

ETUDE DE L'EFFET ANTIMICROBIEN DE TROIS ECHANTILLONS DU MIEL NATUREL RECOLTES DU TERRITOIRE ALGERIEN

Mostefa MERAH*, Messaoud BENSACI BACHAGHA et Amel BOUDERHEM

Laboratoire de Bioressources Sahariennes : Préservation et Valorisation,

Département des Sciences de la Nature et de la Vie,

Université Kasdi Merbah Ouargla, BP 511, Ouargla 30000 (Algérie)

** E-mail : mm.mostefa@yahoo.fr*

RÉSUMÉ : Le présent travail est une contribution à l'évaluation de l'effet antimicrobien de trois échantillons de miel naturel récoltés de trois sites du territoire Algérien. Il s'agit de **Tizi-Ouzou, Sidi Bel Abbès et Jijel** et un échantillon de miel importé de l'Arabie Saoudite (**Alshifa**). Les quatre échantillons sont testés sur cinq souches microbiennes à caractère pathogène (quatre souches bactériennes et un champignon).

Nous avons choisi pour cette étude trois catégories de germes, selon leur degré de sensibilité aux antibiotiques, à savoir : des souches très sensibles, moyennement sensibles et des souches résistantes.

Notre travail est basé sur l'évaluation de l'effet antimicrobien par la **technique de diffusion en gélose**.

Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel naturel sur la sensibilité microbienne. Cet effet inhibiteur a été constaté pour les trois échantillons testés, avec des différences d'un échantillon à un autre et d'une souche microbienne à une autre.

Nous avons constaté que les trois échantillons de miel naturel ont montré deux types d'effets antimicrobiens : un effet bactéricide et un effet bactériostatique et fongistatique vis-à-vis des souches testées (le miel manifeste un effet bactéricide ou bactériostatique ou les deux à la fois). Alors que le 4^{ème} échantillon (Alshifa) n'a aucun effet antimicrobien.

MOTS-CLÉS : effet antimicrobien, miel naturel, bactéries à Gram+, bactéries à Gram-, Candida albicans, miel Alshifa.

يتناول هذا العمل تأثير العسل المضاد للميكروبات وذلك لثلاث عينات من العسل الطبيعي تم جمعها من ثلاث مناطق من التراب الجزائري و هي : الملخص (تيزي وزو , سيدي بلعاس وجيجل) بالإضافة إلى عينة رابعة من العسل المستورد من العربية السعودية و المسمى (الشفاء). العينات الأربع تم اختبارها على أربع سلالات بكتيرية و سلالة من الخميرة. وقد تم اختيار الميكروبات على أساس درجة حساسيتها للمضادات الحيوية : سلالات جد حساسة. نوعا ما بينت النتائج بوضوح الأثر حساسة وأخرى مقاومة. الطريقة المستخدمة في الدراسة مبنية على التقنية المتفق على تسميتها : **تقنية الانتشار في الأجار**. التثبيطي للعسل الطبيعي الجزائري على الميكروبات. مع وجود بعض التفاوت من عينة إلى أخرى ومن سلالة ميكروبية إلى أخرى. (فبعض عينات العسل يملك لقد تبين من هذه الدراسة أن العينات الثلاث من العسل الطبيعي لها نوعان من التأثير : تثبيط النمو أو قتل الميكروب نهائيا التأثير الأول و بعضها يملك التأثير الثاني و البعض الآخر يملك الإثنين معا). أما العينة الرابعة من العسل المسورد (عسل الشفاء) فإنها لم تظهر أي أثر ضد السلالات الميكروبية المختبرة.

بكتيريا غرام سالب، بكتيريا غرام موجب، عسل الشفاء. (Candida albicans) التأثير ضد الميكروبات، فطر الكلمات الدالة : العسل الطبيعي الجزائري،

1- Introduction

La connaissance et l'utilisation du miel par l'homme remonte aux temps les plus reculés de son histoire et il fait partie indubitablement des aliments les plus anciens de l'humanité. Le Saint Coran et le Hadith du prophète présentent le miel en tant que guérisseur des maladies (Sourate «**El-Nahl**» verset 68-69) et comme a dit le prophète (bénédiction et paix sur lui) : "Le miel est un remède pour chaque maladie et le Coran est un remède pour toutes les maladies d'esprit, c'est pourquoi je vous recommande les deux remèdes : le Coran et le miel" (RAPPORTE PAR L'IMAM BUKHARI).

L'impact des maladies infectieuses ne cesse de croître dans le monde. Cela est du généralement au phénomène de l'antibio-résistance. Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques de certains produits naturels, sachant que ces derniers ne présentent pas généralement des effets secondaires. Le miel compte parmi ces produits les plus convoités. En raison de ses propriétés inhibitrices et thérapeutiques, de nombreuses études se sont intéressées aux propriétés thérapeutiques du miel [1-3].

Dans cette optique, le présent travail a pour principal objectif l'évaluation du pouvoir antimicrobien du miel, vis-à-vis de certains micro-organismes pathogènes.

On peut classer les miels, selon l'origine locale, le mode d'obtention [4-7], le mode de traitement et la source alimentaire. De ce fait, tous les miels ont des propriétés communes, mais chaque miel, se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres à lui [8-10].

La composition chimique du miel varie selon la qualité du nectar et du miellat récoltés, la nature du sol et l'état physiologique de la colonie [11]. Cane (1980), cité par **Philippe (1999) [12]**, rapporte que 181 substances ont été identifiées et qu'il est évident qu'en réalité cette composition est beaucoup plus complexe. **L'HMF** (hydroxyméthylfurfural) est présent dans les miels vieux ou qui ont subi un chauffage. La teneur en HMF augmente progressivement par l'élévation de la température et la durée de stockage. Cette progression serait plus rapide dans les miels à pH faible (compris entre 3 et 3,5). L'augmentation de HMF est un signe de la mauvaise qualité du miel. Le dosage d' HMF permet d'ailleurs de détecter si le miel a été chauffé et donc dénaturé. On peut ainsi détecter certaines fraudes.

Les importants composés responsables de l'activité antibactérienne sont les composés phénoliques (généralement les tanins et les flavonoïdes), les inhibines dites « non peroxydes » telles que des lysozymes et les substances volatiles et aromatiques du miel [13].

Produit phare de la ruche, le miel est utilisé depuis toujours pour ses vertus nutritives, curatives et spirituelles. Par sa composition très variée (sucres, vitamines, polyphénols...) ses applications sont innombrables. Les miels ont une action thérapeutique variable, selon leur origine florale, sur tous les systèmes du corps humain : croissance, système immunitaire, système respiratoire, système digestif. Ils agissent aussi sur la peau comme cicatrisants des plaies normales, surinfectées ou des brûlures.

Le miel naturel montre une activité cicatrisante importante. Outre son activité antibactérienne, il jouit d'une propriété nettoyante et désinfectante.

En plus, son action énergétique profite aux cellules jeunes, en favorisant notamment la multiplication cellulaire. Des études comparatives ont montré des résultats très intéressants dans la cicatrisation de brûlures ou de plaies nécrosées.

En plus de leurs propriétés thérapeutiques intrinsèques, les miels présentent également un intérêt comme vecteur d'autres agents thérapeutiques. Cela signifie que, grâce à leur pression osmotique favorable, ils constituent de bons véhicules permettant d'améliorer le degré d'assimilation par l'organisme d'autres produits à action thérapeutique [<http://www.docteur-abeille.com> cité par [14].

Le miel présente donc une forte bioactivité, les enzymes de miel assurent un effet antimicrobien grâce à l'acide gluconique qu'il contient et leur faible pH qui est d'environ 3.0 à 4.5. Beaucoup des bactéries sont inhibées à ce pH. De plus, les flavonoïdes qu'il contient ont un fort effet antioxydant et emprisonnent donc les radicaux oxygénés néfastes [15-17].

2- Matériels et méthodes

Le présent travail consiste en l'évaluation de l'effet antimicrobien de trois échantillons de miel naturel, récoltés dans trois sites du territoire algérien ; il s'agit de **Tizi-Ouzou, Sidi Bel Abbès et Jijel**, et un échantillon de miel importé de l'Arabie Saoudite (**Alshifa**) (**Tableau 3**). Selon nos connaissances, les trois échantillons 1, 2, et 3 sont de type multi floral. Les échantillons ont été utilisés tels qu'ils ont été achetés des agriculteurs sans l'extraction de leurs composés. Les dates de récolte des trois échantillons sont déterminées également d'après les agriculteurs.

Les quatre échantillons sont testés sur cinq souches microbiennes (quatre souches bactériennes et un champignon).

Nous avons choisi pour cette étude trois catégories de germes, selon leur degré de sensibilité aux antibiotiques, à savoir : des souches très sensibles, moyennement sensibles et des souches résistantes.

Les souches microbiennes testées ont été fournies par le laboratoire de l'Hôpital «**Mohamed Boudiaf de Ouargla**».

Il s'agit d'isolats cliniques responsables d'infections nosocomiales. Ainsi, nous avons retenu les espèces suivantes : Bactéries (*E. coli*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) ; levure (*Candida. albicans*)

Les bactéries à Gram- (*Serratia marcescens*, *E. coli* et *pseudomonas aeruginosa*) sont isolés sur le milieu **Hektoen** qui inhibe la croissance de la flore Gram+.

La bactérie à Gram+ (*Staphylococcus aureus*) est isolée sur le milieu **Chapman**, caractérisé par sa forte teneur en NaCl et qui inhibe les bactéries Gram–.

Les bactéries à Gram- sont identifiées et distinguées par le test de la galerie API 20E. *Staphylococcus aureus* est identifiée par test de Coagulase par la technique de Latex.

L'ensemencement des microorganismes est effectué, selon la technique de la culture en **nappe** sur le milieu Muller Hinton gélosé dans des boites de Pétri.

La sensibilité aux antibiotiques est étudiée par l'antibiogramme. Les disques d'antibiotiques nous ont été donnés par le laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital «**Mohamed Boudiaf de Ouargla**» (BIO RAD4SUSCEPTIBILITE DISKS). Les antibiotiques utilisés sont illustrés dans le tableau. **1**. Les disques d'antibiotiques sont déposés dans chaque boite, en contact avec la culture. Les boites sont incubées 24 h à 37C°.

Tableau 1 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.

Acide Fusidique	AM	Céfaloxine	Céfa	CN
Ampiciline	AF	lozoline	Colisti	CZ
	AMC	ne Erythromyci	ne	CS
Amoxicilline	AN	ne Gentamicine		E
Amikacine	CM	Sulfamide		GM
Clindamycine	IPM	Vanomycine		SXT
Imiperem	P			VA
Penicilline	SP			
Spiramycine				

L'évaluation du pouvoir antimicrobien du miel est réalisée par la **technique de diffusion en gélose**.

L'expérimentation s'est déroulée dans le laboratoire de Bioressources Sahariennes de l'Université Kasdi Merbah de Ouargla et le laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital «Mohamed Boudiaf de Ouargla».

Des disques stériles imprégnés jusqu'à la saturation dans des dilutions différentes sont déposés dans chaque boite. Les boites sont incubées 24 h à 37C°.

Les dilutions utilisées sont : A (0%), B (25%), C (50%), D (75%).

Le profil de sensibilité des bactéries aux antibiotiques ou au miel peut être déterminé par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques sur boites.

Vu l'absence d'une référence de lecture qui détermine le seuil de sensibilité nous avons considéré une souche sensible si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 10 mm ; résistante si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 10 mm. La sensibilité est intermédiaire si le diamètre est égal à 10 mm.

3- Résultats et discussion

3.1- Résultats

La photo d'une boîte de l'antibiogramme d'*E. coli* (**Photo 1**) est présentée pour une comparaison avec les tests de miel.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne du miel est basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition de différentes dilutions des différents échantillons de miel. Ces mesures permettent de déterminer l'activité antimicrobienne du miel in vitro (**Photos 2, 3, 4, 5 et 6**). Les résultats des antibiogrammes sont résumés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Antibiogramme des bactéries à Gram- et Gram+. Les chiffres représentent les diamètres des halos d'inhibition en mm.

Antibiotiques (Gram-)	AMC	AN	CN	CZ	CS	IPM	GM	P	SXT	
<i>E. coli</i>	20	22	4.0	14	20	32	24	00	24	
<i>S. marcescens</i>	20	24	00	6	00	28	30	00	20	
<i>P. aeruginosa</i>	20	24	00	6	00	28	30	00	20	
Antibiotiques (Gram+)	AMC	P	CZ	AM	SP	E	GM	CM	AF	SXT
<i>Staph. aureus</i>	08	00	00	00	00	00	10	10	10	24

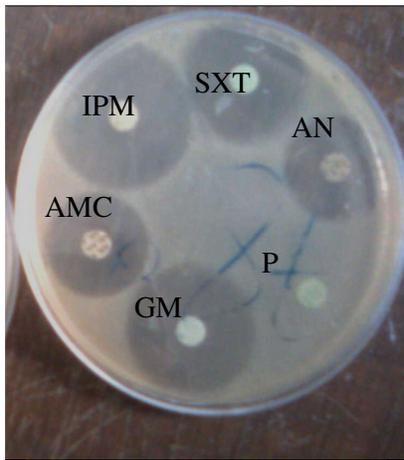
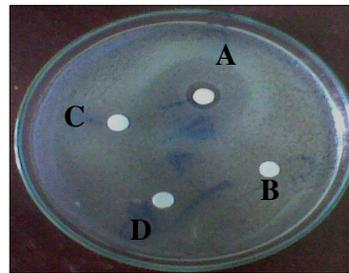
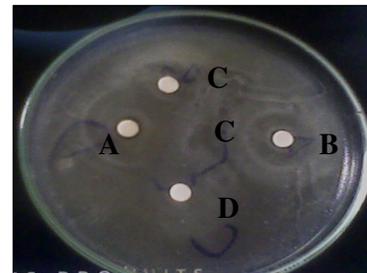


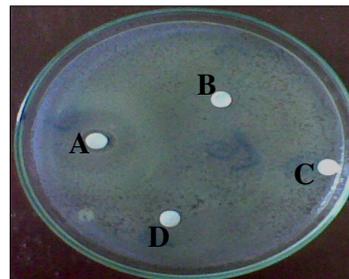
Photo 1 : Antibiogramme d'*E. coli*



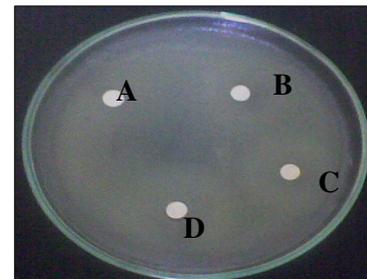
Echantillon 3



Echantillon 1



Echantillon 2



Echantillon 4

Photo 2 : Effet de miel sur *E. Coli*

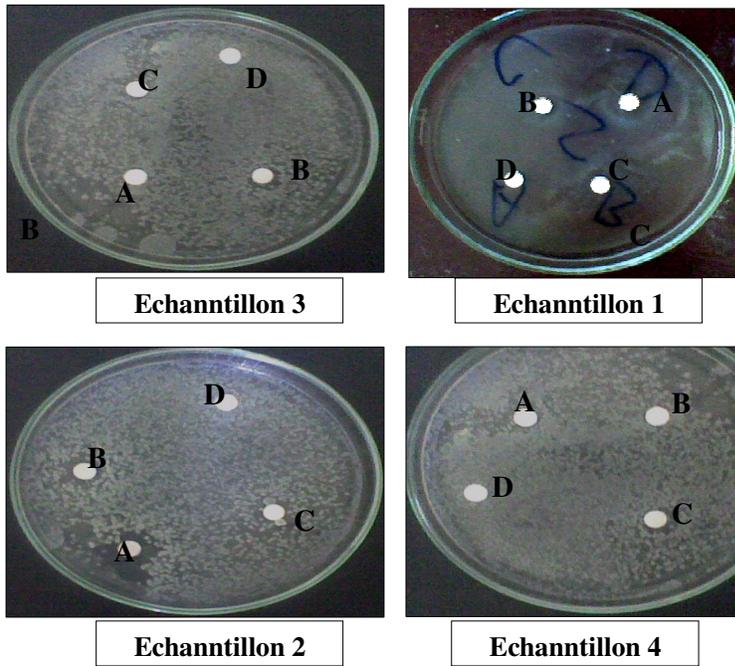


Photo 3 : Effet de miel sur *Serratia marcescens*

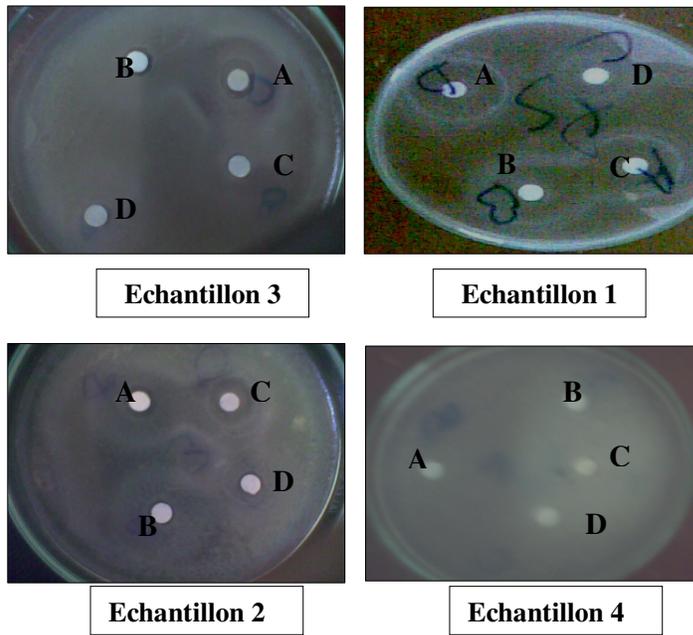
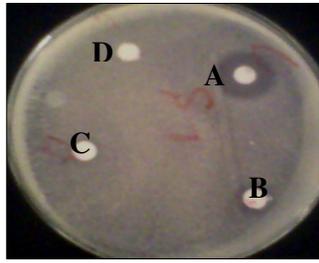
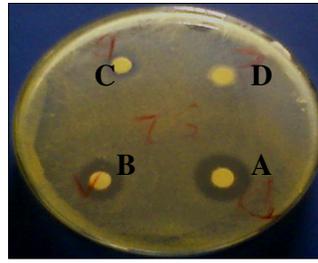


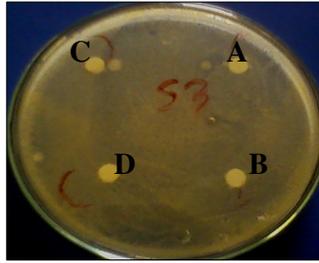
Photo 4 : Effet de miel sur *Pseudomonas aeruginosa*



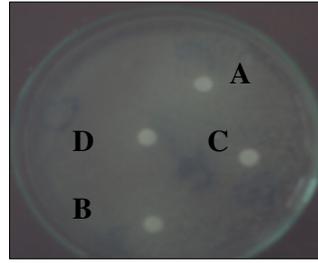
Echantillon 3



Echantillon 1

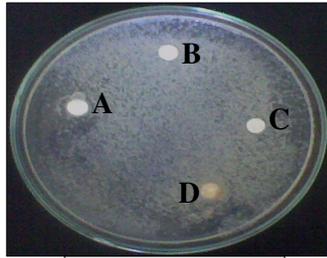


Echantillon 2

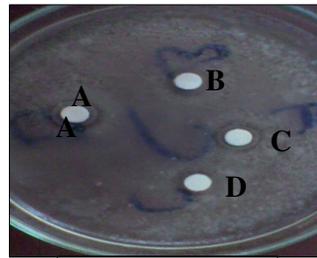


Echantillon 4

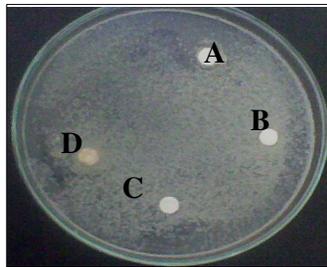
Photo 5 : Effet de miel sur *Staphylococcus aureus*



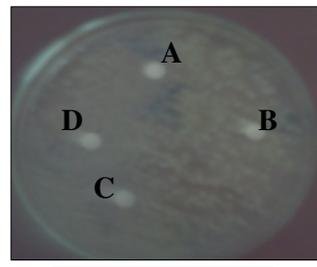
Echantillon 3



Echantillon 1



Echantillon 2



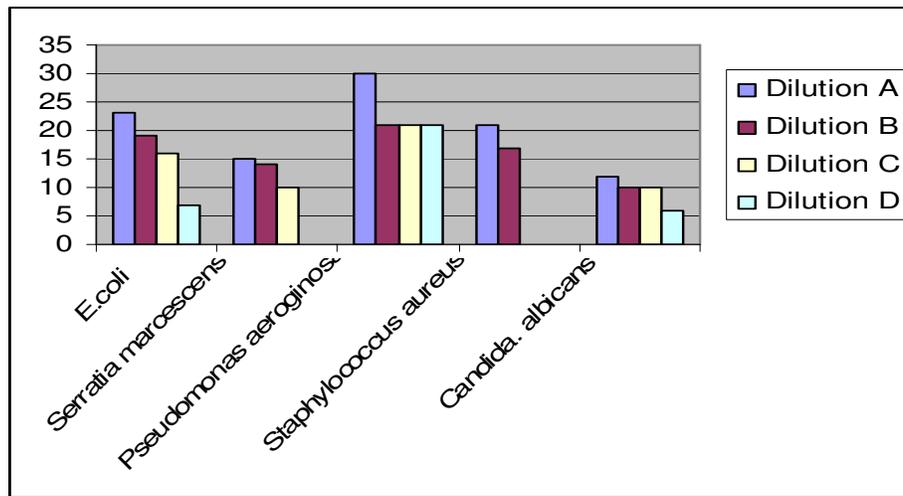
Echantillon 4

Photo 6 : Effet de miel sur *Candida albicans*

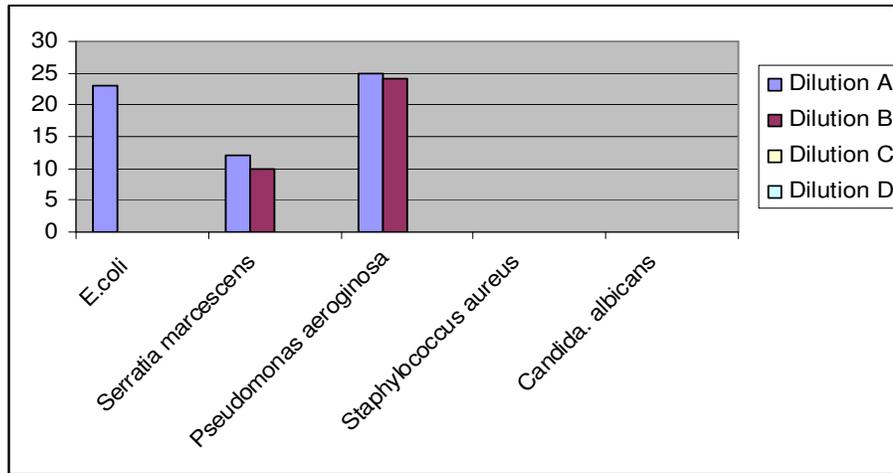
Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne du miel sont résumés dans le tableau 3 et illustrés par les graphes 1, 2 et 3.

Tableau 3 : Effet du miel sur les souches testées. Les chiffres représentent les diamètres des halos d'inhibition en mm, les lieux et les dates de récolte ou de fabrication sont mentionnés.

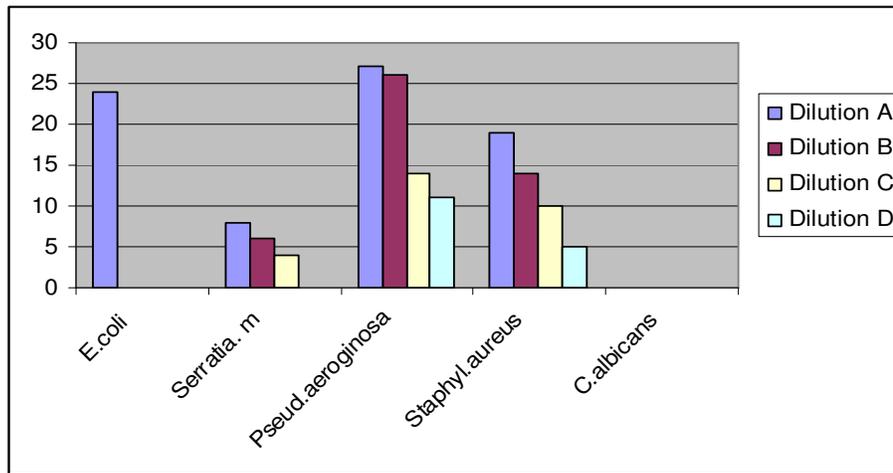
Dilutions	Echantillon 1 (T-Ouzou 2007)				Echantillon 2 (SB Abbés 2008)				Echantillon 3 (Jijel 2009)				Echantillon 4 (Alshifa 2008)			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
<i>E.coli</i>	23	19	16	07	23	00	00	00	24	00	00	00	00	00	00	00
<i>S.marcesce</i>	15	14	10	00	12	10	00	00	08	06	04	00	00	00	00	00
<i>P.aerogino</i>	30	21	21	21	25	24	00	00	27	26	14	11	00	00	00	00
<i>S. aureus</i>	21	17	00	00	00	00	00	00	19	14	10	05	00	00	00	00
<i>C.albicans</i>	12	10	10	09	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00



Graphe 1 : Activité antimicrobienne de l'échantillon 1 du miel



Graph 2 : Activité antimicrobienne de l'échantillon 2 du miel



Graph 3 : Activité antimicrobienne de l'échantillon 01 du miel

3.2- Discussion

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne, on peut constater ce qui suit :
 *- Toutes les souches microbiennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice des trois échantillons de miel naturel, avec des différences d'un type à un autre et d'une souche à une autre, ce qui indique son large spectre d'action antibactérienne et antifongique.

*- L'effet antibactérien du miel est plus important avec les échantillons non dilués, il diminue avec des dilutions successives.

*- L'échantillon 2 est l'échantillon le plus efficace et qui possède un effet antibactérien et antifongique sur les cinq souches testées. Alors que l'échantillon 3 est l'échantillon le plus faible, et qu'il n'agit que sur les bactéries à Gram-.

*- Le miel naturel a deux types d'effets sur les bactéries à Gram- (*E. coli*, *Serratia marcescens* et *Pseudoonas aeruginosa*) : un effet *bactéricide* sur les zones les plus proches des disques imprégnés de miel et un effet *bactériostatique* sur les zones relativement loin des disques. Dans le premier cas,

la croissance est inhibée définitivement puisque les microbes sont tués, alors que dans le deuxième cas, un tapis bactérien réapparaît après l'inhibition puisque les microbes ne sont pas tués.

L'effet des trois échantillons de miel sur les 5 microbes testés est illustré dans le tableau 4. On constate que l'action du miel naturel sur les cinq microbes testés varie d'une part selon l'échantillon du miel et d'autre part selon la souche microbienne.

*- Les souches *E. coli* et *Pseudoonas aeruginosa* sont les plus sensibles à l'effet des trois échantillons de miel. *Staphylococcus aureus* est moyennement sensible. Alors que *Serratia marcescens* peut être considérée relativement résistante aux deux échantillons 3 et 1, totalement résistante à l'échantillon 2. *Candida albicans* est faiblement sensible.

* - Le miel importé n'a aucun effet sur les cinq microorganismes étudiés

*- On pense que l'action du miel naturel sur les microorganismes dépend, d'une part de la structure de la paroi de la cellule cible, puisque certains échantillons possèdent un effet inhibiteur sur les bactéries à Gram+ et non sur les bactéries à Gram-, ni sur le champignon testé (échantillons 3 et 2), et d'autre part de la composition du miel lui-même.

*- La composition du miel elle-même dépend à son tour de nombreux facteurs, tels que : la nature du sol, la race des abeilles et l'état physiologique de la colonie [18]. En fait,

Tableau 4 : Effet des trois échantillons du miel naturel sur les 5 microbes testés (+ un effet antimicrobien positif ; - un effet antimicrobien négatif)

	Echantillon 1		Echantillon 2		Echantillon 3	
	Effet bact-éricide	Effet bactériostat	Effet bactéricide	Effet bactériostat	Effet bactéricide	Effet bactériostat
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+
<i>S.marcescens</i>	-	+	+	-	+	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	+	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i>	+	-	-	-		-

DONADIEU (1978) [19] a montré que tous les miels ont des propriétés communes, mais chaque miel mono floral, se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres à lui [20-21]. D'autres facteurs influent également sur la composition et la nature du miel et ses particularités tels que :

- l'âge de l'abeille (le miel de l'abeille jeune est particulièrement clair et moins concentré par rapport à celui de l'abeille la plus âgée) ;
- la nature des fleurs de nutrition de l'abeille et l'origine florale de l'alimentation [5-6] ;
- le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production de miel ;
- le mode d'extraction de miel ;
- la durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes de miel et leur efficacité [7].

Le vieillissement peut modifier les caractères inhibiteurs du miel [22]. Le fait que nous avons trouvé que l'échantillon 1 le plus ancien est l'échantillon le plus actif peut s'interpréter par le fait que les autres facteurs surtout le mode d'extraction et les conditions de conservation interviennent fortement. Il n'est pas exclu que les caractères du miel sont influencés par la variété génétique de la souche d'abeille.

*- L'activité inhibitrice du miel naturel sur *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* est semblable à celle des antibiotiques les plus actifs (GM, IPM, AN, AMC et SXT), son effet sur *Serratia*

marcescens est relativement faible. Concernant *Staphylococcus aureus*, une souche polyrésistante aux antibiotiques, l'activité inhibitrice du miel naturel sur cette souche est excellente avec les deux échantillons **3** et **1** (deux fois plus que les antibiotiques). L'échantillon **2** n'a pas d'effet sur cette souche.

*- Nous avons observé que la levure *Candida albicans* a uniquement une sensibilité à l'effet de l'échantillon **1** du miel. On constate que sa sensibilité est relativement faible par rapport à celle des bactéries.

*- Le miel importé a des résultats négatifs sur toutes les souches testées, il semble que les produits ajoutés au cours de sa transformation peuvent influencer négativement sur son activité. La teneur élevée en HMF dont le taux augmente progressivement par la durée de stockage ne peut pas être la seule cause puisque nous avons trouvé que l'échantillon **1** (récolté en 2007) est plus actif que les deux autres échantillons (récoltés en 2008 et 2009).

4- Conclusion

D'après KERKVLIT (1996), l'effet antimicrobien du miel peut partiellement être expliqué par son contenu important en enzyme, le glucose oxydase, qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène [23]. L'enzyme reste active tous le temps de la transformation du nectar en miel. Dans le miel mûr, l'enzyme n'est plus active mais reste intacte. Si le miel est dilué avec un peu d'humidité, l'enzyme est réactivée. Cette idée a été annoncée depuis plus de 14 siècles par notre prophète MOHAMED qui insiste sur "boire du miel dilué".

Ces résultats montrent clairement que le miel est doté d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches bactériennes à Gram+ et à Gram-, ainsi que les souches fongiques testées. Cet effet inhibiteur a été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre.

Ces résultats pourraient trouver une application possible dans le traitement des déférentes maladies causées par des germes pathogènes.

La valeur médicinale du miel comme antibiotique naturel est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue l'importance de son utilisation en médecine et dans le secteur de l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

Références bibliographiques

- [01] BALTRUSAITYTE V., VENSKUTONIS P. et CEKSTERYTE V.; Antibacterial Activity of honey and beebread of different origin against *S. aureus* and *D. epidermidis*. Food technology, Lithuania. **45** (2) 201-208 (2007).
- [02]. BOGDANOV S., BLUMER P. ; Propriétés antibiotiques naturelles du miel : centre suisse de recherches apicoles. Station fédérale de recherches laitières, Liebefeld. CH-3003 Berne (2001).
- [03]. BADAWY O., SHASII S., THARWAT E. et KAMAL M.; Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* 157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection. Rcv.sci.tech.off.int.epiz. **23** (3), 1011-1022 page 1018 (2004).
- [04] LAMBALLAIS C. ; Les aliments. Paris Edition. MALOINE, p.136 (1989).
- [05] VERDAN J. ; Projet de charte qualité miel du parc naturel régional de verdan, p.4 (2002).
- [06] BIRI. M. ; Le grand livre des abeilles, L'apiculture moderne, Paris Edition DEVECCHI., p 75 (1999).
- [07] CAILLAS A. ; Le rucher de rapport, Les produits de la ruche, Traité pratique d'apiculture moderne, Edition .syndicat national d'apiculture, Paris, p.497 (1974).
- [08] HUCHET E., COUSTEL J. et GUINOT L. ; Les constituants chimiques du miel, Méthodes d'analyses chimiques, département science de l'aliment, p.5 (1996).
- [09] CLEMENT H. ; Crée son ruche, Paris, 2^{ème} édition, Restiea fLER, p.91 (2003).
- [10] GOUT J. ; Le monde du miel et des abeilles, Paris, Edition Delachaux et Niestlé.S.A. Lansanne (Suisse), A, p.58 (1989).
- [11] Gonnat Michel. ; Le miel (composition, propriétés, conservation). Ed Echauffour. Argentan, Ornes, pp.9-12 (1982).

- [12] Phillippe Jean Marie. ; Le guide de l'apiculture. Ed Edisud la calade.13090 Aix en. Provence, pp.209-228 (1999).
- [13] Bendahou H, Hasnat N. ; Contribution à l'étude de l'influence de durée de conservation sur la qualité du miel dans la wilaya de Mascara ; Mémoire d'ingéniora en sciences alimentaires, centre universitaire de Mascara (2002).
- [14] BESSAS Ahmed., BENMOUSSA Larbi et KERARMA Mohamed ; Dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. Université Djillali Liabes -Sidi Bel Abbes, p.45 (2008).
- [15] BRUDZYNSKI K.; Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys, Canadian Journal of Microbiology, Volume **52**, Number 12, 1 December, pp. 1228-1237 (10). (2006).
- [16] CREEMERS T., BOSMA WJ. et BOON ME. ; Enzymrijke honing: en natuurlijke remedie voor vaginale dysbalans, Jaarverslag van het Leids Cytologisch en Pathologisch laboratorium (2005).
- [17] SIESS MH., LE BON AM., CANIVENC-LAVIER MC., AMIOT MJ., SABATIER S., AUBERT SY. and SUSCHETET M. ; Flavonoids of Honey and Propolis, Characterization and effects on Hepatic Drug-Metabolizing Enzymes and Benzo [a] pyrene-DNA Binding in Rats J. Agric. Food Chem. **44** (8), 2297-2301 (1996).
- [18] PROST P. ; Apiculture, Paris, Edition J-B.Baillièrre, P.140-1, 270-2-3,303-15 (1979).
- [19] DONADIEU Y. ; Le miel, thérapeutique naturelle, Paris, 2^{ème} édition MALOINE, p.17-8, 20-5 (1978).
- [20] DONADIEU Y. ; Les thérapeutiques naturelles, produits de la ruche, miel, p.6 (2006).
- [21] DONADIEU Y. ; Les thérapeutiques naturelles, la gelée royale. Paris. 5^{ème} édition, p75 (1981).
- [22] CHAUVIN R. ; L'abeille et la fleur in traite de biologie de l'abeille (T3), Edition Masson et Cie, Pans, p.95, 286-7, 293-4-9, 304-6-7 (1986).
- [23] KERKVLIEET JD.; Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content. J. Apicult Res, 35, 110-117 (1996).