

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences alimentaires
Spécialité/Option : Qualité des produits et sécurité alimentaire
Département : Biologie

Thème

**Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries
pathogènes: Synthèse bibliographique**

Présenté par :

LAMOURI Lina

LAYAICHA Hanane

Devant le jury composé de :

Président : Benyounes A/A

Pr.

Université de Guelma

Examineur : Mokhtari A/H

M.C.B

Université de Guelma

Encadreur : Mezroua E.

M.C.B

Université de Guelma

Octobre 2020

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la santé et les moyens afin de réaliser ce mémoire.

Tout d'abord, nous souhaitons exprimer notre gratitude au Pr. BENYOUNES d'avoir bien accepté de présider ce jury et nous tenons à remercier également Dr. MOKHTARI pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury et examiner notre mémoire.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Dr. MEZROUA qui a mis toutes ses connaissances, ses suggestions, ses critiques les plus constructives et son expérience à notre disposition. Nous apprécions vraiment la façon dont il a travaillé.

Nous remercions aussi tous les enseignants de la Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Science de la Terre et de l'Univers de l'Université 8 Mai 1945 Guelma qui nous ont enseigné et formé durant les cinq ans d'études.

Sommaire

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Chapitre I. Le grenadier	3
1. Etymologie.....	3
2. Historique	3
3. Position systématique du grenadier	4
4. Origine géographique	5
5. Production mondiale.....	5
6. Caractères morphologiques du grenadier et de son fruit	6
6.1. Les feuilles	7
6.2. Les fleurs.....	7
6.3. Les fruits	9
6.4. Les arilles	9
6.5. L'écorce du fruit.....	9
7. Exigences écologiques du grenadier.....	9
8. Multiplication du grenadier	10
9. Conservation des grenades	10
10. Variétés de grenadier en Algérie	10
11. Composition chimique des différentes fractions du fruit	10
11.1. Les feuilles	10
11.2. Les fleurs.....	11
11.3. Les arilles	11
11.4. Jus de grenade	12
11.5. Ecorce de grenade.....	13
11.6. Les pépins et leur huile	13
12. Utilisation traditionnelle	14
Chapitre II. Les polyphénols	15
1. Généralités	15

2. Classification des polyphénols	15
2.1. Les polyphénols simples	16
2.1.1. Les acides phénoliques	16
2.1.2. Les flavonoïdes	16
2.2. Tanins.....	16
2.2.1. Tanins hydrolysables.....	16
2.2.2. Tannins condensés.....	17
3. Rôles des polyphénols	17
4. Toxicité des polyphénols du grenadier	18
Chapitre III. Les bactéries pathogènes	19
1. Notion de pouvoir pathogène	19
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.1.1. Classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.1.2. Habitat de <i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.1.3. Pouvoir pathogène.....	20
2.2. <i>Escherichia coli</i>	20
2.2.1. Classification d' <i>Escherichia coli</i>	21
2.2.2. Habitat d' <i>Escherichia coli</i>	21
2.2.3. Pouvoir pathogène d' <i>Escherichia coli</i>	22
2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	22
2.3.1. Habitat de <i>Listeria monocytogenes</i>	22
2.3.2. Pouvoir pathogène de <i>Listeria monocytogenes</i>	23
2.4. <i>Yersinia</i>	23
2.4.1. Habitat de <i>Yersinia</i>	23
2.4.2. Pouvoir pathogène de <i>Yersinia</i>	23
Chapitre IV. Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries pathogènes.....	27
1. Activité antimicrobienne	27
2. Utilisation des extraits des plantes.....	24
3. Quelques études précédentes sur l'activité antimicrobienne de peau de grenade	25
3.1. Etude de Al-Zoreky.(2009).....	25
3.2. Etude de Sadeghian et al.(2011).....	25
3.3. Etude de Lairini et al. (2014).....	27
3.4. Etude de kaci-meziane et al .(2017)	27
3.5. Etude de Yssaad et Hammadi.(2017).....	28

3.6. Etude de Alexandre et <i>al.</i> (2019).....	29
Conclusion.....	30
Références bibliographiques.....	31
ملخص	
Summary	
Résumé	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Répartition de la production mondiale de grenade	5
2	Répartition géographique de la grenade en Afrique	6
3	Schéma descriptif d'une grenade	7
4	Caractéristiques botaniques du grenadier	8
5	Principales classes de polyphénols	15
6	Structure chimiques d'un tanin hydrolysable et d'un tanin condensé	17

Liste des photos

Photo	Titre	Page
1	Perséphone mangeant la grenade d'après Rossetti	4
2	L'écorce de grenade avant et après séchage	9
3	L'écorce de la grenade et la membrane blanche	13
4	L'huile de pépins de grenade	14
5	Observation microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i>	20
6	Observation microscopique d <i>Escherichia coli</i>	21
7	Observation microscopique de <i>L.monocytogène</i>	21

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Position systématique des grenadiers	4
2	Principaux constituants de différentes parties du grenadier et des fruits	11
3	Activité antimicrobienne des extraits d'écorce de grenade contre les souches bactériennes testées par méthode de dilution sur gélose	25
4	Liste des souches bactériennes utilisées	27
5	Zones d'inhibition des extraits de pelures de chaque variété de grenades (mm)	28

Liste des abréviations

CMI: concentration minimale inhibitrice

HPLC : (High Performance Liquid Chromatography/ La chromatographie en phase liquide à haute performance)

UV : rayonnement ultraviolet

NCCLS: *National Committee for Clinical Laboratory Standards*

MBC : concentration minimale bactérien

LAB: lactic acid bacteria

ARNr16s: L'ARN ribosomique 16S

WME: water methhanolic extact

EMG: extrait méthanolique de grenade

EAG: extrait aqueux de grenade

Introduction

Introduction

Introduction

Les maladies d'origine alimentaire demeurent un problème majeur pour les consommateurs, l'industrie alimentaire et les autorités de sécurité alimentaire. Pendant ce temps, les consommateurs ont remis en question la sécurité des conservateurs synthétiques des aliments (**Al-Zoreky, 2009**).

Les conséquences de la croissance microbienne involontaire dans les aliments sont des dangers attribuables à la présence de microorganismes pathogènes ou à des pertes économiques attribuables à la détérioration microbienne. Les technologies de conservation sont conçues pour protéger les aliments des effets des microorganismes et de la détérioration inhérente. Les microorganismes présents dans les aliments peuvent être inhibés ou inactivés par des méthodes physiques (chaleur, froid, réduction de l'activité hydrique) ou par l'application de composés antimicrobiens (**Davidson et al., 2005**).

Cependant, il y a une préoccupation concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre les infections bactériennes. Il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antibiotiques classiques pour améliorer la sécurité alimentaire (**Abdallah et al., 2019**).

Depuis quelques années, la grenade, fruit consommé depuis des millénaires, connaît un regain d'intérêt sans précédent à la fois auprès des scientifiques et des consommateurs. En effet, ce fruit, en plus de sa grande valeur nutritionnelle, constitue une source importante de minéraux, de vitamines et de polyphénols composés essentiellement de tanins, d'anthocyanes et de flavonoïdes. L'utilisation médicinale de la grenade est très ancienne, mais ces deux dernières décennies, de nombreux travaux ont été réalisés sur ce fruit, qui tendent à démontrer que les polyphénols de grenade posséderaient des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et antibactériennes intéressantes (**Bidri et Choay, 2017**).

Les industries agroalimentaires génèrent, à partir de leur activité de transformation, des quantités importantes de déchets et sous-produits d'origine organique comme les écorces de grenade qui restent après la fabrication de jus. Les sous-produits d'origine végétale sont intéressants car ils contiennent d'importantes molécules telles que les polyphénols. De nombreux sous-produits ont été étudiés comme source d'antioxydants et d'antimicrobiens (**Agourram, 2004**).

Introduction

En effet, des études ont montré que la grenade possède des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes contre la détérioration des produits alimentaires. Cela justifie son utilisation comme agent de conservation naturel (**Lairini et al., 2014**).

La présente étude bibliographique vise la valorisation de l'écorce de ce fruit en montrant ses effets sur les bactéries pathogènes car cette écorce est considérée comme déchets et la valorisation de cette dernière représente des enjeux importants pour le monde agricole et agroalimentaire.

Ce mémoire est organisé en quatre chapitres :

Le premier chapitre comprend une description générale du grenadier ;

Le deuxième chapitre présente les différentes classes de polyphénols ;

Le troisième chapitre sur bactéries pathogènes ;

Et le dernier chapitre comprend l'effet d'extrait d'écorce de la grenade sur quelques bactéries pathogènes.

Chapitre I. Le grenadier

1. Etymologie

Le grenadier a d'abord été connu sous deux appellations latine ; *Malum granatum*, qui signifie pomme à grains et *Malum punicum* qui signifie pomme de Phénicie (**Hollet et al., 2009a**). La grenade (*Punica granatum L.*), en latin *Pomus* et *Granatus*, ce qui signifie une tête de série ou de pomme granulaire (**Lansky et Newman, 2007**).

La grenade (*Punica granatum L.*), famille de *Punicaceae* l'un des plus anciens arbres fruitiers cultivés. Il provient de Moyen-Orient et a ensuite été dispersé dans les îles méditerranéennes et les pays d'Afrique du Nord et l'Europe. Récemment, il y a eu une augmentation impressionnante de l'intérêt pour les fruits du grenadier considérablement fonctionnels qui ont fourni de nombreux médicaments. En fait, plusieurs études ont révélé que les parties de grenade, y compris les arilles, les graines, la couenne, l'écorce et les racines contiennent un large éventail de constituants bioactifs, y compris les polyphénols (comme les tanins, l'acide ellagique, les flavonoïdes, les anthocyanes...), les acides gras, les stérols, les terpénoïdes et *alcaloïdes* (**Amri et al., 2017**).

La grenade est nommée pomme punique, c'est le *Malum punicum* de Pline, ou pomme de Carthage. Elle sera alors renommée *Punica granatum*. *Punica* en souvenir des guerres puniques ou peut-être pour *punicus* qui signifie rouge écarlate en latin, et *granatum* pour la multiplicité des graines contenues dans le fruit (**Lemoine, 1998**).

2. Historique

Il est présent dans les anciens textes grecs, égyptiens, les textes bibliques, le Coran et dans les traditions populaires des différents pays bordant la Méditerranée.

Dans la Grèce antique, Perséphone (**Photo 1**), fille de Zeus et de Déméter, est enlevée par Hadès et pris dans la pègre. Après une longue période de jeûne, Perséphone mange sept graines d'une grenade du jardin des enfers. Ayant goûté la nourriture des morts, elle se condamne à devenir reine des enfers, et à passer six mois de l'année en ces lieux et six mois sur terre, reproduisant ainsi le cycle des saisons, l'alternance de l'été et de l'hiver. L'ingestion des graines de grenade ne conduit pas à la fertilité, mais à la stérilité cyclique (**Wald, 2009 ; Ruis, 2015**).

Le grand nombre de graines que la grenade contient, l'a fait adopter, dans la symbolique populaire et la mythologie, comme la représentante de la fécondité, de la

Chapitre I. Le grenadier

génération et de la richesse (De Gubernatis, 2011). Les fruits du grenadier, avec leurs graines, écorces, fleurs et jus, ont été consommés durant des milliers d'années, en tant que nourriture et remèdes (Hollet et al., 2009).

En Egypte, la grenade était considérée comme le fruit des dieux. Le symbole de la fertilité et de la richesse, en raison de l'abondance de ses graines et de sa forme ronde (Ruis, 2015).

En Turquie, tradition peut-être d'origine hellénique, la jeune mariée jette à terre une grenade dont le nombre de grains projetés lui dira le nombre d'enfants qu'elle aura. (Ducourthial, 2003).



Photo 1 : Perséphone mangeant la grenade d'après Rossetti

3. Position systématique du grenadier

La position systématique des grenadiers est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 1. Position systématique de grenadier (Spichiger, 2004).

Règne	Plantae	Ordre	Myrtales
Embranchement	Spermaphytes	Ordre famille	Punicaceae
Sous-embranchement	Angiospermes	Genre	Punica
Classe	Magnoliopsida	Espèce	Punica granatum

4. Origine géographique

Aujourd'hui, le grenadier est largement cultivé dans toute la région du Moyen-Orient et du Caucase, l'Afrique du Nord et l'Afrique tropicale, les régions plus sèches de l'Asie du

Chapitre I. Le grenadier

Sud-Est et certaines parties du bassin méditerranéen (Elfalleh et al., 2011 ; Legua et al., 2012 ; Hollet et al., 2009).

Le grenadier (*Punica granatum L.*) est une culture fruitière importante qui s'adapte à un large éventail de conditions agro-climatiques, c'est un arbuste à feuilles caduques (Singh et al., 2018), originaire de l'Iran à l'Himalaya dans le Nord de l'Inde, où elle a été cultivée depuis des milliers d'années. Il y a plus de 1000 cultivars de *Punica granatum*, qui sont passés de l'Iran, à l'Est en Chine et en Inde et à l'Ouest par la région Méditerranéenne, sur le Sud-Ouest américain, la Californie et le Mexique (Mekni et al., 2013 ; Lansky et Newman, 2007 ; Edeas, 2010).

5. Production mondiale

L'offre mondiale de la grenade ne cesse d'augmenter ces dernières années. Depuis 2007, elle a augmenté de 16% pour atteindre environ 2 500 000 tonnes de grenades en 2012. La **figure 1** montre que la majeure partie de la production se concentre sur deux pays : l'Iran (37 %) et l'Inde (33 %) (Cauchard, 2013).

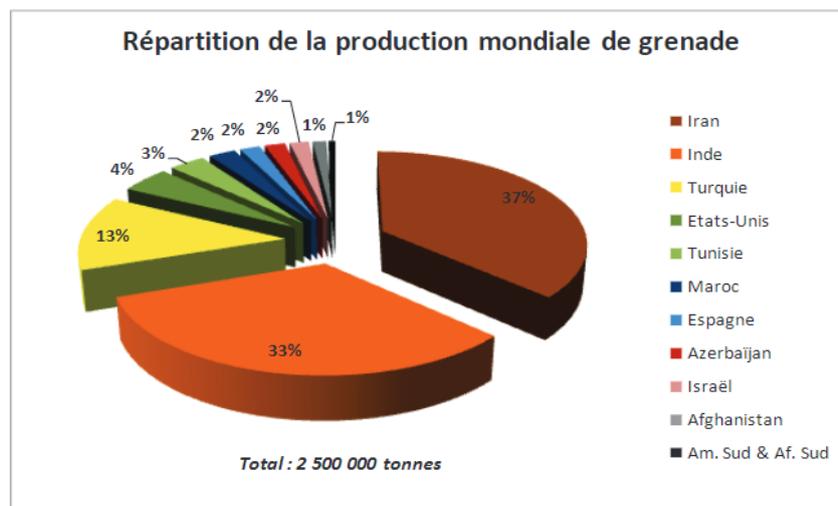


Figure 1 : Répartition de la production mondiale de grenade (Cauchard, 2013)

Dans le monde, les plus importants pays producteurs de grenades sont les pays d'Orient dont l'Iran, la Turquie, la Transcaucasie et l'Inde mais aussi dans la zone méditerranéenne la Tunisie, le Maroc, l'Espagne, l'Italie et la Grèce. Aux Etats-Unis et plus particulièrement en Californie, la culture de la grenade est très développée (Figure 2) (Yssad, 2019).

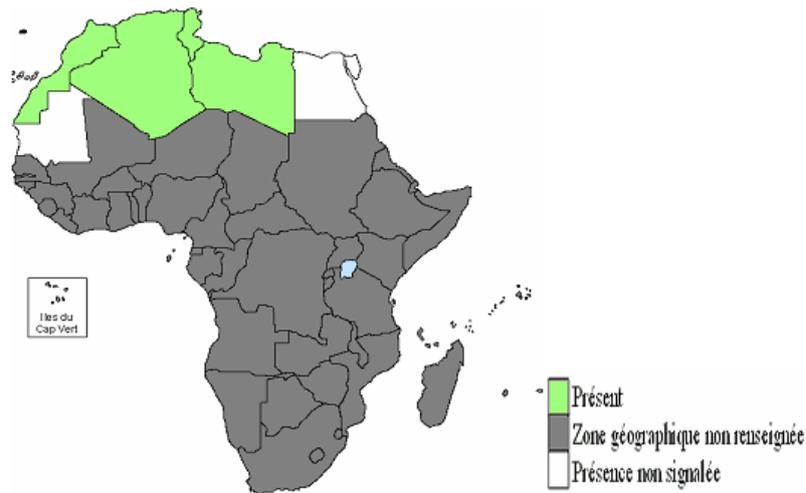


Figure 2: Répartition géographique du grenadier en Afrique (Yssad, 2019).

6. Caractères morphologiques du grenadier et de son fruit

Le grenadier (*Punica granatum L.*) est un arbre ou arbuste buissonnant de 2 à 5 m de hauteur à un tronc tortueux (Wald, 2009), ce gros buisson assez épineux, au feuillage caduc (Hmid, 2013). Les feuilles sont opposées, elliptiques oblongues. Les fleurs axillaires, solitaires ou parfois disposées par deux, présentent un calice épais, coriace, tubuleux et turbiné à 6 lobes triangulaires. La corolle d'un rouge éclatant est formée de 5 à 7 pétales obovales (Evreinoff, 1957). Les étamines sont nombreuses, en plusieurs séries. L'ovaire est libre au sommet; il est divisé dans sa partie supérieure en 6 et 7 loges rayonnantes (à 3 ou 4 loges); et dans sa partie inférieure en 3 ou 4 loges, celles-ci étant verticales. Les ovules sont très nombreux (Evreinoff, 1957).

La grenade est l'un des fruits les plus anciens comestibles (Mansour et al., 2013). Elle est un fruit dont seulement une partie est consommable. En effet, seules les graines enrobées de pulpe, appelées arilles, sont consommées (Figure 3). La partie comestible représente 52% du poids du fruit et chaque arille est composé de 78% de pulpe et 22% de graine (Cauchard, 2013), le tout est enveloppé dans une peau (écorce) coriace dont la couleur peut aller du jaune au rouge foncé (Melgarejo, 1993; Bock, 2013). Toutefois ces arilles sont bien protégés au sein du fruit, chaque groupe d'arilles est entouré d'une membrane et le tout est inclus dans l'écorce du fruit. Le calice surmonte le fruit et ressemble fortement à une couronne (Cauchard, 2013).

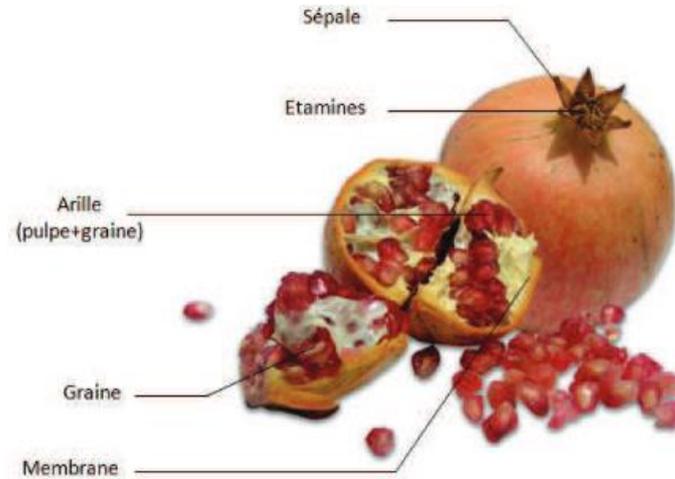


Figure 3 : Schéma descriptif d'une grenade (Cauchard, 2013)

6.1. Les feuilles

Le grenadier est caractérisé par ces feuilles brillantes, lancéolées, assez coriaces, présentent un limbe elliptique allongé (**Figure 5**), de 3 à 8 cm de long, de sommet obtus ou allongé, munies d'un court pétiole rougeâtre (**Hmid, 2013**).

Les feuilles du grenadier sont opposées. Elles peuvent avoir une disposition alterne sur les rejets ou être en touffes sur les pousses courtes. Elles sont glabres sur les deux faces. La face supérieure est verte foncée et à nervure médiane nettement déprimée. La face inférieure, verte claire, montre une nervure médiane très saillante (**Godet, 1991**). Elles ne possèdent pas de stipule (**Garnier et al., 1961**).

6.2. Les fleurs

Les fleurs du grenadier portent également le nom de balaustes (quet elles sont sous forme de boutons). Elles sont très ornementales, de couleur rouge pourpre ou grenat, d'aspect froissé, portées par un court pédoncule (**Melgarejo et Salazar, 2003**). Ces fleurs sont de 3 cm de diamètre et ayant cinq pétales (**Figure 4**). Elles sont hermaphrodites, portant de 4 à 8 sépales coriaces et un même nombre de pétales rouges, de nombreuses étamines et un nombre variable de sépales, qui constitue l'ovaire inférieur (**Ben-Arie et al., 1984**). Les fleurs rouges, pourpres ou grenats sont solitaires à l'aisselle des feuilles ou réunies par groupe de 2 ou 3 (**Mortan, 1987**).

La période normale de la floraison de différents cultivars de grenadier se produit généralement entre mars- avril et juin-août. Elle dure jusqu'à 10 –12 semaines et voire plus selon les variétés et les conditions géographiques (**Ben-Arie et al., 1984**).

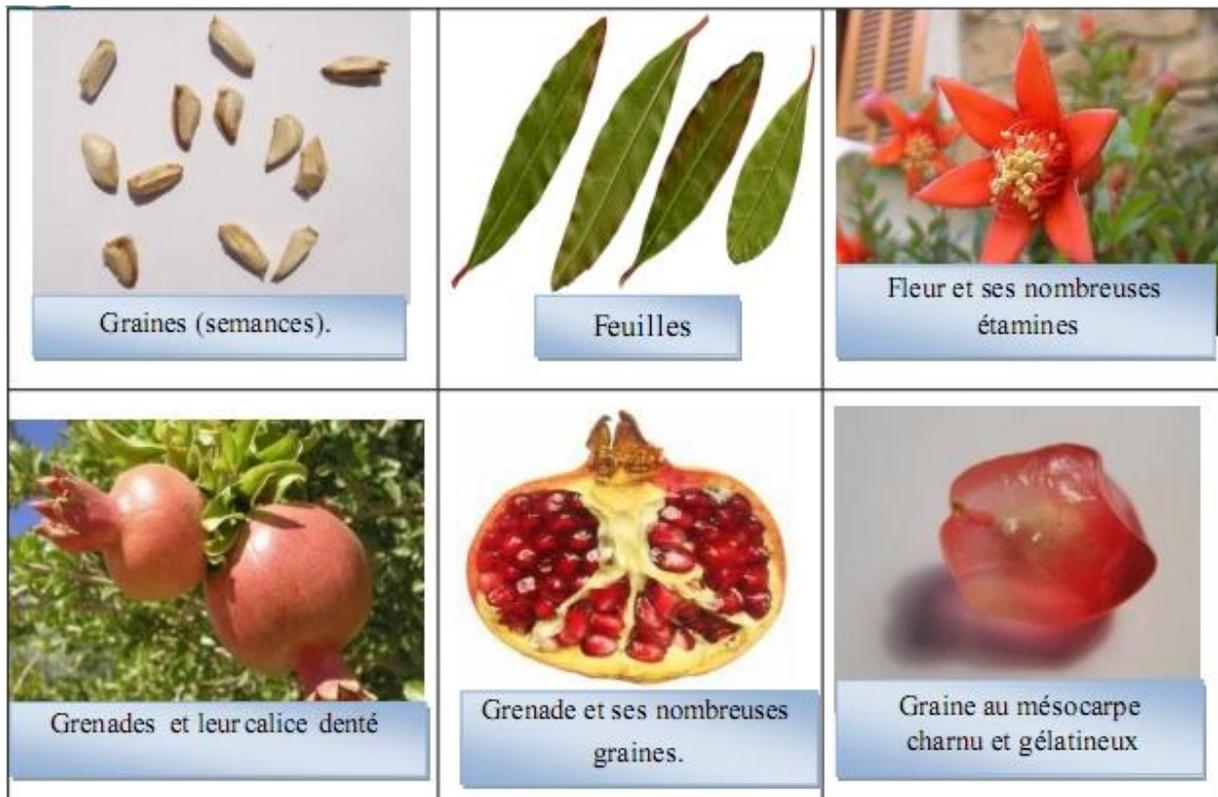


Figure 4. Caractéristiques botaniques du grenadier (Yssad, 2019)

6.3. Les fruits

Le grenadier apparaît bien défini par ses fruits sphériques jaune-orangé ou roses, est caractérisé par des petits appendices en étoile, parfois unilobés. C'est l'arbre le plus souvent figuré, qu'on trouve, seul ou en combinaison avec d'autres, sur presque tous les pavements. Les fruits «cordiformes » de même teinte, sphériques avec une extrémité effilée (**Baritel, 1989**). Les fruits sont consommés en frais et sont aussi utilisés pour produire un sirop dont le principal ingrédient est sa pulpe au goût acide (**Melgarejo, 1993**).

Le fruit de la grosseur du poing est globuleux, couronné par le calice persistant. C'est une baie à peau épaisse et coriace, à valves irrégulières; ses nombreuses loges sont séparées par des cloisons ténues. Les graines sont très nombreuses, anguleuses, à tégument externe épais, charnu, pulpeux, rougeâtre, sucré, légèrement acide et rafraîchissant (**Evreinoff, 1957**). Selon la variété, la couleur de la grenade diffère, blanc jaunâtre, jaune foncé, violet foncé ou rarement noir (**Bruneton, 1993**).

6.4. Les arilles

C'est la partie comestible du fruit. Cette baie renferme de nombreuses graines contenues dans des loges, séparées par des cloisons ténues et membraneuses. Toutes ces

Chapitre I. Le grenadier

graines possèdent un mésocarpe charnu et gélatineux, acidulé et sucré, représentant la partie comestible du fruit (**Baritel, 1989**).

6.5. L'écorce du fruit

L'écorce du fruit du grenadier est également appelée malicorium. Il s'agit de la partie dure du fruit, elle est coriace, brun-rougeâtre à l'extérieur, jaunâtre à la face interne, qui porte l'empreinte des graines. Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente (**Planchon, 1875**). Depuis des milliers d'années, les propriétés astringentes de l'écorce du fruit et de l'arbre sont très prisées en médecine, particulièrement comme vermifuge (**Melgarejo, 1993**) (**photo 2**).



Photo 2 : L'écorce de grenade avant et après séchage.

6.6. Les racines

Le système racinaire en général plutôt de surface (60 cm), très fasciculé, mais peut s'adapter selon les conditions de sol. La racine du grenadier est dure et ligneuse, avec une écorce épaisse et grisâtre. L'écorce de racine de grenadier a une saveur acerbe légèrement amère. Elle colore la salive en jaune et contient une assez grande quantité de tannin ce qui lui donne sous l'action des sels de fer une coloration bleu noirâtre. Elle contient en outre une substance assez mal déterminée nommée Punicine et une matière sucrée qu'on a nommée Granatine (**Planchon, 1875**).

7. Exigences écologiques du grenadier

Les exigences de culture du grenadier sont l'eau et la température comme le disent les agriculteurs. Le grenadier s'adapte à de nombreux climats, des tropiques aux régions tempérées chaudes (**Afaq et al. 2005**). Il peut tolérer des températures de -12°C en hiver, de 42 °C en été, et une tolérance au calcaire et à la salinité (**Evreinoff, 1957**). Il tolère une large

gamme de sols, mais il est nécessaire que ses racines soient au frais et largement irriguées, afin d'obtenir des fruits de bonne qualité et en grande quantité (**Afaq et al. 2005**).

8. Multiplication du grenadier

La multiplication du grenadier peut se réaliser soit en semant les semences contenues dans les arilles ou bien par bouturage en mettant des rameaux dans le sol. Cette multiplication nécessite l'ajout des engrais et plusieurs sarclages afin de maintenir les racines humides (**Cauchard, 2013**).

9. Conservation des grenades

Elle est simple du fait qu'il s'agit d'un fruit non climactérique. Comme tous les fruits "exotiques", le fruit a besoin d'une température de conservation supérieure à 5°C pour éviter les maladies du froid et une humidité relative entre 80-85. Notons que ce fruit peut supporter jusqu'à 6 mois de stockage sans altération (**Wald, 2009**).

10. Variétés de grenadier en Algérie

Les variétés de grenade présentes en Algérie sont certifiées par le centre national de contrôle et de certification des semis pour la plantation. Elles peuvent être importées et exportées selon certaines conditions qui sont également soumises à l'approbation et au suivi de l'inspection phytosanitaire : Espagne rouge, Corda Travita, Moller husso, Mellisse, Papers Shell Ganjin, Sefri, Zemdautomne, Sulfani, Spanish Duoy, Chelfi et Messaad.

Dans la région de Guelma, il existe deux variétés: Kaydi et Shashi (**Bendjabeur, 2012**).

11. Composition chimique des différentes fractions du fruit

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 (**tableau 2**). 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 (**Mélanie, 2013**).

11.1. Les feuilles

Les feuilles du grenadier contiennent des flavones, telles que la lutéoline et l'apigénine. Cette dernière possède des propriétés anxiolytiques. Elles renferment également des tanins, comme la punicaline et la unicalagine (**Lansky et Newman, 2007**) (**Tableau 2**).

Chapitre I. Le grenadier

11.2. Les fleurs

Les fleurs du grenadier contiennent de l'acide gallique et des triterpènes comme l'acide ursolique, acide oléanolique, acide asiatique, acide maslinique (**Lansky et Newman, 2007**). (Tableau 2)

11.3. Les arilles

La composition des graines de grenade est la suivante : eau (85%), sucres (10%), principalement fructose et glucose, acides organiques (1,5%) essentiellement acide ascorbique, citrique et malique, des composés bioactifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes essentiellement les anthocyanines (**Wald, 2009**). Les graines, sont très riche en fibres insolubles, contenues dans le tégument de ces graines (**Wald, 2009**). Parmi les composés qui existent dans le jus, la vitamine C avec une teneur de 0.47mg/100g (**Lansky et Newman, 2007**). La grenade est une bonne source de composés phénoliques bioactifs importants (Tableau 2) (**Di Stefano et al., 2019**).

Tableau 2. Principaux constituants de différentes parties du grenadier et des fruits (**Sreekumar et al., 2014**).

Partie de la plante	Composants
Zeste de grenade	Acide gallique, Acide ellagique. Punicaline, Punicalagine, Acide caféique, Ellagitannins.
Jus de grenade	Sucres simples, Acides organiques aliphatiques, Acide gallique, Acide ellagique, flavonols, Acides aminés, Minéraux, Acide ascorbique.
grenade et écorce	Ellagitannins, Alcaloïdes de pipéridine. Alcaloïde de pyrrolidine, Alcaloïdes de pelletierine
Fleur de grenadier	acides galliques, acide ursolique, triterpénoïdes, acides gras.
Feuilles de grenade	Glucides, Sucres réducteurs. Stérols, Saponines, Flavanoïdes, Tanins, Alcaloïdes de pipéridine, Flavone, Glycoside, Ellagitannines
Graine de grenade	Acide punique, acide oléique, acide palmitique, stéarique acide, acide linoléique, stérols, tocophérols, stéroïdes sexuels.

11.4. Jus de grenade

Les fruits de grenade (*Punica granatum L.*) sont largement consommés frais et transformés sous forme de jus, de confiture. Le jus de grenade commercial présente de puissantes propriétés antioxydantes et anti-athérosclérose attribuées à son effet élevé. Le jus de la grenade est riche en polyphénols, notamment le punicalagin et l'ellagitannine qui sont les constituants bioactifs responsables de plus de 50 % de l'activité antioxydant puissante du jus (**Adams et al., 2006**). Il contient une part non négligeable de phyto-micronutriments de type polyphénolique (0,2 à 1%) (**Aviram et al., 2008**).

Les polyphénols majeurs sont les anthocyanes, avec notamment la delphinidine, la cyanidine et la pélargonidine (sous formes natives, et 3 et 3,5-O-glucosidées). Les tannins hydrolysables sont également présents, notamment la punicalagine et la punicaline, les acides ellagique et gallagique. On y trouve aussi, en petite quantité des flavan-3-ols (catéchine, épicatechine, quercétine, rutine), des acides hydroxycinnamiques (acide caféique, chlorogénique, pcoumarique) et de l' α -tocophérol. Ainsi, du fait de sa composition, le jus de grenade est doté d'un fort pouvoir antioxydant, trois fois supérieur à celui du vin rouge et du thé vert (**Lansky et Newman, 2007**); (**Edeas, 2010**).

11.5. Ecorce de grenade

La proportion de l'épiderme qui est la partie extérieure du fruit représente 28 à 32% du poids total du fruit (**photo 3**) (**Al-Maiman et Ahmad, 2002**). L'écorce du fruit contient deux importants acides hydroxybenzoïques, l'acide gallique et l'acide ellagique. Elle renferme également des acides hydroxycinnamiques, des dérivés de flavones, des molécules de coloration jaune et des anthocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades. Les polyphénols d'écorce de la grenade sont majoritairement composés d'ellagitannins (75 à 90% des polyphénols), notamment la punicalagine et la punicaline, des tannins hydrolysables tels que les acides ellagique et gallagique, des anthocyanines, des flavan-3-ols et flavonoïdes (catéchine, épicatechine, lutéoline, kaempférol, quercétine, rutine), des acides hydroxycinnamiques et des proanthocyanidines. De nombreux ellagitanins sont aussi présents, tels que la punicaline, la punicalagine, la granatine A et la granatine B (**Lansky et Newman, 2007**). La pelletiérine pourrait aussi se trouver dans l'écorce de la grenade (**Hmid, 2013**).



Photo 3. L'écorce de la grenade et la membrane blanche

11.6. Les pépins et leur huile

Les pépins sont composés d'une matrice rigide dont la composition est bien moins décrite (**Dalimov et al., 2003**). L'huile du grains de grenade ne dépasse pas 12 à 20% du poids total des grains (**Photo 4**) (**Lansky et Newman, 2007**). Elle comporte en majorité des lignines (35,3%), des protéines (13,2%), des pectines (6%) et des sucres (4,7%) ainsi que des acides hydroxycinnamiques (**Dalimov et al., 2003**).

Il a été mis en évidence l'existence d'hormones stéroïdiennes dans les graines de grenade. De plus, ces graines contiennent aussi de nombreux stérols, comme le cholestérol ou le stigmastérol. Elles renferment aussi un glycolipide entrant dans la composition des gaines de myéline des mammifères et le cérébroside (**Lansky et Newman, 2007**).

L'huile obtenue à partir des graines de grenade, se compose à 80% d'acides gras insaturés, essentiellement représentée par l'acide punique, mais également par les acides oléiques et linoléiques. Cette huile se compose aussi d'acides gras saturés, comme les acides palmitiques et stéariques (**Lansky et Newman, 2007**).

L'huile de pépins de grenade est composée à plus de 95 % de triglycérides, l'acide linoléique (18:3) était l'acide gras prédominant dans l'huile de grenade. Le deuxième acide gras majoritaire est l'acide linoléique, puis on trouve les acides oléique, palmitique et stéarique en quantité très minoritaire (**Kaufman et Wiesman, 2007**). Elle contient aussi des composés mineurs tels que des tocophérols, stérols, stéroïdes, et cérébrosides. A l'heure actuelle, les principales techniques d'extraction utilisées sont le pressage à froid et l'extraction critique au CO₂ (**Dalimov et al., 2003**).



Photo 4. L'huile de pépins de grenade

12. Utilisation traditionnelle

L'arbuste a de nombreuses utilisations médicinales et cosmétiques: les fleurs fournissent un colorant pour les cheveux, les feuilles et les fleurs donnent des potions pour les gargarismes, l'écorce de fruits astringent et racines fraîches ont des propriétés toniques qui aident dans le traitement des troubles digestifs et intestinaux sévères (**Clay et al., 1987**).

La grenade est utilisée historiquement pour soigner les maladies gastro-intestinales et les affections parasitaires, elle attire, depuis quelques années, l'attention des scientifiques en tant qu'agent protecteur contre les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Edeas, 2010**). Ce fruit a une longue histoire d'utilisation en médecine naturelle et holistique. En effet, elle a été utilisée pendant des milliers d'années pour guérir un large éventail de maladies dans le monde entier (**Wald, 2009**).

Hippocrate, considéré comme le père de la médecine, attribué au grenadier de nombreuses propriétés. Il recommande le jus et l'écorce de la grenade contre plusieurs maladies liées aux femmes. De plus les médecines traditionnelles égyptiennes considéraient l'écorce comme anthelminthique et mettaient à profit l'effet astringent du tanin contenu dans la grenade. Ainsi, le tanin des fruits aigres était prescrit comme fébrifuge et anti vomitif, celui des fruits sucrés comme adoucissant pour la toux (**Wald, 2009**).

De l'Afrique du Nord jusqu'en Inde, le jus de grenade, couramment utilisé dans les médecines indigènes, à la réputation d'accroître la fécondité et d'être un antidote à la stérilité. La pharmacopée et la médecine traditionnelle chinoise font aussi référence au grenadier pour guérir les *maladies* touchant les intestins (**Wald, 2009**).

Chapitre II. Les polyphénols

1. Généralités

Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques mais, comme c'est le cas pour la plupart des substances naturelles qualifiées de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques. Ils correspondent à une très large gamme de structure chimique et sont un bon témoin de l'extraordinaire capacité de biosynthèse des plantes, capacité qui permet à l'homme de les utiliser dans les domaines aussi variés que l'agroalimentaire ou la pharmacologie (Cheynier *et al.*, 2006).

La teneur en polyphénols totaux de la grenade est bien inférieure à la teneur moyenne contenue dans les fruits qui est de 65,34 mg pour 100 g. Les polyphénols sont très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Akroum, 2017).

2. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. Ils sont distingués en deux catégories (Figure 5) : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Archivio *et al.*, 2007).

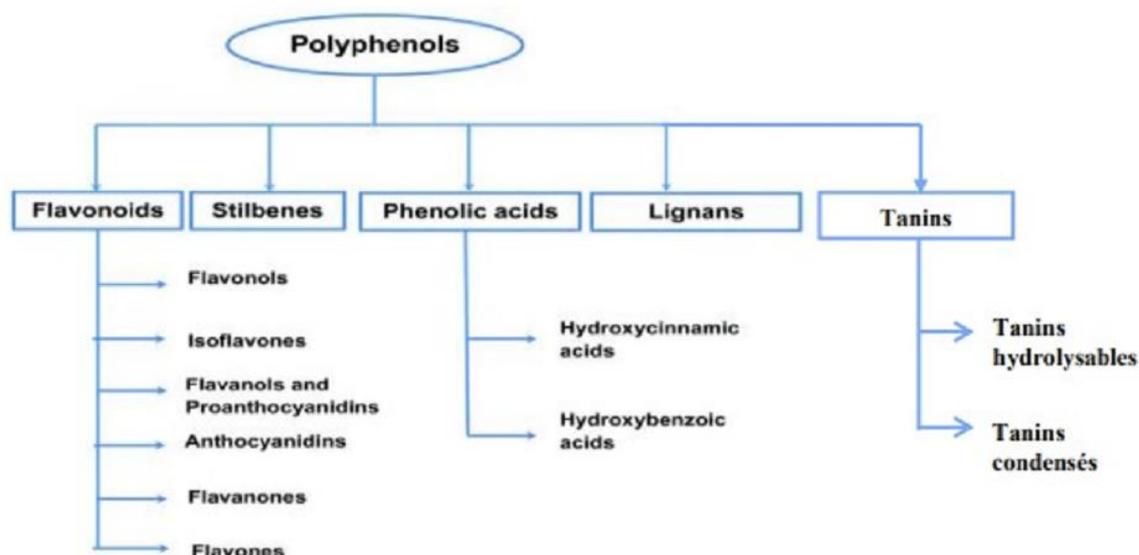


Figure 5. Principales classes de polyphénols (Oliver *et al.*, 2016).

2.1. Les polyphénols simples

Ce sont les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C₆ (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C₁₅ et à des molécules proches. Sauf exception, ces substances sont présentes sous forme soluble dans la vacuole (**Bendjabeur, 2012**).

2.1.1. Les acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales principalement dans la grenade qui contient de l'acide gallique et l'acide ellagique (**Psotová et al., 2003**).

2.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyranne, formant une structure C₆-C₃-C₆(**Kilani et al., 2005**).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides (**Häkkinen et al., 1999**).

2.2. Les polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols qui se trouvent dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, grenade, datte, café, cacao...) localisés dans les vacuoles. Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines. Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation (**Aguilera-Carbo et al., 2008**).

2.2.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (**Figure 6**) (**O'connell et Fox, 2001**).

2.2.2. Tannins condensés

Les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (**Figure 6**) (**O'connell et Fox, 2001**).

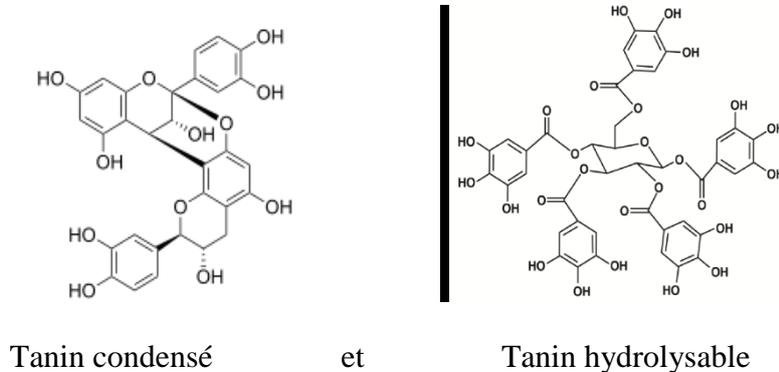


Figure 6. Structure chimique d'un tannin hydrolysable et d'un tannin condensé (**Kumbasli, 2005**).

➤ Stilbènes (Autres exemple)

Plus de 30 stilbènes et glycosides de stilbènes sont présents naturellement dans le règne végétal (**Collin et Crouzet, 2011**). Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes. Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les micro-organismes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**Crozier et al., 2006**).

➤ Quinones (Autres exemple)

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation des dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) (**Škerget et al., 2005**).

3. Rôles des polyphénols

Comme la majorité des composés secondaires, les polyphénols sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises, les plus notoires étant :

- Défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes.
- Attraction des pollinisateurs : les couleurs, mais aussi les odeurs attirent les insectes.
- Protection contre les rayonnements UV.
- Molécules qui donnent des arômes et des parfums aux plantes. Ce qui sert principalement à repousser les herbivores. Exemple : les polyphénols des

pélagoniums (**Druyne, 1999 ; Schiestl et al., 2000 ; Yi-Cai et al., 2000 ; Sasaki et Takahashi , 2002**).

- Chez l'homme, les polyphénols jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers, cardio-vasculaires...) (**Macheix et al., 2005**).

D'après **Bendjabeur (2012)**, le rôle des polyphénols est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...);
- Dans les interactions de la plante avec leur environnement biologique et physique, soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux ;
- Dans les critères de qualité qui orientent le choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux et des produits qui en dérivent par transformation ;
- Dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini ;
- Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec nombreuses enzymes et leurs propriétés anti-oxydantes.

4. Toxicité des polyphénols du grenadier

L'écorce du grenadier, au XIX^{ème} siècle, souvent utilisée pour ses propriétés anthelminthiques, semble montrer quelques effets secondaires non négligeables. Ainsi, après administration d'une décoction d'écorce de racine, il fut observé, chez plusieurs patients, l'apparition de vertiges, d'étourdissements, d'une sorte d'ivresse, parfois des syncopes, et de légers mouvements convulsifs. Cependant, ces accidents étant fugaces et ne laissant aucune trace après leur manifestation, ils furent tolérés par les médecins de l'époque (**Wald, 2009**).

Chapitre III. Les bactéries pathogènes

1. Notion de pouvoir pathogène

Les bactéries pathogènes sont des bactéries qui possèdent des caractéristiques spécifiques leur permettant de déclencher une infection. Ces caractéristiques représentent les facteurs de virulence : les toxines, les hémolysines et les systèmes chélateurs de Fer. La mobilité, l'adhésion et le chimiotactisme bactérien, sont aussi considérés comme des critères renforçant la virulence chez une bactérie pathogène. Les espèces pathogènes pour l'intestin, dont l'ingestion provoque une infection intestinale sont : *Salmonella enteritidis*, *Yersinia*, *Shigella* et certaines souches d'*E.coli* dites "pathogènes" ou un syndrome septicémique *Salmonella typhi*. (Eckert, Gautier et al. 2004).

2. Bactéries pathogènes

2.1. *Staphylococcus aureus*

2.1.1. Classification de *Staphylococcus aureus*

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie à Gram positif, il se retrouve donc dans le règne bacteria puis dans le phylum firmicutes. Sa taxonomie complète le positionne dans la classe des Bacilli puis dans l'ordre des Bacilliales. En 2001, les chercheurs Garrity et Holt ont proposé de radier les *S. aureus* de la famille des *Micrococcaceae* (genre *Micrococcus* et *Stomatococcus*) grâce l'analyse des séquences de la sous-unité 16S de l'acide ribonucléique ribosomique (ARNr 16S) ainsi que d'autres analyses génétiques (Do Carmo et al., 2004). Sa position taxonomique est maintenant bien définie et il a une famille à son nom : *Staphylococcaceae* (Do Carmo et al., 2004) .

2.1.2. Habitat de *Staphylococcus aureus*

➤ Chez l'être vivant

Le *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore commensale normale des mammifères et des oiseaux, à l'inverse de certaines espèces de staphylocoques qui ont eux un hôte préférentiel (Photo 5). *S. aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères (marins et terrestres) même si différents biotypes de souches de *S. aureus* pourraient être raccordés à des hôtes spécifiques. Par exemple, selon une étude en 2003, un biotype dit « abattoir » serait associé aux produits de boucherie et au personnel des unités de production des abattoirs (Felix et al., 2015).

Chapitre III. Les bactéries pathogènes

Chez l'homme, *S. aureus* est présent sur plusieurs sites corporels. On le repère sur la surface de la peau et des muqueuses, mais il colonise principalement les fosses nasales, les glandes de la peau, le cuir chevelu, les mains, la bouche, les dents et le périnée (**Schleifer et al., 1984**).

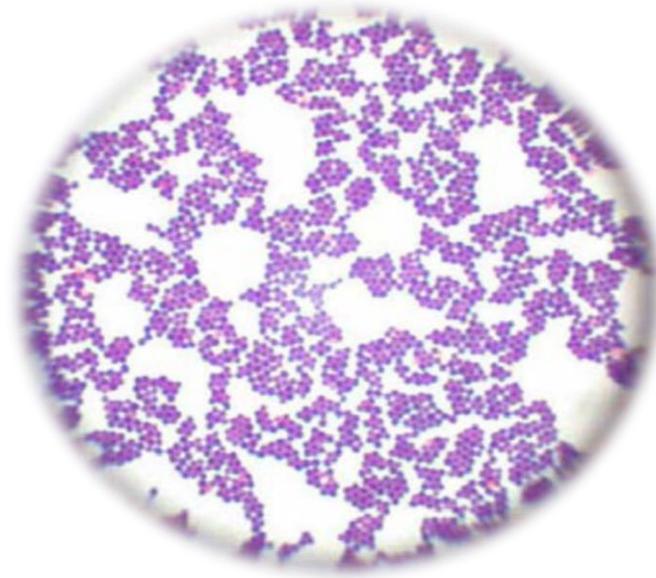


Photo 5 : Observation microscopique de *Staphylococcus aureus*

➤ Dans les aliments et leur environnement de production

La bactérie peut se retrouver dans les aliments comme le lait, les produits laitiers ou la viande. La contamination des aliments peut être due principalement à la matière première qui est contaminée ou d'origine humaine lors de la fabrication et/ou le conditionnement de l'aliment dans l'industrie agro-alimentaire. Ces contaminations sont souvent liées à un défaut d'hygiène du matériel de production ou de l'employé (**Medina-Gudiño et al., 2020**).

2.1.3. Pouvoir pathogène

Les Staphylocoques sont responsables chez l'homme d'infections qui peuvent être localisées et de propagation directe en atteignant essentiellement le revêtement cutané. Elles peuvent aussi diffuser par voie sanguine en prenant un caractère septicémique avec un polymorphisme symptomatique extrême (**Do Carmo et al., 2004**).

2.2. *Escherichia coli*

C'est un bacille à Gram négatif (**Photo 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 :

Chapitre III. Les bactéries pathogènes

fermente le glucose, indole+ , uréase-négative, H₂S-négatif, lactose positif, gazogène, mais ne produit pas d'acétine (**Le Minor et Richard, 1993**).

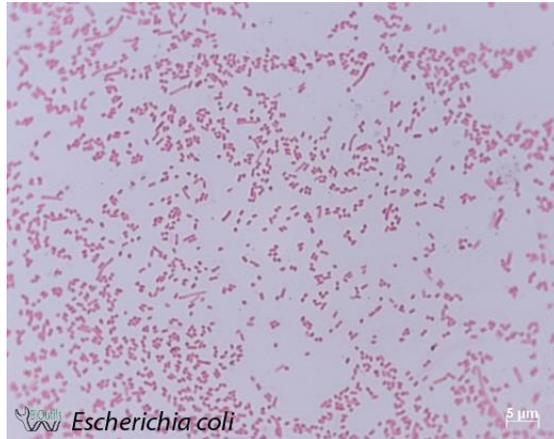


Photo 6: Observation microscopique d *Escherichia coli*

2.2.1. Classification d'*Escherichia coli*

La classification de la bactérie *Escherichia coli* est la suivante :

- Domaine : *Bactéria*
- Phylum : *Proteobacteria*
- Classe : *Gammaproteobacteria*
- Ordre : *Enterobacteriales*
- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia coli* (**Do Carmo et al., 2004**).

2.2.2. Habitat d'*Escherichia coli*

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *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**).

2.2.3. Pouvoir pathogène d'*Escherichia coli*

Cette bactérie est responsable de plusieurs infections telles que :

- Infections intestinales
- Infections urinaires (femme).
- Infection abdominales.
- Infections méningées néonatales (**Yang et al., 2017**).

2.3. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est un bacille à Gram positif (**Photo 7**), non capsulé, non sporulé, mobiles à 20 °C mais immobile à 37 °C, il se développe facilement sur milieux usuels ou sur gélose au sang où les colonies s'entourent d'une zone hémolyse. Il est aéro-anaérobie et capable de se multiplier à des températures basses jusqu'à 2 °C.

Il possède une catalase mais pas oxydase, il fermente le glucose sans dégager de gaz, produit de l'acétl-méthyl-carbinol (réaction de Voges-Proskauer positive) (**Zhan et al., 2020**).



Photo 7: Observation microscopique de *L.monocytogenes*

2.3.1. Habitat de *Listeria monocytogenes*

C'est une bactérie saprophyte et ubiquitaire largement répandue dans la nature (sol, eau, végétaux), mais également le lait, les légumes, la viande de poulet, les matières fécales de sujet sains. L'homme est contaminé principalement par voie digestive à la suite de l'absorption d'aliments contaminés (**Li et al., 2020**).

2.3.2. Pouvoir pathogène de *Listeria monocytogenes*

C'est un pathogène alimentaire puissant depuis des années et peut entraîner des maladies graves. Il est souvent décrit comme une bactérie opportuniste occasionnant des troubles chez les sujets fragiles (femme enceinte, sujets âgés) ou immunodéprimés. En fait, elle peut se comporter comme bactérie virulente frappant les sujets en parfaite santé (**Li et al., 2020**).

2.4. *Yersinia*

C'est une bactérie qui fait partie des agents pathogènes d'origine alimentaire. *Yersinia enterocolitica* est un entéro-invasif anaérobie à Gram négatif, psychrotrophique et facultatif. Cette bactérie est l'un des principaux agents étiologiques de la yersiniose et la plupart des infections gastro-intestinales résultent de la consommation d'aliments contaminés (**Nguyen et al., 2020**).

2.4.1. Habitat de *Yersinia*

Les sérotypes nom pathogènes sont ubiquistes, rencontrée chez de nombreuses espèces animales, notamment les petits mammifères sauvages, les rongeurs, les oiseaux et le porc. *Yersinia* est une entérobactérie, isolée par coproculture (**Le Minor et Richard, 1993**).

2.4.2. Pouvoir pathogène de *Yersinia*

À l'origine, on pensait que certains biotypes ou phylogroupes de *Y. enterocolitica* étaient pathogènes. Cependant, de nouvelles études suggèrent que tous les *Y. enterocolitica* sont capables de provoquer des maladies, même si ces souches ne portent pas le plasmide de virulence après 48 heures à 37 °C (**Nguyen et al., 2020**).

Chapitre IV. Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries pathogènes

Chapitre IV. Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries pathogènes

1. Activité antimicrobienne

L'antimicrobien est une famille de substances qui tuent ou ralentissent la croissance des microorganismes. Ces derniers sont de plus en plus résistants aux actuels traitements antibactériens, antifongiques et antiviraux, ce qui pousse les chercheurs à découvrir de nouveaux principes actifs. En effet, l'activité antimicrobienne de la grenade et de ses dérivés a été démontrée dans de nombreuses études qui ont constaté l'inhibition de l'activité de nombreux microorganismes.

2. Utilisation des extraits

Plusieurs maladies les plus fatales et les plus répandues sont apparues à cause des différents micro-organismes et pour les traiter, les chercheurs développent les antibiotiques mais leur surexploitation est à l'origine de l'apparition de la multi-résistance bactérienne (Yala *et al.*, 2001).

Les effets néfastes des molécules synthétiques qui luttent contre le stress oxydant et les infections bactériennes. Alors, il est important de trouver une alternative à l'utilisation des antioxydants synthétiques et des antibiotiques classiques (Abdallah *et al.*, 2019).

Le traitement à base de plantes sont utilisés comme une alternative dans les soins primaires et donc, une voie encourageante pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Dernièrement, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, et ces molécules ont des activités antimicrobiennes. Donc, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives à partir des sources naturelles généralement n'ayant aucun effets secondaires et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des principaux objectifs pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques (Boutlelis et Bordjiba, 2014).

Chapitre IV. Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries pathogènes

3. Quelques études précédentes sur l'activité antimicrobienne de peau de grenade

3.1. Etude de Al-Zoreky (2009)

Le chercheur a étudié l'activité antimicrobienne des écorces de fruits de grenade (*Punica granatum L.*). L'activité antimicrobienne de divers extraits de pelures de la grenade contre certains agents pathogènes d'origine alimentaire a été évaluée à l'aide de méthodes *in vitro* (diffusion sur gélose) et *in situ* (alimentation). L'extrait méthanolique à 80 % des pelures était un puissant inhibiteur pour *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Escherichia coli* et *Yersinia enterocolitica*.

Selon Al-Zorekey (2009), La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait méthanolique des pelures contre *Salmonella enteritidis* était la plus élevée (4 mg/ml). L'extrait méthanolique des pelures a permis de réduire le log₁₀ N de *L. monocytogenes* dans les aliments (poisson) pendant l'entreposage à 4°C. Les analyses phytochimiques ont révélé la présence d'inhibiteurs actifs dans les pelures, y compris les phénoliques et les flavonoïdes. L'activité du WME était liée à sa teneur plus élevée (262,5 mg/g) en phénoliques totaux.

3.2. Etude de Sadeghian et al. (2011)

La présente étude devait évaluer cette activité contre les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et négatif *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). L'extrait a montré une bonne activité antibactérienne contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* comparable à celle de la cloxacilline et de la gentamycine (tableau3), respectivement. L'extrait méthanolique s'est révélé plus efficace que l'extrait aqueux contre tous les microorganismes testés.

Chapitre IV. Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries pathogènes

Tableau 3. Activité antimicrobienne des extraits d'écorce de grenade contre les souches bactériennes testées par méthode de dilution sur gélose (**Sadeghian et al., 2011**).

Antibiotique ou extrait	Concentration (mg/ml)	S. aureus	P. aeruginosa
Cloxacilline	0,0025	16	-
	0,005	62	-
	0,01	72	-
Gentamycine	0,005	-	30
	0,01	-	40
	0,02	-	50
EAG	2,5	0	-
	7,5	25	0
	10	50	22
	20	76	43
	25	92	-
	30	100	83
	35	-	93
	40	-	100
EMG	0,31	0	0
	0,625	62	50
	1,25	75	63
	2,5	88	75
	5	100	100
	10	-	-

Chapitre IV. Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries pathogènes

3.3. Etude de Lairini et al. (2014)

C'est une étude sur la valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante. Les souches testées sont *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* par diffusion sur la gélose. La préparation de l'extrait aqueux de l'écorce de *Punica granatum* a été effectuée par la méthode d'infusion. Plusieurs concentrations ont été préparées à partir de la poudre d'écorce de fruit obtenue.

Les résultats de **Lairini et al. (2014)** montrent que l'extrait contient 18 µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait de l'écorce de *Punica granatum* et un remarquable effet antimicrobien à partir de 0,12 mg/ml d'extrait pour *Staphylococcus aureus* (diamètre d'inhibition de $9,03 \pm 0,15$ mm) et *Listeria monocytogenes* ($9,30 \pm 0,12$ mm), 0,31 mg/ml pour *E.coli* ($10,04 \pm 0,03$ mm). Les bactéries à Gram positif (*S.aureus*, *L.monocytogenes*) sont les plus susceptibles par comparaison avec les bactéries à Gram négatif (*E.coli*) ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif.

3.4. Etude de Kaci-meziane et al. (2017)

Les chercheurs ont étudié l'évaluation phytochimique, et potentiel antibactérien (**tableaux 4 et 5**) de trois cultivars de fruit de grenadier (*Punica granatum L.*) du Nord-Est d'Algérie dans le but d'évaluer la composition phytochimique, le pouvoir antibactérien des jus et des extraits bruts de pelures de trois variétés de grenades de la région Mitidja.

Tableau 4. Liste des souches bactériennes utilisées (**Kaci-Meziane et al., 2017**).

Souches	Famille	Gram	ATCC
<i>Escherichia coli</i>	Entérobacteriaceae	Gram –	25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonadaceae	Gram –	27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylococcaceae	Gram +	25923
<i>Salmonella typhimurium</i>	Entérobacteriaceae	Gram-	13311

Chapitre IV. Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries pathogènes

Tableau 5. Zones d'inhibition des extraits de pelures de chaque variété de grenades (mm).

Variété	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.typhimurium</i>
1	17± 1,00	16 ± 0,00	R	19,3± 0,57
2	15,6± 1,15	16,6±0,28	R	14,03±0,47
3	25,3±0,57	18,6±0,57	R	12,6±1,15
antibiotique (Gentaxyn)	32,33±2,08	26,66±1,52	34,66±3,51	28±1,00

Les résultats significatifs des composés phénoliques ont montré une teneur élevée en polyphénols totaux et en tanins pour les extraits de pelures. Ces derniers sont révélés très actifs contre *E. coli* ($25,3 \pm 0,57$ mm); *S.typhimurium* ($19,3 \pm 0,57$ mm) et *S.aureus* ($18,6 \pm 0,57$ mm). La souche de *P.aeruginosa* présente une résistance envers les deux types de sous-produits étudiés, et ceci est expliqué par le fait que cette dernière a développé des mécanismes de résistance aux agents antibactériens présents dans les extraits. La différence de sensibilité entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif pourraient être attribués à la différence morphologique entre ces microorganismes

3.5. Etude de Yssaad et Hammadi (2017)

Dans cette étude, l'activité antimicrobienne d'extraits phénoliques de la grenade (*Punica granatum*) a été étudiée in vitro. L'évaluation de ces propriétés a été effectuée par la méthode de diffusion sur gélose pour la détermination des diamètres des zones d'inhibition et par la méthode de microdilution en milieu liquide pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices CMI et MBC. L'évaluation de l'activité antimicrobienne a révélé une grande hétérogénéité dans les résultats. L'extrait méthanolique de *Punica granatum* a montré le meilleur effet de cette méthode avec la plus grande zone d'inhibition enregistrée contre *Lactobacillus* de $22 \pm 0,01$ mm, il est plus grand que le diamètre donné par l'action des antibiotiques.

D'autre part, *Proteus vulgaris* montre une résistance à ces extraits. A la fin des tests antimicrobiens, les chercheurs ont constaté que cet extrait a une activité très élevée avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 7 et 22 mm. Toutefois, quel que soit le germe, l'extrait de méthanol s'est révélé le plus actif avec des valeurs de concentration minimale

Chapitre IV. Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries pathogènes

inhibitrice (CMI) et de concentration bactéricide minimale (CMB) de 0,03 et 0,07 mg/ml respectivement.

3.6. Etude de Alexandre et al. (2019)

Dans leur étude de l'activité antimicrobienne des extraits d'écorce de la grenade obtenus par extraction assistée à haute pression et extraction enzymatique, les chercheurs ont évalué l'effet de la haute pression (300 et 600 MPa) et de l'extraction enzymatique (pectinase et cellulase) sur le profil des composés phénoliques et l'activité antimicrobienne de huit souches de bactéries pathogènes et de bactéries bénéfiques, y compris les bactéries *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*.

Les résultats ont montré que tous les extraits de grenade ont présenté une activité antimicrobienne sélective contre toutes les bactéries pathogènes sans affecter celles bénéfiques. Les extraits pressurisés présentaient une concentration minimale inhibitrice plus faible contre *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa* et une concentration minimale bactéricide plus faible contre *B. cereus*, alors que les extraits enzymatiques présentaient une concentration bactéricide minimale plus faible pour *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et *Listeria monocytogenes*.

Les bactéries à Gram positif n'ont pas de membrane extérieure, ce qui facilitera la diffusion des acides phénoliques à travers la paroi cellulaire par rapport aux bactéries à Gram négatif. La membrane interne des bactéries à Gram négatif agira comme une barrière à l'hyperacidification et cela peut expliquer la résistance différente des bactéries à Gram positif et Gram négatif à l'action des composés phénoliques (Alexandre et al., 2019)

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines : pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Le fruit de grenadier (*Punica granatum L.*) est généralement consommé frais, mais il peut être transformé en jus ou en confiture. Ce fruit est riche en molécules bioactives telles que les polyphénols qui sont responsables de son activité biologique. Ces molécules sont disponibles majoritairement sous forme des acides phénoliques, des flavonoïdes et des tanins.

L'écorce de la grenade est habituellement jetée après sa consommation et sa transformation malgré sa richesse en acides hydroxybenzoïques, acide gallique, acide ellagique, acide hydroxycinnamique, dérivés de flavones, anthocyanidines.

Vu la richesse de ce sous produit en molécules bioactives, plusieurs recherches ont étudié l'effet antimicrobien d'écorce de fruit de *Punica granatum L.* sur les bactéries 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 telles que *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats ont révélé l'importance d'écorce de la grenade et incitent les industriels à la valorisation et l'utilisation des extraits de ce sous produits comme conservateur dans produits alimentaires.

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 du produit.

Références Bibliographiques

- Abdallah R., Frikha D., Sassi S.M.E.S. (2019). Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne and antifongique de quatre espèces algales marines in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*:38-44.
- Adams L.S., Seeram N.P., Aggarwal B.B., Takada Y., S and D., Heber D. (2006). Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry* .54:980-985.
- Agourram H. (2004). The impact of national culture on the meaning of information system success.
- Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L.A., Favela-Torres E., Aguilar C.N. (2008). Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied microbiology and biotechnology*. 78:189-199.
- Akroum S. (2017). Antifungal activity of acetone extracts from *Punica granatum L.*, *Quercus suber L.* and *Vicia faba L.* *Journal de Mycologie Médicale*. 27:83-89.
- Alexandre E.M.C., Silva S., Santos S.A.O., Silvestre A., Duarte M.F., Saraiva J., Pintado M. (2019). Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. *Food research international*. 115:167-176.
- Al-Maiman S.A., Ahmad D. (2002). Changes in physical et chemical properties during pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit maturation. *Food Chemistry*. 76:437-441.
- Al-Zoreky N. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peels. *International journal of food microbiology*. 134:244-248.
- Amri Z., Zaouay F., Lazreg-Aref H., Soltana H., Mneri A., Mars M., Hammami M. (2017). Phytochemical content, fatty acids composition and antioxidant potential of different pomegranate parts: comparison between edible and non edible varieties grown in Tunisia. *International journal of biological macromolecules*. 104:274-280.
- Aviram M., Volkova N., Coleman R., Dreher M., Reddy M.K., Ferreira D., Rosenblat M. (2008). Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient (E0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56:1148-1157.

- Baritel F. (1989). Le thème des arbres fruitiers dans les mosaïques à iconographie cynégétique du Proche-Orient (IVe-VIIIe siècles). Bulletin de la Société nationale des Antiquaires de France. 1987:165-173.
- Ben-Arie R., Segal N., Guelfat-Reich S. (1984). The maturation and ripening of the «Wonderful» pomegranate. Journal of the American Society for Horticultural Science. 109:898-902 .
- Bendjabeur S. (2012). Evaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de la grenade *Punica granatum L.*) en vue de leur utilisation alimentaire. ENSA .Thèse de doctorat. El Harrach. Alger. 154 pages.
- Bidri M., Choay P. (2017). Regain d'intérêt pour la grenade, un fruit majestueux aux multiples propriétés. Phytothérapie. 15:91-103.
- Bock B. (2013). Tela Botanica: Base de données Nomenclature de la flore en France. 4 pages.
- Boutlelis D.A. (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du *Marrube blanc ou Marrubium vulgare L.* Thèse de Doctorat . Université Badji Mokhtar . Annaba . 114 pages.
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales. Editions. Lavoisier tec et doc. 1488 pages .
- Cauchard P. (2013). La grenade: Organisation de la filière, opportunités et contraintes pour son développement, Agrocampus Ouest.Mémoire d'ingénieur.France. 146 pages.
- Cheyrier V., Duenas-Paton M., Salas E., Maury C., Souquet J.-M., Sarni-Manchado P., Fulcrand H. (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. American Journal of Enology and Viticulture. 57:298-305.
- Clay H.F., Hubbard, C J. (1987). Tropical shrubs. University of Hawaii Press. 295 pages.
- Collin S., Crouzet J. (2011). Polyphénols et procédés: Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier. 239 pages.
- Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N. (2006). Phenols, polyphenols et tannins: an overview. Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet 1.Blackwell. 372 pages.
- D Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Annali-Istituto Superiore di Sanita. 43:348.
- Dalimov D., Dalimova G., Bhatt M. (2003). Chemical composition and lignins of tomato and pomegranate seeds. Chemistry of natural compounds. 39:37-40.

- Davidson P.M., Sofos J.N., Branen A.L. (2005). Antimicrobials in food. CRC press. 492 pages.
- De Gubernatis A. (2011). La mythologie des plantes ou les légendes du règne végétal. Editorial MAXTOR. 273 pages.
- Devatkal S.K., Jaiswal P., Jha S.N., Bharadwaj R., Viswas K. (2013). Antibacterial activity of aqueous extract of pomegranate peel against *Pseudomonas stutzeri* isolated from poultry meat. Journal of food science and technology. 50:555-560.
- Di Stefano V., Pitonzo R., Novara M.E., Bongiorno D., Indelicato S., Gentile C., Avellone G., Bognanni R., Sceturra S., Melilli M.G. (2019). Antioxidant activity and phenolic composition in pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes from south Italy by UHPLC–Orbitrap-MS approach. Journal of the Science of Food and Agriculture. 99:1038-1045.
- 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.
- Ducourthial G. (2003). Flore magique et astrologique de l'Antiquité .Belin. 566 pages .
- Eckert C., Gautier V., Saladin-Allard M., Hidri N., Verdet C., Ould-Hocine Z., Barnaud G., Delisle F., Rossier A., Lambert T. (2004). Dissemination of CTX-M-type β -lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Paris, France. Antimicrobial agents and chemotherapy. 48:1249-1255.
- Edeas M. (2010.) Polyphénols and jus de grenade. Phytothérapie . 8:16-20.
- Elfalleh W., Tlili N., Nasri N., Yahia Y., Hannachi H., Chaira N., Ying M., Ferchichi A. (2011). Antioxidant capacities of phenolic compounds and tocopherols from Tunisian pomegranate (*Punica granatum*) fruits. Journal of food science. 76:C707-C713.
- Evreinoff V. (1957). Contribution à l'étude du Grenadier. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée. 4:124-138.
- Felix B., Vingadassalon N., Grout J., Hennekine J.-A., Guillier L., Auvray F. (2015). *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France: comparison of different molecular typing methods, including MLVA. Frontiers in microbiology. 6:882.
- Fournier P. (1948). Le livre des plantes médicinales et vénéuses de France: 1.500 espèces par le texte et par l'image, d'après l'ensemble de nos connaissances actuelles P. Lechevalier. 955 pages.

- Garnier G., Bézanger-Beauquesne L., Debrax G. (1961). Ressources médicinales de la flore française. Vigot .1190 pages.
- Godet J.-D. (1991). Arbres et arbustes aux quatre saisons Delachaux et Niestlé.
- Gräser Y., Volovsek M., Arrington J., Schönian G., Presber W., Mitchell T.G., Vilgalys R. (1996). Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen *Cetida albicans* exhibits both clonality and recombination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 93:12473-12477.
- Guillaume G. (1987). Pharmacopée et médecine traditionnelle chinoise. Editions Présence.1223:672-629.
- Häkkinen S., Heinonen M., Kärenlampi S., Mykkänen H., Ruuskanen J., Törrönen R. (1999). Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International*. 32:345-353.
- Hmid I. (2013). Contribution a la valorisation alimentaire de la Grenade Marocaine (*Punica Granatum L.*): caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. these. these de doctorat. Université d'Angers (France). 263 pages.
- Hollet D., Hatib K., Bar-Ya'akov I. (2009). Pomegranate: Botany, Horticulture, Breeding. *Horticultural reviews*. 35:127-191.
- Kaci-Meziane, , B.L., L.D., Tarek M., , Nawel M., Dahbia A.O., Meryam D., M.A. (2017). Evaluation phytochimique, et potentiel antioxydant, antibactérien de trois cultivars de fruit de grenadier" *Punica granatum l*" du Nord Est d'Algérie. *Revue agrobiologia* 602. *Horticultural Reviews*. 35:127-191.
- 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*. 56:233-240.
- Kaufman M., Wiesman Z. (2007). Pomegranate oil analysis with emphasis on MALDI-TOF/MS triacylglycerol fingerprinting. *Journal of agricultural and food chemistry*. 55:10405-10413.
- Kilani S., Ammar R.B., Bouhlel I., Abdelwahed A., Hayder N., Mahmoud A., Ghedira K., Chekir-Ghedira L. (2005). Investigation of extracts from (Tunisian) *Cyperus rotundus* as antimutagens and radical scavengers. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 20:478-484.

- Kumbasli M. (2005). Études sur les composés polyphénoliques en relation avec l'alimentation de la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* (Clem.)). Thèse de doctorat. Université Laval. France. 199 pages.
- 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). *J Mater Env. Sci.* 5:2314-2318.
- Lansky E.P., Newman R.A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology.* 109:177-206.
- Le Minor L., Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. *Institut Pasteur.* 120:86-99.
- Legua P., Melgarejo P., Haddioui A., Martínez J., Martínez R., Hmid I., Hanine H., Hernández F. (2012). Characterization of six varieties of Moroccan pomegranate, II International Symposium on the Pomegranate. *Options Méditerranéennes, Series A. Mediterranean Seminars.* 83-86.
- Lemoine É. (1998). Guide des fruits du monde: les fruits de nos régions, les variétés exotiques. Delachaux et Niestlé. 192 pages.
- Li J., Savagatrup S., Nelson Z., Yoshinaga K., Swager T.M. (2020). Fluorescent Janus emulsions for biosensing of *Listeria monocytogenes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 117:11923-11930.
- Mansour E., Ben Khaled A., Lachiheb B., Abid M., Bachar K., Ferchichi A. (2013). Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial activities of peel extract from Tunisian pomegranate. *J. Agr. Sci. Tech.* 15:1393-1403 .
- Medina-Gudiño J., Rivera-Garcia A., Santos-Ferro L., Ramirez-Orejuel J.C., Agredano-Moreno L.T., Jimenez-Garcia L.F., Paez-Esquiliano D., Martinez-Vidal S., Andrade-Esquivel E., Cano-Buendia J.A. (2020). Analysis of Neutral Electrolyzed Water antibacterial activity on contaminated eggshells with *Salmonella enterica* or *Escherichia coli*. *International journal of food microbiology.* 320:108538.
- Mekni M., Azez R., Tekaya M., Mechri B., Hammami M. (2013). Phenolic, non-phenolic compounds and antioxidant activity of pomegranate flower, leaf and bark extracts of four Tunisian cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research.* 7:1100-1107.

- Melgarejo P. (1993). Selección y tipificación varietal de granado (*Punica granatum L.*). Thèse de doctorat. Valencia. Spain: Univ. Politecnica de Valencia (UPV). 175 pages .
- Melgarejo P., Salazar D. (2003). Tratado de Fruticultura Para Zonas Áridas y Semiáridas, vol. II. AMV Ediciones y Mundi-Prensa, Madrid.120:500-503.
- Melgarejo P., Salazar D.M., Artes F. (2000). Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. European Food Research and Technology. 211:185-190.
- Nuamsetti T., Dechayuenyong P., Tantipaibulvut S. (2012). Antibacterial activity of pomegranate fruit peels and arils. Science Asia. 38:319-22.
- Nguyen S.V., Muthappa D.M., Eshwar A.K., Buckley J.F., Murphy B.P., Stephan R., Lehner A., Fanning S. (2020). Comparative genomic insights into *yersinia hibernica*-acommonly misidentified *yersinia enterocolitica*- like organism. Microbial genomic 6:1-109.
- O'connell J., Fox P. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. International Dairy Journal. 11:103-120.
- Planchon G. (1875). Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale/par G. Planchon. GMasson, Editeur .France.755 pages.
- Pstová J., Kolář M., Soušek J., Švagera Z., Vičar J., Ulrichová J. (2003). Biological activities of *Prunella vulgaris* extract. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 17:1082-1087.
- Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique. 570 pages.
- Rozier F. (1805). Cours complet d'agriculture théorique, pratique, économique, et de médecine rurale et vétérinaire, suivi d'une méthode pour étudier l'agriculture par principes, ou Dictionnaire universelle d'agriculture.Marachant.Paris. 668 pages.
- Ruis A. (2015). Pomegranate and the Mediation of Balance in Early Medicine. Gastronomica: The Journal of Critical Food Studies. 15:22-33 .
- Rahmani A.H., Alsahli M.A., Almatroodi S.A. (2017). Active constituents of pomegranates (*Punica granatum*) as potential candidates in the management of health through modulation of biological activities. Pharmacognosy Journal 9:689-695.

- Sadeghian A., Ghorbani A., Mohamadi-Nejad A., Rakhshandeh H. (2011). Antimicrobial activity of aqueous and methanolic extracts of pomegranate fruit skin. *Avicenna Journal of Phytomedicine*.1:67-73.
- Schleifer K., Kilpper-Bälz R., Devriese L. (1984). *Staphylococcus arlettae* sp. nov., *S. equorum* sp. nov. and *S. kloosii* sp. nov.: three new coagulase-negative, novobiocin-resistant species from animals. *Systematic and Applied Microbiology*. 5:501-509.
- Singh B., Singh J.P., Kaur A., Singh N. (2018). Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A review. *Food chemistry*. 261:75-86.
- Škerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hraš A.R., Simonič M., Knez Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*. 89:191-198.
- Wald E. (2009). Le grenadier (*Punica granatum*): plante historique et évolutions thérapeutiques récentes, Thèse de doctorat en pharmacologie de l'université Henri Poincaré - Nancy 1. 159 pages.
- Yala D., Merad A., Mohamedi D., Ouar Korich M. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. 91:5-12.
- 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.
- Yssaad A.R., Hammadi K. (2017). In Vitro Antimicrobial Activity of Phenolic Extracts of the Pomegranate (*Punica granatum*). *American journal of microbiology and biotechnology*. 4:100-107.
- Zhan Z., Li H., Liu J., Xie G., Xiao F., Wu X., Aguilar Z.P., Xu H. (2020). A competitive enzyme linked aptasensor with rolling circle amplification (ELARCA) assay for colorimetric detection of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 107:106806.

ملخص

تستخدم ثمار الرمان والبذور والقشور على نطاق واسع في الطب التقليدي كأدوية طبيعية. الهدف من هذه الدراسة هو توضيح التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلص قشور الرمان ضد البكتيريا المسببة للأمراض. أظهرت العديد من الدراسات أن مستخلص قشور الرمان يحتوي على مستويات عالية من مادة البوليفينول مثل الفلافونويد والإيلاجيتانين والبونيكالاجين وحمض الإيلاجيك. تم تحديد وتأكيد النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات قشور الرمان المختلفة ضد العديد من مسببات الأمراض مثل: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* , *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa* *Salmonella typhimurium*

الكلمات المفتاحية: الرمان ، قشور ، البوليفينول ، المستخلص ، نشاط مضاد للميكروبات.

Summary

Pomegranate fruits, seeds and peels are extensively used in traditional medicine as natural drugs. The objective of this study is to illustrate the antibacterial effect of pomegranate bark extract against pathogenic bacteria. Several studies have shown that pomegranate bark extract contains high levels of polyphenols such as flavonoids, ellagitannin, punicalagin and ellagic acid. The antimicrobial activity of various pomegranate bark extracts has been determined and confirmed against several pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhimurium*.

Key words: Pomegranate, bark, polyphenols, extracts antimicrobial activity.

Résumé

Les fruits de grenadier, les graines et les pelures sont intensivement utilisés dans la médecine traditionnelle comme des médicaments naturels. L'objectif de cette étude consiste à illustrer l'effet antibactérien de l'extrait d'écorce de la grenade contre les bactéries pathogènes. Plusieurs études ont montré que l'extrait d'écorce de la grenade contient des teneurs élevées en polyphénols tels que les flavonoïdes, l'ellagitannine, le punicalagin et l'acide ellagique. L'activité antimicrobienne de divers extraits d'écorce de grenade a été déterminée et confirmée contre plusieurs agents pathogènes tels que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium*.

Mots clés : Grenade, écorce, polyphénols, extrait, activité antimicrobienne