

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES**



**Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire**

**THEME :
LE MIEL
MECANISMES D'ACTION
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

**Présenté par :
Boudheroua Ali
Rebia Morsli**

**Encadre par
Dr Aissat saad MCA**

Année Universitaire : 2018-2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال الله تعالى :

" وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ
الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ
(68) ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ
رَبِّكَ ذُلًّا يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ
أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ (69)" سورة النحل الأيتان 68-

Tables des matières

Introduction Générale.....	1
1 Définition du miel.....	2
2 Différents types de miels.....	2
2.1. Miel de nectar.....	2
2.2. Miel de miellat.....	2
2.3. Miels monofloraux.....	3
2.4. Miels multifloraux.....	4
3 Caractéristiques de composition des miels.....	4
3.1. Teneur en sucre.....	4
3.2. Teneur en eau.....	4
3.3. Teneur en matière insoluble dans l'eau.....	5
3.4. Conductivité électrique.....	5
3.5. Acides libres.....	5
3.6. Indice diastasique (diastase ou enzyme).....	5
3.7. Teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF).....	6
4 Composition.....	6
4.1. Les sucres du miel.....	6
4.2. Eau.....	7
4.4. Acides organiques et pH.....	8
4.5. Les acides aminés et protéines.....	8
4.6. Les lipides.....	10
4.7. Les sels minéraux.....	10
4.8. Vitamines.....	11
4.9. Composés aromatiques et polyphénols.....	11
5 Quelques principes actifs supposés du miel.....	12
5.1. Défensines.....	12

5.2. Méthylglyoxal (MGO).....	13
5.3. Bactéries lactiques.....	14
6 Propriétés antibactériennes du miel.....	15
6.1. Le peroxyde d'hydrogène.....	16
6.2. Pression osmotique et concentration hydrique. . .	20
6.3. pH et acidité.....	21
6.4. Le miel et les facteurs de pathogénéicité et la résistance aux antibiotiques.....	21
6.5. Miel et biofilms.....	22
6.6. Miel et sidérophores bactériens.....	22
6.7. Le miel et les endotoxines.....	23
6.8. Miel et méthylglyoxal.....	24
6.9. Miel et facteur nucléaire kappa B (NF- κ B).....	25
6.10. Miel et glycoprotéines.....	25
6.11. Miel et apimisine.....	27
6.12. Miel et myéloperoxydase (MPO).....	27
7 Propriétés cicatrisantes.....	29
7.1. Miels et métalloprotéases.....	29
7.2. Miels et E-cadhérines/ β -caténine.....	30
7.3. Miels et transition épithélio-mésenchymateuse... .	31
7.4. Miel et cytokines :TNF- α , d'IL-1 β et d'IL-6.....	32

REMERCIEMENTS

قال رسول الله صلى الله عليه وسلم

«لَا يَشْكُرُ اللَّهُ مَنْ لَا يَشْكُرُ النَّاسَ»

Je tiens tout d'abord à remercier

Dieu le tout puissant

et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience
d'accomplir ce Modeste travail.

La première personne que je tiens à remercier

c'est mon encadreur Dr AISSAT SAAD pour l'orientation,

la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans
lequel ce travail n'aurait pas pu être mené à bon port.

Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Enfin, je tiens également à remercier Mr Hammoudi Mohamed
et les membres de la société TIARET VET et Pr Benallou
Bouabdellah ,Mr Amirat Mokhtar , Mr Akermi Amer, Mr Ayad
Mohamed amine

Ainsi que toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin durant la
période de mes études.

BOUDHEROUA ALI

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chères, je cite :

Les parents les plus chères, que dieu les gardes et les protège. Mon épouse et mes enfants ZAKARIA ,LOKMEN,AROUA , MERIEM qui m'ont soutenu moralement et physiquement durant la période de mes études.

La famille AIT HAMI pour leur encouragement.

**Toutes mes amies particulièrement : Ait hami karim ,Soudani mohamed ,
Rebia morsli, El baouab younes , Dahmen abdelkader , Amour maamar**

Sans oublier Cherifi ahmed (MIIDOO)

Ainsi que

Toute la promotion 2019 de l'institut des sciences vétérinaires des tiaret

BOUDHEROUA ALI

REMERCIEMENTS

J'ai eu l'honneur d'être parmi vos élèves et de bénéficier de votre riche enseignement. Vos qualités pédagogiques et humaines sont pour moi un modèle. Votre gentillesse, et votre disponibilité permanente ont toujours suscité mon admiration. Veuillez bien monsieur recevoir mes remerciement pour le grand honneur que vous m'avez fait d'accepter l'encadrement de ce travail.

A Mon Encadreur Mr AISSAT SAAD

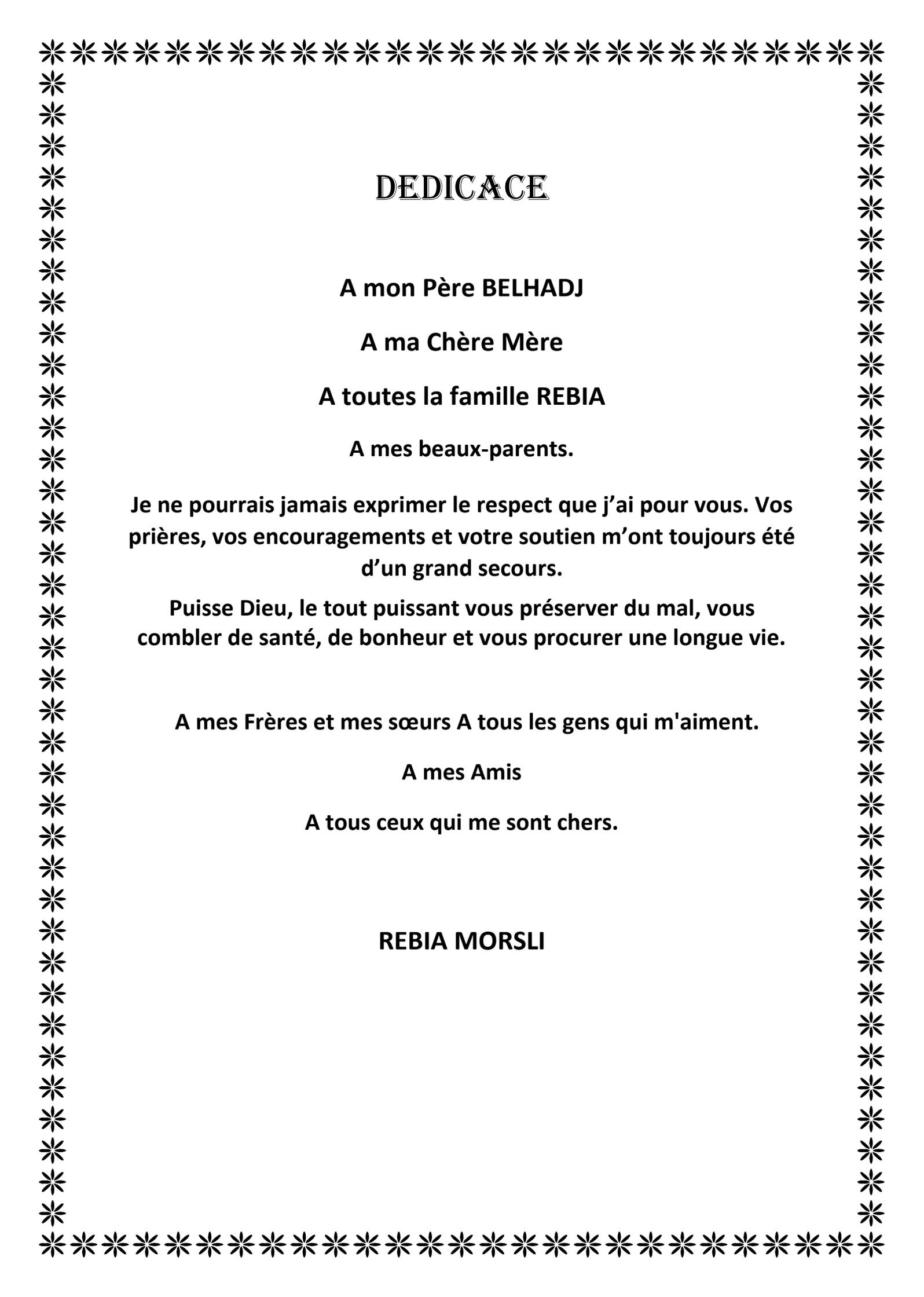
Votre compétence, votre encadrement ont toujours suscité mon profond respect. Je vous remercie pour votre accueil et vos conseils. Veuillez trouvez ici, l'expression de mes gratitude et de ma grande estime.

Veuillez bien monsieur recevoir mes remerciements pour le grand honneur que vous m'avez fait d'accepter l'encadrement de ce travail.

A Mon Encadreur

Mr AISSAT SAAD

REBIA MORSLI



DEDICACE

A mon Père BELHADJ

A ma Chère Mère

A toutes la famille REBIA

A mes beaux-parents.

Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Vos prières, vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours.

Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A mes Frères et mes sœurs A tous les gens qui m'aiment.

A mes Amis

A tous ceux qui me sont chers.

REBIA MORSLI

Introduction Générale

Depuis les temps immémoriaux l'humanité ne cesse de louer à juste titre les propriétés curatives du miel. L'utilisation du miel à des fins thérapeutiques s'est basée pendant très longtemps, sur des connaissances empiriques amassées au cours des siècles. Délaissé pendant un certain temps après l'avènement des antibiotiques, le miel reconnaît un regain d'intérêt, avec l'apparition de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques. Comme l'ère de ces dernières semble inéluctablement révolue des solutions palliatives doivent être trouvées. Le miel pourrait offrir une alternative certaine, mais la standardisation de son utilisation doit être subodorée à la compréhension de son mécanisme d'action. Mais le miel est une substance très complexe, dont la composition globale quoique d'une façon générale est stable, diffère selon l'origine botanique, géographique, le climat, la saison, la race ou l'état de santé de l'abeille... Ces légères différences peuvent influencer grandement sur le mécanisme d'action. Le miel commence à être reconnu comme un agent thérapeutique inestimable et efficace par la médecine conventionnelle, car il possède des propriétés antibactériennes, cicatrisantes, antioxydantes, anti-inflammatoires, probiotiques... et de l'aveu de nombreux chercheurs la liste est loin d'être close. Dans ce modeste mémoire, nous avons essayé à travers de nombreuses études, de donner une idée quoique assez partielle sur le mécanisme d'action quant à l'activité antibactérienne et cicatrisante du miel.

1. Définition du miel

Le codex alimentaire ; la FAO (Food and Agriculture Organization) a étudié en 1969 à Vienne et publié à Genève en 1981 des normes, définitions, critères, analyses des miels. Les chimistes avaient considéré le miel comme un minéral mort, toujours semblable à lui-même, alors que c'est un produit à la fois végétal et animal hétérogène, variable, se modifiant au cours du temps (Assie, 2004).

« Le miel est la substance sucrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou se trouvant sur elles, qu'elles butinent, transforment et combinent avec des matières spécifiques et emmagasinent dans les rayons de la ruche. »

Cette définition est extraite de la *Norme européenne recommandée pour le miel*, document émanant de la commission du *codex alimentaire* (Alphandéry, 1992).

2. Différents types de miels

2.1. Miel de nectar

Le nectar est la principale source des butineuses pour la fabrication du miel. Le nectar est produit par les plantes nectarifères, au niveau de tissus glandulaires spécialisés appelés nectaires. Sa teneur en sucres varie entre 5% et 80%, les abeilles ne récoltent pas celui qui contient moins de 14% de sucres (Philippe, 1999).

2.2. Miel de miellat

Il s'agit des excréments d'insectes suceurs parasites des végétaux (pucerons, cochenilles, cicadelles) qui se nourrissent de sève élaborée. Cette sève est digérée puis excrétée par les parasites sous forme de gouttelettes sirupeuses

récoltées par les butineuses. La composition du miellat est plus proche de celle de la sève végétale que celle du nectar: il est plus riche en azote, en acides organiques et en minéraux. On y trouve également plus de sucres complexes (qui ont été synthétisés dans le tube digestif des insectes suceurs) tels que le mélizitose et l'erlose. Lorsque le nectar abonde, les butineuses le préfèrent au miellat. Cependant, le miellat est une source alimentaire intéressante quand les conditions climatiques sont défavorables à la récolte du nectar notamment en temps sec (Leshaf et Alahoum, 2018). En effet, Il est aussi émis à travers les orifices stomatiques des feuilles lorsque l'été est très sec (Biri, 1986).

2.3. Miels monofloraux (Appelés également miels crus)

Du point de vue théorique, un miel unifloral est un miel naturel produit par les abeilles, provenant principalement d'une seule espèce florale déterminée, tel que le miel de Callune, le miel d'Acacia, le miel d'Eucalyptus et le miel d'Oranger. Ces miels contiennent certains principes de la plante ayant fourni le nectar, qui selon leur origine botanique possède des propriétés thérapeutiques naturelles diverses (Gout, 1998). Dans la nature, de tels miels peuvent être considérés comme exceptionnels, puisqu'il est impossible d'obtenir un miel monofloral à 100%, car l'abeille garde toujours sa liberté de butiner où bon lui semble (Gout, 1998). Il faut savoir que pour fabriquer 1kg de miel, les abeilles doivent butiner des millions de fleurs afin de recueillir suffisamment de nectar, ce qui est toutefois impossible pour les miels monofloraux (Biri, 1986).

Certains pays européens ont établi des limites pour les miels unifloraux, mais ces limites peuvent varier d'un pays à un autre (Bogdanov et al. 2004). La quantité relative des deux monosaccharides fructose et glucose est utile pour la

classification des miels monofloraux, en plus des ratios fructose-glucose et glucose-eau (Talpay, 1985).

2.4. Miels multifloraux

Appelés parfois miels toutes fleurs, ce sont des miels récoltés à partir de plusieurs espèces florales, qui proviennent de mélange sans prédominance et donc sans origine florale précise (Chauvin, 1968).

3. Caractéristiques de composition des miels (JORF, 2003).

Lorsqu'il est commercialisé comme tel ou utilisé dans un produit quelconque destiné à la consommation humaine, le miel doit répondre aux caractéristiques de composition suivantes :

3.1. Teneur en sucre :

Teneur en fructose et en glucose (total des deux) :

-miel de fleurs, pas moins de 60g/100g.

-miel de miellat, mélange de miel de miellat avec du miel de fleurs, pas moins de 45g/100g.

Teneur en saccharose :

-en général, pas plus de 5g/100g.

-faux acacia (*Robinia pseudoacacia*), luzerne (*Medicago sativa*), banksie de Menzies (*Banksia menziesii*), hedysaron (*hedysaron*), eucalyptus rouge (*Eucalyptus camadulensis*), Eucryphia lucida, Eucryphia milliganii, agrumes spp, pas plus de 10g/100g.

3.2. Teneur en eau :

-en général, pas plus de 20 %.

-miel de bruyère (*Calluna*) et miel destiné à l'industrie, pas plus de 25 %.

3.3. Teneur en matière insoluble dans l'eau :

- en général, pas plus de 0,1g/100g.
- miel pressé, pas plus de 0,5g/100g.

3.4. Conductivité électrique :

- miel non énuméré ci-dessous et mélanges de ces miels, pas plus de 0,8 mS/cm.
- miel de miellat et miel de châtaigner et mélanges de ces miels, pas moins de 0,8 mS/cm.
- exceptions : arbousier (*Arbutus unedo*), bruyère cendrée (*Erica*), tilleul (*Tilia spp*), eucalyptus, bruyère commune (*Calluna vulgaris*), manuka ou jelly bush (*Leptospermum*), théier (*melaleuca spp*).

3.5. Acides libres :

- en général, pas plus de 50 milli-équivalents d'acides par kg.
- miel destiné à l'industrie, pas plus de 80 milli-équivalents d'acides par kg.

3.6. Indice diastasique (diastase ou enzyme) et teneur en HMF

(hydroxyméthylfurfural) :

Indice diastasique du miel et miel de miellat au minimum 8 (échelle de Schade) sous réserve que la teneur en HMF soit au maximum 40 mg/kg.

Indice diastasique des miels ayant une teneur naturelle faible en enzymes, par exemple miels d'agrumes au minimum 3 (échelle de Ghote) sous réserve que la teneur en HMF soit au maximum 15 mg/kg.

détermination selon la méthode de Schade et associés (1958) modifié par White et associés (1959) et Hadorn (1961).

3.7. Teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF) :

-en général, à l'exception du miel destiné à l'industrie, pas plus de 40 mg/kg.

-miel d'origine déclarée en provenance de régions ayant un climat tropical et mélanges de ces miels, pas plus de 80 mg/kg.

(L'hydroxyméthylfurfural est un précurseur de caramel qui va se former dans les miels par déshydratation moléculaire du fructose, celle-ci étant due aux chauffages ou au vieillissement naturel. Cette substance instable apparaît et se recombine sous l'effet de la chaleur en milieu aqueux et acide. Une formation trop importante de HMF entraîne une altération du goût, de la saveur et de la couleur des miels, c'est un témoin essentiel de la qualité d'un miel.)

La détermination de la teneur en HMF s'effectue par spectrophotométrie.

4. Composition

C'est un produit qui n'est pas stable et ne peut donner lieu à aucune constante parfaitement précise. Cette composition varie d'une variété à l'autre, et est influencée par de nombreux facteurs). Malgré que les constituants majeurs sont à peu près les mêmes dans tous les miels, la composition chimique précise et les propriétés physiques diffèrent en fonction de la nature du sol et du végétal, des conditions pratiques, du moment et du mode de la récolte, du mode d'extraction et de conservation, la race d'abeille et leur état physiologique (Cantarelli et al., 2008, Omafuvbe et Akanbi, 2009; Ebenezer et Olubenga, 2010).

4.1. Les sucres du miel

Le miel est composé de glucides simples ou complexes. Ils représentent 70 à 99 % de la matière sèche (figure n° 1). Les deux principaux sucres sont le fructose et

le glucose. Le fructose représente 30 à 50 % de la composition du miel. Le glucose quant à lui représente 20 à 42% du miel. Ces deux sucres proviennent dans la majorité des cas de l'hydrolyse du saccharose contenu dans le nectar ou le miellat lors du butinage par les abeilles (Baudel, 2017)

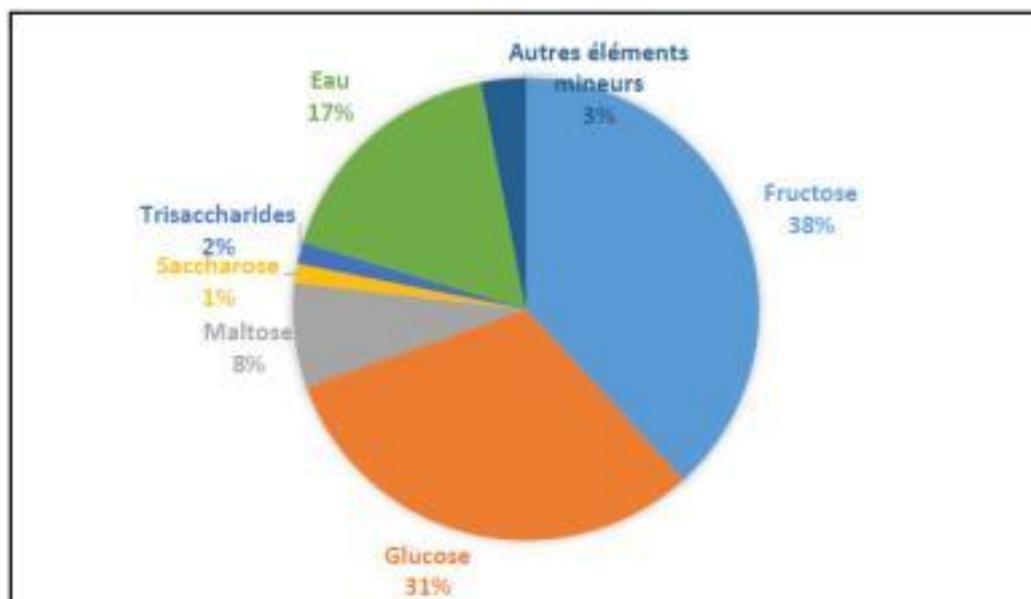


Figure n° 1 : Composition moyenne du miel (Clément, 2011).

Maltose, isomaltose, kojibiose, turanose, trehalose, nigerose, melibiose, maltulose, gentiobiose, palatinose, nigerose, et laminaribiose sont les disaccharides majeurs du miel, mais relativement à de basse concentrations .

Malgré que de nombreuses études se soient focalisées sur l'étude des monosaccharides et les disaccharides, les connaissances en ce qui concerne les trisaccharides et les tétrasaccharides sont encore limitées (Özcan et al. 2006).

4.2. Eau

Quantitativement l'eau est la deuxième composante la plus importante du miel. Son contenu dépend d'un certain nombre de facteurs environnementaux lors de la production tels que les conditions météorologiques et l'humidité à l'intérieur de la

ruche, mais aussi sur les conditions et le traitement de miel pendant l'extraction et le stockage. Seuls les miels avec moins de 18% d'eau peuvent être stockés avec peu ou pas de risque de fermentation (Molan, 2002).

De plus, certains aspects de l'eau contenue dans le miel restent inexplicables. En se servant du spectrographe de masse qui identifie les atomes, Helvey a montré que la proportion en deutérium de l'eau du miel était sensiblement plus élevée que dans l'eau ordinaire. On ne sait pas d'où provient cet enrichissement en deutérium (Assie, 2004).

4.4. Acides organiques et pH.

Le miel est acide, sa haute teneur en sucres tend à masquer cette acidité. A l'origine on pensait que l'acide formique et l'acide citrique étaient les acides dominants du miel. Cependant, présentement il est bien établi que l'acide gluconique, produit par l'oxydation du glucose sous l'action d'une glucose oxydase provenant de l'abeille est l'acide prédominant et est considéré comme un bon chélateur. D'autres acides ont été également identifiés dans le miel tels que les acides acétique, butyrique, lactique, maléique, oxalique et succinique. Le pH du miel de fleurs varie entre 3,3 et 4,6. Le miel de miellat de par son contenu plus élevé en éléments minéraux a un pH compris 4,5 et 5,5 (Aissat, 2015).

4.5. Les acides aminés et protéines

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26%) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041%. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille. Il y a également des traces d'acides aminés comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la

glycine, la méthionine, etc. La proline est le plus abondant des acides aminés du miel. La quantité de proline donne une indication sur la qualité du miel, et elle ne doit pas être inférieure à 183 mg/ kg (Meda et al., 2005). Les enzymes retrouvées principalement dans le miel sont :

- L'amylase, qui décompose l'amidon en glucose,
- L'invertase, ou alpha-glucosidase, qui décompose le saccharose en glucose et fructose,
- La glucose oxydase, qui produit du peroxyde d'hydrogène et de l'acide gluconique à partir du glucose. L'acide gluconique constitue un des principaux acides du miel et confère au miel un pH bas 15, 25. La glucose oxydase est sécrétée par les glandes hypopharyngées de l'abeille. Son efficacité est variable et dépend de la maturité des miels et de leur dilution. La production d'acide gluconique diminue le pH et inactive alors la glucose oxydase. Si on réalise une dilution du miel, l'augmentation du pH permet une reprise d'activité de la glucose oxydase. Son activité dépend également de la concentration en glucose (diminution de l'activité si le miel est trop dilué), et de la production de catalase, qui diminue également son action. La catalase est présente dans le miel mais certaines bactéries en produisent également (White et al., 1963)
- La catalase, qui représente l'antagoniste de la glucose-oxydase, réduit l'eau oxygénée tout en permettant une activité peroxyde suffisante (par libération lente et prolongée si dilution)

4.6. Les lipides

La proportion de lipides est infime sous forme de glycérides et d'acides gras (acide palmitique, oléique et linoléique) ; ils proviendraient vraisemblablement de la cire (Rossant, 2011).

4.7. Les sels minéraux

Les matières minérales ne sont présentes qu'à un taux d'environ 0,1% dans les miels courants, mais sont plus abondantes dans les miels foncés. Les sels de potassium représentent près de la moitié des matières minérales, mais on trouve également du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du manganèse, du chlore, du soufre, du silicium, du fer ainsi que plus de trente oligo-éléments. Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent. Bien qu'habituellement considéré comme un produit relativement « propre », le miel peut contenir des polluants présents en très faible quantité, comme le plomb et le cadmium. Le dosage de ces polluants constitue un bon indicateur de la pollution de l'environnement (Rossant, 2011)

Tableau 1: Principaux sels minéraux et oligo-éléments présents dans le miel (Rossant, 2011).

	mg/kg		ng/kg
Potassium	200 à 1500		0,2 à 10
Sodium	16 à 170	Chrome	0,1 à 0,3
Calcium	40 à 300	Cobalt	0,01 à 0,5
Magnésium	7 à 130	Nickel	0,3 à 1,3
Fer	0,3 à 40	Aluminium	3 à 60
Zinc	0,5 à 20	Cuivre	0,2 à 6,0
Plomb	0,02 à 0,8	Cadmium	0,005 à 0,15

4.8. Vitamines

La plupart des **vitamines du groupe B** tels que la thiamine (Vit B1), la riboflavine (Vit B2), la pyridoxine (Vit B6), la biotine (Vit B8), l'acide pantothénique (Vit B5), l'acide folique (Vit B9) et le nicotinamide (Vit B3) sont présentes également dans le miel (Ballot-Flurin, 2009). Le miel est relativement pauvre en vitamines si on le compare au pollen et à la gelée royale.

Tableau 2 : Vitamines du groupe B du miel (en µg/ 100 gr) Vs pollen et gelée royale (Kitzes 1943)

Vitamines	Miel	Pollen	Gelée royale
Thiamine B1	4,4	600	1800
Riboflavine B2	26	1670	2800
Pyridoxine	10	900	1020
Acide pantothénique	55	2700	32000
Acide nicotinique B3	110	10000	11000
Biotine	0,06	25	410
Acide folique B9	3	—	50

4.9. Composés aromatiques et polyphénols.

Il existe une très grande variété de saveurs (et couleurs) selon les miels, dépendant principalement de leur origine botanique. Ils peuvent être plus ou moins doux selon la proportion de fructose et de glucose. L'arôme dépend aussi des types d'acides présents. Les polyphénols constituent un groupe de composés importants en ce qui concerne l'aspect du miel mais également ses propriétés fonctionnelles (Balas, 2015).

Des différences considérables ont été trouvées quant à la teneur en composés phénoliques entre les différents miels (Amiot et al. 1989). La plupart des propriétés biologiques du miel sont dues aux substances phénoliques, Le miel en contient environ 0,1%-0,2%. Jusqu'à présent 25 a 30 composés phénoliques ont été caractérisés dans différents miels, pour la plupart unifloraux (Kolayli et al., 2014). Les acides phénoliques dans le miel se divisent en deux classes : les substitués de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique, et les flavonoïdes en trois classes avec des structures similaires flavonols, flavones, et flavanones (Davidson et al. 2005). Les polyphénols contenus dans le miel sont principalement les flavonoïdes (acide caféique, acacétine, quercétine, lutéoline, kaempférol, apigénine, chrysin, galangine, pinocembrine), les acides phénoliques, et les dérivés des acides phénoliques (Balas, 2015).

4.10. Autres

Le miel contient également des traces de pollen, des spores végétales ainsi que des ferments lactiques (*Lactobacillus* et *Bifidobacterium*). Bien que présents en très faibles quantités, leurs effets ne sont pas mineurs (Baudel, 2017)

5 . Quelques principes actifs supposés du miel

5.1. Défensines

Chez l'homme, les défensines constituent une famille de peptides antimicrobiens naturels largement impliqués dans l'immunité innée. Ce sont des petits peptides, de masse moléculaire variant de 3.5 à 6 kDa, qui possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne. Il a été montré récemment que la grande majorité des propriétés antibactériennes du miel provient de cette protéine (Kwakman et al, 2010).

Les défensines sont une famille de peptides anti bactériens riches en cystéine et dont la structure diffère par quelques AA. Il existe la Défensine-2 qui agirait dans les abeilles, et la Défensine1 qui comprend trois isoformes : une des isoformes provient de l'hémolymphe des abeilles, et les deux autres, appelées « royalysines » qui sont présentes dans la gelée royale. Elles sont sécrétées par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles qui les ajoutent directement dans le miel. Elle est retrouvée à une concentration avoisinant les 2 à 3 ng/g de miel. La Défensine-1 possède une activité potentielle contre les mycelium, les levures, les protozoaires, les acariens, les virus, les bactéries Gram + et quelques bactéries Gram. Par contre, elle est peu efficace contre les bactéries résistantes à la méthicilline. Cette protéine participe activement aux défenses immunitaires des abeilles et plus précisément dans l'immunité innée de celles-ci afin de protéger le couvain et la colonie de divers micro organismes qui pourraient nuire à la ruche (Marcet, 2017).

5.2. Méthylglyoxal (MGO)

C'est au professeur HENLE que l'on doit en 2006 la mise en évidence d'une molécule contenue dans le miel de manuka à des niveaux exceptionnellement élevés, mais également dans tous les aliments très riches en sucres : le méthylglyoxal. Le MGO y est en effet présent à une concentration pouvant dépasser les 800 mg/kg alors que dans les miels dits « classiques » elle atteint difficilement les 10 mg/kg. Le MGO est synthétisé lors du stockage du miel par conversion du dihydroxyacétone, composé naturellement présent dans le nectar des fleurs de manuka (Gardenal, 2013). Le miel de manuka est réputé pour sa puissante propriété antibactérienne « non peroxyde », fortement corrélée avec sa teneur en méthylglyoxal. En effet il a été observé qu'après ajout de catalase, le

miel a su conserver une activité microbienne conséquente (Allen et al., 1991). Mais la connaissance d'autres éventuels facteurs ainsi que leur contribution à l'action bactéricide du miel de Manuka reste encore incomplète. Néanmoins une étude a prouvé que la neutralisation du MGO abolissait l'activité contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, réduisait plus ou moins fortement celle contre *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* mais n'avait aucun impact sur l'inhibition d'Escherichia Coli. Cependant, ce composé n'est pas entièrement responsable du pouvoir antibactérien non peroxyde du miel de manuka (Kwakman et al., 2011).

5.3. Bactéries lactiques

Les chercheurs de l'université de Lund et de l'université Sophiahemmet en Suède ont récemment émis une autre hypothèse quant aux propriétés antiseptiques du miel : ils ont pu identifier un groupe unique de 13 souches de bactéries lactiques (LAB) appartenant au genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Vivant en parfaite symbiose dans le jabot des abeilles, ces bactéries assurent leur bonne santé gastro-intestinale. Ces LAB se révèlent par ailleurs être de puissantes substances antibactériennes puisqu'elles sont destinées à protéger leurs hôtes des agents pathogènes extérieurs et à empêcher leur intrusion dans la ruche. Ces LAB sont capables de produire une importante quantité de métabolites bioactifs bactéricides : elles synthétisent toutes à des concentrations plus ou moins variables des acides organiques (acide lactique, acide formique et acide acétique) et des substances volatiles (benzène, éthylbenzène, xylène, toluène, octane ou nonane), mais seulement cinq d'entre elles parviennent à former du peroxyde d'hydrogène (voir tableau). En outre, certaines LAB seraient à l'origine de divers acides gras libres, de protéines et du 2-heptanone, analgésique naturel. Cette étude a également

démontré que les bactéries lactiques étaient capables de conserver leur capacité à former des biofilms, permettant alors de créer au niveau des plaies une barrière contre l'introduction d'agents pathogènes. Malheureusement, ces LAB ne sont présentes uniquement dans le miel frais pendant quelques semaines. On ne peut donc pas les trouver dans les miels de commerce (Olofsson et al., 2014).

Tableau 3: Substances bioactives produites par les bactéries lactiques (Olofsson, et al., 2014)

Genre	souche	ac acetique	ac formique	lactique	H ₂ O ₂	Benzène	Toluène	Octane	Ethylbenzène	Xylène	Nonane
<i>Lactobacillus</i>	Fhon2	>263	>17	680		0.0045	0.004	0.0	0.0022	0.39	0.0
<i>Lactobacillus</i>	Fhon13	>327	>28	600		0.0018	0.008	0.0	0.031	0.29	0.0068
<i>Lactobacillus</i>	Hma11	>306	>16	500	+	0.0005	0.036	0.027	0.0	0.23	0.0127
<i>Lactobacillus</i>	Hon2	>290	>16	770		0.001	0.045	0.049	0.0004	0.28	0.02
<i>Lactobacillus</i>	Bin4	161.8	9.3	600		0.074	0.0	0.0	0.017	0.01	0.0
<i>Lactobacillus</i>	Hma2	>271	>16	710	+	0.0003	0.067	0.049	0.0	0.26	0.0127
<i>Lactobacillus</i>	Bma5	>267	>16	900	+	0.0004	0.046	0.059	0.004	0.28	0.0163
<i>Lactobacillus</i>	Hma8	206.4	12.7	1060	+	0.0008	0.07	0.049	0.0005	0.24	0.02
<i>Lactobacillus</i>	Bin2	>258	>14	950	+	0.0006	0.036	0.039	0.0004	0.26	0.0159
<i>Bifidobacterium</i>	Bin2	>302	>20	260		0.0002	0.040	0.369	0.003	0.27	0.0147
<i>Bifidobacterium</i>	Bin7	>297	>25	420		0.009	0.045	0.579	0.004	0.25	0.02
<i>Bifidobacterium</i>	Hma3	>294	>20	220		0.0014	0.040	0.559	0.004	0.26	0.02
<i>Bifidobacterium</i>	Bma6	208.2	13.0	260		0.0005	0.0	0.419	0.003	0.01	0.0
Summation	All 13 LAB	>3451	>223	7930		0.094	0.427	2.198	0.0695	3.011	0.1694

*The table depicts organic acids (lactic, acetic- and formic acids), hydrogen peroxide (H₂O₂) and volatiles (benzene, toluene, n-octane, ethylbenzene, xylene and nonane). The denoted amounts refer to microgram per sample and '+' refers to a positive reaction.

les quantités indiquées correspondent à des microgrammes par échantillon + correspondent à une réaction positive

6. Propriétés antibactériennes du miel

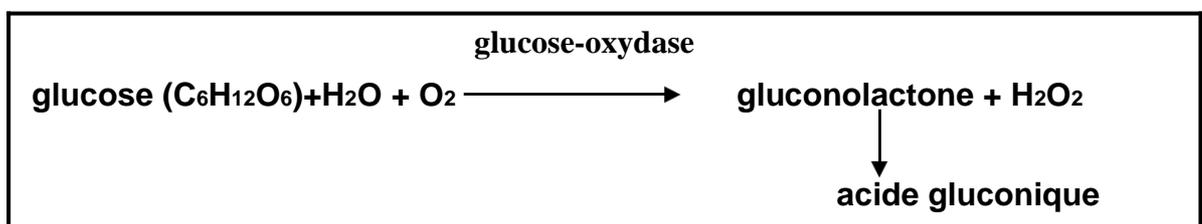
Le miel a des propriétés antibactériennes connues depuis plus d'un siècle. Quoique utilisé dans de nombreuses cultures depuis des millénaires, son efficacité avait été constatée sans reconnaissance de ses propriétés antibactériennes. A l'heure actuelle, on explique l'efficacité du miel dans divers usages médicaux principalement par son activité antibactérienne. Il y a de nombreux rapports de son activité bactéricide et bactériostatique ainsi que de son activité antifongique sur un large spectre d'espèces parmi lesquelles de nombreux agents pathogènes. En raison de ces connaissances nouvelles, le miel est étudié au sein de nombreux hôpitaux. On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes

antibactériennes du miel et ses vertus curatives constituent partiellement une énigme (Assie, 2004).

6.1. Le peroxyde d'hydrogène

Le fait que les propriétés antibactériennes du miel sont augmentées lorsqu'il est dilué a été clairement observé et signalée en 1919. L'explication de cet apparent paradoxe vient du fait que le miel contient une enzyme qui produit du peroxyde d'hydrogène lorsqu'elle est diluée. le miel a une activité bactéricide démontrée in vitro et in vivo dont le principe actif est « l'inhibine » identifié par White en 1962 comme étant de l'eau oxygénée H_2O_2 produite sous l'action d'une enzyme sécrétée par l'abeille : la glucose oxydase du miel (Aissat, 2007).

Cependant c'est Adcock qui en 1962 attribue le premier au peroxyde d'hydrogène la possibilité d'être la substance responsable de l'activité antibactérienne du miel car tous deux sont détruits par l'exposition à la lumière. Il travaille sur 25 échantillons et montre que tous les miels produisent en solution du peroxyde d'hydrogène. Il mesure le taux de peroxyde d'hydrogène présent dans le miel et rapporte que cette accumulation peut être détruite en faisant réagir dans le milieu une catalase purifiée.



Le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale « inhibine » du miel. Elle est produite par réaction enzymatique. C'est la glucose oxydase, sécrétée par

les glandes hypopharyngées de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante (Descottes, 2004) :

L'accumulation de H_2O_2 est maximale dans la gamme de dilution comprise entre 30-50% et décline rapidement en dessous de 30% (Bang et al., 2003). Si l'on utilise une solution de peroxyde d'hydrogène comme antiseptique, elle sera loin d'être aussi efficace qu'une libération lente et prolongée obtenue lors de l'application sous forme de miel. La dilution du miel dans les tissus produit une activité antiseptique distribuée lentement et de façon prolongée ayant une action antibactérienne et n'altérant pas les tissus (Booth, 2004).

La neutralisation du H_2O_2 réduit l'activité antibactérienne de la majorité des miels. Cependant, un nombre substantiel de miels retiennent l'activité antibactérienne après la neutralisation de l' H_2O_2 (Allen et al., 1991).

Cependant, dans la mesure de notre connaissance, la catalase n'a jamais été identifiée dans le miel (Kwakman et Zaat, 2012). Les peroxydases sont parmi les protéines les plus abondantes dans le nectar (Gonzalez-Teuber et al., 2009 ; Hillwig et al., 2011). Ces Peroxydases dérivées du nectar plutôt que la catalase pourraient être éventuellement une cause de la variation de la variation du H_2O_2 dans différents miels (Kwakman et Zaat, 2012).

Il a été suggéré que la catalase originaire du pollen, du nectar ou de micro-organismes responsable de la neutralisation enzymatique du H_2O_2 (Schepartz, 1996 ; Huidobro et al., 2005). L'explication la plus probable est que l'acide gluconique produit lors de la réaction abaisse le pH à un point au-delà duquel l'enzyme glucose oxydase ne fonctionne plus. Le pH optimal de la glucose-oxydase est de 6,1 avec néanmoins une bonne activité enzymatique entre 5,5 et 8. Or le pH du miel est plutôt acide puisqu'il est compris entre 3,2 et 4,5. A ce pH,

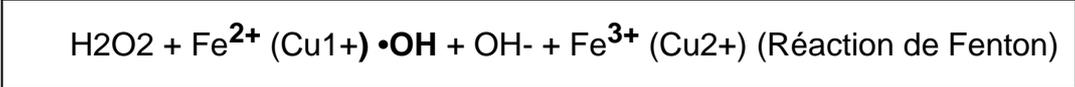
l'activité enzymatique de la glucose-oxydase se trouve considérablement réduite. Ainsi la dilution du miel, même si elle diminue la teneur en glucose, rapproche son pH de la valeur optimale pour l'enzyme (Benoit, 2004).

Le peroxyde d'hydrogène est un agent antibactérien efficace s'il est présent à des doses suffisamment élevées, mais il peut devenir toxique et altérer les protéines et les cellules dans les tissus en libérant des radicaux oxygénés, ce qui provoque alors la mort des cellules et la destruction des tissus (Sharp, 2009).

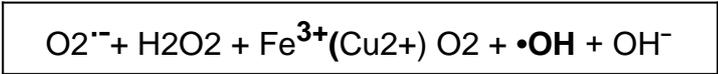
Il a été récemment signalé que le H₂O₂ contenu dans les miels de miellat dilués est vraisemblablement produit via une voie alternative non enzymatique, où les polyphénols peuvent participer au processus de production progressive de H₂O₂ (Bucekova et al., 2018).

Bien que H₂O₂ soit considéré comme un composé antibactérien essentiel dans le miel dilué, certaines études ont montré que son niveau dans différents miels ne correspondait pas à leur activité antibactérienne globale (Roshan et al., 2017 ; Bucekova et al., 2018,16).

Dans la réaction de Fenton, La formation de •OH est régie uniquement par l'existence dans l'environnement cellulaire de fer libre en présence d'H₂O₂. Il est intéressant de noter que H₂O₂ lui-même ne provoque pas la peroxydation lipidique. Dans la réaction de Fenton, l'ion ferreux (Fe²⁺) agit en tant que catalyseur.



La réaction Haber-Weiss est une autre source de la formation •OH.



Dans la réaction Haber-Weiss, les ions ferriques (Fe^{3+}) (la forme oxydée du fer formé dans la réaction de Fenton) sont réduits à nouveau en ions ferreux (Fe^{2+}) qui réagissent ainsi avec H_2O_2 pour produire $\bullet\text{OH}$ (réaction de Fenton). Ce recyclage du fer d'un état de valence à l'autre provoque la formation répétitive de $\bullet\text{OH}$ (Kell, 2009).

Les niveaux de H_2O_2 semblent être en relation avec la capacité des miels à générer des radicaux hydroxyles à partir de H_2O_2 dégradé via la réaction de Fenton, voire d'Haber-Weiss (Aissat et al., 2015). Brudzynski et Lannigan (2012) ont signalé que le stress oxydatif causé par l'action du miel sur les cellules bactériennes résultait du radical hydroxyle généré à partir de H_2O_2 du miel. En outre, l'hydrolyse de H_2O_2 produit également de l'oxygène, ce qui peut accélérer l'auto-oxydation des polyphénols du miel qui, lorsqu'ils deviennent des agents pro-oxydants, génèrent d'autres molécules de H_2O_2 et entraînent la génération de radicaux hydroxyle à partir de H_2O_2 en présence de métaux de transition (Brudzynski et Lannigan, 2012). L'action bactéricide du peroxyde d'hydrogène peut être potentialisée par l'acide ascorbique (vitamine C), présence de certains ions métalliques (Kesić et al., 2014).

Ainsi, les composés polyphénoliques d'origine végétale toujours présents dans les miels peuvent contribuer de manière significative à et / ou moduler les effets antibactériens du miel.

Cependant, dans bon nombre de miels, l'activité antibactérienne est due à des composés non peroxydes (Allen et al., 1991 ; Molan, 1992).

6.2. Pression osmotique et concentration hydrique:

L'effet osmotique joue un rôle fondamental dans l'action antibactérienne du miel. Les principales substances du miel sont les sucres, lesquels par leur effet osmotique exercent une action antibactérienne (Molan, 1992).

Le miel est une solution saturée ou super-saturée de sucre, 84 % étant un mélange de fructose et glucose. L'eau contenue représente habituellement de 15 à 21 % du poids. La forte interaction de ces molécules de sucres avec les molécules d'eau laisse très peu de molécules d'eau disponibles pour les micro-organismes (Descottes, 2004).

La faible concentration hydrique inhibe la croissance bactérienne et la forte teneur en sucres (solution hypertonique) provoque une déshydratation osmotique, ce qui laisse très peu de molécules d'eau disponibles pour les micro-organismes .

Certaines levures peuvent cependant se développer dans les miels ayant une teneur élevée en eau, et provoquer la fermentation de ces miels mais généralement l'activité hydrique du miel est trop basse pour permettre la croissance de microorganismes (Olaitan et al.,2007).

L'application du miel sur une blessure permet aux sucres de se dissoudre dans l'eau des tissus créant ainsi un milieu à faible coefficient hydrique inhibant la croissance bactérienne. Cette différence de pression osmotique entre le tissu lésé et le tissu environnant entraîne un appel d'eau, diluant les sucres du miel et élevant le coefficient hydrique. Il est donc préconisé de renouveler les applications de miel pour maintenir un coefficient hydrique bas. Malgré cet effet, les cellules vivantes des tissus environnants sont protégées des chocs osmotiques car leurs interconnexions sont étroites et les tissus sous-jacents leur permettent de puiser l'eau nécessaire pour éviter la plasmolyse (Assie, 2004).

Beaucoup ont attribués l'action thérapeutique du miel juste à l'effet osmotique du à sa teneur en sucres (Keast-Butler, 1980 ; Somerfield, 1991 ;Tovey, 1991 ;Condon, 1993). Mais quand il est appliqué sur les plaies ou absorbé, la dilution du fait de l'exsudation ou des fluides corporels, réduit l'osmolarité à un niveau tel qu'elle cesse de maîtriser l'infection (Herszage et al. 1980).

6.3. pH et acidité

Le pH du miel est suffisamment acide (entre 3 et 6) pour inhiber le développement de nombreux microorganismes pathogènes. Le pH du miel non dilué est un facteur antibactérien significatif; cependant, si on le dilue, le pH peut ne plus être assez bas pour limiter la prolifération des bactéries. Les fluides corporels peuvent être responsables de la dilution du miel; c'est une donnée dont il faut tenir compte lorsque l'on est dans une démarche de soins (Hoyet, 2005).

Molan (1992) a expliqué que la dilution du miel dans les conditions de l'expérience change ou neutralise le pH du miel entraînant ainsi un changement dans l'activité antibactérienne du miel. Il serait logique de dire que pour la méthode d'incorporation en gélose, la dispersion du miel est la conséquence d'un effet tampon plus marqué.

Rychurch et Dolezol .(1961), Linder. (1962) ainsi que Daghie et al. (1971) ont trouvé qu'il n'existait pas de corrélation entre l'activité antibactérienne et le niveau de pH

6.4. Le miel et les facteurs de pathogénéicité et la résistance aux

antibiotiques (Aissat, 2015)

Fait remarquable, des recherches *in vitro* ont montré que le miel peut réellement inverser la résistance aux antibiotiques, ce qui suggère que le miel utilisé en

combinaison avec des antibiotiques peut avoir des effets thérapeutiques supplémentaires (Jenkins et Cooper, 2012). Il a été proposé que le miel induit une régulation à la baisse des produits du gène *mecR1*, un transducteur associé à la résistance des SARM (*S. aureus* résistant à la méthicilline).

De récentes recherches ont montré que les propriétés antimicrobiennes *in vitro* du miel sont plus que bactéricide. Il a été montré que le miel réduisait également la pathogénicité bactérienne. La capacité des micro-organismes pathogènes à causer la maladie est en partie due à la production de facteurs de pathogénicité. *S. aureus*, par exemple, produit une gamme de protéines, incluant : catalase, hémolysine (α , β , γ et δ), toxines et les entérotoxines épidermolytiques. Dans les plaies infectées l'Alphatoxine (α -hémolysine) provoque des lésions tissulaires par la création de pores dans les membranes de la cellule hôte; permettant de décharger des composés de faible poids moléculaire et en induisant la production de cytokines et l'apoptose. le miel de Manuka réduirait l'expression de l' α -toxine des SARM.

6.5. Miel et biofilms

le miel à une concentration aussi basse que 0,5% inhibe significativement la formation de biofilm par *E. coli* O157:HA et réduit l'expression des gènes (*csgBAC*) du quorum sensing et les genes de virulence (LEE genes) (Lee et al., 2011)

6.6. Miel et sidérophores bactériens

Peu soluble en condition aérobiques et aux pH neutre et alcalin, le fer est peu biodisponible. Au cours de l'évolution, les microorganismes ont développé diverses stratégies d'acquisition du fer à haute affinité dont deux principales. L'une

consiste à synthétiser des molécules à haute affinité pour le fer ferrique appelées « sidérophores » dans le milieu. L'autre consiste à importer des molécules de fer à l'hôte.

Les sidérophores sont des chélateurs spécifiques de fer, Ils sont produits en milieu aérobie et en condition de carence en fer (Hannauer, 2011), par presque tous les microorganismes, procaryotes ou eucaryotes étudiés, à l'exception de *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* (Miethke and Marahiel, 2007). Ces molécules sont capables de chélater le Fe^{3+} avec une grande affinité (Meksem, 2010), et capables de même de récupérer le fer de l'hôte tel que le fer lié à la lactoferrine et à la transferrine et de permettre ainsi la croissance bactérienne (Sriyosachati and Cox, 1986). Les bactéries peuvent utiliser leurs propres sidérophores (endogènes), mais également des sidérophores synthétisés par d'autres micro-organismes (exogènes ou hétérologues), dans ce cas on parle de « cross-feeding » (Meksem, 2010).

Il a été montré que des concentrations sub-létales du miel de Manuka réduisent la production de sidérophores - facteurs de virulence qui piègent le fer nécessaire pour la croissance bactérienne- dans des souches cliniques et non cliniques de *P. aeruginosa* (Kronka et al., 2013).

6.7. Le miel et les endotoxines

Les macrophages stimulés par les lipopolysaccharides sont capables de synthétiser et de sécréter des médiateurs inflammatoires, y compris le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), l'oxyde nitrique (NO), et l'IL-6 (Mantovani et al., 2002). Il a été soutenu que la concentration d'endotoxines dans tous les miels naturels (56-690 pg / ml) est négligeable, et que la stimulation des cellules MM6

est indépendant des endotoxines. Cependant, il est important de noter que les cellules MM6 sont très sensibles aux endotoxines (Timm et al., 2008), et il est très probable que la teneur en endotoxines du miel pourrait être à l'origine de cet effet. Les endotoxines possèdent des caractéristiques spéciales. Elles sont, dans une large mesure, stables à la chaleur, et leur activité peut être inhibée par la polymyxine B (Tsuzuki et al., 2001). Il a été montré que les cellules MM6 répondent aux endotoxines avec une limite de détection aussi basse que 3,1 pg / mL, et qu'une forte libération d'IL-6 a lieu quand elles sont stimulées avec 100 pg / ml d'endotoxine (Moesby et al., 1999). Timm et al. (2008) ont étudié l'effet de quatre miels différents sur la libération de cytokines pro-inflammatoires (IL-6) par les cellules MM6. D'une façon similaire aux études effectuées par Tonks et al. (2001, 2003), les miels (0.1% p/v) ont induit une libération maximale d'IL-6 après 18 heures de traitement. Il a été rapporté que les substances du miel responsables de son activité immuno-modulatrice sont (1) stable à la chaleur; (2) retenu dans la fraction de haut poids moléculaire (> 20 kDa); et que (3) leur activité a été inhibée lorsque le miel a été incubé avec de la polymyxine B, un inhibiteur de l'activité de l'endotoxine. Toutes ces caractéristiques concordent avec les propriétés des endotoxines (Majtan, 2014).

6.8 Miel et méthylglyoxal

Le MGO ou méthylglyoxal est un agent actif antibactérien très important qui se trouve dans le miel et plus particulièrement dans le miel de Manuka dans lequel il est présent en grande quantité (Almasaudi et al., 2016).

Le MGO est un dérivé de la conversion non enzymatique du dihydroxyacétone. Cette réaction se produit tout d'abord dans le nectar, puis lors du stockage du miel à 37°C où sa concentration augmente progressivement. Il est capable d'agir avec

le centre nucléophile et donc l'ADN : chez les bactéries Gram –, le MGO agit sur l'expression de gènes impliqués dans la stabilité de la paroi cellulaire, et chez les bactéries Gram + il agit sur une enzyme appelée « autolysine » qui est impliquée dans le clivage des composants de la paroi cellulaire et de la division cellulaire (Marcet, 2017).

6.9. Miel et facteur nucléaire kappa B (NF-kB)

Le traitement des cellules de l'hépatocarcinome humain avec du miel aux concentrations de 5%, 10%, 15%, 20% et 25% a entraîné une inhibition dose et temps dépendante de la libération du TNF- α et du facteur nucléaire κ B (NF-kB). L'activation de NF-kB joue un rôle important dans la stimulation de l'expression de plusieurs gènes de cytokines inflammatoires, comprenant le TNF- α , l'IL-6 et l'IL-8. Il a été montré que l'administration quotidienne du miel par voie orale à des rats chez lesquels une hépatotoxicité a été induite par le jaune de mélanine, et à des rats chez lesquels a été induit un œdème aigu des pattes diminuait significativement la libération du TNF- α , de l'IL-1 β ainsi que l'activation du NF-kB (Aissat, 2015)

6.10. Miel et glycoprotéines

Une étude faite en 2015 a démontré la présence des protéines antibactériennes de nature glycosylées présentes dans le miel ciblant la paroi cellulaire bactérienne. Ces composés forment tout un système immunitaire inné fonctionnant qui peuvent provenir à partir des plantes ou des insectes. Ces glycoprotéines ont capacité de se lier spécifiquement et de s'agglutiner aux cellules microbiennes, perturbant de ce fait leur paroi cellulaire par augmentation

de la perméabilité de la membrane externe des bactéries et en détruisant la couche de lipopolysaccharides. L'analyse de ces GPs par spectrométrie de masse a enfin révélé une identité de séquence avec la protéine majeure de la gelée royale 1 (MRJP-1), précurseur qui abrite 3 peptides antimicrobiens : la jellein 1, 2 et 4. La MRJP-1 est une protéine omniprésente dans tous les types de miels. Elle est impliquée dans plusieurs fonctions cellulaires mais elle n'avait jusque-là jamais été liée à une quelconque activité antibactérienne. Ces résultats indiquent par conséquent que les GPs isolées du miel agissent selon deux fonctionnalités bien distinctes. La présence de structures à haute teneur en mannose ciblant spécifiquement et agglutinant les cellules bactériennes explique d'abord l'activité « like-lectine » de la MRJP1, tandis que les peptides antimicrobiens qu'elle contient (jelleins) sont quant à eux responsables de l'augmentation de la perméabilité membranaire et des altérations de la paroi bactérienne. L'activité bactéricide et bactériostatique de la glycoprotéine MRJP-1 est de plus directement corrélée à l'activité antimicrobienne globale du miel, ce qui suggère que cette substance y possède un rôle primordial (Brudzynski et Sjaarda, 2015).

Il a été montré par Majtan et al.(2006) que le miel naturel d'acacia (1% p/v)est capable de stimuler la sécrétion de TNF- α par les macrophages murins, tandis que le miel déprotéiné n'a aucun effet. Ces auteurs suggérèrent que la glycoprotéine (MRJP1), protéine majeure de la gelée royale, dominante dans la gelée royale ainsi que dans le miel pourrait être responsable de l'effet immuno-modulateur du miel. Il est très probable que les échantillon purifiés de MRJP1 contiennent des endotoxines à un niveau suffisant pour stimuler la libération de TNF- α par les macrophages murins. D'autre part, il a été rapporté que MRJP1, à une concentration de 25 pg / ml, a doublé l'expression de l'ARNm du TNF- α dans

des cultures de kératinocytes épidermiques primaires. De même, une tendance à la hausse dans l'expression de l'ARNm de l'IL-1 β et du facteur de croissance transformant beta (TGF- β) a été observée suite au traitement des kératinocytes humains avec MRJP1 (Aissat, 2015)

6.11. Miel et apimisine

L'apimisin est un peptide riche en valine et serine, sécrété par les glandes hypopharyngées et mandibulaires de l'abeille. Ce peptide présent dans le miel forme un complexe avec la protéine Apa1 de la gelée royale et est capable de stimuler la prolifération des lymphocytes. Ce qui semble confirmer l'étude faite par Abuharfeil et al. (1999) que le miel non traité au LPS stimule la prolifération des lymphocytes B et T. L'apimisin agit en synergie avec AGPs pour renforcer la libération du TNF- α par un mécanisme n'incluant pas leur complexation. L'apimisin et les AGPs sont présents dans différentes sortes de miels (Aissat, 2015).

6.12. Miel et myéloperoxydase (MPO)

Les granules azurophiles des PMNs contiennent en grande quantité de MPO. De concert avec la NADPH-oxydase membranaire, la MPO est impliquée dans la formation d'espèces réactives de l'oxygène et de l'oxydation de la matière biologique. Dans les PMNs stimulés, la NADPH- oxydase réduit l'oxygène moléculaire en O $_2^{\cdot-}$ (Babior et al., 1973 ; Segal et Abo, 1993), dont la dismutation en peroxyde d'hydrogène fournit le substrat pour la myéloperoxydase.

L'importance de son activité bactéricide est connue depuis 1965 (Klebanoff et Luebke, 1965) Cette importance bactéricide a été largement confirmée depuis (Hampton et al., 1998).

Il reste donc des points à éclaircir quant au rôle de la MPO : cette enzyme semble être un mécanisme de contrôle des dommages collatéraux des ROS mis en place

par l'immunité innée. En se fixant à la surface des pathogènes et en catalysant la formation de HOCl par l' H_2O_2 , elle permet de cibler de façon précise l'attaque oxydative des ROS contre le pathogène.

Mais la balance bénéfice-risque reste très sensible et l'utilisation d'inhibiteurs de la MPO - comme ceux qui sont préconisés pour prévenir l'athérosclérose - pourrait avoir des effets secondaires en cas d'infections répétées par des pathogènes (Poret et al., 2017). Mais lorsque la réaction inflammatoire devient incontrôlée, la dégranulation massive et la mort des neutrophiles relâchent la MPO et les enzymes protéolytiques dans le milieu extracellulaire ou au contact d'autres cellules avec un risque de destruction locale (Serteyn et al., 2003).

Aissat et al. (2015), ont montré que le miel à très basses concentrations entraîne la dégranulation des PMNs et la libération de MPO et l'inhibe à fortes concentrations ; et, en utilisant la méthode SIEFED (Specific Immunological Extraction Followed by Enzymatic Detection) technique connue pour éviter tout effet artefactuel, que le miel en fonction de son origine- inhibe ou stimule l'activité peroxydasique de la MPO. La MPO enzymatiquement active qu'enzymatiquement inactive MPO sont présentes sur les sites inflammatoires (Kumar, 2010). Cependant, la MPO peut agir en tant que stimulateur autocrine ou paracrine des PMNs. Cette propriété est indépendante de son activité catalytique, et se produit par modulation des voies de signalisation intracellulaires des PMN par liaison aux intégrines CD11b_CD18, provoquant ainsi la dégranulation, l'expression des intégrines, et une activation de la NADPH oxydase (Lau et al., 2005). Récemment il a été également mis en évidence, que la MPO indépendamment de son activité catalytique interviendrait

dans le recrutement des PMNs par simple force électrostatique (Klinke et al., 2011).

7. Propriétés cicatrisantes

7.1. Miels et métalloprotéases

Les métalloprotéases constituent une famille d'enzymes (une vingtaine environ) dont certains sont sécrétées et d'autres sont membranaires. Leur fonction essentielle est de dégrader les protéines de la matrice extracellulaires. Les MMP sont classées sur la base de leur spécificité vis-à-vis de leurs substrats. L'activité protéolytique principale des métalloprotéases (MMP-9) ou gélatinases est dirigée contre la gélatine (collagène interstitiel dégradé par les collagénases interstitielles) et les collagènes de type IV et V de la membrane basale. Une caractéristique principale des gélatinases est la présence, au sein de la séquence du domaine catalytique, de trois séquence peptidiques répétitives analogues aux motifs de type 2 de la fibronectine. Ces derniers forment un domaine à part entière hors du domaine catalytique. Les motifs fibronectine permettent la liaison à la gélatine, les collagènes et la lamine. L'expression de la gélatinase B (MMP-9) est faible ou absente dans les tissus normaux et limité aux monocytes et aux macrophages. Toutefois, elle peut-être induite en cas de remaniement tissulaire comme le développement embryonnaire, la cicatrisation des plaies ou l'invasion tumorale dans ce cas elle est produite par les cellules stromales ou les cellules malignes (Chantrain et De Clerc, 2002).

L'incubation pendant 24 heures de fragments de peau humaine avec du miel a été associée à une expression accrue de la protéine MMP-9 dans l'épiderme à

proximité de la membrane basale. Il a été également constaté une diminution de la quantité relative de collagène de type IV dans la membrane basale et autour des vaisseaux sanguins. Ces résultats semblent contradictoires avec une étude postérieure faite par les mêmes auteurs ou le miel de miellat a entraîné l'inhibition de l'expression de la MMP-9 induite par le TNF- α . Par conséquent, les auteurs émirent l'hypothèse que le miel peut agir comme un immuno-modulateur à la fois pro-inflammatoire et anti-inflammatoires). Le miel stimulerait la production de MMP-9 et de cytokines inflammatoires à partir des kératinocytes en présence d'un faible niveau d'un médiateur inflammatoire /stimulateur. D'autre part, si un environnement est infecté et que l'inflammation est en cours, le miel supprime la production de MMP-9 et de cytokines inflammatoires (Aissat, 2015).

De plus, une trop grande formation de collagène lors de la cicatrisation favorise la formation de fibrose et conduit à des infections tissulaires chroniques. Le methylglyoxal, qui dérive de la conversion non enzymatique du dihydroxyacétone, attaque les résidus d'arginine présents dans le collagène de type IV en activant des Matrices Métalloprotéases (MMP9) pour en perturber la formation. Il altère également la structure et la fonction de nombreuses protéines et enzymes capables de diminuer l'efficacité des cellules immunitaires du sang périphérique (Marcet, 2017).

7.2. Miels et E-cadhérines/ β -caténine

Les cadhérines sont une classe de glycoprotéines qui s'expriment à la surface cellulaire. Elles jouent un rôle important dans l'adhésion cellulaire, ce qui fait qu'elles assurent la liaison intercellulaire ausein des tissus. La E-cadhérine (épithéliale) est probablement la cadhérine la mieux connue, elle est liée à la β -caténine par un domaine intracellulaire. L'expression et la distribution la E-

cadhérine/ β -caténine pour restaurer l'adhésion cellule-cellule et le re-épithélialisation. l'effet du miel a été testé à des dilutions variées sur la cicatrisation et il a été constaté que la dilution optimale était de 1%, il a été également montré que cette dilution permettait la modulation positive des gènes de la E-cadhérine et la β -caténine (Aissat, 2015).

Tonks et ses collègues ont suggéré que l'effet cicatrisant de miel guérison peut être en partie liée à la libération de cytokines pro-inflammatoires par les cellules environnantes, principalement les monocytes et les macrophages (Tonks et al., 2001 ; Tonks et al., 2003).

7.3. Miels et transition épithélio-mésenchymateuse

Il a été également montré que le miel est capable de favoriser la réépithélialisation (Martinotti et Ranzato, 2014),

Ce processus est connu sous le nom de transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) . Lors de l'exposition au miel, les kératinocytes subissent des modifications de l'expression des gènes régulateurs de l'EMT, avec des variations liées au type de miel utilisé (Ranzato et al., 2012).

Il a été démontré l'implication de H_2O_2 en tant que médiateur principal des effets de régénération du miel sur une lignée de cellules de kératinocytes humains immortalisées. Le H_2O_2 libéré de manière extracellulaire traverse la membrane plasmique à travers une aquaporine spécifique (AQP3). Une fois dans le cytoplasme le H_2O_2 , à son tour, induit l'entrée de Ca^{2+} extracellulaire à travers les canaux à potentiel de récepteur transitoire de la mélastatine 2 (TRPM2) et des canaux Orai1. L'entrée de Ca^{2+} extracellulaire induite par le miel entraîne la cicatrisation de la plaie, ce qui est compatible avec le rôle joué par la signalisation du Ca^{2+} dans la régénération des tissus. Don l'exposition au miel augmente la

concentration intracellulaire en Ca^{2+} , en raison de la production de H_2O_2 et de la régulation redox des canaux ioniques perméables au Ca^{2+} (Martinotti et al., 2019)

7.4. Miel et cytokines :TNF- α , d'IL-1 β et d'IL-6 (resumé par Aissat, 2015)

Les cytokines pro-inflammatoires sont produites normalement suite à l'activation des cellules immunitaires et sont impliquées dans l'amplification des réactions inflammatoires. Ces cytokines jouent un rôle important dans la cicatrisation des plaies. Les macrophages qui se différencient à partir des monocytes, migrent dans les divers tissus durant le processus inflammatoire et possèdent trois fonctions majeures, la phagocytose, la présentation de l'antigène et l'immunomodulation par le biais de la production de facteurs de croissance et de cytokines. Les macrophages suppriment les corps étrangers, et en fonction de l'étendue de la lésion, ils persistent dans la plaie pendant des mois, nettoyant les corps étrangers et nécrotiques. Les macrophages jouent un rôle critique dans l'initiation, la maintenance et la résolution de l'infection et, sont activés ou désactivés durant le processus inflammatoire. La capacité des macrophages dans la production des cytokines inflammatoires et des facteurs de croissance est considérée comme jouant un rôle majeur dans la cicatrisation des plaies. Après la lésion les macrophages induisent immédiatement les cytokines proinflammatoires telles que l'IL-1, l'IL-6 et le TNF- α . Le TNF- α est une cytokines pro-inflammatoire régulatrice qui joue un rôle important dans la défense contre les microorganismes intracellulaires, et induit la synthèse du collagène par les fibroblastes en initiant la cicatrisation. Le TNF- α possède une large gamme de fonctions et partage de nombreux effets physiologiques et pathologiques de l'IL-1. De concert avec l'IL-1,

le TNF- α est la première cytokine proinflammatoire qui régule positivement la phase inflammatoire de la cicatrisation et contribue au stress oxydatif au sein de la plaie en générant les dérivés réactifs de l'oxygène et les protéines intracellulaires qui sont libérées par les cellules nécrotiques, ce qui est crucial pour la cicatrisation.

Références Bibliographiques

- 1/ Adcock D (1962).The effect of catalase on the inhibine and peroxyde values of various honeys. *Journal of Apicultural Research*. 1: 38-40.
- 2/ Aissat S (2015), Propriétés antioxydantes de quelques variétés de miels algériens. Thèse pour l'obtention de Doctorat en Biologie. Université de Mascara.
- 3/ Aissat S, Benbarek H, Franck T, Kohnen S, Deby-Dupont G, Sertheyn D, Ahmed M and Mouithys-Mickalad A (2015). Effect of honey on purified equine myeloperoxidase activity and superoxide radical production in activated Polymorphonuclear neutrophils. *Frontiers in Life Science* 8(4):1-8
- 4/ Allen KL, Molan PC, and Reid GM (1991). A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J Pharm. Pharmacol*. 43: 817–822.
- 5/Allen KL, Molan PC, and Reid GM (1991). A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J Pharm. Pharmacol*. 43: 817–822.
- 6/ Almasaudi SB, Al-Nahari AM, Abd El-Ghany EM (2016) Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*.*Saudi Journal of Biological Sciences* 24(6)
- 7/ Alphandery R (2002). *La route du miel*. (deuxième édition 2002). Paris, Nathan, 1992, 260 p.
- 8/ Amiot MJ, Aubert S, Gonnet M, and Tacchini M (1989). Les composés phénoliques des miels: Étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie*.20:115–125.
- 9/ Assie B (2004).Le miel comme agent cicatrisant.Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Médecine. Qualification Médecine Générale. Université Toulouse III. Paul Sabatier, Faculté de Médecine

- 10/ Babior BM, Kipnes RS, Curnutte JT (1973). Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent. J Clin Invest. 52(3):741-744.
- 11/ Ballot-Flurin C (2009) Miels et gelée royale : leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. *Phytothérapie.*7:87-90.
- 12/ Bang, LM, C. Bunting and PC et Molan (2003). The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. *J. Altern. Compl. Med.*, 9: 267-73.
- 13/ Baudel M (2017). L'apithérapie. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université Picardie Jules verne
- 14/ Benoit A (2004). Le miel comme agent cicatrisant, Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Médecine. Qualification Médecine Générale. Université Toulouse III – Paul Sabatier – Faculté de Médecine
- 15/ Bogdanov S. Ruoff K. oddo PL. (2004). Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys. *Apidologie* 35pp: 4-17.
- 16/ Booth S (2004). Are honey and sugar paste alternatives to topical antiseptics? *J Wound Care.* 13(1):31-33.
- 17/ Brudzynski K , Lannigan, R (2012) Mechanism of honey bacteriostatic action against MRSA and VRE involves hydroxyl radicals generated from honey's hydrogen peroxide. *Front. Microbiol.* 3, 1–8.
- 18/ Brudzynski K., Sjaarda C (2015). Honey glycoproteins containing antimicrobial peptides, jelleins of the Major Royal Jelly Protein 1, are responsible for the cell wall lytic and bactericidal activities of honey. *PLOS ONE.* 10 (4), e0120238

- 19/ Bucekova, M.; Buriova, M.; Pekarik, L.; Majtan, V.; Majtan, J (2018). Phytochemicals-mediated production of hydrogen peroxide is crucial for high antibacterial activity of honeydew honey. *Sci. Rep.*, 8, 9061.
- 20/ Cantarelli MA, Pellerano RG, Marchevsky EJ, Camina (2008). Quality of honey from Argentina: study of chemical composition and trace elements. *The Journal of the Argentine Chemical Society*. 96: 33–41.
- 21/ Chantrain C and De Clerc Y A. (2002) Les métalloprotéases matricielles et leurs inhibiteurs synthétiques dans la progression tumorale. *Med Sci (Paris)*. 18(5): 565–575
- 22/ Chauvin R (1968). *Traité de biologie de l'abeille Tome III, les produits de la ruche*. Edition Masson et Cie, Paris pp:66-84.
- 23/ Clément H. *Le traité rustica de l'apiculture*. Editions Rustica. 2011 (528p.).
- 24/ Condon RE. (1993). Curious interaction of bugs and bees. *Surgery* 113 (2),pp: 234-235.
- 25/ Cooper RA, Maddocks SE (2013). Manuka honey inhibits siderophore production in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Appl Microbiol*. 115 (1): 86-90.
- 26/ DAGHIE V. CIRNU I. CIOCAV. (1973) Contributii privind actinua bactericida si bacteriostatica a mierii de lecaniide (*Physokermes* sp) din zona coniferelor. *Apicultura* 26(2),pp: 13-16.
- 27/ Davidson PM, Sofos JN, and Brenem AL (2005). *Antimicrobials in Foods*. 3rd ed. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 291–306.
- 28/ Descottes B (2004). *Le miel comme agent cicatrisant*. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Médecine. qualification Médecine Générale. Université Toulouse III – Paul Sabatier – Faculté de Médecine.

- 29/ Ebenezer IO, Olubenga MT (2010). Pollen characterization of honey samples from North Central Nigeria. *Journal of Biological Sciences*. 10: 43–47.
- 30/ Fanny Balas (2015). Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature. *Médecine humaine et pathologie*. 2015. dumas-01293955
- 31/ Gardenal M (2013). Le miel de Manuka, ce miel qui soigne. Deliver Ed. 2013, 130 p.
- 32/ Gonzalez-Teuber M, Eilmus S, Muck A, Svatos A, and Heil M (2009). Pathogenesis-related proteins protect extrafloral nectar from microbial infestation. *Plant J*. 58: 464–473.
- 33/ Gout J (1998). Le monde du miel et des abeilles. Edition Delachaux et Niestlé.S.A.
- 34/ Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC (1998). Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*. 92:3007–3017.
- 35/ Hannauer M (2011). Études des mécanismes moléculaires impliqués dans l'acquisition du fer par la pyoverdine et le ferrichrome chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat en Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie. Université de Strasbourg
- 36/ HERSZAGE L. MONTENEGRO JR. JOSEPH AL. (1980) Tratamiento de las heridas supuradas con acúcar granulado comercial. *Bol Trab Soc Argent Cir*, 41(21-22), pp: 315-30.
- 37/ Hillwig MS, Liu XT, Liu GY, Thornburg RW, and MacIntosh GC (2010). Petunia nectar proteins have ribonuclease activity. *J Exp. Botany*. 61:2951–2965.

- 38/ Hoyet C (2005). Le miel : de la source a la therapeutique. Thèse pour Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Universite Henri Poincare – Nancy
- 39 Huidobro JF, Sanchez MP, Muniategui S, and Sancho MT (2005). Precise method for the measurement of catalase activity in honey. *J. AOAC Int.* 88:800– 804.
- 40/ JORF (2003),Décret n° 2003-587 du 30 juin 2003 pris pour l'application de l'article L.2141- du code de la consommation
- 41/ Keast-Butler J. (1980) Honey for necrotic malignant breast ulcers. *Lancet* ii (October 11) 809.
- 42/ Kell DB (2009). Iron behaving badly: inappropriate iron chelation as a major contributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases. *BMC Medical Genomics*, 2(1).
- 43/ Kesić A, Crnkić A, Ibrišimović-Mehmedinović N, Šestan A, Čatović B (2014). Changes of antioxidant activity in honey as a result of Haber-Wais reaction. *American Journal of Applied Chemistry*. 2(6): 112-116.
- 44/Klebanoff SJ, Luebke RG (1965).The Antilactobacillus System of Saliva. Role of Salivary Peroxidase. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine*. 118(2):483-6
- 45/ Klinke A, Nussbaum C, Kubala L, Friedrichs K, Rudolph TK, Rudolph V(2011). Myeloperoxidase attracts neutrophils by physical forces. *Blood*. 117(4): 1350-8.
- 46/ Kolayli S,Yildiz O, Sahin H, and Aliyazicioglu R (2104). *Biochemistry and hysicochemical Properties of Honey in Honey in Traditional and Modern Medicine* . CRC PressTaylor & Francis Group
- 47 Kumar, A.V., 2010. Sharma. Neutrophils Cinderella of innate immune system. *International Immunopharmacology*, 10: 1325-1334.

48/ Kwakman PHS and Zaat SAJ (2012). Antibacterial Components of Honey: Critical review. IUBMB Life.64(1): 48–55.

49/ Kwakman PHS, Te velde A, De Boer L., Zaat SA(2011). Two major medicinal honeys have different mechanisms of bactericidal activity. PLOS ONE. 6 (3), e17709

50/ Lau D, Mollnau H, Eiserich JP, Freeman BA, s Daiber A,.Gehling UM, Brümmer J, Rudolph V, Münzel T, Heitzer T, Meinertz T and Baldus S (2005). Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11b_CD18 integrins. PNAS, 102(2): 431-436

51/ Lee JH, Park JH, Kim JA, Neupane GP, Cho MH , Lee CS et al. (2011). Low concentrations of honey reduce biofilm formation, quorum sensing, and virulence in *Escherichia coli* 0157:H7. Biofouling. 27 (10): 1095-1104.

52/ Leshaf H, Alahoum A (2018). L'effet cicatrisant et antibiotique du miel d'Eucalyptus. Etude prospective au niveau du service de Chirurgie générale « B » CHU Tlemcen. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie. Université Aboubekr Belkaïd Faculté de Médecine Dr B Benzerdeb, Tlemcen

53/ Linder K.E. (1962). Ein Beitrag zur Frage der antimikrobiellen Wirkung der Naturhonige. *Zentralbl. Bakteriologie. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg.*, 115 (7), 720-736.

54/ Majtan J, Kovacova E, Bilikova K, Simuth J (2006). The immunostimulatory effect of the recombinant apalbumin 1-major honeybee royal jelly protein-on TNF α release. *Int Immunopharmacol.* 6: 269–78.

- 55/ Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A (2002).
Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for
polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol.*23: 549–55.
- 56/Marquet M (2017). La cicatrisation des brûlures par le miel. Thèse pour
l'obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Bordeaux
Collège Sciences de la Santé U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques
- 57/ Martinotti S , Laforenza U , Patrone M , Moccia M and Ranzato E (2019)..
Honey-Mediated Wound Healing: H₂O₂ Entry through AQP3 Determines
Extracellular Ca²⁺ Influx. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 764.
- 58/ Martinotti, S.; Ranzato, E (2014). Cellular and Molecular Mechanisms of
Honey Wound Healing; Nova Publishers Inc.:Hauppauge, NY, USA, 2014; ISBN
978-1-63117-253-3.
- 59/ Meda A., Lamien C. E., Marco R (2005) Determination of the total phenolic,
flavonoïde and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical
scavenging activity. *Food Chemistry.* 91 (3) : 571-577.
- 60/ Meksem A(2011).Études structurales et fonctionnelles des récepteurs TonB-
dépendants de bactéries à Gram-négatif Thèse, Aspects Cellulaires et
Moléculaires de la Biologie. École Doctorale des Sciences de la Vie et de la
Santé. Université de Strasbourg.
- 61/ Miethke M, Marahiel MA (2007). Siderophore-based iron acquisition and
pathogen control. *Microbiol Mol Biol Rev.* 71(3):413-51.
- 62/ Moesby L, Jensen S, Hansen EW, Christensen JA (1999). A comparative
study of Mono Mac 6 cells, isolated mononuclear cells and *Limulus*
amoebocyte lysate assay in pyrogen testing. *Int J*

- 63/ Molan PC (1992). The antibacterial activity of honey .1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*. 73:5–28.
- 64/ Molan PC (2002). Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers-theory and practice.*Ostomy. Wound Manage*. 48: 28-40.
- 65/ Molan PC. (1992). The antibacterial activity of honey. I. The nature of antibacterial activity. *Bee World*, 73 (1), pp: 5-28.
- 66/ Olaitan PB, Adeleke OE, Ola IO (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *Afr Health Sci*. 7(3):159-65.
- 67/ Olofsson TC, Butler E, Markowicz P, Larsson L, Lindholm C., VAsquez A (2014). Lactic acid bacterial symbionts in honeybees : an unknown key to honey's antimicrobial and therapeutic activities. *International Wound Journal*.13(5):668-79
- 68/ Omafuvbe BO, Akanbi OO (2009). Microbiological and physico-chemical properties of some commercial Nigerian honey. *African Journal of Microbiology Research*.3: 891–896.
- 69/ Özcan, M, Arslan, D and Durmuş, AC (2006). Effect of inverted saccharose on some properties of honey. *Food Chemistry* 99: 24–29.
- 70/ Poret M, Tran T, VillotteM, Nusse O (2017). La myéloperoxydase un fin stratège face à l'infection par un pathogène. *m/s n° 8-9, vol. 33*.
- 71/Ranzato, E.; Martinotti, S.; Burlando, B (2012). Epithelial mesenchymal transition traits in honey-driven keratinocyte wound healing: Comparison among different honeys. *Wound Repair Regen*. 20, 778–785.
- 72/ Roshan, N.; Rippers, T.; Locher, C.; Hammer, K.A (2017). Antibacterial activity and chemical characteristics of severalWestern Australian honeys compared to manuka honey and pasture honey. *Arch. Microbiol*. 199, 347–355.

- 73/ Rossant. A (2011). Le miel, un compose complexe aux proprietes surprenantes. Thèse pour le Diplôme d'Etat DE Docteur en Pharmacie. Universite de Limoges, Faculte de Pharmacie
- 74/ Rychurch M. & dolezol M. (1961).Wlasciwosci inhibitnowe niektorych miodow Polskich. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 5 (2), pp:53-64.
- 75/ Schepartz AI (1966). Honey catalase: occurance and some kinetic properties. *J. Apic. Res.* 5: 167–176.
- 76/ Segal AW and Abo A(1993).The biochemical basis of the NADPH oxidase of phagocytes. *Trends in biochemical sciences.* 18(2):43-47.
- 77/ Sharp A (2009). Beneficial effects of honey dressings in wound management. *Nurs Stand.* ; 24(7):66-68, 70, 72.
- 78/ Somerfield S.D (1991) Honey and healing. *J. R. Soc. Med.* 84 (3) 179.
- 79/ Sriyosachati S, Cox CD (1986). Siderophore-mediated iron acquisition from transferrin by *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun.* 52(3):885-91
- 80/ Talpay B (1985) Spezifikationen für Trachthonige. *Dtsch 81/ Lebensm. Rundsch.*81, 148-452. Effect of honey types and concentration on starch gelatinization *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 37, pp: 161–170
- 81/ Timm M, Bartelt S, Hansen EW (2008). Immunomodulatory effects of honey cannot be distinguished from endotoxin. *Cytokine.*42: 113–20.
- 82/ Tonks A, Cooper RA, Price AJ, Molan PC, Jones KP (2001). Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey. *Cytokine.* 14: 240–2.
- 83/ Tonks A, Cooper RA, Price AJ, Molan PC, Jones KP (2001). Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey. *Cytokine.* 14: 240–2.
- 84/ Tonks AJ, Cooper RA, Jones KP, Blair S, Parton J, Tonks A (2003). Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. *Cytokine.* 21: 242–7.

85/ Tovey FI. (1991). Honey and healing. *J. R. Soc. Med.* 84 (7):447-52. 86/

Tsuzuki H, Tani T, Ueyama H, Kodama M (2001). Lipopolysaccharide: neutralization by polymyxin B shuts down the signaling pathway of nuclear factor kappa B in peripheral blood mononuclear cells, even during activation. *J Surg Res.*100: 127–34.

87/ White JW, subers MH, Schepartz AJ (1963).. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochim Biphys Acta.* 73:57-70.