

Etude bactériologique et biochimique du miel vendu au marché central de Bukavu (Congo)

K. Kitambala*

Keywords: Honey - Bacteria - Biochemistry - Contamination - Consumption.

Résumé

Le miel vendu au marché central de Bukavu (Congo) est produit par des apiculteurs traditionnels. Le présent article consiste en une étude bactériologique et biochimique de cette denrée en vue de déterminer son niveau de contamination et de pollution.

Les résultats obtenus ont mis en évidence une contamination d'origine fécale (présence d'entérobactéries dont Escherichia coli). Les tests biochimiques ont indiqué la présence des bactéries fermentant le glucose et altérant ainsi la qualité du miel. Celui-ci est donc impropre à la consommation et constitue un danger pour la santé humaine.

Summary

Bacteriological and Biochemical Study of Honey Sold at Bukavu (Congo) Central Market

The honey sold in the central market of Bukavu (Congo) is produced by traditional bee keepers. This article deals with a bacteriological and biochemical study of this product in order to determine its contamination and pollution levels.

Results indicated a contamination of faecal origin (presence of enterobacteria such as Escherichia coli). The bacteriological tests showed the presence of bacteria fermenting glucose, thus altering the quality of the honey. The latter is therefore inappropriate for consumption and constitutes a danger for the health of humans.

Introduction

Une ruche est protégée par un enduit, la propolis, qui maintient son asepsie grâce à ses pouvoirs bactériostatiques et antifongiques (18,22). Le miel y est donc conservé dans des conditions aseptiques. Une fois hors de ce milieu, il est susceptible d'être contaminé lors des manipulations apicoles telles que la récolte, l'extraction et l'exposition à la vente. C'est pendant celles-ci que le miel s'hydrate et par conséquent devient un milieu favorable à la prolifération des micro-organismes de l'air et des germes apportés par les mains de l'apiculteur.

La plupart des apiculteurs minimisent les précautions qui s'imposent pour le maintien de la qualité du miel à savoir sa récolte, son extraction, sa conservation et sa commercialisation en conditions aseptiques, d'où la pollution de cette denrée. La teneur du miel en glucides (75%) étant très élevée (15), les micro-organismes peuvent rapidement altérer ses caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques alors qu'il est de plus en plus utilisé en thérapie traditionnelle notamment contre la toux, la gingivite, les plaies... (9,12) et en alimentation humaine.

Le présent travail se propose d'effectuer une étude bactériologique et biochimique du miel vendu au marché central de Bukavu, en vue de déterminer son niveau de contamination et de pollution.

Matériel et méthodes

Echantillonnage, stérilisation, ensemencement et culture

L'étude a été réalisée à l'Institut Supérieur Pédagogique de Bukavu (2°30' S, 28°51' E, 1460 m alt.). Deux points de vente à activités intenses ont constitué les sites de prélèvement des échantillons. Dix prélèvements par site ont été effectués au hasard.

La verrerie utilisée a été stérilisée à la chaleur sèche à 160°C pendant 2 heures. Quant aux milieux de culture, ils ont été, après préparation, stérilisés à la chaleur humide à 120°C pendant 15 minutes.

Un ml de chaque dilution a été ensemencé et homogénéisé sur le milieu en boîte de Pétri. La culture des bactéries hétérotrophes aérobies a été réalisée sur la gélose nutritive, la différenciation des coliformes sur l'agar lactosé à l'éosine et au bleu de méthylène (EMB-lactose) et sur l'agar de MacConkey, la recherche des bactéries lipolytiques sur le milieu de Rahn et celle des vibrions sur le TCBS-agar. La culture du miel prélevé directement à la ruche a été réalisée sur la gélose nutritive.

Dénombrement des germes sur différents milieux

La boîte de Pétri a été divisée en quatre parties égales et les colonies ont été comptées dans un "quartier" choisi au hasard. Le nombre de bactéries par ml

* Institut Supérieur Pédagogique de la Communauté Evangélique au Centre de l'Afrique (I.S.P.T./C.E.C.A.-20), P.O. Box 21285 Nairobi, Kenya
Reçu le 09.06.95 et accepté pour publication le 30.01.98.

d'échantillon a été calculé en multipliant le chiffre global par le facteur de dilution.

Isolement et purification des souches

Douze colonies isolées à partir de dix prélèvements ont été repiquées sur la gélose nutritive coulée en boîtes de Pétri ou dans des tubes à essai inclinés.

Etude biochimique du métabolisme bactérien

Une goutte d'eau oxygénée (solution 3%) a été coulée sur un inoculum prélevé d'une souche pure. Celle-ci se montre soit catalase positive par dégagement immédiat de bulles d'oxygène, soit catalase négative par absence de cette réaction.

La fermentation du glucose a été testée en repiquant les souches pures sur un milieu préparé essentiellement à base de cette substance (glucose). Après 48 heures d'incubation à l'étuve, l'acidification a été détectée en ajoutant quelques gouttes de méthyle rouge à la culture. Le virage au jaune (pH supérieur à 5,0) indique un est négatif tandis que le virage au rouge (pH inférieur à 4,8) indique un test positif (20).

Pour contrôler la décomposition de l'amidon en glucose, différentes souches bactériennes isolées ont été inoculées dans le bouillon nutritif et les solutions de Fehling A et B ont servi pour le test.

La coloration différentielle de Gram é été réalisée selon la méthode décrite par Carbonnelle *et al.* (4) et par l'O.M.S. (14).

Résultats et discussion

Dénombrement des germes sur différents milieux

Le dénombrement des germes a donné une moyenne de 738.10^3 , 684.10^3 , 533.10^3 , 12.10^2 et 0 germes/ml respectivement sur gélose, EMB-lactose, MacConkey, Rahn et TCBS-agar pour du miel manipulé. Cependant, rien ne s'est développé de la culture du miel prélevé directement à la ruche, ce qui confirme l'aseptie dans cette dernière (13). Bien que l'incubation ait été réalisée à 37°C pendant 48 heures pour tous les milieux, sa durée a été exceptionnellement de 7 jours pour le milieu de Rahn, le développement bactérien s'y étant avéré très lent.

L'appréciation de l'état sanitaire des échantillons a été faite selon les normes belges appliquées aux pâtisseries et aux desserts: le nombre de germes/ml sur gélose nutritive étant supérieur à 3.10^5 germes (10), ceci suggère une pollution par des bactéries hétérotrophes aérobies. Leur nombre élevé augmente le risque de la présence des bactéries pathogènes (2,8,16).

Le titre bactérien sur EMB-lactose et sur agar de MacConkey est de loin supérieur à 1000 germes/ml (10), ce qui prouve une contamination par des coliformes. Leur présence dans les eaux des boissons ou dans les denrées alimentaires traduit une pollution d'origine fécale (1,3,5,6,10,21). Une étude similaire effectuée sur le lait vendu au marché central de Bunia (Congo) a indiqué qu'il est de loin plus pollué que le miel vendu au marché central de Bukavu soit 125.10^5 germes/ml sur MacConkey (13).

Les germes dénombrés sur le milieu de Rahn étaient des bactéries lipolytiques. Leur rareté par rapport aux germes dénombrés sur gélose, EMB-lactose et MacConkey, s'expliquerait par la faible concentration

Tableau 1
Caractéristiques des colonies isolées

N° Sou-ches	Milieu de culture	Diamètre	Coloration	Aspect général
1	Gélose	≈ 1 mm	Grise	Bombée à aspect laiteux
2	Gélose	Colonie ponctuelle	Jaune	-
3	Gélose	Colonie ponctuelle	Jaune	-
4	Gélose	Colonie ponctuelle	Orange	-
5	Gélose	Colonie ponctuelle	Jaune-claire	-
6	Gélose	≈ 1 mm	Grise	Bombée à aspect laiteux
7	Gélose	≈ 0,5 mm	Blanche	Aplatie à contour lisse
8	Gélose	Colonie ponctuelle	Jaune-claire	-
9	Gélose	≈ 1 mm	Jaune-orange	Bombée à aspect laiteux
10	Gélose	≈ 2 mm	Grise	Aplatie
11	EMB-Lactose	≈ 2 mm	Verdâtre	Eclat métallique
12	MacConkey	Colonie ponctuelle	Blanche	-

- = sans aspect général caractéristique.

des lipides dans le miel évaluée à 0,2% (15). Les vibrions n'ont pas été observés sur le TCBS-agar. Cela peut se justifier par l'absence d'épidémie de choléra à Bukavu depuis un certain temps.

Caractéristiques des colonies isolées

Les caractéristiques des colonies isolées, résultant de leur reconnaissance macroscopique, sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 2
Résultats de tests biochimiques du métabolisme bactérien et de la coloration différentielle de Gram des échantillons de miel

Tests N° Sou-ches	Production de la catalase	Fermentation		Décom- position de l'amidon en glucose	Coloration de Gram
		du lactose	du glucose		
1	-	-	-	+	Coques Gram -
2	+	-	+	+	Coques Gram +
3	+	-	+	+	Coques Gram +
4	+	-	+	+	Coques Gram +
5	-	-	+	-	Coques Gram +
6	+	-	+	+	Coques Gram +
7	+	+	+	+	Coques Gram +
8	+	-	+	+	Coques Gram +
9	+	-	+	+	Coques Gram -
10	+	-	+	+	Coques Gram +
11	+	+	+	-	Bâtonnets Gram -
12	+	-	+	+	Coques Gram +

+ : Test positif

- : Test négatif

Gram + : Gram positif

Gram - : Gram négatif

Ces résultats ont contribué à la classification présumptive des micro-organismes et ont permis d'identifier *E. coli* sur EMB-lactose: coloration verdâtre à éclat ou reflet métallique. Cette observation a été confirmée par quelques tests biochimiques. C'est le cas de la souche 11 (Tableaux 1 et 2).

Sur les 12 souches isolées, 10 ont été repiquées de gélose nutritive contre un seul d'EMB-lactose et un seul d'agar de MacConkey. Cette différence est due au fait que chacun de ces deux derniers milieux sélectifs n'a développé que des colonies à caractéristiques similaires, il n'a pas été nécessaire d'en multiplier les souches.

Quelques aspects métaboliques des souches isolées

De toutes les souches étudiées, seules la 1^e et la 5^e sont catalase négative (17%), ayant le désavantage de ne pas activer la décomposition du peroxyde d'hydrogène (produit toxique). Les autres (83%) sont catalase positive.

Sur les 12 souches étudiées, seules la 7^e et la 11^e fermentent le lactose en acide lactique (soit 17%). Toutes les souches ont fermenté le glucose en acidifiant le milieu, à l'exception de la souche 1 dont le milieu est resté neutre.

Le test de la décomposition de l'amidon est positif pour 10 souches (soit 83%) et négatif pour les souches 5 et 11 (soit 17%). Celles-ci n'ont probablement pas produit d'amylase nécessaire à la dégradation de l'amidon.

Sur les 12 souches, 11 sont des coques (soit 92%), parmi lesquelles 9 sont Gram positif (soit 82%), et 2 sont Gram négatif (soit 18%). Une seule, soit la souche 11, est constituée des bâtonnets Gram négatif et sa coloration vient confirmer son identification en corroborant les caractéristiques indiquées dans le tableau 1 (verdâtre à éclat métallique). Il s'agit bien d'*E. coli*. Ce dernier est un bâtonnet Gram négatif dont les colonies prennent un aspect très typique d'éclat métallique en lumière indirecte. Il fermente le lactose... et quelquefois le glucose, mais n'attaque pas l'amidon (11,19) comme le confirme la souche 11 (Tableau 2).

Quelques sources de contamination du miel par *E. coli*

D'une part, à la récolte du miel, certains apiculteurs enduisent leurs visages et mains de la bouse dont l'odeur inhiberait l'agressivité des abeilles. D'autre part, le trou de vol de la ruche est enduit des résidus de l'extraction d'huile de palme. En outre, à l'extraction du miel, les apiculteurs ne veillent pas à la propreté de leurs mains avant le pressage des rayons. Enfin, certains récipients contenant du miel destiné à la vente et la cuiller servant à mesurer, sont exposés à l'air libre.

Ces pratiques insalubres sont certainement quelques unes des sources de contamination du miel par *E. coli*. Des études similaires montrent également que les manipulations et pratiques inadéquates sont à la base de la contamination fécale et de la détérioration des qualités physico-chimiques et organoleptiques des poisons commercialisés au Burundi et au Bénin (17,21). Bien que les denrées alimentaires soient pour la plupart correctement traitées aux Etats-Unis, les recherches récentes font de plus en plus état des maladies causées par des produits contaminés (viandes, fruits, légumes...) vendus sur les marchés (6).

Les conditions de stockage, de transport et de vente des denrées alimentaires devraient être plus saines afin de garantir la santé des consommateurs (6,13,17,21).

Conclusion

L'étude bactériologique et biochimique du miel vendu au marché central de Bukavu a permis de comprendre en partie le métabolisme bactérien dans cette denrée alimentaire. En effet, la présence d'entérobactéries dont *E. coli* est une preuve de contamination fécale, ce qui rend ce miel impropre à la consommation car il peut constituer, pour la population, une source de contamination en cas d'épidémie entérique.

Les tests biochimiques ont indiqué la présence des bactéries fermentant le glucose et altérant ainsi la qualité du miel.

Considérant la mauvaise qualité bactériologique de ce miel et les éventuelles conséquences néfastes y afférentes, alors qu'il est de plus en plus utilisé en thérapie traditionnelle et en alimentation, nous suggérons:

- Que l'Association des Apiculteurs du Kivu (API-KIVU) multiplie les campagnes de sensibilisation et renforce les mesures d'encadrement des apiculteurs;
- Que le pouvoir étatique, par l'entremise de son service d'hygiène publique, assure un minimum d'éducation sanitaire aux vendeurs du miel au marché central de Bukavu.

Remerciements

Nos sincères remerciements au Département de Biologie de l'I.S.P. Bukavu, pour avoir alloué ses laboratoires à la réalisation de ce travail. Toute notre gratitude au Professeur N. Byamungu (I.S.P. Bukavu) pour ses directives ainsi que pour les réactifs mis à notre disposition. Nous exprimons notre reconnaissance au Docteur Ingénieur B.A. Ruhigwa, Professeur à l'ISPT/CECA-20 Bunia, pour ses suggestions et à l'Ingénieur G. Chauvaux (†) (FSAG) pour la documentation qu'il nous a généreusement fournie.

Références bibliographiques

1. Borrigo A.F., Arrabal F. & Romero P., 1982. Study of Microbiological Pollution of a Malaga Littoral Area II, Relationship between Faecal Coliforms and Faecal Streptococci, VI journées Etud. Pollution Cannes, 2-4 décembre: 561-566.
2. Bourgeois C.M., 1980. La microflore aérobie mésophile totale. In: Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Le contrôle microbiologique. Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Coordinateurs. APRIA, Techniques et Documentation, **3**: 93-97.
3. Buttiaux R., 1971. Micro-organismes pathogènes et toxigènes des aliments. Cahiers Nutr. Diet., **6** (3): 28-29.
4. Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G. & Vargues R., 1987. Bactériologie médicale. Techniques usuelles. SIMEP, Paris, p.15.
5. Catsaras M. & Bourgeois C.M., 1980. Les indices de contamination fécale. In: Techniques d'analyses et de contrôle biologique. Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Coordinateurs. APRIA, Techniques et Documentation, **3**: 174-187.
6. Gavzer B., 1997. How to Prevent Food Poisoning. Parade Magazine, October 19: 4-6.
7. Heselmans R., 1994. Conditionnement et vente du miel. Fiche technique E09, Rucher-Ecole de Mons, 4 p.
8. Hobs B. & Gilbert J., 1974. Microbial counts in the relation to food poisoning in IUFOST. Proceedings of the International Congress in Food Science and Technology. Madrid, **3**: 159-169.
9. Kitambala K., 1996. Le miel et son usage en thérapie traditionnelle. Colloque du Centre de Recherche Multidisciplinaire pour le Développement. CRMD/Bunia, 10-16 octobre.
10. Lamaye J.C., 1990. Analyse d'une denrée alimentaire, Protocole simplifié à l'usage des enseignants. Institut Provincial d'Hygiène et de Bactériologie du Hainaut.
11. Marchal N. & Bourdon J.L., 1973. Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. DOIN, Paris. pp. 111-117.
12. Martine Dany-Mazeau & Ghislaine Pautard, 1994. De la ruche à l'hôpital: l'utilisation du miel dans le processus de cicatrisation. Panorama Médical, **1** (8): 467.
13. Monondo E., Ndusu M. & Bushu M., 1996. Etude sur la qualité bactériologique du lait consommé à Bunia (Est du Zaïre) et environs. Lettre du sous-réseau PRELUDE-SPAE, **9**: 6-7.
14. O.M.S., 1990. Manuel des techniques de base pour le laboratoire médical. Genève. pp. 235-237.
15. Randon L., 1974. Tables de composition des aliments. Jacques Lanore, Paris, 116 p.
16. Sikkiler J.M., 1969. Total Counts as Indexes of Food Quality. In: Microbiological Quality of Food, eds L.V. Slanetz, C.O. Chichester, A.R. Ganfin & Z.J. Ordal, p. 102.
17. Sindayigaya E., Debevere J. & Deelstra H., 1990. Appréciation et amélioration de la qualité bactériologique du poisson commercialisé au Burundi. Cas de *Stolothrissa tanganicae* et *Luciolates stappersii*. Tropicultura, **8** (2): 64-68.
18. Six Anne & J., 1982. La vie privée des abeilles. Chêne/Hachette, Paris. s.p.
19. Sonnenwirth A.C., 1973. The Enteric Bacilli and Similar Gram-Negative Bacteria. In: Microbiology. Harper & Row, pp. 753-788.
20. Van Pee W., Deconinck G. & Castelein J., 1968. Microbiologie générale, Manuel pratique. O.N.R.D., Kinshasa, 146 p.
21. Van den Berghe C. & Oliyide A., 1988. Qualité du poisson fumé (*Tilapia spp*) en fonction des méthodes de transformation et d'entreposage en République Populaire du Bénin. Tropicultura, **6** (2): 51-59.
22. Villières B., 1987. L'apiculture en Afrique Tropicale. GRET, Paris, 220 p.

K. Kitambala: Congolais. Licencié Agrégé en Biologie. Assistant à l'Institut Supérieur Pédagogique Technique de la 20e Communauté Evangélique au Centre de l'Afrique (I.S.P.T./C.E.C.A.-20) de Bunia, République Démocratique du Congo.