

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA  
FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER

FILIÈRE : BIOLOGIE

SPÉCIALITÉ: MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE

THEME

**ACTIVITÉ INHIBITRICE DE L'EXTRAIT ÉTHANOLIQUE DE L'ÉCORCE DE  
LA GRENADE CONTRE L'*Escherichia. coli* ET *Candida. albicans***

**Présenté Par :**

M<sup>elle</sup> Guebbass Manel

M<sup>elle</sup> Chebli Imane

M<sup>elle</sup> Ghelila Saïda

**Membre de Jury:**

Mme. Zaoui Lilya	(MCA)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Fekrache Fadila	(MCA)	Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mr. Boudeffa Khaled	(MCA)	Examineur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

**L'année universitaire : 2023/2024**

## Remerciements

*Avant toute chose, nous remercions « ALLAH » qui nous a donné la patience, le courage, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

*Ce travail a été réalisé au laboratoire de l'université 20 août 1955 - Skikda-*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à notre encadreur Mme. Fekrache Fadila et à*

*notre professeur Mme. Machia pour l'aide compétente qu'elles nous ont apportée, pour leur patience, leur confiance, leur encouragement, et leur œil critique qui nous a été très précieux pour structurer notre travail de fin d'études, nous les remercions vivement.*

*Nos vifs remerciements vont au professeur Mme. Zaoui Lilya pour l'honneur qu'elle nous fait de présider ce jury.*

*Nous remercions également chaleureusement Mr. Boudeffa Khaled d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Ensuite nous tenons à remercier notre chef de département Mr. Boudjellab. Zin Eddine pour nous avoir donné la possibilité de manipuler au sein du laboratoire d'université.*

*Nous remercions nos familles pour l'amour qu'elles nous portent.*



بسم الله واصلاة والسلام على رسول الله أما بعد :

أهدي هذا العمل المتواضع:

إلى المرأة الأولى في حياتي التي علمتني معنى الصبر والحب والعطاء  
إلى منبع الحنان ومصدر الأمان إلى اعز انسانية على قلبي وزهرة  
حياتي أمي الحبيبة.

إلى الذي تعب وشقى من أجل راحتي إلى مصدر قوتي وقوتي  
بالحياة إلى الرجل الطيب الحنون أبي الغالي.

مفطهما الله لي ورزقهما من خيرى الدنيا والآخرة.

إلى صاحب القلب الحنون أخي العزيز علي أسعد الله قلبه، إلى عمتي

الطيبة رشيدة مفطها الله

إلى الذي اختاره الله لي قرّة عيني انيسي، نصفي الثاني إلى من أحب

"زوجي الغالي كريم" مفطه الله ورعاه

إلى اخوتي التي لم تنجبهم أمي صديقاتي الوفيات حبيبات قلبي

الصحة الصالحة سلمى، رحمة، نسرين، نال

إلى صاحبة القلب الأبيض أم زوجي وصاحب القلب الكبير أب

زوجي مفطهما الله.

إلى الاستاذة الفاضلة المخلوقة الطيبة ذات القلب الكبير معيشة التي لم

تبخل علينا بالمساعدة والمعلومات القيمة جزاها الله خيرى الدنيا

والآخرة.

إلى الدكتور الاستاذة المشرفة فكراتش فضيلة المتواضعة ذات القلب

الطيب التي لم تبخل علينا بانصائح والمساعدة فبارك الله فيها وجزاها

خيرًا.

إلى كل من اعانني ولو بدعاء، من يذكرهم قلبي ونسبهم قلمي

إيمان

الحمد لله الذي يسر البدايات و أكل النهايات و بلغنا الغايات .  
أما بعد أهدي هذا الجهد المتواضع و كل سنين الجهد و الإجتهد إلى سكان  
قلبي :

إلى أبي علاوة قباص سندي و فخري إلى الذي علمنا أن الفضل ليس نهاية  
العالم ، دمت سندي .

إلى أمي الخنونة جمعة قباص التي صبرت علي و ساندتني بدعواتها أدامك  
الله لنا .

إلى عمي أبي الثاني قباص عبد العزيز سندي الثاني و صاحب مقولة العالم  
كالبحر لا ينتهي .

إلى امرأة عمي عابجة بوقليع أمي الثانية الخنونة التي صابقتني بدعائها  
أدامك الله لنا .

إلى جدي دمت سندي للعائلة .

إلى إخوتي كلهم من كبيرهم إلى صغيرهم دمت سندي في هذه الحياة .

إلى ابنة عمي و نساء إخوتي رفيقات الرب (سمية

زهرة ، مضية ، نسيم ، شروق ، ابتسام)

إلى الصحبة الصالحة ( مريم ، كريمة ، إيمان ، سلمى ، رحمة ) .

إلى رئيس جمعية العلماء المسلمين الجزائريين - فرع قرية القراقس و معالمات

القرآن ( علياء ، كريمة بارك الله فيكم على جهودكم .

إلى جيرانني سكان حي الكطريام شكرا كلاماتكم جعلتني أميرة بينكم .

إلى عماتي ( نورة ، لويضة ، نادية ، جميلة ، بربيزة ) حفظكم المولى .

إلى سعادتني إلى أولادي التلاتون فراديا بكم أقوى .

إلى أهل غزة لا تقنطوا من رحمة الله

إلى نفسي سدد الله خطاكي

أهديكم هذه الشجرة المتواضعة طالبة المولى عز و جل أن يوفقنا و يرصوب

خطانا في بداياتنا القادمة .

نال

## Dédicace

Je dédie ce thème à ma chère mère, mon cher père, et à ma famille qui ont toujours été à mes côtés et m'ont soutenu tout au long de ces longues années d'études. En guise de remerciement, j'espère qu'ils trouveront ici l'expression de ma profonde gratitude pour tous les efforts et les moyens qu'ils ont mis pour me voir réussir mes études.

À toute ma famille, en particulier mes sœurs Houria, Chaima et ma jumelle.

À tous mes amis, notamment Yousra, Siwana, Nada, Abeer et Zeina.

A toutes les personnes qui me connaissent et que je connais, notamment la bonne Mme Machia.

A mon cher mari qui n'a cessé de m'encourager et de me soutenir

Et à tous ceux qui aiment les bonnes actions et n'ont pas honte des obstacles de la vie.

Happy ^^

# Liste des figures

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> :les fleurs du Punica granatum .....	4
<b>Figure 2</b> :les feuilles du Punica granatum .....	4
<b>Figure 3</b> : les fruits du Punica granatum .....	4
<b>Figure 4</b> : les graines du Punica granatum .....	5
<b>Figure 5</b> :l'écorce du Punica granatum .....	5
<b>Figure 6</b> :Observation microscopique d'Escherichia. coli .....	7
<b>Figure 7</b> :observation microscopique de Candida. albicans.....	8
<b>Figure 8</b> : Les produits chimiques utilizes .....	10
<b>Figure 9</b> : les milieux de cultures utilisées.....	11
<b>Figure 10</b> : les micro-organismes utilisées .....	11
<b>Figure 11</b> : les appareils et les outils utilisées .....	12
<b>Figure 12</b> :Poudre d'écorce de grenade pure et moulue .....	13
<b>Figure 13</b> :Les étapes de la réalisation de l'extrait d'écorce de la grenade.....	13
<b>Figure 14</b> :Les concentrations obtenues .....	14
<b>Figure 15</b> :Résultats de la CMI de l'extrait de l'écorce de la grenade sur les souches testées ( <b>A</b> : <i>Escherichia. coli</i> , <b>B</b> : <i>Candida. albicans</i> ) .....	18

# Liste des tableaux

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification botanique du grenadier .....	3
<b>Tableau 2:</b> Composition biochimique et valeur nutritionnelle de la grenade .....	6
<b>Tableau 3:</b> Classification phylogénique d' <i>Escherichia. coli</i> .....	8
<b>Tableau 4:</b> Classification de <i>Candida. albicans</i> .....	9
<b>Tableau 5 :</b> résultats de l'essai de l'activité antimicrobienne .....	16

# Liste des abréviations

## Liste des abréviations

---

**Sab** : gélose Sabouraud

**MH** : gélose Muller Hinton

**R** : le rendement

**E. coli** : *Escherichia. coli*

**Can. al** : *Candida. albicans*

**P. granatum L** : *Punica. granatum L*

**H<sub>2</sub>S** : Le sulfure d'hydrogène

**µm** : Le micromètre

**°C** : le degré Celsius

**%** : pour cent

**M.ext** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

**M.ech** : Masse en gramme de l'échantillon végétale

**V** : volume

**g** : gramme

**mm** : millimètre

**ml** : millilitre

**Kcal** : kilocalorie

**Kj** : kilojoule

# Résumé

## Résumé

---

Face à la détérioration des conditions, il n'y a pas d'autre choix pour le monde que de retourner à la nature., vu les effets indésirables des produits chimiques et apparentés. L'un des meilleurs exemples de la nature idéale appropriée est la nature de l'Algérie, telle que le sol algérien fructueux donnant vie à de nombreuses plantes et fruits dont les bienfaits sont très connus, et parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Punica*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules ayant des activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Punica granatum L* qui est considéré comme une plante miracle en raison de leurs teneurs relativement importantes en composés bioactifs. Dans ce cadre, nous avons mené une étude bibliographique sur l'écorce du fruit de *Punica granatum L*, à travers laquelle nous avons collecté les informations essentielles liées à leur aspect botanique, leurs multiples usages, ainsi que leurs activités biologiques. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur 02 souches microbiennes (Levure *Candida. albicans* et la bactérie *Escherichia. coli*), selon la méthode de diffusion de disque. Les résultats indiquent que l'extrait possède une activité antimicrobienne sur les deux souches testées. Par ailleurs, selon les études scientifiques récentes menées sur l'extrait de l'écorce de la grenade, il apparaît que la consommation régulière de pelures de grenade bouillies pourrait prévenir certains facteurs de risque de maladies cardiovasculaires et la santé bucco-dentaire.

**Les mots clés :** plante médicinale, *Punica granatum L* , extrait éthanolique, l'écorce de la grenade l'activité antimicrobienne.

## Absract

---

Faced with deteriorating conditions, there is no choice for the world but to return to nature, given the undesirable effects of chemicals and related products. One of the best examples of the appropriate ideal nature is the nature of Algeria, such as the fruitful Algerian soil giving life to many plants and fruits whose benefits are very well known, and among the medicinal plants that constitute the plant cover, is the genus *Punica*, the latter is widely distributed especially in semi-arid regions. Many species of this genus are used in traditional medicine because they contain several molecules with therapeutic activities, among the best known species is *Punica granatum L* which is considered a miracle plant due to their relatively high levels of compounds. **active-bio**. In this context, we conducted a bibliographic study on the peels of the fruit *Punica granatum L*, through which we collected essential information related to their botanical aspect, their multiple uses, as well as their biological activities. The antimicrobial activity was determined on 02 microbial strains (yeast *Candida albicans* and the bacteria *Escherichia coli*), using the disk diffusion method. The results indicate that the extracts have antimicrobial activity on the two strains tested. Furthermore, according to recent scientific studies carried out on pomegranate extracts, it appears that regular consumption of boiled pomegranate peels could prevent certain risk factors for cardiovascular diseases and oral health.

**Key words:** medicinal plant, *Punica granatum L*, ethanolic extract, the peels of the pomegranate, the antimicrobial activity.

في مواجهة الظروف المتدهورة, ليس هناك خيار أمام العالم غير العودة الى الطبيعة, نظرا للأثار الجانبية الغير مرغوب فيها للمواد و المنتجات الكيميائية. و من أفضل الأمثلة على الطبيعة المثالية و المناسبة طبيعة الجزائر أو بالأخص التربة الجزائرية المثمرة التي تعطي الحياة بفضل الله للعديد من النباتات و الفواكه, و التي فوائدها جد معروفة, و من النباتات الطبية التي تشكل الغطاء النباتي جنس *Punica*. يتم توزيع هذا الأخير على نطاق واسع في المناطق شبه القاحلة. تستخدم العديد من أنواع هذا الجنس في الطب التقليدي لاحتوائها على عدة جزيئات ذات أنشطة علاجية. من أشهر هذه الأنواع نبات *Punica. granatum L* الذي يعتبر نباتا معجزة نظرا لمستويات مركباته العالية نسبيا. و في هذا السياق قمنا باجراء دراسة بيولوجرافية عن قشور ثمرة نبات *Punica. granatum L* جمعنا من خلالها معلومات أساسية تتعلق بجانبها النباتي, و استخداماتها المتعددة فضلا عن نشاطها البيولوجي. تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على سلالتين ميكروبية ( بكتيريا *Escherichia. coli* و خميرة *Candida. albicans*) باستخدام طريقة الانتشار القرصي. تشير النتائج الى أن المستخلصات لها نشاط مضاد للميكروبات على السلالتين المختبرتين. علاوة على ذلك وفقا للدراسات العلمية الحديثة التي اجريت على مستخلصات الرمان, يبدو أن الاستهلاك المنتظم لمغلي قشور الرمان يمكن أن يمنع بعض عوامل الخطر لأمراض القلب, و الأوعية الدموية, و صحة الفم.

**الكلمات المفتاحية :** نبات طبي, المستخلص الايثانولي, قشور الرمان, النشاط المضاد للميكروبات *Punica. granatum L*

# Sommaire

## Sommaire

---

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités sur le grenadier et les souches bactériennes utilisées	
1. Le grenadier.....	3
1.1. Historique.....	3
1.2. Classification botanique.....	3
1.3. Nomenclature.....	3
1.4. Description morphologique de la grenade.....	3
1.4.1. Fleurs.....	3
1.4.2. feuille.....	4
1.4.3. fruites.....	4
1.4.4. graines.....	5
1.4.5. Ecorces du <i>Punica. granatum L.</i> .....	5
1.5. Origine géographique et répartition de la grenade.....	5
1.6. composition biochimique et la valeur nutritionnelle.....	6

## Sommaire

---

1.7. Utilisation thérapeutique.....	7
2. souches bactériennes utilisées.....	7
2.1. <i>Escherichia.Coli</i> .....	7
2.1.1. Définition.....	7
2.1.2. Habitat.....	7
2.1.3. Taxonomie.....	8
2.1.4. Pouvoir pathogène.....	8
2.2. <i>Candida.Albicans</i> .....	8
2.2.1. Définition.....	8
2.2.2. Habitat.....	8
2.2.3. Taxonomie.....	9
2.2.4. Pouvoir pathogène.....	9
Chapitre II : Matériel et méthode	
1. Matériel.....	10
1.1. Matériel du laboratoire.....	10
1.1.1. Produits chimiques.....	10
1.1.2. milieux de cultures.....	11
1.2.3. Micro-organismes.....	11
1.1.4. Appareillages.....	12
1.2. Matériel végétale.....	13
2. Méthode.....	13
2.1. Préparation du matériel végétal.....	13

## Sommaire

---

2.2. Préparation de l'extrait d'écorces de la grenade.....	13
2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	14
2.3.1. Revivification des souches utilisées.....	14
2.3.2. Préparation de l'inoculum.....	14
2.3.3. dilution.....	14
2.3.4. Technique des 4 séries de stries.....	15
2.3.5. Méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques).....	15
Chapitre III : Résultats et discussion	
1. Evaluation antimicrobienne.....	16
2. Détermination de la concentration minimale(CMI).....	18
Conclusion	
Références bibliographiques	



# **Introduction**

## Introduction

---

C'est une grande bénédiction du seigneur tout-puissant qu'il ait créé la plante pour qu'elle contienne de la nourriture, des soins et des médicaments, et maintenant l'homme revient au traitement avec des herbes et des plantes après les avoir abandonnées et découvert que certains médicaments chimiques ont des effets négatifs. Est après avoir été convaincu que le traitement avec les plantes médicinales n'est pas une hérésie et n'est pas un retour vers le passé, mais plutôt une tentative de reconsidérer les plantes et leurs nombreux bienfaits, même les recherches scientifiques des pays développés sont de nouveau réclamées traitement avec des plantes médicinales (Al-Aziz et Najwa, 2000). Parmi les plantes médicinales figurent les dragons qui circulent depuis l'antiquité, Chez les Romains, les *Punica. granatum*, qui appartient à la famille *granatum Punica L*, les grenade Punicaceae, l'art du Saint Coran a été mentionné dans les sourates (Al-Rahman et Al-An'am), et c'est l'un des fruits du paradis.

Le grenadier (*Punica granatum L*) est une plante aux multiples vertus thérapeutiques utilisée dans différents pays. L'étude de cette espèce végétale suscite actuellement un grand intérêt ou divers extraits de son jus, de ses graines, de son écorce et de ses fruits entiers sont utilisés (Serquén *et al*, 2020). Leur richesse en composés efficaces (tanins, acides ellagiques, acides gallic, flavonoides, alcaloides, fluides, phénols), et ces composés ont montré leur efficacité comme antibactériens et antioxydants (Gil, 2000; Mansour, 2013). De même, ses écorces, ses feuilles, ses fleurs et ses racines présentent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, vermifuges, antibactériennes, antifongiques, antitumorales, antivirales et astringentes. Il est même été administrés pour contrôler le diabète, l'hyperlipidémie, l'hypertension, l'artériosclérose, les problèmes bucco-dentaires, l'infertilité féminine, la dysfonction érectile, l'obésité, la maladie d'Alzheimer, la diarrhée et les ulcères (Serquén *et al*, 2020).

Utilisez l'extrait éthanolique contre la bactérie *Escherichia. coli*, il a obtenu de bons résultats en testant l'efficacité de l'extrait de grenade pour contrôler la sensibilité de divers germes (Vascnelos, 2006). La levure *Candida. albicans* est un micro-organisme présent naturellement sur la peau et les muqueuses des individus en bonne santé. Malgré cela, ces champignons opportunistes ont la capacité de provoquer ce que l'on appelle (Candidose) chez environ 30 à 50% des personnes en bonne santé le monde, et la candidose peut se développer à partir d'une infection superficielle chez des personnes en bonne santé jusqu'à une infection, qui menace la vie des individus comme chez les personnes faiblement immunisées (Francois, 2013).

L'objectif principal de ce travail est de réaliser une étude bibliographique actualisé sur l'activité antimicrobienne et les propriétés biologiques du grenadier. Ce mémoire est divisé en trois chapitres : Le premier chapitre est principalement consacré aux généralités sur le grenadier et les

## **Introduction**

---

souches bactériennes utilisées, et le deuxième chapitre traite le matériel et les différentes méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail, et le troisième chapitre a regroupé l'ensemble des résultats obtenus avec leur discussion. Enfin, on terminera notre travail avec une conclusion générale sur les études réalisées.

**Chapitre I:  
Généralités sur le  
grenadier et les  
souches  
bactériennes  
utilisées**

# Chapitre I: Généralités sur le grenadier et les souches bactériennes utilisées

## 1. Le grenadier

### 1.1. Historique

La grenade est l'un des plus anciens fruits comestibles, qui n'a pas trop évolué, depuis la découverte de l'agriculture il y a plus de 1000 ans (Seeram *et al*, 2006; Çam *et al*, 2009). L'histoire de la grenade est liée au développement de l'humanité d'une manière impressionnante. Elle a une place importante dans le Judaïsme, le Christianisme, l'islam, le Bouddhisme et le Zoroastriens (Lansky et Newman, 2007). Il est dit qu'elle avait 613 graines qui représentent les 613 commandements de la Torah, même si cela n'a pas été confirmé dans les temps modernes (Hebert, 2006). Aimée des caravaniers et navigateurs, sa pulpe gorgée d'eau et légèrement acidulée, permet d'étancher la soif durant les longues traversées, elle est le symbole de la vie, fertilité longévité (Amjad, 2005; Lansky et Newman, 2007).

### 1.2. Classification botanique

**Tableau 1:** Classification botanique du grenadier (Wald, 2009)

Ebranchement	Angiospermes
Sous ébranchements	Dicotylédones vraies
Classe	Rosidées
Ordre	Myrtales
Famille	Lythraceae
Genre	Punica
Espèce	<i>Punica granatum</i>

### 1.3. Nomenclature

Sur le marché, le *Punica granatum* . est distribué et commercialisé sous différentes appellations :

- Français : grenadier
- Nom scientifique : *Punica granatum*
- Nom commun : grenade
- Anglais : pomegranate

### 1.4. Description morphologique de la grenade

#### 1.4.1. Fleurs

Aspect froissé et portées par un court pédoncule. Se trouvent soit, solitaire à l'aisselle, des feuilles ou réunies par groupe de deux ou trois au sommet des branches (Hollande *et al*, 2009; Ashton, 2006). Sur le plan de la biologie florale, le grenadier est une espèce monoïque qui développe sur le même arbre , des fleurs hermaphrodites, fertiles en forme de vase, et des fleurs males stériles avec un style très court et des ovaires atrophié, en forme de cloche (Melgarjo et Salazar, 2003), a maturité, les fleurs sont d'un rouge éclatant, pourpre ou grenade selon les variétés mesurant 3 cm de diamètre et ayant 5 à 8 pétales, souvent davantage sur les plantes cultivées Leur

nombre est généralement l'équivalent du nombre de sépale d'après les auteurs (Pande *et al*, 2006; Hmid , 2013; Teixeira da silva , 2004; Holland *et al*, 2009).



**Figure 1.** les fleurs du *Punica granatum*

### 1.4.2. Les Feuilles

Les feuilles du grenadier sont opposées. Elles peuvent avoir une disposition alterne sur les rejets en touffes sur les pousses courtes. Elles sont glabres sur les deux faces. Ces feuilles entières, lancéolées, assez coriaces, et brillantes, présentent un limbe elliptique allongé, de 3 à 8 cm de long. Leur sommet peut être obtus ou allongé. Elles sont munies d'un court pétiole, de 1 à 5 mm de long, qui est généralement rougeâtre dessus (Gil *et al*, 2000).



**Figure 2.** les feuilles du *Punica granatum*

### 1.4.3. Les Fruites

Le fruit du grenadier est un balauste baie, complexe presque ronde et charnue de la taille d'une pomme ou d'une orange. La grenade est une drupe sphérique d'environ 12 cm de large alors que le poids varie entre 200 et 650 grammes, couronnée par un calice persistant. Le sommet de cette couronne est presque fermé à largement ouvert, en fonction de la variété et du stade de maturation. Le fruit est relié à l'arbre par une courte tige (Holland *et al*, 2009). Il comporte trois parties bien distinctes: les graines (environ 3 % du poids du fruit) qui contiennent eux-mêmes 20 % d'huile, le jus (environ 30 % poids du fruit), et la peau qui comprend également les membranes intérieures (Lansky et Newman, 2007).



**Figure 3.** les fruits du *Punica granatum*

### 1.4.4. Les graines

Les graines est la partie comestible du fruit. Elles représentent environ 50 % du poids total d'une grenade, dont 80 % sont des arilles (partie charnue) et 20 % de pépins (partie ligneuse). Les pépins de grenade contiennent 12 % à 20 % de matière grasse par rapport au poids de la graine, avec une prédominance des acides gras insaturés conjugués acide punique (avec une teneur de 31,8- 86,6 %), acide linoléique (0,7- 24,4 %), acide oléique (0,4-17,7 %), acide stéarique (2,8- 16,7 %) et acide palmitique (0,3- 9,9 %). 95 des acides gras sont sous forme estérifié, dont 99 % de triacylglycérols (Lansky et Newman, 2007).



**Figure 4.** les graines du *Punica granatum*

### 1.4.5. Ecorces du *Punica granatum*

L'écorce de la grenade (Oumalicorium) est la partie dure du fruit. Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtres à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquées. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente (Planchon, 1875).



**Figure 5.** l'écorce du *Punica granatum*

## 1.5. Origine géographique et répartition de la grenade

La grenade est l'un des premiers fruits domestiques cultivés depuis l'Antiquité Originare d'Iran et des pays voisins, il se développe progressivement en Asie centrale jusqu'à l'Himalaya, l'Anatolie orientale, le Moyen-Orient et la Méditerranée . Il prospère également en Arizona et en Californie, et a été cultivé dans la région méditerranéenne, en Asie du Sud et dans les pays du Moyen-Orient. Kandahar en Afghanistan est célèbre pour ses grenades de haute qualité. Aujourd'hui, les grenades sont ,cultivées dans la plupart des régions du monde, notamment en Iran, en Espagne, en Italie en Afghanistan, aux États-Unis, en Inde, en Chine, en Russie, en Ouzbékistan,

## Chapitre I: Généralités sur le grenadier et les souches bactériennes utilisées

au Maroc et en Grèce. L'Iran est l'un des plus grands producteurs de grenades au monde (Shaygannia *et al*, 2016).

### 1.6. La composition biochimique et la valeur nutritionnelle

De manière générale, la composition de la partie comestible de la grenade est bien décrite. En ce qui concerne la peau du fruit et les pépins, seules certaines classes de molécules ont été relativement bien étudiées. Chacun de ses compartiments possède des constituants spécifiques dont les teneurs dépendent de la variété, la saison, le stade de maturité, ainsi que du lieu géographique et des conditions de culture (Gil *et al*, 2000; Al-maiman et Ahmad, 2002; Kulkarni et Aradhya, 2005; Mirdehghan et Rahemi, 2007; Schwartz *et al*, 2009).

**Tableau 2:** Composition biochimique et valeur nutritionnelle de la grenade (Wald, 2009)

Composants	Quantité
Energie	68 Kcal 284 KJ
Eau	80.97 g
Glucides	17.17 g
Fibres alimentaires	0.6 g
Calcium	3 mg
Fer	0.30 mg
Magnésium	3 mg
Manganèse	0.12 mg
Phosphore	8 mg
Vitamine B1	0.030 mg
Vitamine B5	0.596 mg
Vitamine B6	0,105 mg
Potassium	259 mg
Sodium	3 mg
Vitamine C	6.1 mg
Vitamine E	1 mg
Zinc	0.12 mg
Protéines	0.95 g

### 1.7. Utilisation thérapeutique

Le grenadier a été utilisé depuis des siècles pour ses vertus thérapeutiques. En médecine Ayurvédique, le grenadier est considéré comme « une pharmacie en soi » et il a été utilisé comme agent antiparasitaire, un « tonique sanguin » et pour traiter les aphtes les diarrhées et les ulcères. Le grenadier a servi aussi de remède pour le diabète dans le système Unani de la médecine pratiquée au Moyent Orient et en Inde (Jurenka, 2008). Les propriétés thérapeutiques potentielles du grenadier sont très variées et incluent, traitement et prévention du cancer, les maladies cardiovasculaires, diabète dysfonctionnement érectile et protection contre les radiations ultraviolettes. Ces activités thérapeutiques sont attribuées à différents mécanismes. La plupart des recherches se sont concentrées sur les propriétés antioxydantes, anticarcinogénique, anti-inflammatoire et antidiabétique du grenadier (Jurenka, 2008).

## 2. Les souches bactériennes utilisées

### 2.1. *Escherichia. coli*

#### 2.1.1. Définition

C'est un bacille à Gram négatif (figure 6) qui se développe sur gélose ordinaire (ex: gélose nutritive). Il est habituellement mobile et pourvu de fimbriae, ayant de métabolisme: respiratoire lorsque les conditions sont aérobies. Les réactions typiques sont les suivantes fermente le glucose, indole+ , uréase-, H<sub>2</sub>S-, lactose+, gazogène, mais ne produit pas d'acétine (Le Minor et Richard, 1993). Au niveaux morphologique l'*E. coli* est un bacille à Gram négatif, de forme bâtonnet droit et à extrémités arrondies, mesurant de 2 à 4 µm de longueur sur 0.4 à 0.6 µm de largeur, mobile grâce à une ciliature péritriche, non sporulée mais parfois capsulée.



**Figure 6.** Observation microscopique d'*Escherichia. coli*

#### 2.1.2. Habitat

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif l'*E. coli* ou colibacille est habituellement une bactérie commensale qui peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Le Minor et Richard, 1993). Les souches d'*Escherichia* responsables d'infection chez l'homme sont différentes de celles qui constituent l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie des adultes et des enfants. (Do Carmo *et al*, 2004).

## 2.1.3. Taxonomie

**Tableau 3:** Classification phylogénique d'*Escherichia. coli*

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Escherichia
Espèce	<i>Escherichia. coli</i>

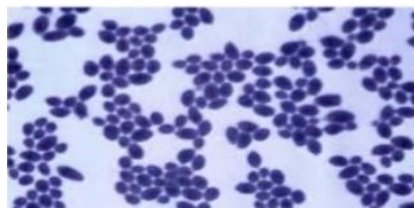
## 2.1.4. Pouvoir pathogène

Cette bactérie est responsable de plusieurs infections telles que: Infections intestinales, Infections urinaires (femme), Infection abdominales, Infections méningées néonatales (Yang *et al*, 2017).

## 2.2. *Candida. albicans*

### 2.2.1. Définition

*Candida. albicans* est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Chu *et al*, 1993) se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) (Graser *et al*, 1996) formant ainsi des colonies blanches crémeuses au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 µm, et est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut retrouver in vitro et vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire (Buffo *et al*, 1984).



**Figure 7.** observation microscopique de *Candida. albicans*

### 2.2.2. Habitat

*Candida. albicans* est un champignon cosmopolite dont les fréquences d'isolement montrent que chez des sujets sains la levure se répartit différemment en fonction des sites de prélèvement: peau (3 %), vagin (13 %), tractus ano-rectal (15 %), cavité buccale (18 %) estomac et duodénum (36 %), et jéjunum et iléon (41 %). Le réservoir principal est donc le tube digestif où la fréquence de portage varie selon les sujets (Mavor *et al*, 2005).

### 2.2.3. Taxonomie

Le genre *Candida* est une micromycète, champignon imparfait (deutéromycète). Il est un organisme eucaryote appartenant au règne des champignons, au phylum des Ascomycètes, au sous-phylum des Saccharomycotina, de la classe des Saccharomycètes, de l'ordre des Saccharomycétales, du groupe des Saccharomycétales mitosporiques (Buffo et Herman, 1984).

**Tableau 4:** Classification de *Candida. albicans*

Règne	Fungi
Division	Ascomycettes
Classe	Saccharomycettes
Ordre	Saccharomycétales
Famille	Cryptococoidae
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<i>albicans</i>

### 2.2.4. Pouvoir pathogène

De nombreux facteurs de virulence sont associés à la pathogénèse de *Candida. albicans* dont les principaux sont les adhésines, des biomolécules favorisant l'adhérence aux cellules de l'hôte, et les protéases aspartiques et les phospholipases, des enzymes hydrolytiques sécrétées par la levure (Calderone et Fonzi, 2001). De plus, la transition morphologique et la commutation phénotypique jouent aussi un rôle important dans la virulence de ce pathogène (Karkowska-Kuleta *et al*, 2009), tous ces facteurs ne semblent pas pouvoir supplanter les défenses de l'hôte normal mais permettent plutôt au pathogène de coloniser les muqueuses. Par contre, chez les patients immunosupprimés, l'équilibre dynamique entre les mécanismes de défense de l'hôte et la levure tourne en faveur de cette dernière, notamment dû à la présence de ces facteurs (Odds *et al*, 1988).

# **Chapitre II: Matériel et méthode**

## Chapitre II: Matériel et méthode

---

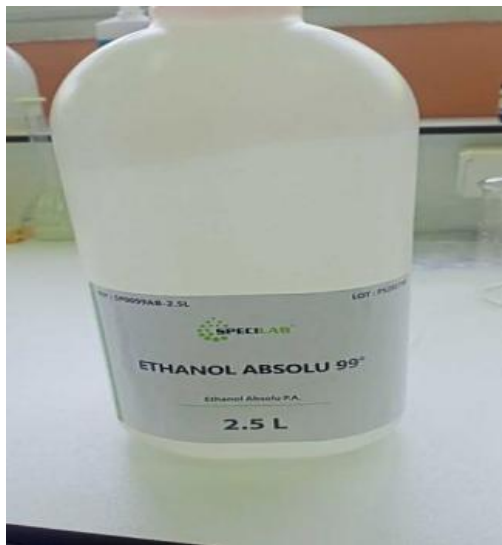
### 1. Matériel.

#### 1.1. Matériel du laboratoire.

Les différents produits chimiques, les milieux de cultures, les micro-organismes et les appareils utilisés au cours de la réalisation de ce travail sont répertoriés dans les tableaux des figures suivants :

##### 1.1.1. Produits chimiques.

**Figure 8:** Les produits chimiques utilisés



Flacon d'éthanol 70%



Eau physiologique

## Chapitre II: Matériel et méthode

### 1.1.2. Les milieux de cultures

**Figure 9:** les milieux de cultures utilisées



Gélose nutritif Gélose  
(pour la revivification)



Muller Hinton  
(pour *Escherichia. coli*)



Gélose Sabouraud  
(pour *Candida. albicans*)

### 1.1.3. Micro-organismes

Ces souches ont été fournies gracieusement par l'unité de la microbiologie du laboratoire privé El-khoudir situé dans la province de Skikda.

**Figure 10:** les micro-organismes utilisées (Bactérie *Escherichia. coli* et levure *Candida. albicans*)



*Escherichia. Coli*



*Candida. albicans*

## Chapitre II: Matériel et méthode

### 1.1.4. Appareillages

Figure 11: les appareils et les outils utilisés



L'étuve



Réfrigérateur



entonnoir de buche



Evaporateur rotatif



Ballon à fond rond  
de 250 ml



Becher  
de différentes tailles



Boîtes de pétri



Tubes à essai



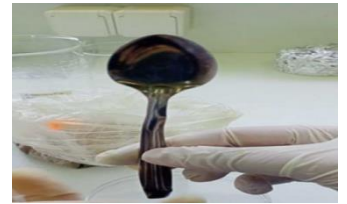
Seringue



Anse de platine



Pince à épiler



Cuillère



Bec bunsen



Balance précise



Portoire



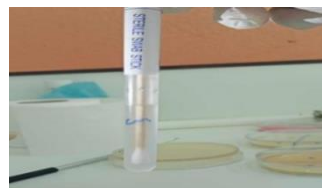
Disques stériles



Papier d'aluminium



Agitateur



Ecouillons



Règle

## Chapitre II: Matériel et méthode

### 1.2. Matériel végétale

Il s'agit d'écorce de grenade, qui sont une poudre apportée d'un magasin vendant des herbes médicinales dans le but de l'étudier.



Figure 12 : Poudre d'écorce de grenade pure et moulue

## 2. Méthode

### 2.1. Préparation du matériel végétal

La collecte de l'échantillon de l'écorce du fruit de *Punica granatum L* a été effectuée gérie dans la région de Skikda.

### 2.2. Préparation de l'extrait d'écorces de la grenade

La préparation a été effectuée par la méthode de la macération, 100 ml d'éthanol avec 50 g de la poudre, mélangé pendant 2h sous agitation continue, les échantillons ensuite sont enveloppés et conservés à 37 °C et restent pendant 24h. Ils ont ensuite été filtrés par entonnoir de buchner. Dans un ballon à fond rond de 250 ml on mettons le filtrat dans l'évaporateur rotatif à une température comprise entre 60 °C- 70 °C, après environ 20 minutes nous obtenons l'extrait éthanolique requis et l'on mettons dans des boîtes de pétri, ensuite on le recouvre de papier d'aluminium en prenant soin de bien le percer, et on le met au l'étuve pendant 48 heures.

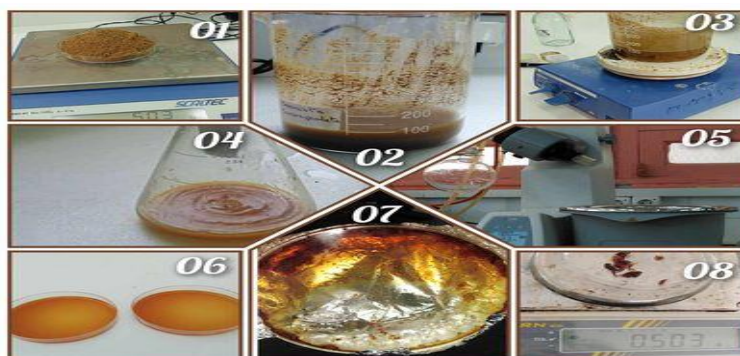


Figure 13 : Les étapes de la réalisation de l'extrait d'écorce de la grenade

## Chapitre II: Matériel et méthode

### 2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne

#### 2.3.1. Revivification des souches utilisées

La revivification est réalisé par épuisement, en étalant les deux souches (*Escherichia. coli* et *Candida. albicans*) à la surface du milieu gélose nutritif. Incubées pendant 24h à température 37 °C dans l'étuve. Chaque micro-organisme déposé se multiplie pour donner un clone de cellules pures et identiques.

#### 2.3.2. Préparation de l'inoculum

On met 5 ml d'eau physiologique dans le tube écouvillon à l'aide d'une seringue. On essuyons la surface d'une colonie pure et clairement isolée des deux souches de la même manière des boîtes de la revivification et placer chaque écouvillon dans un tube et bien les agiter. Puis laissez les suspensions pendant une heure et demie dans l'étuve à une température de 37°C.

#### 2.3.3. La dilution

La dilution a été préparée à partir de la première solution mère comme suivant: 0.5 g de l'extrait dans 4.5 ml d'éthanol, D'après la règle suivante:

1 g de l'extrait —————> 9 ml d'éthanol

0.5 g de l'extrait —————> V ml d'éthanol

$$V = \frac{9 \text{ ml} \times 0.5 \text{ g}}{1 \text{ g}}$$

Donc: V= 4.5 ml

Après on utilisant une dilution au 1/10, cela signifie 1 ml de la solution fille précédent pour 9 ml identiques d'éthanol soit 10 ml de solution fille nouvelle pour obtenir plusieurs concentrations (0.1 - 0.01 - 0.001 - 0.0001 g/ml).



Figure 14 : Les concentrations obtenues

## Chapitre II: Matériel et méthode

---

### 2.3.4. Technique des 4 séries de stries

Tracer sur le fond extérieur de la boîte de pétri (la gélose Sab pour la levure *Candida albicans*, ainsi que la gélose MH pour la bactérie *Escherichia.coli*) deux diamètres perpendiculaires séparant la boîte en quatre secteurs. On déterminant le dépôt initiale pour chaque quadrant. Prélever à l'écouvillon l'inoculum et étaler le prélèvement par stries très serrées. Ensuite, compléter la processus sur le reste de la boîte et la répéter dans le reste des quadrants en prenant soin de tremper l'écouvillon dans le tube après avoir fini d'essuyer chaque côté. Enfin, on essuie tout le périmètre de la boîte de pétri après l'avoir plongée dans le tube-écouvillon.

### 2.3.5. Méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques)

Après l'ensemencement des boîtes, déposer des disques de papier buvard comprenant à chaque fois à une certaine concentration commençant par la solution mère, et les mettre dans le centre de chaque quadrant, et finalement un disque centrale contient l'éthanol. Fermer hermétiquement les boîtes puis les incuber dans l'étuve pendant 48h à 37 °C.

# **Chapitre III:**

## **Résultats et**

### **discussion**

## Chapitre III: Résultats et discussion

### 1. Evaluation antimicrobienne

L'évaluation antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose, dans le but de tester de l'effet des échantillons sur deux souches microbiennes à une concentration de 0.1 g/ml pour l'extrait de l'écorce. Les résultats de l'essai sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 05:** Résultats de l'essai de l'activité antimicrobienne

Souches	Concentration de l'extrait (g/ml)	Diamètres de la zone d'inhibition (mm)
<b>Escherichia coli</b>	0.1	36
	0.01	16
	0.001	15
	0.0001	8
<b>Candida Albicans</b>	0.1	22
	0.01	18
	0.001	16
	0.0001	13
<b>Ethanol</b>	/	17

Le tableau montre l'effet de l'extrait éthanolique d'écorces de la grenade sur la croissance de la bactérie *Escherichia. Coli*, et de la levure *Candida. albicans*.

Il est noté dans le tableau pour les bactéries *E. coli* que les concentrations de l'extrait éthanolique étaient respectivement (0.1 - 0.01 - 0.001 - 0.0001 g/ml) et les diamètres inhibiteurs moyens ont été donnés dans l'ordre suivant (36 - 16 - 15 - 8 mm). La concentration d'extrait éthanolique de 0.1 g/ml donne un taux élevé de diamètre d'inhibition de 36 mm, et pour une concentration d'extrait de 0.0001 g/ml, on trouve le diamètre d'inhibition de 8 mm. Pour la levure *Candida. albicans*, les concentrations de l'extrait éthanolique étaient respectivement (0.1 - 0.01 - 0.001 - 0.0001 g/ml), et les diamètres inhibiteurs moyens ont été donnés dans l'ordre suivant (22 - 18 - 16 - 13 mm). La concentration d'extrait éthanolique de 0.1 g/ml donne un taux élevé de diamètre d'inhibition de 22 mm. On a aussi le diamètre moyen d'inhibition pour l'éthanol, qui a donné une valeur inférieure de 17 mm.

### Chapitre III: Résultats et discussion

---

On trouve que les extraits de la grenade (extrait aqueux éthanologique et méthanologique) à une concentration de 0.1 g/ml montrent une activité antimicrobienne élevée sur *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Reguieg Ysaad et Hammadi, 2017). Les résultats de l'activité antimicrobienne de ces extraits sur les souches *E. coli* corroborent nos résultats. Pour la même étude, la zone d'inhibition trouvée pour la souche *E. coli* est plus élevée à celle trouvée avec notre. (Bendjabeur, 2012). Pour une concentration de 0.1 g/ml l'extrait de la peau de la grenade n'a aucune activité antimicrobienne contre *E. coli*. Ces résultats ont été trouvés aussi par (Alhijna et Bourich, 2017).

La sensibilité des souches Gram- (*E. coli*) est due à la présence d'une fine couche de peptidoglycane perméable aux alcools y compris l'éthanol présent dans l'extrait. Cependant pour Gram+ la présence d'une paroi épaisse de peptidoglycane empêche la pénétration de substances antibactériennes solubilisées dans l'éthanol (Balentine et al, 2006). Observé que les extraits éthanologiques de grenade pouvaient inhiber.

Pour les *Candida albicans* l'efficacité de l'extrait éthanologique d'écorces de grenade pour inhiber les cellules de la levure est due au fait que les écorces de grenade contiennent de nombreux composés actifs ayant un rôle antifongique. L'effet inhibiteur des écorces de grenade peut être due à leur teneur en polyphénols qui peuvent interférer avec les cellules de la levure *Candida albicans* (Ahmed, 2013). Les phénols ont également la capacité de capter les ions minéraux nécessaires à la croissance des champignons grâce aux métalloprotéases, notamment l'ion  $Fe^{2+}$  (Yordanov, 2008), en plus de leur capacité à modifier afin que ces molécules puissent pénétrer dans la bicouche lipidique de la paroi cellulaire fongique (Saija, 1995), et une fois entrés, ils provoqueront une modification de la perméabilité des ions de la paroi dans la cellule, conduisant à la mort cellulaire (Cushnie, 2005), et l'effet inhibiteur des phénols est probablement dû à leur absorption par la membrane cellulaire et à leur interaction avec les enzymes et les ions métalliques (Lamar, 2008).

L'effet inhibiteur de l'extrait éthanologique d'écorce de grenade pourrait être dû aux écorces contenant des punicalaines et l'ellagitannine. Il a montré sa capacité à éliminer le Fer, ce qui stimule les réactions d'oxydation à l'intérieur de la cellule microbienne (Endo, 2010; Kulkarni, 2007), et les tanins contenus dans les écorces de grenade jouent un rôle dans la précipitation des protéines présentes dans la paroi cellulaire de différents types de levures *Candida albicans*. Outre leur capacité à déstabiliser le cytoplasme et la membrane plasmique, à inhiber les enzymes extracellulaires nécessaires au métabolisme cellulaire et à la carence en nutriments nécessaires à la croissance des microbes (Ikigai, 1993; Puupponen, 2004; Vasconcelos, 2003).

## Chapitre III: Résultats et discussion

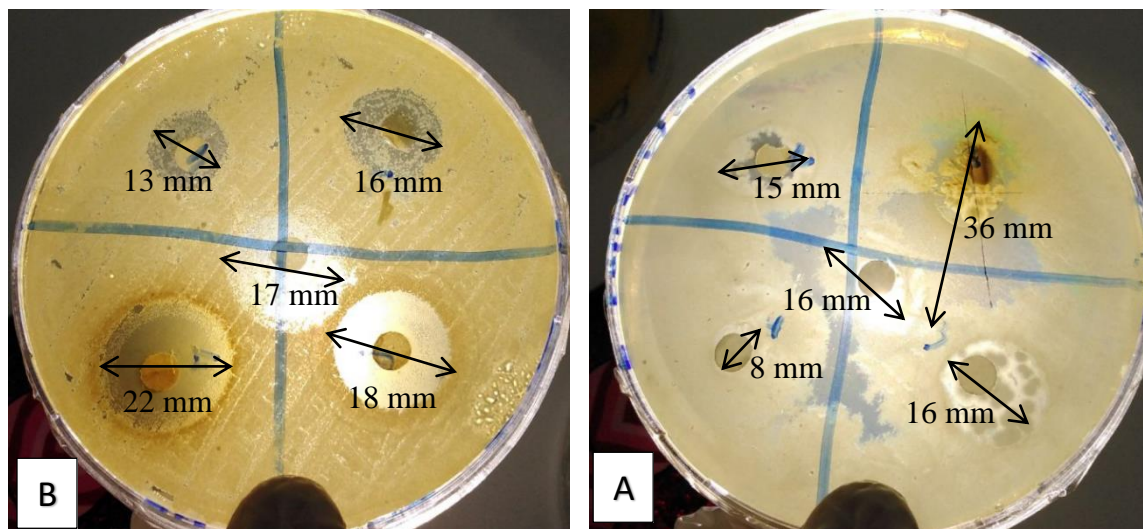
L'activité antimicrobienne de l'extrait d'écorce de la grenade est due aux divers agents chimique présents dans ce dernier, y compris les flavonoïdes, les tanins ainsi que d'autres composés phénoliques qui sont classés comme composés antibiotiques hautement actifs (Reguieg Ysaad et Hammadi, 2017). Ainsi (Cowan.1999) a suggéré que les propriétés antimicrobiennes des tanins pourraient être liées à leur capacité d'inactiver les adhérences microbiennes, les enzymes et les protéines de transports d'enveloppe de cellules, leur complexité avec les polysaccharides et leur capacité de modifier la morphologie des micro-organismes.

Nous en concluons que plus la concentration de l'extrait éthanolique d'écorces de la grenade est élevée, plus le diamètre de la zone inhibitrice est grand. Ce qui indique l'effet répulsif efficace de l'extrait éthanolique d'écorce de la grenade en tant qu'inhibiteur antifongique de la levure *Candida. albicans*, et antibactérienne de la bactérie *Escherichia. coli*.

### 2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

L'analyse des résultats des CMI déterminé en utilisant la méthode des dilutions dans un milieu gélose confirme les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur disque.

Selon les résultats de la figure 11, il apparaît que les dilutions allant de 0.1 à 0.0001 ml de l'extrait de l'écorce de grenade exercent une activité inhibitrice sur les deux souches testées (*Escherichia. coli* et *Candida. albicans*).



**Figure 15:** Résultats de la CMI de l'extrait de l'écorce de la grenade sur les souches testées (**A:** *Escherichia. coli*, **B:** *Candida. albicans*)

### Chapitre III: Résultats et discussion

---

Les deux souches montrent des CMI qui sont pour l'*E. coli* = 8 mm, et pour *Candida albicans* = 13 mm) avec une concentration de 0,0001g/ml ce qui explique la similarité des diamètres de zones d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur disque.

Les propriétés antimicrobiennes des tanins pourraient être liées à leur capacité d'inactiver les adhérences microbiennes, les enzymes et les protéines de transports d'enveloppe de cellules, leur complexité avec les polysaccharides et leur capacité de modifier la morphologie des microorganismes (Cowan, 1999). (Machado *et al*, 2003; Naz *et al*, 2007; Al-zoreky, 2009) ont suggéré que le mécanisme responsable de la toxicité des composés phénoliques sur les microorganismes est lié à la réaction de ces composés aux groupes sulfhydriques des protéines ce qui engendre l'indisponibilité des substrats aux microorganismes, de plus les polyphénols interfèrent avec les sécrétions protéiques bactériennes.

# Conclusion

---

## Conclusion

---

### Conclusion

La zone d'inhibition la plus importante a été observée avec l'extrait éthanolique dans la zone 1 à une concentration de 0.1 g/ml vis-à-vis à la souche de *Candida. albicans*, et notamment à une concentration de 0.1 g/ml dans la zone 1 vis-à-vis à la souche d'*Escherichia. coli*. Les zones les plus sensibles aux extraits éthanoliques d'écorce de la grenade. Vu la richesse d'écorce de la grenade en molécules bioactives, plusieurs recherches ont étudié l'effet antimicrobien d'écorce de fruit de *Punica granatum*. Le test d'activité antimicrobienne de l'extrait s'est montré actif sur tous les microbes et les zones d'inhibition augmentent en fonction de l'augmentation de la concentration en extrait. Sur les microbes pathogènes en utilisant la diffusion sur gélose pour déterminer les diamètres des zones d'inhibition et la méthode de microdilution en milieu liquide pour préciser les concentrations minimales inhibitrices CMI. Les résultats de ces travaux montrent que les extraits d'écorce de la grenade est un puissant inhibiteur des bactéries pathogènes telle que *Escherichia coli*, et des levures telle que *Candida. albicans*. L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antimicrobiennes des extraits d'écorce de la grenade. Il est important de compléter ces recherches par des études in situ pour vérifier l'efficacité des extraits naturels dans les différentes matrices alimentaires. Des études toxicologiques sont également nécessaires pour assurer la sécurité sanitaire de ce genre de produit.

# **Références bibliographiques**

---

#### A

- . Al-Aziz A, Najwa H. 2000 \_Traitement à base de plantes. Bibliothèque Al-Safaa, Le Caire, pp. 1-5.
- . Al-MAIMAN SA et AHMAD D. (2002). Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. *Food Chemistry*, 76, 437-441.
- . Amjad H. (2005). POMEGRANATE : Anatomy Of A Divine Remedy. éd Lulu.com, 126 p.
- . AL-ZORKY N.S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels *International Journal of Food Microbiology*, 134, 244-248.
- . Almi, A., Korichi, R., Bradai, L., & Bissati, S. (2020). Première étude de la biologie d'un nouveau prédateur *Deudorix livia* (Lepidoptera, Lycaenidae) sur grenadier en Algérie. 151, 97,104.

#### B

- . Buffo, J., Herman, M. A. and Soll, D. R., A characterization of pH-regulated dimorphism in *Candida albicans*. *Mycopathologia* 1984. 85: 21-30.3.

#### C

- . COWAN M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564-582.
- . Chu, W. S., Magee, B. B. and Magee, P. T., Construction of an SfiI macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. *J Bacteriol* 1993. 175: 6637-6651.
- . Calderone RA & Fonzi WA. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in microbiology* 9, 327-335.
- . Cushnie, TPT et Lamb, AJ (2005). Revue : Activité antimicrobienne des flavonoïdes. *Internet J. Agents antimicrobiens*. 26 : 343-356.
- . Çam M., Hisil Y. et Durmaz G. (2009). Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, 112 : 721–726.

#### D

- . Do Carmo L.S., Cummings C., Roberto Linardi V., Souza Dias R., Maria De Souza J., De Sena M.J., Aparecida Dos Santos D., Shupp J.W., Karla Peres Pereira R., Jett M. (2004). A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident. *Foodborne Pathogens & Disease*. 1: 241-246.

---

## E

- . Endo, E.H. ; Cortez, D.A.G. ; Ueda Nakamura, T. ; Nakamura, C.V. et Filho B.P.D. (2010). Antifongique puissant d'extraits et de composés purs isolés d'écorces de grenade et synergie avec le fluconazole contre *Candida albicans*. Res.Microbien. 161(7):534-540.

## G

- . GIL MI., TOMAS-BARBERAN F.A., HESS-PIERCE B., HOLCROFT D.M, KADER A.A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal Agricultural Food Chemistry, 48(10) :4581-4589.

## H

- . Havsteen, BH (2002). La biochimie et l'importance médicale des flavonoïdes. Pharmacol. Thérapeute. 96 : 67-2002.
- . Hartman R. E., Shah A., Fagan A. M., Schwetye K. E., Parsadonian M., Hebert D. (2006). Preface. In : Pomegranates Ancient Roots to Modern. Medicine CRC Press Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants—industrial profiles, 263p, ISBN: 0- 8493-9812-6.
- . Holland, D, Hatib, K, & Bar-Ya'akov, I. (2009). Pomegranate : Botany, horticulture, breeding. Horticultural reviews, 35, 127,191.
- . Hmid, I. (2013). CONTRIBUTION A LA VALORISATION ALIMENTAIRE DE LA GRENADE MAROCAINE (*Punica Granatum L.*): CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUE, BIOCHIMIQUE ET STABILITE DE LEUR JUS FRAIS [Phdthesis, Université d'Angers].

## J

- . Jurenka JS,(2008); Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*); a review. Altern Med Rev. Jun;13(2).

---

## K

- . KULKARNI A.P et ARADHYA S.M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food chemistry*, 93, 319-324.
- . Kulkarni, AP; Mahal, HS ; Kapoor, S. et Aradhya, SW (2007). In Vita étude l'action liante, antioxydante et cytotoxique de la punicalagine. *J. Agricul. et chimiste alimentaire*. 55 (4) : 1491-1500.
- . Karkowska-Kuleta J, Rapala-Kozik M & Kozik A. (2009). Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. *Acta biochimica Polonica* 56, 211-224.

## L

- . Le Minor L., Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. *Institut Pasteur*.120:86-99.
- . Lansky E. et Newman R. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*.109: 177–206.
- . Lamar, AS ; Fonseca, G. ; Fuentes, J. Cozzi, R. ; Cundavi, E. ; Fiore, M. ; Ricody, R. ; Perticone, P. ; Degrassi, F. et Salvia, R. (2008). Évaluation du risque génotoxique des extraits de fruits entiers de *Punica granatum* L. (Punicaceae). *J. Ethnopharmacol.* 115 : 416-422.
- . Lairini, S., Bouslamti, R., Zerrouq, F., & Farah, A. (2014). Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante (Enhancement of the aqueous extract of the bark of *Punica granatum* fruit through the study of its antimicrobial and antioxidant activities). *Journal of Materials and Environmental Science*, 5, 2314-2318.

## M

- . MACHADO T.B., PINTO A.V., PINTO M.C.F.R., LEAL I.C.R., SILVA M.G., AMARAC A.C.F., KUSTER R.M. et NETTO-DOS SANTOS K.R. (2003). In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 21, 279-284.

- 
- . Mavor, A. L., Thewes, S. and Hube, B., Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. *Curr Drug Targets* 2005. 6: 863-874.
  - . MIRDEHGHAN S.H et RAHEMI M. (2007). Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111,120-127.

#### N

- . NAZ S., SIDDIQI R., AHMAD S., RASOOL S. et SAYEED S. (2007). Antibacterial activity directdisolation of compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Sciences*, 72, 341-345.

#### O

- . Odds, F.C. 1988. *Candida and candidosis*. Baillière Tindall, London, United Kingdom.

#### P

- . Planchon G et Collin E. (1875). *Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale*. Librairie F. Savy. Tome I. Pages 235-236 et 307-308. In : Wald E. *Le grenadier(PunicaGranatum) : Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes*. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Nancy 1 : Université Henri Poincare, p158.
- . Puupponen Pimia, R. ; Nohynek, L. ; Alkomi, H. et Oksman Caldontey, K. (2004). Les baies bioactives composent de nouveaux outils contre les agents pathogènes humains. *Appl. Microbiol. Biotechnologie*. 67 : 8-18.

#### R

- . REGUIEG YSSAAD A et HAMMADI K. (2017). In Vitro Antimicrobial Activity of Phenolic Extracts of the Pomegranate (*Punica granatum*). *American Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4 (6), 100-107.

#### S

- . Saija, A. ; Scalese, M. ; Lanza, M. ; Marzullo. D.; Bonina, F, et Castelli, f. (1995). Les flavonoïdes comme antioxydants : importance de leur interaction avec les biomembranes. *Radic libre. Biol. Méd.* 19 : 481-486

- 
- . Seeram N. P., Risa N. S. et Heber D. (2006). Pomegranates Ancient Roots to Modern. Medicine CRC Press Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants–industrial profiles, 263p, ISBN : 0-8493-9812-6.
  - . SCHWARTZ E., TZULKER R., GLAZER I., BAR-YA'AKOV I., WIESMAN Z., TRIPLER E., BAR-ILAN I., FROMM H., BOROCHOV-NEORI H., HOLLAND D. et AMIR R. (2009). Environmental conditions affect the color, taste, and antioxidant capacity of 11 pomegranate accessions' fruits. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 57 (19), 9197-9209.
  - . Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). A review study on *Punica granatum* L. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 21(3), 221-227.
  - . Serquén, L. M., Mantilla, M. C. M., & Osoreo, S. A. I. (2020). Susceptibilidad de "candida albicans" a extracto etanólico de cáscara de "punica granatum". *Medicina naturista*, 14(1), 59-64.

#### T

- . Teixeira da silva .(2004) .Méthode rapide d evaluation du contenu en composés phénolique des organes d'un arbre foustier .Le cahier des techniques de l Inra Pp79-82.

#### W

- . Wald E. (2009).Le grenadier (*Punica granatum*) : plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie. Nancy 1 : université HENRI POINCARÉ -Nancy 1, 158 pages.

#### Y

- . Yordanov, M. ; Dimitrova, P. ; Patkar, S. ; Saso, L. et Ivanovska, N. (2008). Inhibition de l'activité enzymatique extracellulaire de *Candida albicans* par des substances naturelles sélectionnées et leur application dans l'infection à *Candida*. *Candidian J. Microbiol.* 54 : 435-440.
- . Yang S.-C., Lin C.-H., Aljuffali I.A., Fang J.-Y. (2017). Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology.* 199:811-825.