

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955 - سكيكدة

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 : Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée

Intitulé :

L'effet antimicrobien de l'infusé de « *punica granatum.L* » et
« *juglans regia.L* »

Présenté Par :

DIRI Widad & KHOUDER Nessaiba & LARKEM Cheima

Membre de Jury:

Mme. NOUASSRIA Djaouida	(MCB)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. SAKHRAOUI Nora	(MCA)	Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. ZADRI Fathia	(MCB)	Examineur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾

(وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتٍ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ)

الأنعام (99)

Remerciements

Avant toutes choses, nous remercions "ALLAH", tout puissant, pour m'avoir donné la force, la patience, le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

Prière et salut sur notre prophète MOHAMMED

Nous adressons nos sincères remerciements tout particulièrement à notre promoteur Dr

Sakhracui Nora d'avoir accepté de nous encadrer

pour la confiance, nous le remercions pour sa disponibilité et son aide tout long de ce travail, ces conseils, critiques constructives. n'oublions pas Dr Maachia pour son aide, nous lui donnons tous merci et amour.

A toute l'équipe du laboratoire de la microbiologie et la biochimie veuillez accepter nos remerciements les plus sincères.

A les jury nous sommes très honorés de vous avoir comme présidents du jury de notre mémoire.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire, et tous ceux qui nous ont donné de l'espoir et qui nous ont souri et à tous ceux qui sont en sécurité que nous arriverons.

Un grand merci à tous.

Dédicace

Je dédie ce travail à

Mes chers parents .

Mes chères sœurs et frères .

Toute ma famille .

Mes amis ; et collègues .

Tous les proches de mon cœur .

A tous ceux qui aiment la sciences .

Cheima



Dédicace

Je dédie ce travail:

A mes très chers parents pour leur amour, soutien et encouragements. Qui ont toujours cru en moi.

- Pour l'occasion je remercie infiniment mon frère Abd El Rahman et ma sœur Sara.

- A toute ma famille pour leurs soutien et surtout leurs encouragement chacun à son nom : ma tante souheila , ma tante Ratiba, Mon oncle Hocine, mes cousins Samir et Fathi, Mehdi

- A mes chers amies: Marwa, Nessaiba, Cheima, Sultan .

WSDAD



Dédicace

Je dédie ce travail À l'être le plus chère dans ma vie, à celle qui m'a donné la vie, celle qui s'est sacrifiée durant de longues années, celle qui a tant donnée ... sans demander en revanche Les mots s'épuisent maman ! Mais même en remplissant des pages entières, je demeurerai ingrat à ton égard. Je te dis tout simplement que tu es la perle qui orne ma vie et au - delà et que ma réussite est la tienne

À mon très chère père Rachid, Je voulais te dire combien tu comptes pour moi. Ta patience, ta gentillesse et ta bienveillance m'ont toujours inspiré et encouragé à être un meilleur être humain. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi et tout ce que tu continues de faire. Je t'aime infiniment.

À mes chère frère Radoune, Hessem, Seif eddine et fares.

À mes chères sœurs Mira, Zahra et ma belle sœurs Nadjet

À mes chère amies : Amira, Djouhaina, Imane, Khawla, Manel, Bessma, Cheima, Widad, Rahma et Abir, vous êtes des rayons de soleil dans ma vie, un soutien sans faille et une source constante de bonheur et d'inspiration. Merci d'être toujours présents à mes côtés, de partager vos sourires et vos rires avec moi, et de faire de chaque jour une aventure mémorable. Je vous adore tous et je suis très reconnaissant de vous avoir dans ma vie.

À tout ma familles.

À moi-même.

Nessaiba



SOMMAIRE

Listes des abréviations.

Listes des tableaux.

Listes des figures.

Résumé.

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE 01: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le grenadier 3

1.1. Description..... 3

1.2. Taxonomie 4

1.3. Origine et Répartition géographique 4

1.4. Phytothérapie traditionnelle..... 5

1.5. Maladies traitées par *Punica granatum*.L..... 5

1.6. Utilisation thérapeutique..... 5

1.6.1. Activité antimicrobienne 5

1.6.2. Activité antioxydant 5

1.6.3. Activité anti cancérogène 6

1.6.4. Activité anti inflammatoire 6

2. *Juglans regia* 6

2.1. Description 6

2.2. Taxonomie 7

2.3. Répartition géographique 7

2.2. Propriétés thérapeutiques..... 7

3. Les méthodes d'utilisation des plantes médicinales..... 8

3.1. L'infusion 8

3.2. La macération 8

3.3.	Décoction.....	8
3.4.	Les poudres.....	8
3.5.	Fumigation.....	8
3.6.	Cataplasme.....	8
4.	L'activité antimicrobienne.....	8
4.1.	Les antibiotiques :.....	9
4.2.	Les microorganismes.....	9
4.3.	La résistance aux antibiotiques.....	9

CHAPITRE 02 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.	Matériels.....	10
1.1.	Matériel végétale.....	10
1.2.	Microorganismes utilisés.....	11
1.3.	Matériel de laboratoire.....	11
2.	Les méthodes.....	13
2.1.	Préparation de l'extrait.....	13
2.2.	L'isolement.....	14
2.3.	Méthode de diffusion.....	14
2.3.1.	Le principe de la méthode.....	14
2.3.2.	Préparation des suspensions bactériennes.....	16
2.3.3.	Préparation des disques.....	16
3.	Lecture des résultats.....	18

CHAPITRE 03 : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1.	Résultats.....	19
1.1.	Préparation de l'extrait.....	19
1.2.	L'aromatogramme.....	19
1.3.	Interprétation de l'aromatogramme.....	25
2.	Discussion.....	31

CONCLUSION.....33

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des abréviations

% : Pourcentage.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
AM : Ampicillin.
C° : Degré Celsius.
CAZ : Cefazoline.
CIP : Ciprofloxacine.
CI10 : colistine.
Cm : Centimètres.
CT10 : Cloxaline
g : Gramme.
h : heure.
K7 : kanamycine.
min : Minute.
ml : Millilitre.
mm : millimètre.
MH : Miller Hinton
OMS : Organisation mondiale de la santé.
Ox : Oxaciline.
p 10 : Pénicilline.
P30 : Pénicilline
V30 : Vancomycine.
Van : Vancomycine.

Liste des tableaux

Tableau 01 : rendement de l'infusé.	P19
Tableau 02 : Propriétés organoleptiques des extraits	P19
Tableau 03 : les diamètres des zones d'inhibitions de croissance chez les souches testées sur <i>Punica granatum.L.</i>	P27
Tableau 04 : les diamètres des zones d'inhibitions de croissance chez les souches testées sur <i>Juglans regia.L.</i>	P28

Liste des figure

Figure 01 : Feuilles et Fleurs de <i>Punica granatum</i> .L.	3
Figure 02 : Aspect du fruit et des graines de <i>Punica granatum</i>	3
Figure 03 : Maladies traitées par <i>Punica granatum</i> (Herber et al. 2006).	5
Figure 04 : déférents partie de noyer (Benhomme 2019).	7
Figure 05 : la situation géographique de la région de Benizid	10
Figure 06 : Le matériel végétal utilisé lors de cette étude.	11
Figure 07 :préparation de l'extrait végétal.	13
Figure 08 : les dilutions du <i>Punica granatum</i> .L (à gauche) et du <i>Juglans regia</i> .L. (à droite).14	14
Figure 9 : Méthode des arommatogrammes sur boite de Pétri (Zaika 1988).	15
Figure 10 : les suspension bactérienne (à gauche) et suspension trouble (à droite).	16
Figure 11 : Disques stériles	17
Figure 12 : l'arommatogramme.	18
Figure 13 : l'activité antibactérienne de l'extrait de grenadier sur <i>Escherichia coli</i>	20
Figure 14 : l'activité antibactérienne de l'extrait de grenadier sur <i>Klebsila pneumonie</i>	20
Figure 15 : l'activité antibactérienne du grenadier sur <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Figure 16 : l'activité antibactérienne de grenadier sur <i>Enterococcus sp</i>	21
Figure 17 : l'activité antifongique de grenadier sur <i>Candida albicans</i>	22
Figure 18 :l'activité antibactérienne du noyer sur <i>Escherichia coli</i>	22
Figure19 : l'activité antibactérienne de noyer sur <i>klebsila pneumonie</i>	24
Figure 20 : l'activité antibactérienne du noyer sur <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Figure 21 : l'activité antimicrobien de noyer sur <i>Enterococcus</i>	24
Figure 22 :l'activité antifongique de noyer sur <i>Candida albicans</i>	25
Figure 23 : schéma comparant l'activité antimicrobienne des deux extrait sur les déférentes souches (4 Bactérie, 1 Levure).	30

ملخص

يتزايد استخدام النباتات الطبية لاستخراج المكونات النشطة أكثر فأكثر، ولقد تمكن الباحثون من تخيل العديد من العلاجات القائمة على العلاجات التقليدية البسيطة.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات المائية لنباتين طبيين ، الرمان (*Punica granatum.L.*) والجوز (*Juglans regia*) ، تم الحصول عليهما بتقنية النقع (من لحاء فاكهة الرمان ولحاء جذع الجوز). تم إجراء تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام تقنية انتشار القرص ، وغالبًا ما تستخدم في الفحوصات الروتينية ، على 8 سلالات بكتيرية: الإشريكية القولونية (3 سلالات) ، كليبيلا (3 سلالات) ، والمكورات العنقودية الذهبية (سلالة واحدة) والمكورات المعوية (سلالة واحدة) ، وسلالة من الخميرة (*Candida albicans*).

أظهرت النتائج أن المستخلصات المائية لها نشاط مضاد للميكروبات معتدل. يعتبر مستخلص الجوز هو الأكثر نشاطًا في السلالات المختبرة مع أقصى قطر تثبيط 18 مم ضد *Enterococcus sp* في التخفيف 1/2 ، بينما يمتلك مستخلص الرمان أفضل قوة مضادة للجراثيم ضد *Escherichia coli* بقطر 10 مم ، في التخفيفات 4/1 و 6/1.

أكدت هذه النتائج أهمية استخدام هذين النباتين في علاج الأمراض المختلفة. لذلك فإن الرمان والجوز المنقوع لهما نشاط مضاد للميكروبات واضح إلى حد ما ويمكن استخدامهما لهذا التأثير سواء للاستخدام الداخلي أو الخارجي. ومع ذلك ، هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتحديد الجزيئات النشطة بيولوجيًا وتقديم معلومات دقيقة تتعلق بالآليات الجزيئية المسؤولة عن هذه التأثيرات.

الكلمات المفتاحية: الرمان، الجوز، النقع، النشاط المضاد للميكروبات، سلالة ممرضة، انتشار الاقراص، تثبيط.

Résumé

L'utilisation des plantes médicinales pour l'extraction des principes actifs augmente de plus en plus et les chercheurs ont pu imaginer plusieurs soins basés sur des traitements traditionnelles simples.

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne d'extraits aqueux de deux plantes médicinales, le grenadier (*Punica granatum*) et le noyer (*Juglans regia*), obtenus par la technique de l'infusion (de l'écorce du fruit du grenadier et l'écorce du tronc du noyer).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la technique des disques ou Aromatogramme, souvent utilisé pour les contrôles de routine, sur 8 souches bactériennes appartenant à *Escherichia coli* (3 souches), *Klebsilla pneumonie* (3 souches), *Staphylococcus aureus* (1 souche) et *Enterococcus sp* (1 souche), et une souche de levure (*Candida albicans*).

Les résultats ont montré que les extraits aqueux ont une activité antimicrobienne modérée. L'extrait du noyer est le plus actif sur les souches testées avec un diamètre maximal d'inhibition de 18 mm vis-à-vis de l'*Enterococcus sp* à la dilution 1/2 ; alors que l'extrait du grenadier a le meilleur pouvoir antibactérien contre *Escherichia coli* avec un diamètre de 10mm à la dilutions 1/4, et 1/6.

Ces résultats ont confirmé l'intérêt de l'utilisation de ces deux plantes dans le traitement de diverses maladies. L'infusé du grenadier et du noyer possède donc une activité antimicrobienne assez prononcée est peut être utilisé pour cet effet que ce soit par usage interne ou externe. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier les molécules bioactives et donner des informations précises relatives aux mécanismes moléculaires responsables de ces effets.

Mots clés : *Punica granatum*, *Juglans regia*, infusion, activité antimicrobienne, souches pathogènes, aromatogramme, inhibition.

Abstract

The use of medicinal plants to extract active ingredients is increasing all the time, and researchers have come up with a number of treatments based on simple traditional treatments.

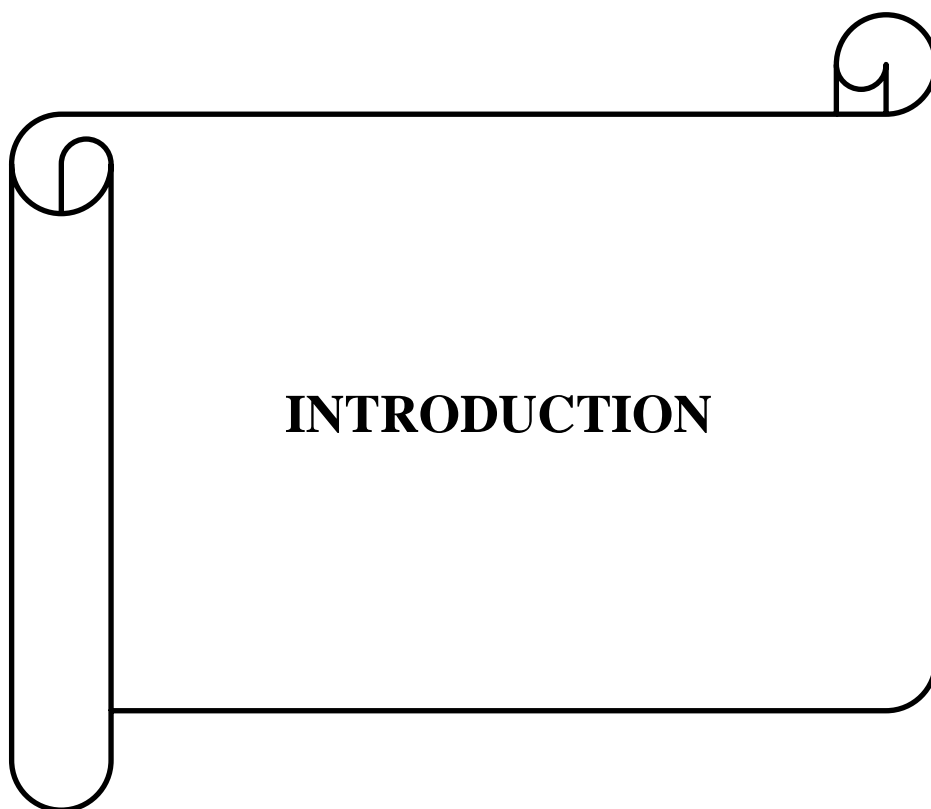
The aim of this study was to assess the antimicrobial activity of aqueous extracts from two medicinal plants, pomegranate (*Punica granatum*) and walnut (*Juglans regia*), obtained using the infusion technique (from the fruit bark of the pomegranate and the trunk bark of the walnut).

Antimicrobial activity was assessed using the disc or Aromatogram technique, often used for routine controls, on 8 bacterial strains belonging to *Escherichia coli* (3 strains), *Klebsilla pneumonia* (3 strains), *Staphylococcus aureus* (1 strain) and *Enterococcus sp* (1 strain), and one yeast strain (*Candida albicans*).

The results showed that the aqueous extracts had moderate antimicrobial activity. Walnut extract was the most active on the strains tested, with a maximum inhibition diameter of 18 mm against *Enterococcus sp* at dilutions of 1/4 ; while pomegranate extract had the best antibacterial power against *Escherichia coli* with a diameter of 10 mm, at dilutions of 1/4 and 1/6.

These results confirmed the value of using these two plants in the treatment of various diseases. Infused pomegranate and walnut therefore have fairly pronounced antimicrobial activity and can be used for this purpose, either internally or externally. However, further research is needed to identify the bioactive molecules and provide precise information about the molecular mechanisms responsible for these effects.

Key words: *Punica granatum*, *Juglans regia*, infusion, antimicrobial activity, pathogenic strains, aromatogram, inhibition



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis leur création, les antibiotiques ont été la méthode de choix pour lutter contre les infections bactériennes. Cela a considérablement réduit le taux de mortalité associé aux maladies infectieuses au 20^{ème} siècle (**Azumi 1997**).

Le mot antibiotique signifie contre la vie et à été inventé par Waksman (**Yano et al. 2006**). Ce sont des substances chimiques produites par des micro-organismes. Ces substances ont la capacité d'inhiber la croissance ou le développement de d'autres micro-organismes (bactéries, champignons...etc) (**Khiati 1998**).

Lorsque la thérapie à la pénicilline a été pratiquée pour la première fois, on croyait que la bataille contre les agents pathogènes avait été gagnée. D'autres antibiotiques ont été découverts ou créés par la suite et l'efficacité remarquable de ces substances s'est accompagnée de leur usage massif et d'une surconsommation conduisant à l'émergence des micro-organismes résistants (**Hamza 1993 ; Ben et al. 2005**). Avec cette émergence, l'homme s'est trouvé confronté à un autre problème aussi grave que les maladies infectieuses.

Selon (OMS), la résistance aux antibiotiques devient une urgence de santé publique dont la proportion est encore inconnue, par conséquent, il devient extrêmement important de découvrir et de développer des agents antimicrobiens efficaces ou des stratégies de lutte contre cette résistance aux antibiotiques.

Au fil des siècles, les pratiques humaines ont su développer les connaissances relatives à l'utilisation des plantes médicinales dans le but de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé humaine. Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise, non seulement, sa nourriture mais aussi des substances actives habituellement bénéfiques à son organisme. Les plantes étaient toujours à la base de nombreux remèdes, et sont encore utilisées pour traiter différentes maladies.

De nos jours plus de 4000 espèces de plantes sont utilisées en médecine traditionnelle et en médecine moderne (**Yano et al.2006**). En effet, 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (**Ashngar et al. 2007**).

INTRODUCTION

Ces dernières années, le rôle des plantes médicinales dans la santé humaine a suscité une attention accrue et plusieurs recherches ont eu à investiguer différentes plantes en vue d'évaluer leur activité antimicrobienne, d'identifier et d'isoler leurs principes actifs pour confirmer l'usage traditionnel.

C'est dans ce contexte que notre travail a été réalisé, dans lequel nous avons essayé de tester l'activité antibactérienne du noyer (*Juglans regia*) et du grenadier (*Punica granatum*), deux plantes alimentaires et médicinales largement connues pour leurs vertus thérapeutiques et leur importante utilisation en Algérie.

Pour mener à bien ce travail, il a été divisé en trois principales parties :

- La première partie est relative à l'étude bibliographique dans la quelle nous avons présenté des généralités sur les deux plantes médicinales, leurs différents modes d'utilisation et les diverses activités biologiques ;
- La deuxième partie représente la partie expérimentale où nous présentons les techniques utilisées et toutes les démarches ayant été suivies pour arriver aux buts préalablement tracés ;
- Dans la troisième partie, les résultats obtenus sont rapportés et discutés à la lumière de la littérature disponible. Enfin, le travail est clôturé par une conclusion.

1. Le grenadier

L'espèce fruitière du grenadier compte parmi les plus anciennes au monde. De nom latin *Punica granatum* L. Est un fruit qui est largement utilisée dans l'alimentation humaine, l'industrie et dans des multiples applications thérapeutiques aussi dans la recherche médicale.

La grenade et ses extraits ont de puissants effets antioxydants, antibactériens et anticancéreux (Wang et al. 2018). Grâce à la variété de composés bioactifs de différents parties du plante (feuilles, fleurs, écorce, fruit...).

Il est considéré comme originaire de Perse et des régions avoisinantes. Cet arbre est très bien adapté au climat méditerranéen et aux zones sèches (Salaheddin & Kader 1984).

1.1. Description

Est un petit arbre dont la hauteur peut atteindre 6 mètres. Les fleurs rouge vif ont un diamètre de 3 cm. Les grenades contiennent normalement 600 graines épaisses. La grenade est un gros fruit rond de la taille d'une orange. Son écorce dure et coriace est rouge ou jaune beige et contient de nombreuses graines de couleur rose à rouge (Benoit 2013).

- Feuillet brillant, lancéolées, de 3 à 8cm de long (Alhijna & Bourich 2017).
- Fleurs rouge mesure 3cm de diamètre (Djaziri 2017) (Figure 01).



Figure 01 : Feuilles et Fleurs de *Punica granatum* L.



Figure 02 : Aspect du fruit et des graines de *Punica granatum*.

- Les graines possèdent charnu et gélatineux, acidulé et sucré (Wald 2009).
- Le fruit en forme de pomme, délimitée par le peu, un péricarpe épais, contient à l'intérieur des arilles, chaque est constitué des pépins (Dallas 2010) (Figure 02).

CHAPITE 01 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

- ✚ Cependant, la taille des arilles varie, tandis que la fermeté des graines varie d'une variété à l'autre. Les variétés sans pépins connues contiennent en réalité des graines tendres (**Holland et al. 2009**).

❖ L'écorce

L'écorce du fruit de la grenade s'appelle le malicorium. C'est la partie dure du fruit qui est de couleur beige ou vert rougeâtre à l'extérieur (**Planchon et al. 1875**).

L'écorce de la grenade est constituée environ la moitié du poids du fruit constitue l'arête de la grenade. À l'état frais, il est composé de 80 % d'eau, de 8 % de polysaccharides complexes et de 5 % de polysaccharides solubles, représentés par la pectine et l'hémicellulose. Cette fruit contient également 7 milligrammes de sodium, 210,86 milligrammes de potassium et 9,43 milligrammes pour 100 grammes de phosphore, de calcium et de magnésium (**Nuncio-JÁuregui et al. 2014**).

1.2. Taxonomie

D'après **Quezel & Santa (1962)**, Le grenadier (*Punica granatum* L) a été décrit par Linné et introduit dans sa Classification en 1753.

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Magnoliopsida.

Sous-classe : Rosidées.

Ordre : Myrtales.

Famille : Punicaceae.

Genre : *Punica*.

Espèce : *Punica granatum* L.

1.3. Origine et Répartition géographique

D'après **Shaher (1997)** la grenade (*Punica granatum* L) est l'un des principaux arbres cultivés depuis les temps anciens.

Le grenadier est originaire du nord du l'Iran et de l'Afghanistan ou il couvre de grandes étendues à l'état spontané depuis plus de 4000 ans, le Moyen-Orient est représenté sa région d'origine. Ainsi, la Turquie, la Transcaucasie et l'Inde font partie des pays où on le trouve régulièrement. La région méditerranéenne, à savoir l'Espagne, l'Italie, la Grèce, l'Algérie, la Tunisie et le Maroc, est

CHAPITE 01 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

également un lieu d'élevage fréquent. En Crimée, en Bulgarie, au Portugal et dans le sud de la France, il est plus rare. Le sol américain (Wald 2009).

1.4. Phytothérapie traditionnelle

Le grenadier a été utilisé depuis de centaines d'année pour le traitement des maladies et de diverses affections. Est considéré comme <un pharmacie en soi> (Ben abdennebi 2012) Utilisé sous forme d'un jus, écorce comme un tisane selon le principe de l'infusion, ou bien en poudre, pour l'estomac et les problèmes intestinaux (diarrhée), la toux, la gorge et les pommons, les blessures, plaies et ulcères, la bouche et la gencive buccale.

Lors de l'utilisation, on peut ajouter au grenadier un autre composant tel que le miel, yaourt et d'autres herbes.

1.5. Maladies traitées par *Punica granatum* L.

La Figure 03 représenté les différentes maladies traitées par le grandie.

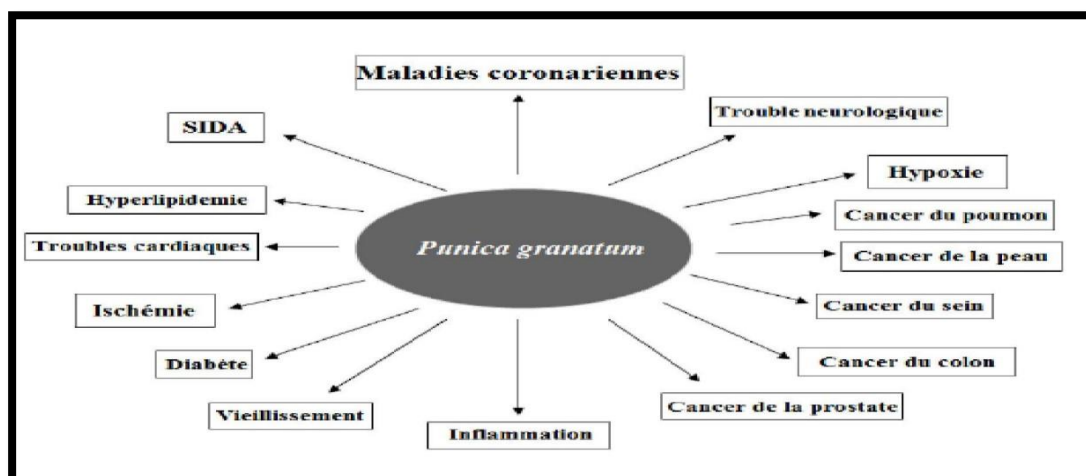


Figure 03 : Maladies traitées par *Punica granatum* L. (Herber et al. 2006).

1.6. Utilisation thérapeutique

Le grenadier est décrit comme remède naturel grâce à ses différentes propriétés.

1.6.1. Activité antimicrobienne

Il démontre dans de nombreuses études qui ont constaté l'inhibition de l'activité de nombreux micro-organismes. Ces derniers sont de plus en plus résistants aux actuels traitements antibactériens, antifongiques et antiviraux (Braga et al. 2005).

1.6.2. Activité antioxydant

Selon Seeram et al. (2006), De nombreux polyphénols à activité antioxydant importante. Les fruits riches en flavonoïdes, anthocyanes et proanthocyanidines peuvent réduire le risque de

maladies cardiovasculaires. et des propriétés anticancéreuses (Adams et al. 2006 ; Chong et al. 2010).

1.6.3. Activité anti cancérogène

Les extraits de jus de grenade ont des effets antiprolifératifs, anti angiogéniques et apoptotiques sur les cellules malades (Kawaii & Lansky 2004), et qui permet de ralentir la croissance de ces cellules.

1.6.4. Activité anti inflammatoire

Le fonctionnement des oxygènes cycliques et des enzymes bactériennes dans un cadre de laboratoire est inhibé par certains extraits de grenade, en particulier les grains froids. Les niveaux de prostaglandine dans le mucus du colon sont réduits par l'administration de ces extraits (Àngel 2010). En empêchant les réactions chimiques et réduire les effets indésirables oxydatif associés à la thérapie préféré utilisé pour traiter le cancer, il peut être améliorée et offre une phytothérapie alternative à ADN dommages (Everton pantoja valea 2020).

2. *Juglans regia*

Le noyer persan ou commun (*Juglans regia* L.) est un grand arbre à feuilles caduques atteignant des hauteurs de 25- 35 m, et un tronc jusqu'à 2m de diamètre, généralement avec un tronc court et une cime large. C'est une espèce exigeante en lumière, nécessitant le plein soleil pour bien développer (Tajamul et al. 2014).

2.1. Description :

La morphologie du noyer elle représente dans la **Figure 4**. Avant la maturation, l'écorce est lisse et marron. Pour les branches adultes il devient gris argenté avec une texture épais à larges fissures (Sabatier 1999). Les feuilles Sont de 25 jusqu'à 40 centimètres de long, disposées en alternance, imparipennées avec 5 à 9 Folioles (Tajamul et al. 2014).

Fruit sphérique de 4 à 6 cm, c'est une noix à coque extérieure très dure, à 2 valves, enfermée dans une coque épaisse et charnue, d'abord verte, puis brun foncé (Dupérat & Polese 2008).

Fleurs sont des châtons mesurant de 5 à 10 cm de long vert jaune et apparaissant sur les pousses de L'année (Benhomme 2019).



Figure 04 : différentes parties de noyer (Benhomme 2019).

2.2. Taxonomie

Selon Cronquist (Boukhari 2017).

Superclasse : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Sous classe : Hamamelidae.

Ordre : Juglandales.

Famille : Juglandales.

Genre : *Juglans*.

Espèce : *regia*.

2.3. Répartition géographique

Juglans regia L. est native aux chaînes de montagnes de l'Asie centrale, s'étendant de la province Xinjiang de Chine occidentale, les parties du Kazakhstan, Ouzbékistan et le Kirghizistan du sud et de chaînes de montagnes inférieures au Népal, Bhoutan, le Tibet, l'Inde du nord, le Pakistan et Sri Lanka, par l'Afghanistan, le Turkménistan et l'Iran aux parts de l'Azerbaïdjan, l'Arménie, la Géorgie et la Turquie orientale. Une petite population des arbres d'espèces *J. Regia* a échappé de la dernière période glaciaire en Europe du Sud (Sylvie et al. 1998).

2.2. Propriétés thérapeutiques

En médecine traditionnelle. Ces dernières années, l'accent a été mis sur l'utilisation du *Juglans regia* L. dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques.

Il utilise toutes les parties de la plante. Racines, tiges et écorce. Les feuilles, les graines et les huiles de graines ont une valeur médicinale en tant qu'antiseptiques et insectifuges, et ont une activité antimicrobienne plus large.

- Les feuilles ont une activité anticancéreuse. De par son action correctrice, elle est utilisée en

CHAPITE 01 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

tisane, notamment pour faire baisser la glycémie et les troubles digestifs.

- L'écorce est utilisée comme gomme pour nettoyer les dents.
- Traitement de l'insuffisance veineuse, des hémorroïdes, de la diarrhée et des infections fongiques ou bactériennes (**Wichtl & Anton 1992**).
- Ce type est également utilisé dans le traitement de l'adénocarcinome cervical et de la tuberculose. Il a également une capacité anti-athérosclérotique élevée.

3. Les méthodes d'utilisation des plantes médicinales

3.1.L'infusion

Est préparée en versant de l'eau bouillante à une quantité spécifique de matière végétale et en laissant reposer le mélange pendant 10 à 15 minutes (**Sofowora 2010**).

3.2.La macération

Les plantes sont laissées dans de liquide froide pendant 12 heures (ou plus généralement une nuit. (**Gauthier 2017**).

3.3.Décoction

On plonge les parties végétales (racines, de l'écorce, des tiges et des graines) dans l'eau froide et on les porte à ébullition pendant 5 à 45min selon la partie de la plante utilisée, ensuite les filtrer (**Iserin 2001 ; Grunwald 2006**).

3.4.Les poudres

Les plantes qui ont été séchées à l'ombre sont finement coupées puis pulvérisées dans un mortier. Ces plantes sont vendues en sachets (infusettes) en variétés simples ou en mélange (**Schaunberg & Paris 1977**).

3.5.Fumigation

On fait bouillir ou brûler des plantes, de façon à bénéficier des propriétés thérapeutiques des vapeurs ou fumées produites.

3.6.Cataplasme

Préparation de la plante assez pâteuse pour être appliquée sur la peau, la plante peut être broyée hachée à chaud ou à froid ou mélangée à autre composants (**Iserin 2001**).

4. L'activité antimicrobienne

Le terme « agent antimicrobien » désigne toute substance utilisée pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antiviraux, antifongiques et antiparasitaires (**Yala et al. 2001**).

CHAPITE 01 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

4.1. Les antibiotiques :

Les antibiotiques sont des molécules naturellement sécrétées par des microorganismes fongiques ou des bactéries et font partie de leur arsenal mis en place pour se défendre contre les stress extérieurs (**Drancourt 2016**).

À l'origine, le mot « antibiotique » désigne tout produit microbien qui même à de très faibles concentrations inhibe ou tue certains micro-organismes.

Antibiotique du grec, anti : contre et biotikos : concernant la vie. C'est un adjectif qui est à l'origine du nom « antibiose » sa définition a été précisée comme une substance chimique produite par un microorganisme et capable d'inhiber sélectivement la croissance ou même détruire d'autres microorganismes. (**Muylalart & Mainil 2013**).

4.2. Les microorganismes

- a. *E. coli* : Aussi connu sous le nom de « colibacille ». *Escherichia*, Un bacille d'environ 2-3 µm de long et 0,6 à 0,7 µm de diamètre, Gram négatif, non sporulée et mobile, de la famille des Enterobacteriaceae (**Nolan et al. 2013 ; Hufnagel et al. 2015**).
- b. *Staphylococcus aureus* : Les staphylocoques sont des bactéries sphériques (coques) aérobie-anaérobie facultative à Gram positif (**Licitra 2013**).
- c. *Enterococcus sp* : prennent la forme de cocci à Gram positif et ne sont pas sporulés. Ont été trouvés dans des endroits comprenant la flore intestinale régulière des mammifères et, moins fréquemment, la flore vaginale et buccale (**Mundt 1963 ; Murray 1990**).
- d. *Klebsiella pneumoniae* : de la famille des Enterobacteriaceae il s'est imposé comme un agent pathogène important responsable d'infections nosocomiales et de plus de 70% des infections chez l'homme (**Pitout 2015**).
- e. *Candida albicans* : est l'espèce la plus isolée de genre *Candida* de la famille des Deutéromycètes. Elle colonise typiquement le mucus gastro-intestinal et oropharyngé sous forme de germe saprophyte (**Develoux & Bretagne 2005**)

4.3. La résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques depuis leur utilisation en thérapeutique se sont révélés très précieux dans la lutte contre les maladies d'origine bactérienne touchant l'homme et les animaux mais leur consommation immodérée a mené à l'adaptation et la sélection de populations microbiennes résistantes. Dès 1940, les scientifiques observent que les extraits des différentes bactéries ont la capacité de détruire la « pénicilline » qui n'avait pas été encore utilisée en thérapeutique (**Guillot 1989**).



CHAPITRE 02
MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES

1. Matériels

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de la microbiologie et la biochimie, au niveau du hall technologique, université de 20 Août 1955, Skikda pendant une durée d'un mois (19 février jusqu'au 23 Mars) de l'année universitaire 2023.

La recherche s'est portée sur l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de deux plantes médicinales : *Punica granatum* L. et *Juglans regia* L.

1.1. Matériel végétale

a. Echantillonnage

Le matériel végétal utilisé dans cette étude c'est les plantes. Deux échantillons ont fait l'objet de cette étude.

La collecte du premier échantillon d'écorce du fruit de *Punica granatum* a été effectuée au niveau de Benizid dans la région de Collo au cours du mois d'octobre 2023. Il a ensuite été séché puis conservé à l'abri de l'humidité et de la lumière. La position géographique du site d'échantillonnage est représentée dans la **Figure 05**.

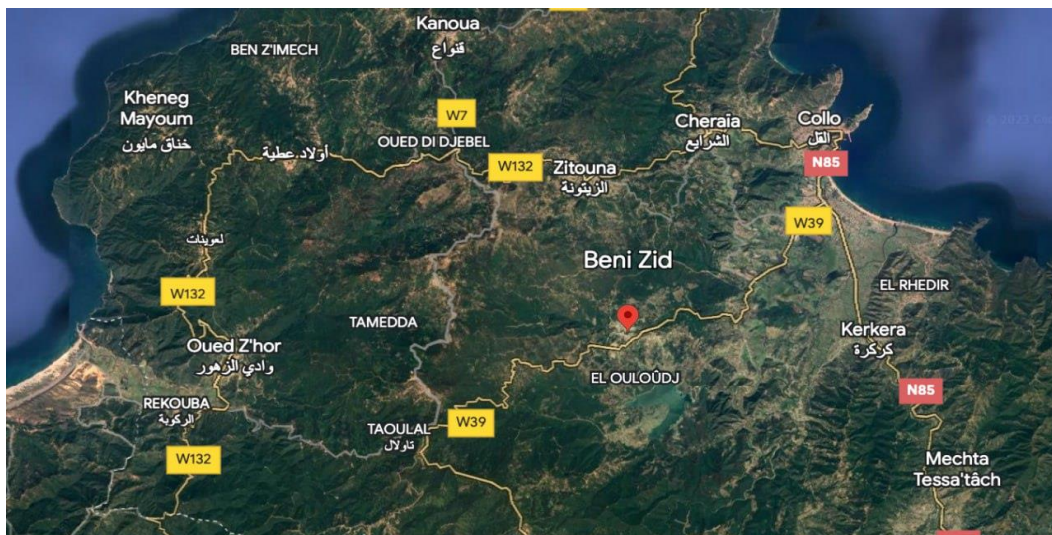


Figure 05: la situation géographique de la région d'échantillonnage (Benizid) (<https://earth.google.com>).

Alors que le deuxième échantillon a été acheté au niveau du marché de la ville de Skikda déjà séché **Figure 06**. Et l'identification a été faite par Mme Sakhraoui.

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES



Figure 06 : Le matériel végétal utilisé lors de cette étude.

b. Séchage

L'écorce de *Punica granatum* L a été séchée à l'ombre à température ambiante, et après conservée dans des sacs propres à l'abri de la lumière et l'humidité dans un endroit aéré, pendant 20 jours.

1.2. Microorganismes utilisés

Le choix des bactéries a été porté sur quatre souches fréquentes en pathologie humaine. Ces espèces sont souvent responsables a des infections, constituant ainsi un problème majeur de santé publique, et par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiens. Nous avons sélectionné deux groupes de bactéries, et une levure (champignon) :

- Des bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli*, et *klebsila pneumonie*.
- Des bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp*.
- Et une levure : *Candida albicans*.

Ces souches nous ont été fournies par les responsables du laboratoire de biochimie El Rihab de Skikda et du laboratoire d'analyses médicales du Dr. Guennoun hacene médecin spécialiste en parasitologie mycologie de Azzaba. Ces souches ont été procurées dans des tubes stériles contenant 4ml de gélose de conservation.

1.3.Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé pour déterminer l'activité antimicrobienne de l'infusion des plantes est le suivant :

a. APPAREILLAGE

Bec bunsen.

Bain marie.

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES

Autoclave.

Balance de précision.

Spectrophotomètre.

Réfrigérateur.

Plaque chauffante.

Etuve.

b. LA VERRERIE

Becher.

Erlenmeyer.

Flacons

Entonnoir.

Tubes.

c. Autre matériel

Anse de platine.

Pipette pasteur.

Boites de pétri.

Ecouvillons stériles.

Pince.

Disques stériles.

Portoirs

Perforateur de papier.

Seringue.

Étiquettes.

Marquere indélébile.

d. Les milieux de culture

Gélose nutritive.

Chapman.

Hekton.

MH.

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES

e. Produits

L'eau distillé.

L'eau physiologie.

2. Les méthodes

2.1. Préparation de l'extrait

Selon le principe de l'infusion

L'écorce du *Punica granatum* : 5g de l'écorce de grenade ont été déposés dans 250ml d'eau distillée bouillante (100°C) hors feu, pendant 10 min. Laisser froid.

Le mélange a été ensuite filtré à l'aide du papier filtre (Whatman).

L'écorce du *Juglans regia* : 5g de l'écorce de *Juglans regia* ont été déposés dans 125ml d'eau distillée bouillante (100°C) hors feu, pendant 10min.

filtrer à l'aide du papier filtre (Whatman) (Figure 07).



Figure 06 : préparation de l'extrait végétal.

• Préparation des dilutions

La dilution se fait à partir d'une solution mère (l'extrait végétal).

Dans 4 tubes à essai, mettre 2ml de l'extrait (Figure 08).

- Le premier tube contient 2ml de l'extrait.
- A l'aide d'une surnage ajouter 2ml d'eau distillée au deuxième tube.
- 4ml d'eau au troisième tube.
- Et 6ml d'eau distillée au quatrième.

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES



Figure 08 : les dilutions du *Punica granatum* (à gauche) et du *Juglans regia* (à droite).

2.2. L'isolement

Les souches que nous avons utilisées ont été déjà confirmées par les services d'où elles ont été récupérées (donc déjà pure). A partir de ces souches identifiées, faire des repiquages sur milieu solide chapman pour les bactéries à gram positif, hekton pour les gram négatif, et sabouraud pour levure, préalablement fondu, faire couler dans des boites de Pétri (4mm d'épaisseur). Faire des stries à l'aide d'une anse de platine, et incubation à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 48h pour la levure.

2.3. Méthode de diffusion

2.3.1. Le principe de la méthode

Nous avons appliqué la technique par contact direct de l'aromatogramme pour évaluer l'activité antimicrobienne. Ce test a été effectué suivant la méthode de **Conner & Beuchat (1984)**, **Adam et al (1998)** et **Chao et al (2000)** et en respectant les Recommandations établies par le BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy) et développées par **Andrews (2001)** (**Figure 09**).

L'étude du pouvoir antimicrobien par cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est le remplacement des antibiotiques par des extraits végétaux. C'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antimicrobien (**Adam et al. 1998**).

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES

en pratique, on utilise un milieu d'ensemencement solide du fait qu'il soit le plus simple. Donc on a ensemencé la suspension microbienne sur milieu solide et en déposant des disques stériles imprégnés dans l'extrait aqueux. Incuber les boites de Pétri dans des conditions spécifiques. Faire la lecture après 24 à 48 heures.

Le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré. Chaque halo est une zone claire, nommée aussi zone d'inhibition de la croissance microbienne (Chao et al. 2000).

Cette manipulation comporte les étapes suivantes :

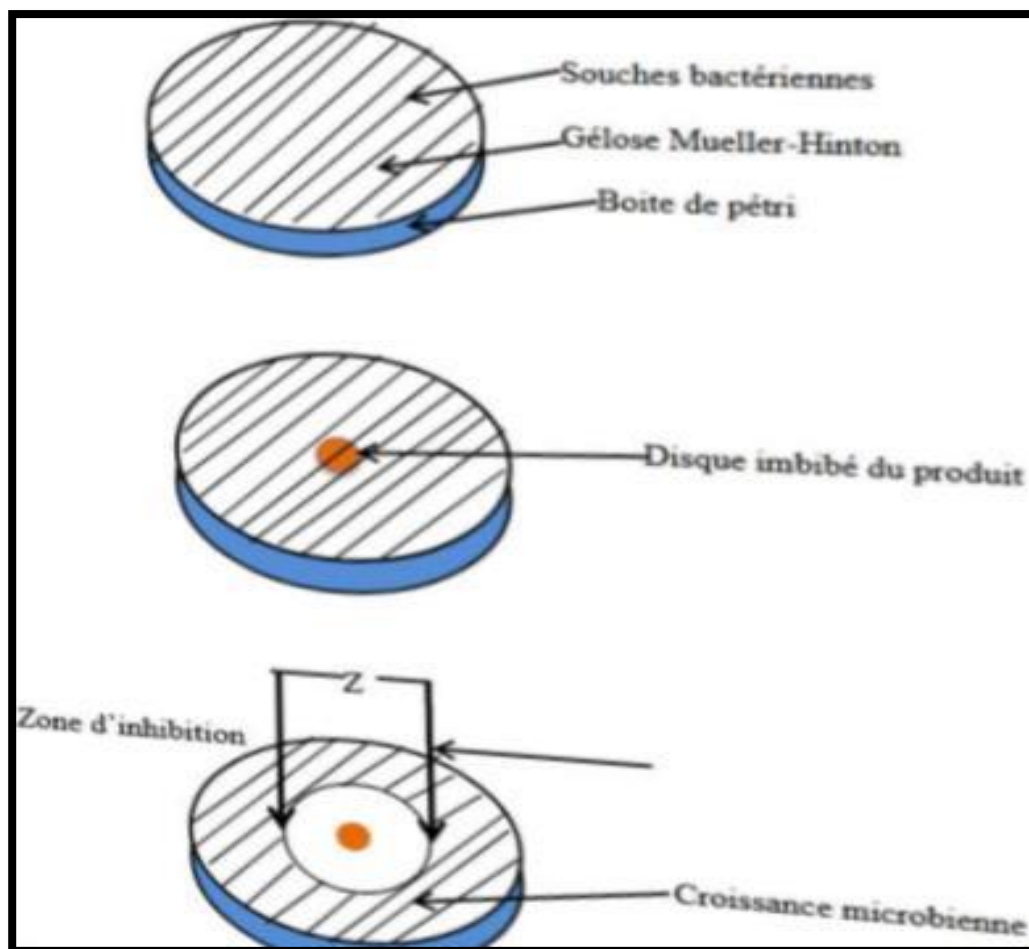


Figure 07 : Méthode de aromatogramme sur boite de Pétri (Zaika 1988).

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES

2.3.2. Préparation des suspensions bactériennes

Racler à l'aide d'une anse de platine, quelques colonies bien isolées et identiques (3 à 5 colonies), à partir de culture jeune. Déposer sur 5ml d'eau physiologique, homogénéiser la suspension bactérienne. Laisser 30min, et passer à la spectrophotométrie à une longueur d'onde de 625nm c'est-à-dire d'une DO de 0.08 à 0.1.

La concentration des différentes suspensions a été ajustée à 10^8 cellule/ml correspondant à 0,5 Mc Farland.

Ajuster l'inoculum, soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort (**Figure 10**).



Figure 8 : les suspensions bactérienne (à gauche) et suspension trouble (à droite).

2.3.3. Préparation des disques

Préparer les disques de papier filtre de 6 mm de diamètre (Whatman N°1)

Mis dans un tube à essai, Stériliser à l'autoclave, à 120°C pendant 20 minutes (**Figure 11**)

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES



Figure 9 : Disques stériles

2.3.4. Test de l'activité antimicrobienne

- Couler dans les boites de Pétri une quantité de gélose nutritive (équivalant a 13 ml).
- Laisser les boites ouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification.
- Déposer quelques gouttes de la suspension bactérienne sur la surface de la gélose, on a fait l'ensemencement par la méthode d'inondation.
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée.
- Déposer à l'aide d'une pince stérile les disques (6 disques par boite), 4 imprégnés d'extrait végétal à différentes concentrations, 2 disques (1 imprégné d'eau et l'autre d'antibiotique) utilisés comme témoin. Sur la surface de la gélose.
- Placer les boites de Pétri à basse température (+4°C) pendant 15 à 30min afin de permettre aux extraits de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier ; les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendant 24 h (**Figure 12**).
- Les boites doivent être placées couvercle en bas.

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES

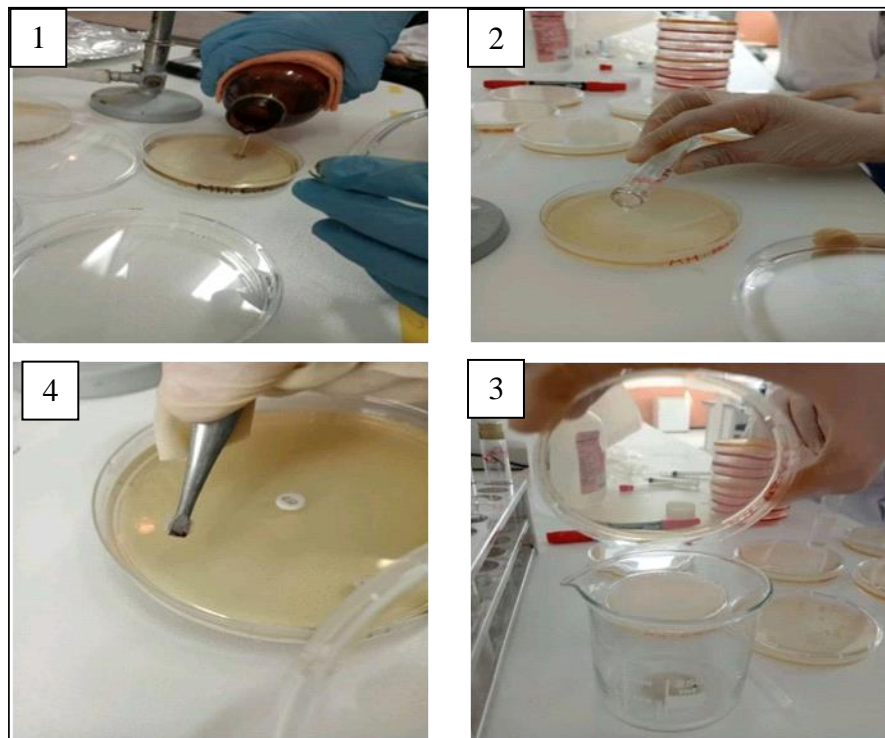


Figure 10 : l'arommatogramme.

3. Lecture des résultats

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries au tour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire et résistante.

Selon **Raynaud (1999) in Manaa & Mechaty (2009)** en rapport avec les spectres des activités antibactériennes :

Germes résistants : halo 0 mm (-).

Germes sensibles : halo 0-2 mm (+).

Germes assez sensibles : halo de 2-3 mm (++).

Germes très sensibles : halo plus de 3 mm (+++).

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

1.1. Préparation de l'extrait

Dans cette étude, les rendements de l'infusion ont été déterminés par rapport à 5 g de la matière végétale.

Le poids de l'extrait sec a été déterminé à partir de la différence de poids avant et après l'infusion.

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le **Tableau 01**.

Tableau 01 : Rendement de l'infusé.

	Poids de la matière	poids de l'extrait	Rendement en %
L'infusion01	5g	192	2.59
L'infusion 02	5g	70	7.10
Rendement moyen en%			4.84%

➤ Propriétés organoleptiques des extraits

Les propriétés organoleptiques des extraits des plantes sont présentées dans le **Tableau 02**.

Tableau 02 : Propriétés organoleptiques des extraits.

	Aspect	couleur	Odeur
Extrait de grenadier	fluide	jaune	fraiche
Extrait de noyer	fluide	Marron foncè	forte

1.2. L'aromatogramme

Nous rappelons que l'objectif de cette manipulation est la détermination de l'effet antimicrobienne de l'extrait aqueux du grenadier et du noyer obtenu par l'infusion des écorces.

Nous avons utilisé la méthode de diffusion sur un milieu solide.

Le pouvoir antimicrobien des extraits est déterminé par le diamètre de zone d'inhibition autour des disques imbibés d'extrait, mesuré à l'aide d'une règle.

Les résultats des tests antibactériens de ces extraits vis-à-vis des bactéries étudiées sont les suivants

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

- *PUNICA GRANATUM.L*

Escherichia coli

Les résultats ci-dessous (**Figure13**) montrent l'activité inhibitrice sur *Escherichia coli* :

- La souche 01 : commence avec 1/4 d'extrait de grenade dilué à 1/6. Le diamètre de la zone d'inhibition est de 10mm.
- Chez *Escherichia coli* 02 : à la dilution 1/2 avec 9mm de diamètre.
- *Escherichia coli* : le diamètre 9mm à la dilution 1/6.

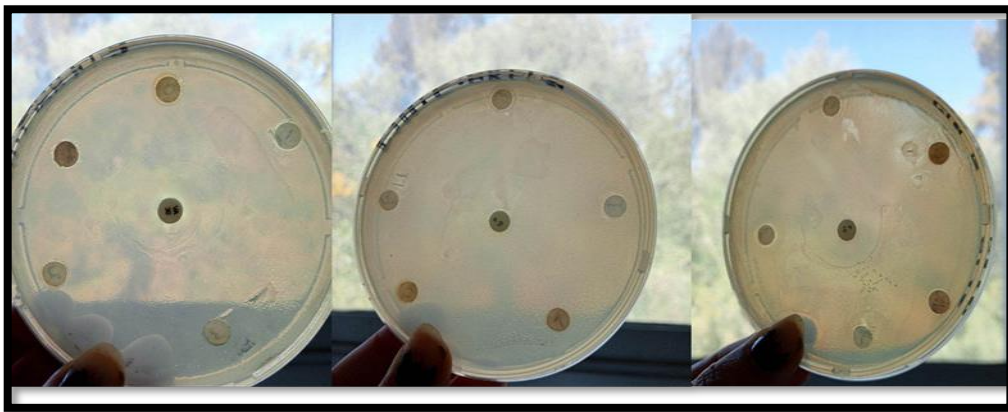


Figure 11 : l'activité antibactérienne de l'extrait de grenadier sur *Escherichia coli*.

Klebsila pneumonie

La **Figure 14** montre l'apparition d'un halo seulement dans la souche 01 avec un diamètre de 8 mm à la dilution 1/4.

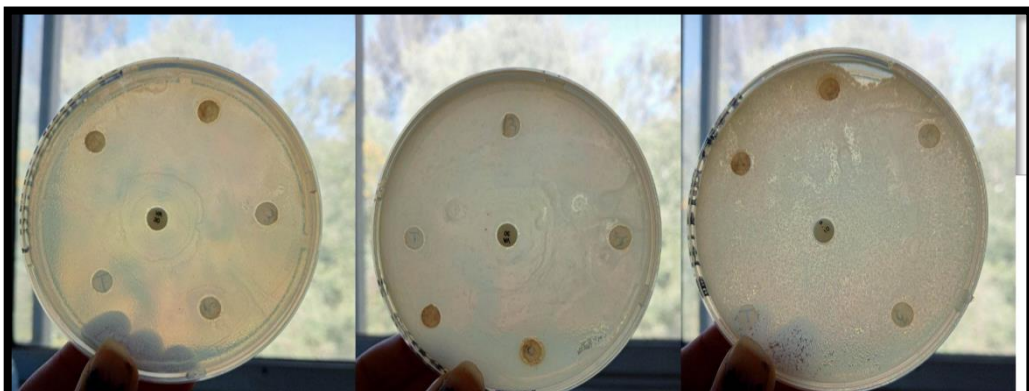


Figure 12 : l'activité antibactérienne de l'extrait de grenadier sur *Klebsila pneumonie*.

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

Staphylococcus aureus

L'extrait pur a donné un diamètre de 9mm présenté à la **Figure 15**.

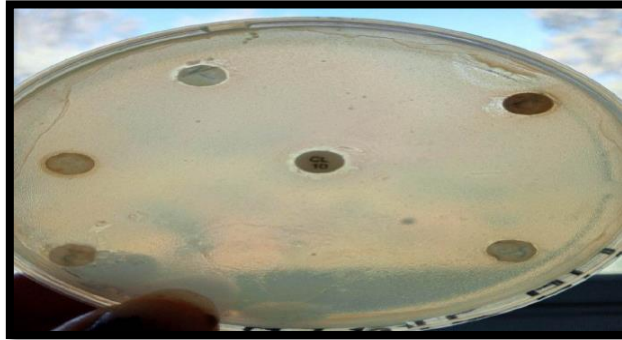


Figure 13 : l'activité antibactérienne du grenadier sur *Staphylococcus aureus*.

Enterococcus sp

Selon la **Figure 16** l'extrait de *Punica granatum* n'a aucun effet bactéricide sur la souche bactérienne pour toutes les concentrations testées.

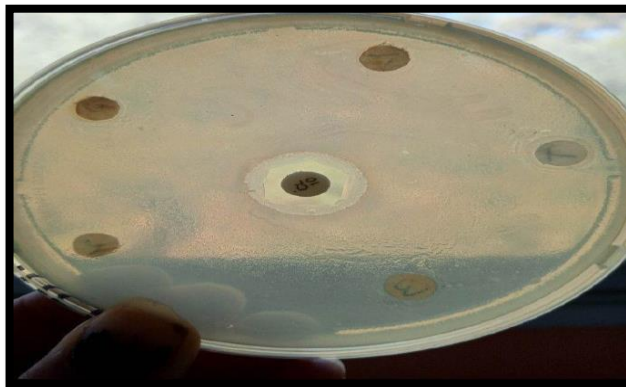


Figure 14 : l'activité antibactérienne de grenadier sur *Enterococcus sp*.

Candida albicans

L'extrait pur a donné un diamètre de 10 mm alors que la dilution 1/2 a donné 8mm de diamètre (**Figure 17**).

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

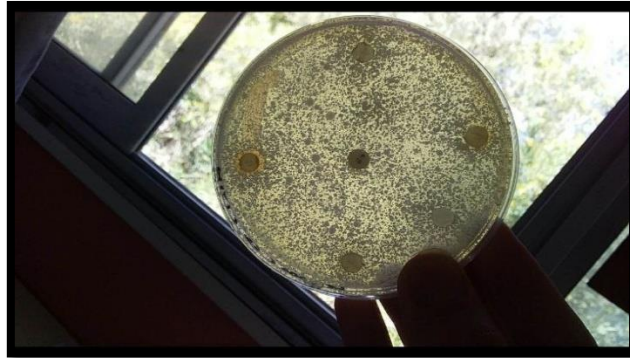


Figure 15 : l'activité antifongique de grenadier sur *Candida albicans*.

- *JUGLANS REGIA.L*

Escherichia coli

Les résultats ci-dessous (**Figure 18**) montrent l'activité inhibitrice sur *Escherichia coli* :

- La souche 01 : la sensibilité apparait à l'extrait pur et les dilutions 1/4, 1/6 avec une résistance à la dilution 1/2.
- chez *Escherichia coli* 02 : les diamètres des zones d'inhibitions varient entre 8mm et 16mm a l'extrait pur et toutes les dilutions.
- *Escherichia coli* 03 : le diamètre 10mm à l'extrait pur et la dilution 1/2 et un diamètre de 7mm à la dilution 1/6.

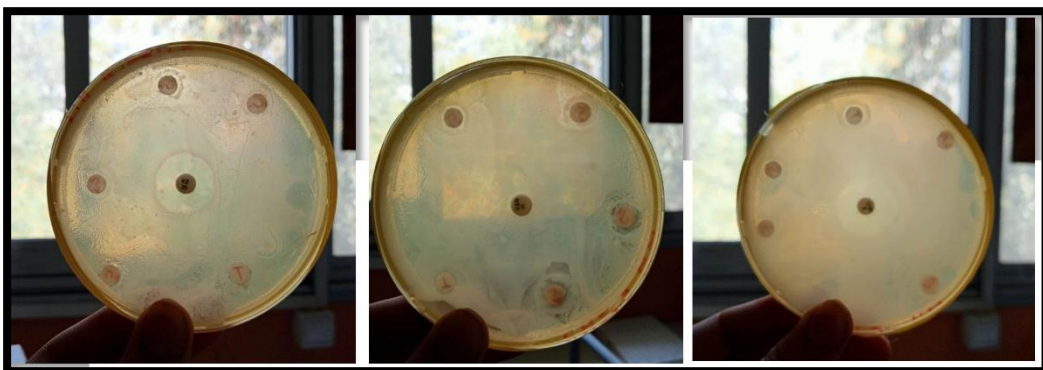


Figure 16:l'activité antibactérienne du noyer sur *Escherichia coli*.

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

Klebsila pneumonie

Les résultats ci-dessus (**Figure 19**) montrent l'activité inhibitrice sur *Klebsila pneumonie* :

Klebsila pneumonie 01: l'extrait pur a donné un diamètre de 9mm, alors que les dilutions 1/2, 1/4 ont donné un diamètre de 10mm et la dilution 1/6 a donnée 11 mm de diamètre.

Klebsila pneumonie 02 : l'extrait pur a donné un diamètre de 9mm, les dilutions 1/4, 1/6 ont donné 10 mm, 11 mm de diamètre respectivement.

Klebsila pneumonie 03 : l'extrait pur et la dilution 1/6 ont donné le même diamètre 9mm alors que la dilution 1/4 a donné 8mm.



Figure 17 : l'activité antibactérienne du noyer sur *Klebsila pneumonie*.

Staphylococcus aureus

A la **Figure 20** le diamètre de l'extrait pur est de 11mm et le diamètre de l'extrait dilué au 1/4 est de 10 mm.

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION



Figure 18: l'activité antibactérienne de noyer sur *Staphylococcus aureus*.

Enterococcus

La dilution 1/2 a donnée 18 mm de diamètre et 17mm pour les dilutions 1/4 et 1/6 (**Figure 21**).



Figure 19: l'activité antimicrobienne de noyer sur *Enterococcus*.

Candida albicans

L'analyse des résultats fait apparaître que l'extrait de *Juglans regia* n'a aucun effet sur la souche *candida albicans* pour toutes les concentrations testées (**Figure 22**).

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

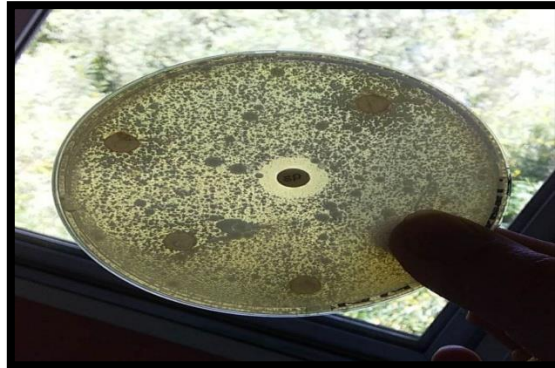


Figure 20 : l'activité antifongique de noyer sur *Candida albicans*.

1.3. Interprétation de l'aromatogramme

Les halos d'inhibitions enregistrés dans notre étude varient entre 0mm et 18mm, en fonction des souches testées et des dilutions employées.

D'après la classification de **Raynaud (1999) in Manaa & Mechaty (2009)** en rapport avec les spectres des activités antibactériennes :

Germes résistants : halo 0 mm (-)

Germes sensibles : halo 0-2 mm (+)

Germes assez sensibles : halo de 2-3 mm (++)

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

Germes très sensibles : halo plus de 3 mm (+++)

Nous avons pu établir la classification des souches testées, en mesurant les halos d'inhibition et en les comparant à ceux de la référence. Il en ressort donc :

❖ ***Punica granatum.L***

- *Escherichia coli* 01 : très sensible à les dilutions 1/4 et 1/6.
Résistante a l'extrait pur et la dilution 1/2.
- *Escherichia coli* 02 : résistante pour l'extrait pur et les dilutions 1/4 et 1/6.
très sensible à la dilution 1/2.
- *Escherichia coli* 03 : très sensible à la dilution 1/6.
Résistante a l'extrait pur et les dilutions 1/2 et 1/4.
- *Klebsila pneumonie* 01 : très sensible à la dilution 1/4.
Résistante au témoin, l'extrait pur et les autres dilutions.
- *Klebsila pneumonie* 02 et 03 : résistante a l'extrait pur, le témoin et toutes les dilutions .
- *Staphylococcus aureus*: très sensible à l'extrait pur.
Résistante pour le témoin et les autres dilutions.
- *Enterococcus sp*: résistante pour l'extrait pur, le témoin et toutes les dilutions.
- *Candida albicans* : très sensible à l'extrait pur et la dilution 1/2.
Résistante pour le témoin et les autres dilutions.

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

❖ *Juglans regia.L*

- *Escherichia coli* 01 : très sensible à la dilution 1/2.
Résistante pour l'extrait pur, le témoin et les dilutions.
- *Escherichia coli* 02 : très sensible à l'extrait pur et les dilutions.
Résistante pour le témoin.
- *Escherichia coli* 03 : très sensible à l'extrait pur et les dilutions 1/2, 1/6.
Résistante pour le témoin et la dilution 1/4.
- *Klebsila pneumonie* 01: très sensible à l'extrait pur et les dilutions.
Résistante pour le témoin.
- *Klebsila pneumonie* 02: très sensible à l'extrait pur et les dilutions 1/4, 1/6.
Résistante pour le témoin et la dilution 1/2.
- *Klebsila pneumonie* 03 : très sensible à l'extrait pur et les dilutions 1/4, 1/6.
Résistante pour le témoin et la dilution 1/2.
- *Staphylococcus aureus*: très sensible à l'extrait pur et la dilution 1/4.
Résistante pour le témoin et les dilutions 1/2, 1/6.
- *Enterococcus sp* : très sensible a les dilutions 1/2, 1/4, 1/6.
Résistance pour l'extrait pur.
- *Candida albicans*: résistante pour l'extrait pur, le témoin et toutes les dilutions.

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

Les tests de l'activité antimicrobienne ont été faits sur 8 souches bactériennes et levure. Les tests ont été répétés trois fois.

Les résultats présentés dans les tableaux 2 et 3 indiquent nettement une différence du pouvoir antimicrobienne, et cela d'une souche à une autre et d'un extrait à l'autre.

Tableau 03 : les diamètres des zones d'inhibitions de croissance chez les souches testées sur *Punica granatum* L.

	L'extrait pur	1/2	1/4	1/6	T(l'eaux Distillé)	antibiotique
<i>Escherichia coli</i> 01	R	R	10mm	10mm	/	P10 : R
<i>Escherichia coli</i> 02	R	9mm	R	R	/	V30 : S (0.8mm)
<i>Escherichia coli</i> 03	R	R	R	9mm	/	P10 : R
<i>Klebsila pneumoniae</i> 01	R	R	8mm	R	/	V30 : S(1.6 mm)
<i>Klebsila pneumoniae</i> 02	R	R	R	R	/	V30 : R
<i>Klebsila pneumoniae</i> 03	R	R	R	R	/	P30 : R
<i>Staphylococcus aureus</i>	9mm	R	R	R	/	C110 : 0.9 mm
<i>Enterococcus sp</i>	R	R	R	R	/	C110 :1.4
<i>Candida albicans</i>	10mm	8mm	R	R	/	P10 : R

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 04 : les diamètres des zones d'inhibitions de croissance chez les souches testées sur *Juglans regia* L.

	L'extrait pure	1/2	1/4	1/6	T(l'eaux Distillé)	antibiotique
<i>Escherichia coli</i> 01	11mm	R	10mm	11mm	/	KZ :1.9mm
<i>Escherichia coli</i> 02	14mm	14mm	16mm	8mm	/	VAN :0.7mm
<i>Escherichia coli</i> 03	10mm	10mm	R	7mm	/	CIP :2mm
<i>Klebsila pneumonie</i> 01	9mm	10mm	10mm	11mm	/	OX :R
<i>Klebsila pneumonie</i> 02	9mm	R	10mm	11mm	/	CT10 :1.4mm
<i>Klebsila pneumonie</i> 03	9mm	R	8mm	9mm	/	AM :1.2mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	11mm	R	10mm	R	1mm	CAZ : 1 mm
<i>Enterococcus sp</i>	R	18mm	17mm	17mm	/	CMN2 : 0.7mm
<i>Candida albicans</i>	R	R	R	R	/	CL10 : 1.4mm

À partir des résultats obtenus, L'activité antimicrobienne, il apparaît que les souches bactériennes testées sont sensibles vis-à-vis de l'extrait de l'écorce des plantes testé de plus, il est remarquable que l'extrait de *juglans regia* est plus efficace que *punica granatum* L.

Les antibiotiques (P10,V30,CL10,KZ,VAN,CIP,OX,CT10,AM,CMN2,CAZ,P30). ont montré une efficacité antimicrobienne remarquable.

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

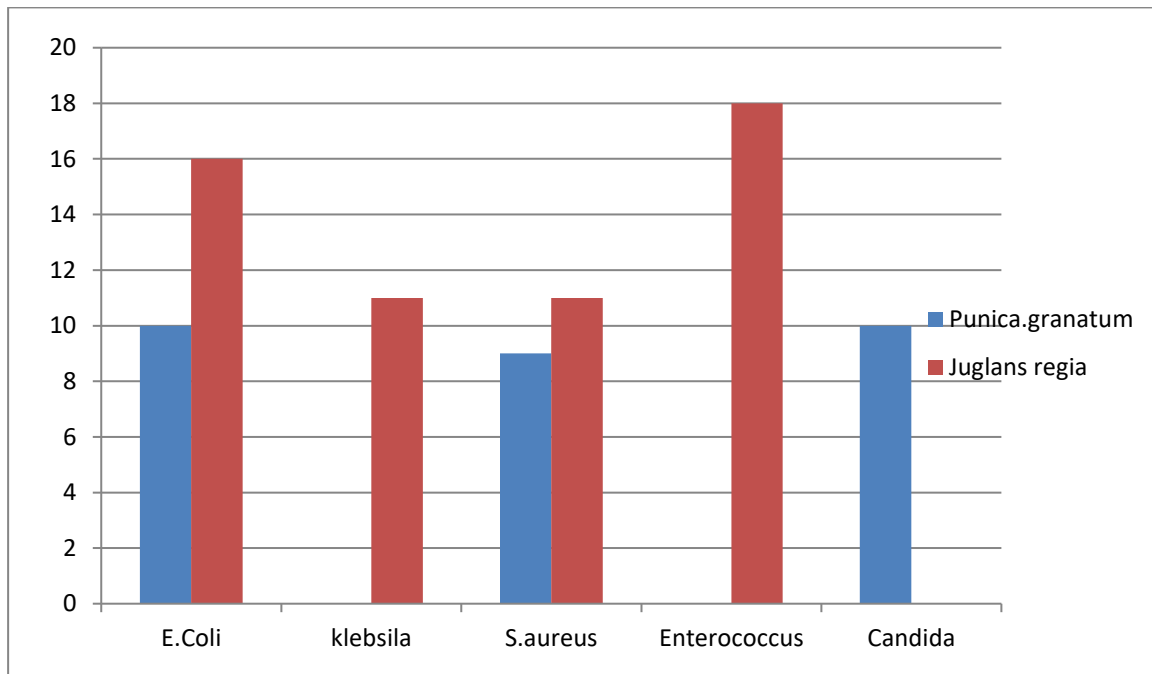


Figure 21: Schéma comparant l'activité antimicrobienne des deux extraits sur les différentes souches (4 Bactérie, 1 Levure).

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

2. Discussion

Cette étude a permis de mettre en évidence l'activité antimicrobienne et l'efficacité variable de l'infusé de l'écorce du fruit du grenadier et l'écorce du tronc du noyer.

Les résultats obtenus montrent que l'infusé du *Juglans regia* est plus efficace que celui du *Punica granatum* et les souches bactériennes testées sont sensibles vis-à-vis de l'infusé de l'écorce de *Juglans regia*. L'analyse des résultats fait apparaître que l'infusé du *Juglans regia* n'a aucun effet sur *Candida albicans* pour toutes les concentrations testées par rapport à l'extrait de grenadier qui a montré une efficacité.

Selon l'antibiogramme certaines souches sont sensibles aux antibiotiques avec des diamètres variants, par contre *Klebsilla sp.*, *Escherichiacoli*, *Candida albicans* sont résistantes à pénicilline 10 et 30, oxacilline et vancomycine.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'infusé de l'écorce du fruit du *Punica granatum* a un effet antimicrobien sur les bactéries et la levure testées. Le **tableau 03** indique que l'extrait de *Punica* était actif contre *E.coli*, avec une zone d'inhibition de (9 ± 10 mm), la même chose pour *Klebsilla* 1 et *Staphylococcus aureus* pour lesquelles des diamètres de 8mm et 9mm ont été respectivement enregistrés, ainsi que sur *Candida albicans* (8±10mm). D'autre part, les souches *Enterococcus*, *Klebsilla* 2 et 3 se sont développées sans aucun pouvoir d'inhibition autour des disques imbibés d'infusé.

Ces résultats corroborent ceux de **Reddy et al. (2007)** qui ont démontré que des extraits aqueux et phenoliques de grenade présentent une activité antimicrobienne significative contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Staphylococcus aureus*, ils sont aussi en accordance avec les résultats d'**Al-Zoreky (2009)** qui a montré que les extraits aqueux de l'écorce de grenade constituent un puissant inhibiteur de la croissance de *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* et *Yersinia enterocolitica*, ainsi que ceux de **Choi et al. (2009)**.

Chebaibi & Rhazi Filali (2012) ont rapporté que les extraits aqueux de l'écorce de grenade marocaine ont un grand potentiel en tant que composés antibactériens contre plusieurs micro-organismes. L'extrait de peau de grenade s'est avéré plus ou aussi efficace que les antibiotiques standards. De plus, **Wald (2009)** a montré que l'extrait de grenadier est très efficace contre *Candida albicans*.

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats du test de l'activité antimicrobienne de l'infusé de l'écorce du *Juglans regia* sont présentés dans le **tableau 04**. L'activité antibactérienne de l'infusé de l'écorce du noyer est la plus élevée par rapport à l'infusé du grenadier contre l'*Enterococcus* où un diamètre de 18 mm a été enregistré.

Ces résultats montrent que l'activité inhibitrice contre les germes apparaît à toutes les dilutions y compris l'infusé d'origine. Les zones d'inhibitions varient en fonction de la variation de la concentration de l'infusé. Les diamètres des zones d'inhibitions varient de 7 ± 18 mm, d'un autre côté, une résistance chez *Candida albicans* a été enregistrée.

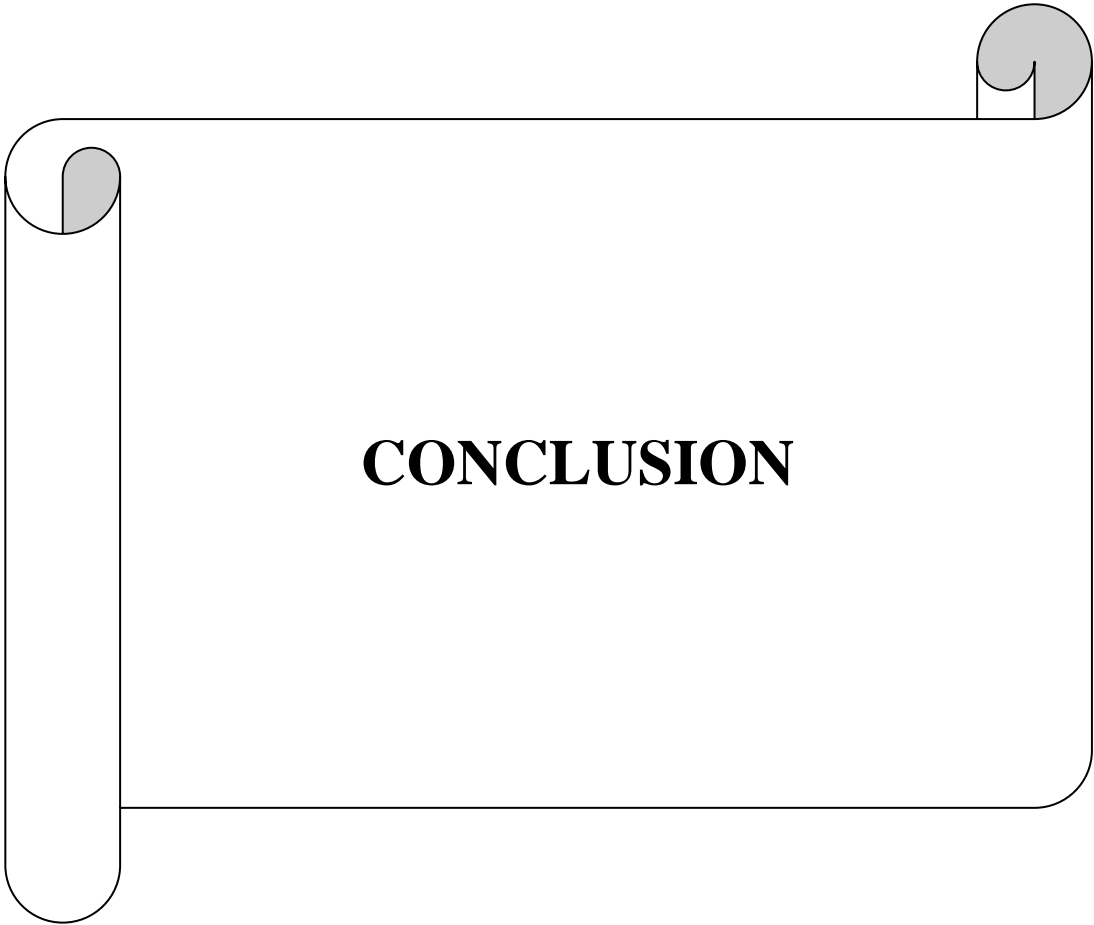
D'après les résultats obtenus, on remarque que quel que soit l'infusé utilisé, les bactéries à Gram- possèdent une forte résistance. Selon **Faucher et Avril (2002)**, cette résistance est en relation avec la nature de leurs membranes externes. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Rather et al. (2012)** ayant testé l'activité biologique des feuilles du noyer commun, et ont enregistré un effet antimicrobien sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. **Oliveira et al. (2008)** et **Sharma et al. (2013)** ont montré que les extraits alcooliques de *Juglans regia* possèdent une activité antimicrobienne ce qui est en accord avec nos résultats. Cette activité antibactérienne prononcée a également été démontrée par les observations de **Nguyen (1983)** ayant testé différents extraits du noyer sur la croissance de différentes souches bactériennes et ayant démontré que presque la totalité des extraits étudiés ont une activité antimicrobienne contre toutes les souches testées.

La différence de l'efficacité entre l'infusé des deux plantes est probablement dû au fait que les deux plantes contiennent des composés bioactifs antimicrobiens différents qui agissent différemment et exercent des effets inhibiteurs différents sur la croissance des souches. Les zones d'inhibition calculées pour les souches ont permis de classer les souches dans la catégorie sensible. Le diamètre de la zone d'inhibition varie d'une bactérie à l'autre et d'un extrait à l'autre. Les variations de l'activité antibactérienne des infusés expliquent les variations de leur composition chimique ; il est connu que l'activité antimicrobienne d'une plante dépend de la nature biochimique de ses composés et des propriétés physico-chimiques de la souche (**Sari et al. 2006**).

En général, les bactéries Gram+ sont plus sensibles aux différents extraits végétaux que les bactéries Gram- ; ceci peut être attribué à la différence de la structure de leur

CHAPITRE 03 :RESULTATS ET DISCUSSION

membranes externes. La méthode utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne et la méthode d'extraction des principes actifs végétaux peuvent également affecter les résultats (**Fauchere & Avril 2002 ; Bouhdid et al 2006**). De plus, les facteurs climatiques (température, humidité relative, vent, lumière,etc.) et les facteurs édaphiques (nature du sol, pH du sol, propriétés physiques et chimiques) ont un important effet sur la composition biochimique des plantes et la nature de leurs principes actifs (**Gulcin et al. 2002**). La composition chimique d'une même plante varie d'une région à l'autre, aussi le prétraitement du matériel végétal ce qui pourrait expliquer les différences de résultats.



CONCLUSION

CONCLUSION

Les plantes médicinales jouent un rôle majeur dans la vie humaine. Elles sont les principales sources de molécule bioactives, d'une part, et d'autre part, sont largement utilisées dans le traitement et dans la prévention des maladies.

Cette étude s'intéresse à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'infusé de l'écorce du fruit du grenadier (*Punica granatum*) et l'écorce du noyer (*Juglans regia*), qui représentent des sources phyto-thérapeutiques très importantes pour la population algérienne.

Cette activité a été testée sur huit souches bactériennes et une souche fongique, selon la méthode de l'aromatogramme. Les résultats indiquent que les deux extraits exercent un effet inhibiteur vis-à-vis des souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Kelbsillapnemonie*, *Enterococcus* sp. et *Candida albicans*, avec des diamètres des zones d'inhibition qui varient de 18 ± 7 mm à 10 ± 8 mm.

A partir de ces résultats, nous pouvons conclure que :

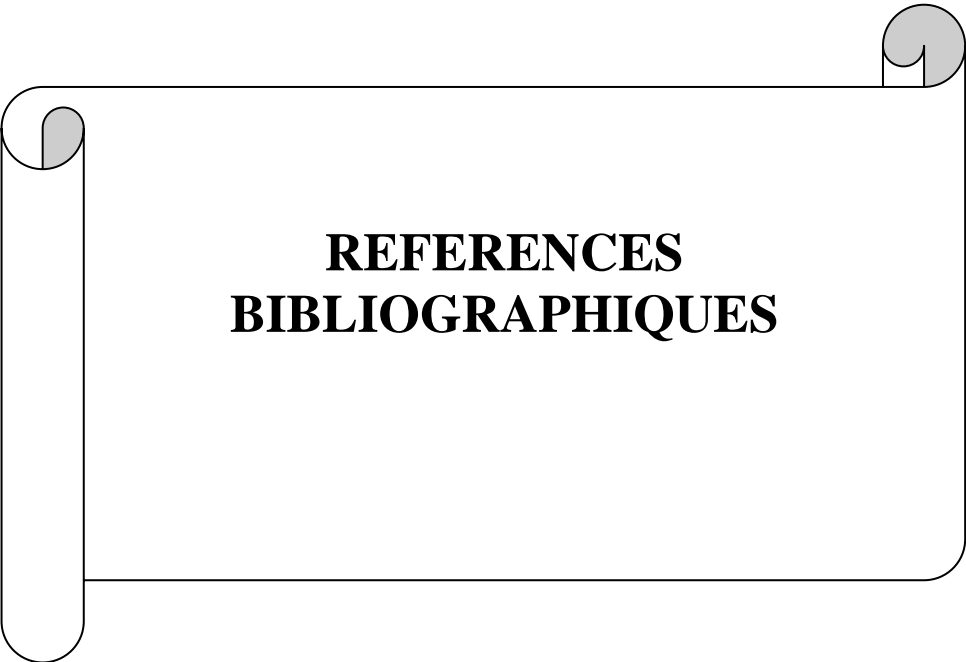
- La méthode de préparation par infusion est donc efficace dans l'extraction ou la libération des molécules bioactives qui gardent tous leurs effets bénéfiques et demeurent actives contre différentes souches microbiennes pathogènes ; la grande utilisation de cette méthode de préparation, à l'échelle nationale ou internationale est donc justifiée ;
- Les infusés et leurs dilutions du grenadier et du noyer possèdent effectivement une activité antimicrobienne, ce qui justifie l'emploi de ces deux plantes dans le traitement des maladies infectieuses ;
- l'activité antimicrobienne des infusées des deux plantes peut être considérée comme modérée, ce qui demeure encourageant par rapport à l'efficacité de leur emploi ;
- L'infusé des deux plantes peut donc aussi être utilisé pour la désinfection des plaies ou autre usage externe, notamment pour les personnes souffrant de certaines allergies vis-à-vis de certains médicaments ;

Il serait donc intéressant de mener davantage d'études pour tester les extraits des deux plantes sur davantage de souches pathogènes, car cette étude ne constitue qu'une première étape dans

CONCLUSION

la voie de valorisation du sous-produit étudié. Des études complémentaires, précises et approfondies restent nécessaires pour pouvoir confirmer les résultats obtenus et diversifier les méthodologies employées. Enfin, nous recommandons de :

- Tester l'infusé ou d'autres extraits des deux plantes sur des souches phytopathogènes ;
- Réaliser la caractérisation des molécules bioactives, notamment chez les différentes variétés du grenadier qui pourraient contenir des principes actifs variés et différents ;
- Réaliser des tests *in vivo*.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **Adam et al. 1998:** Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp *Hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. *J.Agric Food Chem.* 46(6): p1739-1745.
- **Adams LS & seeram NP et al. 2006 :** 2T 2T15T2006.Pomegranate juice . 15T2006.15T total pomegranate ellagitannins, and *Punica* lagine suppress inflammatory cellsignaling in colon cancer cells15T.2T 2TJ *Agric Food Chem* 2T, 2T. 54(3) : P 980.
- **Alhijna A & Bdurich H. 2017 :** Etude et caractérisation chimique des extraits de pépins, évaluation de l'activité microbiologique. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid. Faculté de médecine.Tlemcen. p56.
- **AL-zorky NS. 2009:** Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.)
- **Amina Chebaibi & Fouzia Rhazi Filali. 2013:** Bactericidal activity and phytochemical screening of Moroccan pomegranate peel aqueous extracts. *Journal of medical plants research* 7(14): P 887-891.
- **Andrews JM. 2001:** The Development of the BSAC standardized method of disc diffusion Testing.² *J. Antimic. Chemo* (48): 29-42.
- **Angel CS & dr. Angel A. 2010 :** Jus de grenade Cultivée en Espagne (*punica lagine* anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de Grenade dans l'alimentation fonctionnelle du futur). P13-34.
- **Ashnagar A & Gharibnaseri N & Foroozanfar S. 2007:** Isolation and identification of the major chemical components found in the upper parts of *Teucrium polium* plants grown in Khuzestan province of Iran. *Chinese Journal of Chemistry* 25(8): p1171-1173.
- **Azumi S & Tanimura A & Tanamoto K. 1997:** A novel inhibitor of a bacterial endotoxin derived from Cinnamon bark. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 234: p506-510.
- **Ben Abdennebi M. 2012 :** le grenadier tunisien (*punica graanatum*) stimule le transport de glucose Dans les cellules museulaires C2C12 via la voie insulino-dépendante de l'Akt et la voie Insulino-indépendante de l'AMPK. thèse de master. Université Tunis. Faculté des médecins Tunis. P82.
- **Ben F et al. 2005 :** Les bactéries multi résistantes isolées chez les malades hospitalisés dans un service de maladies infectieuses. *Tin Infectiol* 1(4): p12-15.

- **Benoit B & Tela B. 2013** : Base de données Nomenclature de la flore en France.
- **Bouhdid et al. (2006)** :Thymus Essential oils chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie. Maroc.
- **Bonhomme M. 2019** : Etude botanique des trois espèces de noyer (*JR, JC, JN*) de leur Composition chimique, de leur intérêt thérapeutique et de leur utilisation à l'officine. Thèse docteur en pharmacie. Université Toulouse 3.
- **Boukhari F. 2017** : Extraction et analyse de l'huile essentielle et des métabolites secondaires lourds de *Juglans Regia*. Thèse de doctorat. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene.
- **Braga LC et al. 2005** : Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. *Journal Ethnopharmacol* 96: p335-339.
- **Chao SC et al. 2000**: Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria Fungi and Viruses. *J Essent Oil Res* 12: p 639-649.
- **Choi et al. 2009**: *Evid Based Compl Alter Med* 17:P 1–8.
- **Chong MF Macdonald R & Lovegrove JA. 2010**: Fruit polyphenols and CVD risk. A review of Human intervention studies. *J Nutr.* 140 (Suppl 3): S28-S39.
- **Conner DE & LR Beuchat.1984**: *Journal of food science* 49 (2): p 429-434.
- **Dallas S. 2010**: Bone-mass Dynamics of the transition from osteoblast to Osteocyte. *Annals of the New York Academy of Sciences*: 1192-437.
- **Develoux M. & Bretagne S. 2005** : Candidoses et levures diverses. Elsevier Masson *Consulte-Maladies infectieuses* 2(3) : p119-139.
- **Djaziri A. 2017** : Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité Antioxydant dans le jus de grenade (*punica granatum .L*). Université Abou Bakr.
- **Drancourt. 2016** : Antiquité de la résistance aux antibiotiques. *J des Anti – Infectieux.* 03.002.
- **Dupérat M & Polese JM. 2008** : Encyclopédie visuelle des arbres & arbustes. Editions Artemis.
- **Evertonpantojavalea B et al. 2020**: Cytogenetic and toxicological effects of *punica granatum* Linnaeus fruit peel hydroethanolic extract in mice. *South african journal of botany.*

- **Faucher JL & Avril JL. 2002** : Bactériologie générale et médicale Tome 1, Ellipses(Ed): p214. fruit peels. International Journal of Food Microbiology 134: P244-248.
- **Gauthier N. 2017**: les bains de bouche apport du pharmacien dans leur usage et dispensation. Thèse de doctorat. université de poitiers: p123.
- **Grunwald J & Janick C. 2006** : guide de la phytothérapie. 2ème édition. Italie.
- **Guillot JF. 1989**: Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. In Annales de recherches vétérinaires 20 : p3-16.
- **Gulcin I & Oktay M & Kufrayvioglu OI & Aslan A. 2002**: Determination of antioxidant Activity of Lichen Cetrariaislandica (L.). Acetylcholine. Journal of Ethnopharmacology 79 : p325–329.
- **Hamza T. 1993**: Introduction à la biologie moderne. Berti Edition.
- **Heber D & Schulman RN & Seeram NP. 2006**: Pomegranates. Ancient roots to Modern Medicine. CRC press.
- **Holland D & Hatib K.2009**: Pomegranate: botany, horticulture, breeding Horticultural reviews 35: p127-191.
- **Hufnagel DA & Depas XH & Chapman MR. 2015**: The biology of the *Escherichia coli* Extracellular matrix. Microbial Biofilms : p249-267.
- **Iserin P. 2001** : Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème édition. Londres Larousse.
- **Kawaii S & Lansky EP. 2004**: Differentiation-promoting activity of pomegranate (*Punica granatum*) fruit extracts in HL-60 human promyelocyticleukaemia cells. J. Med. Food Spring 7(1): p13-8.
- **Khiati M.1998** : Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU. Alger.
- **Licitra G. 2013** : Etymologia *Staphylococcus*. Emerg Infect Dis (19).
- **Manaa I. & Mechaty I. 2009** : *Ptychotis verticillata*, enquête ethnobotanique, caractérisation chimique et intérêt thérapeutique. Mémoire de diplôme de pharmacien d'état Uni D'Annaba. P 80.
- **Mundt J. 1963**: Occurrence of *Enterococci* in animals in a wild environment. Appl Microbiol (11): P136–40.
- **Murray BE. 1990**: The life and times of the Enterococcus. Clin Microbiol Rev (3): P 46–65.
- **Muylaert A & Mainil J. 2013** : Résistance bactériennes aux antibiotiques les mécanismes Et leur contagiosité. In Annales de Médecine Vétérinaire 1561 : P 09-123.

- **Nguyen DM. 1983** : Des plantes médicinales à propriétés antibactériennes. Médecine Traditionnelle Chinoise. (100): p 303-312.
- **Nolan L K et al. 2013**: Colibacillosis In Diseases Of Poultry. 13th edition. wiley-blackwell : p751-805.
- **Nuncio-JÁuregui N & Calín-Sánchez A & Carbonell-Barrachina A. 2014**: Changes in Quality parameters, proline, antioxidant activity and color of pomegranate (*Punica Granatum*.L) as affected by fruit position within tree, cultivar and ripening Stage. Scientia Horticulturae 165 :P 181-189.
- **Oliveira et al. 2008**: Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Journal of Food and chemical toxicology (46): P 2326-2331.
- **Pitout D & Nordmann P & Poirel L. 2015**: Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. A key pathogen set for global nosocomial dominance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 59(10): P5873–5884.View at: Publisher Site | Google Scholar.
- **Planchon G & Collin E. 1875**: Librairie F. Savy .Tome I.
- **Quezel P & Santa S. 1962**: New flora of Algeria and southern desert Regions. Edition. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris: P 1170.
- **Rather et al. 2012**: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. And its constituents. Journal of phytomedicine 19: p 1185-1190.
- **Raynaud J. 2006**: Prescription et conseil en aromathérapie. Edi. Médicales internationales , TEC et DOC. Paris. France : P 5-15.
- **Reddy et al. 2007**: Identification of antifungal component in clove that inhibits *Aspergillus sp.* colonizing rice grains. Journla Mycol Plant Pathol 37: P 87-94.
- **Sabatier S. 1999** : Variabilité morphologique et architecturale de deux espèces de noyers: *Juglans regia* L, *Juglans nigra* L et de deux noyers hybrides interspécifiques. Thèse de Doctorat. Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier . France : p224..
- **Salaheddin ME & Kader AA. 1984**: Post-harvest physiology and storage behaviour of pomegranate fruits. Scientia Horticulturae (24): p 287–298.
- **Sari et al. 2006**: Chemical composition, antimicrobial and Antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Des f. Flavour and Fragrance Journal 21: p 890-898.

- **Schaunberg P & Paris F.1977:** Guide des plantes médicinales. Paris. Editions Delachaux et Nestlé : 382p.
- **Sharma et al. 2013:** In vitro antibacterial and free radical scavenging activity of green hull of *Juglans regia*. Journal of pharmaceutical analysis (4): P298-302.
- **Shahr B. 1997:** Genetic diversity of pomegranate genotypes in Iran. Agriculture education publication.
- **Sofowera A. 2010:** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Karthala. Economie et Développement. Paris : P 384.
- **Sylvie S et al. 1998 :** modalités d’allaongement et morphologie des pousses Annuelles chez la noyer commun *Juglans regia* L. Canadian Journal of Botany 76 : p 1253-1264.
- **Tajamul IS & Ekta S & Gowhar A. 2014:** *Juglans regia* Linn. A Phytopharmacological Review. World Journal of Pharmaceutical Sciences 2(4): 357-363.
- **Wald E. 2009:** Le grenadier *Punica granatum* Plante historique et evolution Thérapeutique récentes. Thèse de Université Henri Poincare :158p.
- **Wang D et al. 2018:** Vasculoprotective Effects of Pomegranate (*Punica granatum* L.). Frontiers in Pharmacology : 9(544).
- **Wichth M & Anton R. 1992 :** Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale. Edi. Science et thérapeutique. Paris. France : p 636 .
- **Yala D & Merad AS & Mohamed D & OuarKorich MN. 2001:** Classification et Mode d’action des antibiotiques. Médecine de Maghreb: N° 91.
- **Yano Y & Satomi M & Oikawa H. 2006:** Antimicrobial effect of spices and herbs on vibrio parahaemolyticus. International journal of food microbiology 111(1): p6-11.
- **Zaika L.1988:** Spices and Herbs -Their Antimicrobien Activity and Its Determination. Journal of Food Safety 9(2): p 97-118.
- **https://earth.google.com/web/search/Beni+Zid,+Collo+skikda/@36.91221871,6.48773434,70.94579945a,29756.52417626d,35y,0h,0t,0r/data=CoEBGlcSUQolMHgxMmYxZjc0N2I3M2I0OTNmOjB4N2YzM2M5ZDhmNTYzOTI3MRmZyBaTSHdCQCGKWYo_5esZQCoWQmVu aSBaaWQsIENvbGxvIHNraWtkYRgCIAEiJgokCVj5ZWVCkENA EacbJ_QCtRTAGcyDdG7LPVJAIXynuOccMFHA**