des minéraux, des oligo-éléments, des acides organiques et aminés, des vitamines, des enzymes, des facteurs antibiotiques, de nombreux autres éléments tels que les arômes, les pigments et grains de pollens (Lachman et al., 2010).

Le miel contient une vingtaine d'acides organiques parmi lesquels l'acide gluconique, dérivé du glucose, ce dernier est le plus prépondérant. Le pH des miels est acide et peut varier de 3,2 à 4,5 (Pham-Délègue, 1999). Les enzymes comme la phosphatase, les enzymes acidifiantes, la catalase, la glucose-oxydase y sont présents et peuvent servir d'indicateur à la qualité du miel.

Au Bénin et ailleurs, le miel est très utilisé comme additif alimentaire ainsi que dans le traitement des affections respiratoires, des

plaies infectées et des brûlures (Molan et al., 1988 ; Subramanyam, 1991 ; Stokes et Ridway, 1993 ; Goetz, 2009).

De nombreux travaux ont révélé que le miel est un produit à large spectre antimicrobien (de Souza et al., 1993 ; Nevio, 2007 ; Gomes et al., 2009). Cependant, si la qualité hygiénique d'un produit n'est pas conforme aux critères microbiologiques, ses qualités nutritionnelles, organoleptiques et antimicrobiennes pourraient s'altérer dans le temps (Agassounon Djikpo

Tchibozo et al., 2007). Or au Bénin le miel est mis en vente sur le marché durant des mois voire des années sans être toujours accompagné d'une étiquette comportant la date de péremption ou la date limite d'utilisation.

Ce travail a été initié pour contrôler la qualité microbiologique et physico-chimique des échantillons de miel produits et vendus au Bénin par l'étude des flores microbiennes pouvant altérer sa qualité et/ou provoquer des toxico-infections suite à sa consommation.

## CADRE, MATERIEL ET METHODES

Notre étude a pour cadre le Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires (LAMITA) de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi (Bénin). Les échantillons de miel ont été prélevés dans les marchés et les pharmacies à Cotonou et dans les ruches de Manigri et de la Lama au Bénin.

### Echantillonnage

Au total 65 échantillons ont été prélevés à raison de 5 échantillons (lot) sur 13 sites de production et de vente. Un tirage au hasard de 2 échantillons a été effectué dans chaque lot, soit 26 échantillons codés (tableau 1). Les échantillons restants sont conservés à 4°C pour d'autres analyses.

Tableau 1 : Codes des différents échantillons analysés

Origine de miel	Codes des échantillons	Origine de miel	Codes des échantillons
Parakou (Flora miel)	A <sub>1</sub> et A <sub>2</sub>	Miel de Bantè	G <sub>3</sub> et G <sub>5</sub>
Miel des Forêts du Nord Bénin	B <sub>2</sub> et B <sub>5</sub>	Miel d'Alibori	H <sub>2</sub> et H <sub>5</sub>
Parakou (Viva miel)	C <sub>1</sub> et C <sub>2</sub>	Miel du Zou-Nord	I <sub>1</sub> et I <sub>2</sub>
Forêts de montagnes et Savanes	D <sub>1</sub> et D <sub>4</sub>	Parakou UCAP	J <sub>2</sub> et J <sub>3</sub>
Miel du Nord (Pur miel)	E <sub>1</sub> et E <sub>2</sub>	Nord	K <sub>3</sub> et K <sub>4</sub>
Miel de Donga	F <sub>4</sub> et F <sub>6</sub>	Miel de la Lama*	L <sub>2</sub> et L <sub>3</sub>
Miel de Manigri*	M <sub>3</sub> RG <sub>2</sub>	Miel de Manigri*	M <sub>3</sub> RG <sub>5</sub>

Note : \* mentionne les échantillons achetés chez des apiculteurs.

### Recherche et dénombrement des micro-flores

Pour les analyses microbiologiques, des techniques standardisées d'ensemencement dans la masse et d'étalement sur des milieux gélosés appropriés ont été utilisées. Des aliquotes de 0,1 à 1 ml de chaque échantillon ou de ses dilutions décimales ont été ensemencées ou étalées, sur des milieux appropriés comme gélose Plate Count Agar (PCA), gélose Tryptone Sulfite Néomycine (TSN), gélose Oxytétracycline Glucose Agar (OGA), provenant des

Laboratoires BioMérieux et Diagnostics Pasteur. Les germes tels que : Flore mésophile totale à 30 °C/72H ((germes totaux) ; NF V08 – 051) ; Anaérobies Sulfite-Réducteurs à 37°C/48H (ASR, *Clostridium perfringens*, ASR XP V08 - 061) ; levures et moisissures (NF V08 - 059) ont été recherchés.

Après, l'ensemencement, l'incubation a été faite dans les conditions optimales de culture des germes avant les dénombrements. L'expression des résultats est présentée en

Unité Formant Colonie (UFC)/g de miel analysé. L'interprétation a été faite suivant les critères microbiologiques de CODEX STAN 12-1981. Aussi, quelques colonies bactériennes ont été isolées en culture pure sur la gélose PCA et identifiées par la coloration de Gram.

#### Identification des moisissures

Après le dénombrement des germes, des colonies de moisissures sous forme poudreuse ont été isolées en culture pure par repiquage sur les géloses Oxytétracycline Glucose Agar (OGA) et Pomme de terre Glucose Agar (PDA) pendant 2 à 6 jours d'incubation à 30°C et 25°C. Les colonies des moisissures après culture ont été identifiées par rapport à leurs caractères culturels, morphologiques par observation en microscopie optique à l'aide du colorant Lactophénol au bleu coton

(Moreau, 1974 ; Agassounon Djikpo Tchibozo et al. 2009).

#### Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau a été déterminée sur les 26 échantillons par la méthode réfractométrique (AOAC, 1992).

Les résultats ont été exprimés en valeur moyenne suivant la même origine des échantillons

#### Détermination de pH

Le pH a été mesuré sur les 26 échantillons en utilisant l'électrode d'un pH-mètre SB70P V W R SympHony de précision relative  $\pm 0,02$ .

Les résultats ont été exprimés en considérant les valeurs moyennes comme précédemment.

## RESULTATS

Les résultats obtenus au terme de la présente étude sont résumés dans des tableaux et figure ci-dessous.

#### Appréciation de la qualité hygiénique des échantillons de miel

Les résultats des analyses microbiologiques relatives aux 26 échantillons de miel sont présentés dans les tableaux 2a et 2b. L'analyse des résultats obtenus montre que 100% des échantillons de miel contiennent des germes totaux (flore mésophile totale), 65% des moisissures (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ustus*, *Geotrichum candidum*, *Mucor sp* et *Penicillium sp*) et 7,69% contient les *Clostridium perfringens*.

Tableau 2a : Appréciation de la qualité hygiénique des échantillons de miel analysés

Codes des échantillons	Nombre de germes (UFC)/g d'échantillons de miel analysés			
	Flore mésophile totale ( $10^2$ )	<i>C. Perfringens</i>	Levures	Moisissures
A <sub>1</sub>	1,45	<1	<1	$2.10^2$ <i>A. flavus</i> ; $0,1.10^2$ <i>G. candidum</i>
A <sub>2</sub>	$6.10^2$	<1	<1	<1
B <sub>1</sub>	$8,4.10^2$	<1	<1	$3.10^2$ <i>G. candidum</i> ; $10^3$ <i>A. flavus</i>
B <sub>5</sub>	$2,1.10^2$	<1	<1	$10^2$ <i>Penicillium sp.</i>
C <sub>1</sub>	$10.10^2$	<1	<1	$4.10^2$ <i>G. candidum</i>
C <sub>2</sub>	$2,68.10^2$	<1	<1	$2.10^2$ <i>A. flavus</i> ; $0,1.10^2$ <i>G. candidum</i>
D <sub>1</sub>	$6.10^2$	<1	<1	$4,3.10^2$ <i>A. flavus</i>
D <sub>4</sub>	$1,7.10^3$	<1	<1	$2.10^2$ <i>Mucor sp.</i>
E <sub>1</sub>	$6,2.10^2$	<1	<1	10 <i>G. candidum</i> ; 4 <i>Penicillium sp.</i>
E <sub>2</sub>	$3,8.10^2$	<1	<1	$2,3.10^2$ <i>A. flavus</i> ; $10^3$ <i>G. candidum</i>
F <sub>4</sub>	$5,57.10^3$	<1	<1	$2.10^3$ <i>A. fumigatus</i>
F <sub>6</sub>	$8.10^2$	<1	<1	$0,6.10^2$ <i>A. flavus</i> ; $0,4.10^2$ <i>G. candidum</i>
G <sub>3</sub>	$2,7.10^2$	<1	<1	$2.10^2$ <i>A. fumigatus</i> ; 2 <i>A. niger</i>
Critères **		<b>1 000/g</b>	<b>10/g</b>	<b>100/g</b>

Note : \*\* = CODEX STAN 12-1981

Tableau 2b: Appréciation de la qualité hygiénique des échantillons de miel analysés

Codes des échantillons	Nombre de germes (UFC)/g d'échantillons de miel analysés			
	Flore mésophile totale ( $10^2$ )	<i>C. Perfringens</i>	Levures	Moisissures
G <sub>5</sub>	$1,22 \cdot 10^3$	<1	<1	<1
H <sub>2</sub>	$2,7 \cdot 10^3$	<1	<1	<1
H <sub>5</sub>	$3,1 \cdot 10^2$	<1	<1	$10^2$ <i>A. flavus</i>
I <sub>1</sub>	$4,2 \cdot 10^2$	30	<1	<1
I <sub>2</sub>	$1,6 \cdot 10^3$	<1	<1	10
J <sub>2</sub>	$4 \cdot 10^2$	<1	<1	$10^2$ <i>G. candidum</i>
J <sub>3</sub>	$2,4 \cdot 10^3$	<1	<1	$2 \cdot 10^2$ <i>A. flavus</i> ; $0,1 \cdot 10^2$ <i>G. candidum</i>
K <sub>3</sub>	$5,1 \cdot 10^2$	<1	<1	<1
K <sub>4</sub>	$1,5 \cdot 10^3$	20	<1	<1
L <sub>2</sub>	$1,75 \cdot 10^2$	<1	<1	<1
L <sub>3</sub>	90	<1	<1	2 <i>A. ustus</i>
M <sub>1</sub> RG <sub>2</sub>	$2,7 \cdot 10^2$	<1	<1	<1
M <sub>3</sub> RG <sub>5</sub>	$1,2 \cdot 10^2$	<1	<1	<1
Critères**	<b>1 000/g</b>	<b>100/g</b>	<b>10</b>	<b>100</b>

Note : \*\* = CODEX STAN 12-1981

### Valeurs du pH et teneurs en humidité des échantillons de miel analysés

Les résultats des valeurs moyennes de pH et de celles des teneurs en eau des 26 échantillons de miel sont illustrés par la figure 1 ci-dessous. Les valeurs moyennes enregistrées pour la mesure du pH oscillent entre  $4,58 \pm 0,01$  pour les échantillons A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> et  $5,75 \pm 1,34$  pour ceux codés I<sub>1</sub> et I<sub>2</sub>. Les écarts notés varient pour le pH de 0,01 à 0,48 (figure 1). Quant à la teneur en eau, les valeurs moyennes se situent entre  $17,67 \pm 0,01$  % pour les échantillons codés K<sub>3</sub> et K<sub>4</sub> et  $22,45 \pm 0,01$  % pour ceux codés C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub>. Les écarts enregistrés varient de 0,01 à 0,22%.

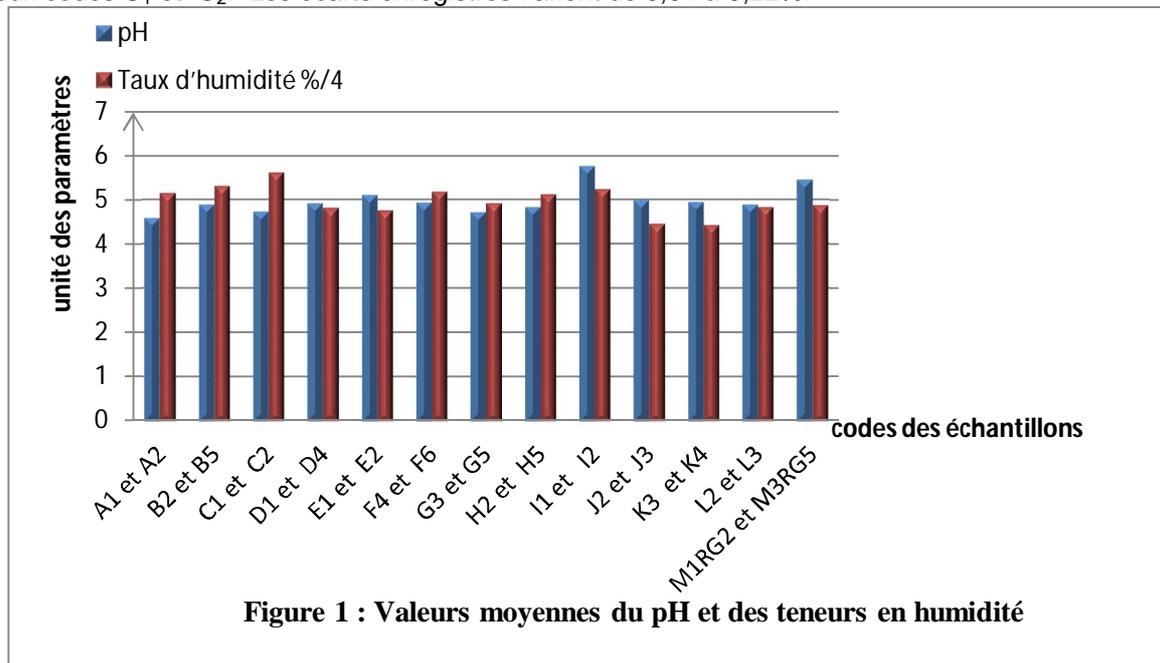


Figure 1 : Valeurs moyennes du pH et des teneurs en humidité

### DISCUSSION

L'analyse des résultats microbiologiques présentés dans les tableaux 2a et 2b indique un nombre élevé de la flore mésophile totale et des moisissures, en l'occurrence des espèces comme *A. flavus* et *A. fumigatus* et certaines souches de *Penicillium sp.* qui sont connues pour leurs caractères toxigènes

(Moreau, 1974). Ceci pourrait constituer un danger sanitaire pour le consommateur de miel vendu sur les marchés. Il s'agit de champignons microscopiques qui se retrouvent parfois dans les denrées d'origine végétale (Agassounon Djikpo Tchibozo et al., 2007), cette hypothèse est en grande partie vérifiée car le miel est un produit issu de nectar des

fleurs ou de la sécrétion des parties vivantes des plantes, que les abeilles butinent et transforment (Codex, 1981 ; Vierling, 2003).

Les résultats obtenus par Mbawala et al. (2002) sur des échantillons de miel vendus au Cameroun indiquent aussi une forte contamination par la flore mésophile totale et les moisissures ainsi que des anaérobies sulfite-réducteurs et *Staphylococcus aureus*.

Selon Bogdanov (2006), les principaux éléments qui peuvent contaminer le miel proviennent de diverses sources, il s'agit entre autres de l'environnement et des mauvaises pratiques hygiéniques apicoles.

L'analyse des résultats de la teneur en eau (valeur moyenne) des différents types de miel (figure 1), révèle que les échantillons de miel en provenance du Nord et de UCAP Parakou ont respectivement des teneurs en humidité les moins élevées (17,67%, K3 et K4 ; 17,83%, J2 et J3), le taux le plus élevé s'observe dans les échantillons Viva miel de Parakou (22,45% ; C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub>).

Par contre, les miels en provenance de Parakou /Flora miel (A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub>), de la Donga (F<sub>4</sub> et F<sub>6</sub>), d' Alibori (H<sub>2</sub> et H<sub>5</sub>) et du Zou-Nord (I<sub>1</sub> et I<sub>2</sub>) ont des taux proches de celui de la Norme CODEX STAN 12-1981 fixé à 20%, soit respectivement égal à 20,60±0,04% (A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub>), 20,70±0,01% (F<sub>4</sub> et F<sub>6</sub>), 20,47±0,22% (H<sub>2</sub> et H<sub>5</sub>) et 20,95±0,12% (I<sub>1</sub> et I<sub>2</sub>). Selon Snowdon et Cliver (1996), les conditions d'humidité et de température influent sur la croissance des microorganismes présents dans le miel et peuvent contribuer à sa détérioration.

Pour le pH, les valeurs obtenues varient de 4,58 à 5,76. Normalement le miel naturel a un faible pH (3-5), ce qui inhibe la croissance microbienne (Nevio, 2007). Mais dans la présente étude, les valeurs enregistrées sont un peu élevées. Ceci peut être lié à la dénaturation de la glucose oxydase par chauffage ou aux mauvaises conditions de conservation.

Soulignons que le risque de fermentation est d'autant plus élevé que la teneur en eau est importante ; il est quasi nul lorsque cette teneur est inférieure à 18% (Leyray et Vierling, 2001).

Ainsi, les miels de Parakou UCAP (J<sub>2</sub> et J<sub>3</sub>) et du Nord (K<sub>3</sub> et K<sub>4</sub>) qui ont respectivement un taux d'humidité égale à 17,83% et 17,67% ne présentent pas des risques de fermentation contrairement à tous les autres échantillons de

miel qui possèdent un taux supérieur à 18%. Mentionnons que les échantillons K<sub>3</sub> et K<sub>4</sub> ayant le plus faible teneur en eau sont dépourvus des flores fongiques (tableau 2b), ce qui suggère que la teneur en eau influence le développement des microorganismes observés dans le miel. Le plus souvent, c'est l'eau disponible dans les denrées alimentaires qui favorise le développement microbien.

L'activité de l'eau (Aw) optimale pour le développement des microorganismes se situe entre 0,98 et 0,99 (Tidjani et al., 2008). En général, les bactéries qui produisent des altérations courantes des aliments sont inhibées à des Aw d'environ 0,97. L'agent pathogène du genre *Clostridium* (anaérobie sulfite-réducteur) se développe à une Aw égale à 0,94 (Leyray et Vierling, 2001). Beaucoup de levures et moisissures prolifèrent à des Aw inférieures à 0,86. Certaines levures dites osmophiles et les moisissures xérophiles peuvent se développer lentement à l'Aw inférieure à 0,6.

En analysant les valeurs de la teneur en eau des miels en provenance de la Lama et de Manigri qui sont respectivement de 19,33±0,31% et de 19,50±0,01% ; nous constatons que les échantillons provenant des apiculteurs présentent une faible contamination en flore mésophile totale par rapport à ceux des marchés et pharmacies. Ce sont des échantillons de miels dont les qualités microbiologiques et les teneurs en eau sont acceptables suivant les critères normatifs d'interprétation retenus. Ces observations pourraient être liées au fait qu'il s'agit des échantillons peu contaminés, parce qu'ils sont achetés directement chez les apiculteurs. Ces mêmes observations ont été faites au Cameroun, où Mbawala et al. (2002), ont noté une faible contamination des miels conditionnés à la ruche contrairement à ceux collectés au hasard sur les étalages de vente en détail.

Par contre, les miels des Forêts du Nord Bénin et de Parakou "viva miel" qui ont des teneurs en eau plus élevées, respectivement égale à 21,20±0,06% (B<sub>2</sub> et B<sub>5</sub>) ; 22,45±0,01% (C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub>), contiennent plus de microorganismes (flores mésophiles, anaérobies sulfite-réducteurs et moisissures). Il s'agit des miels dont la qualité microbiologique est inacceptable, à durée de conservation largement réduite et ne devraient plus être sur le marché. Il s'en suit que cette qualité enregistrée pourrait être due à l'état hygiénique des contenants de conditionnement, dont la plupart sont des flacons de récupération, et aux conditions de stockage dans les lieux de vente. Les

quelques colonies identifiées sont majoritairement des bacilles trapus (*Bacillus sp.*) suivis de très long bacilles Gram positifs. Snowdon et Cliver (1996), avaient identifiés la bactérie du genre *Bacillus*, des spores de *Clostridium botulinum*, des levures et moisissures dans des échantillons du miel.

#### CONCLUSION

Les résultats des analyses microbiologiques obtenus sur les échantillons de miel analysés indiquent, un taux de contamination plus ou moins faible en flores mésophiles et fongiques pour les échantillons achetés auprès des apiculteurs. Mais la plupart des échantillons achetés auprès des revendeurs révèlent une augmentation en nombre de germes mésophiles et

fongiques avec une teneur en eau dépassant les critères de CODEX STAN 12-1981.

En définitif, l'évaluation de la qualité microbiologique des échantillons révèle que le risque à craindre est de nature mycologique, lié surtout aux souches toxigènes présentes, en l'occurrence *A. flavus* ; *A. fumigatus* et *Penicillium sp.* et aussi à la bactérie *C. perfringens* isolée. Ces biocontaminants sont fréquemment impliqués dans les cas de toxi-infection. La prévention des flores mésophiles et fongiques passera premièrement par les mesures d'hygiène élémentaires mises en œuvre au cours du conditionnement et secondairement lors du stockage pour la distribution ou la vente.

#### REMERCIEMENTS:

Les auteurs adressent leurs remerciements aux techniciens Grâce Judicaël Dotou Anago et Issiaka Soulé du Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi-Bénin pour leur contribution technique.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Agassounon Djikpo Tchibozo M., Toukourou F., Gandonou C. et Youssouf M.C., 2007. Essais de Conservation de la mangue à taux d'humidité élevé par la technologie des barrières. *Revue Sci. et Méd.*, **A** (5), 53-58.
- 2- Agassounon Djikpo Tchibozo M., Ahissou H., Ahanhanzo C. et Toukourou F., 2009. Appréciation des qualités microbiologiques et nutritionnelles de la boisson "Bissap" issue de la technologie traditionnelle améliorée, *J. Rech. Sci. Univ. série A*, **11** (1), 17-25.
- 3- Bassef IH., 1986. Bee keeping digests of selected literature on bee keeping, honey and bee wax processing. Lagos, Nigeria: Libriservice limited.
- 4- Bogdanov S., 2006. Contaminants of bee products. *Apidologie*. **37** (1), 1-10.
- 5- Codex Stan 12-1981- Révisions en 1987 et 2001. Codex Norme pour le miel.
- 6- Gomes S. Diss LG. Moreira LL. Rodrigues P. Estevinho L., 2009. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food Chem. Toxicol.*, **48** (2), 544-8.
- 7- Lachman J., Orsak M., Hejtmankova A., Kovarova E., 2010. Evolution of antioxidant activity and total phenolics of selected czech honeys. *Food Science and Technology*, **43**, 52-8.
- 8- Leyral G. et Vierling E., 2001. *Microbiologie et Toxicologie des Aliments*. 3<sup>e</sup> édition, Paris: France.
- 9- Mbawala A., Ngang J-J., Essia Darman R., Djoulde Fohouo F-N., Tchuenguem., ETOA F-X., 2002. Qualité microbiologique du miel vendu sur le marché de Ngaoundéré (Cameroun). *Rev. Microb. et Hyg. Alim.*, 3-7.
- 10- Molan PC, Smith IM, Reid GM., 1988. A comparison of the antibacterial activities of some New Zealand honeys. *J. Agri. Res.*, **27**, 252-256.
- 11- Moreau C. 1974. *Moisissures toxiques dans l'alimentation*. 2<sup>e</sup> édition. Masson, Paris: France.
- 12- Nevio Cimolai, MD. FRCPC, 2007. Sweet success? Honey as a topical wound dressing. The antimicrobial properties of honey may help in the treatment of recalcitrant wounds. *BC Medical journal*, **49** (2), 64-67.
- 13- AOAC 969.38B, 1992. Association of Official Analytical Chemists. Méthode V21 validée par le MAFF pour la teneur en eau du miel, *J. Assoc. Public Analysts*, **28** (4), 183-187.
- 14- Pham-Delegue M.-H., 1999. *Les abeilles*. Genève :Ed Minerva (Suisse) 206 pages
- 15- Sawadogo, M., 1993. *Contribution à l'étude du cycle des miellées et du cycle biologique annuel des colonies d'abeilles *Apis mellifera adansonii* lat. à l'Ouest du Burkina Faso*. Thèse de doctorat du 3<sup>ème</sup> cycle : Université de Burkina Faso 152 pages
- 16- de Souza, C., Koevi, K., James, K., Koumaglo, K. et Gbéassor, M., 1993. Etude de l'activité antimicrobienne du miel. *Revue de Microbiologie et d'Hygiène Alimentaire*. **14** (5) : 19-24.
- 17- Snowdon JA. Cliver DO., 1996. Microorganisms in honey. *Int J. Microbiol.*, **31** (1-3)1-26.
- 18- Stokes ES, Ridway GI, Wren GM., 1993. *Clinical Microbiology*. 7th ed. London: Arnold, pp. 20-30.
- 19- Subramanyam M. (1991). Tropical application of honey in treatment of burns. *Br J Surg*, **78**, 497-498.
- 20- Tidjani A., Agassounon Djikpo Tchibozo M., Toukourou F., Ouattara S. B., de Souza C., 2008.- Dosage des Aflatoxines dans les «Kilichi» et leurs ingrédients commercialisés au Tchad. *Micr Hyg Alim*, **20** (58), 27-35.
- 21- Vierling E., 2003. Aliments et boissons : Filières et produits. *Biosciences et Techniques*, 2<sup>e</sup> édition, Edition Doin, Paris : France.