

République Algérienne Dém
Ministère d'Enseignement Supérieur



806THV-2

Université "Saad Dahlab", BLIDA



Faculté des sciences Agro-vétérinaires et Biologique

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme

D'ingénieur d'état en biologie

Option: Biotechnologie végétale

Thème :

Etude des 03 effets biologiques et de la toxicité
d'extrait aqueux des feuilles de Jujubier
Ziziphus spina christi L.

Présenté par :

- * LAMRAOUI Dalila.
- * MEBREK Hafidha.

Date de soutenance:

01 / 07 /2013

Devant le jury :

- | | | |
|------------------------------|---------------------------|---------------------|
| - M ^{me} Ouarabe.S | Maître de conférence USDB | (Présidente) |
| - M ^{me} Benmansour | Maître assistante | USDB (Examinatrice) |
| - M ^{me} Dif .S | Maître assistante | USDB (Examinatrice) |
| - M ^{me} Ghanai.R | Maître assistante | USDB (Promotrice) |

Promotion : 2012-2013.

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère d'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université "Saad Dahlab", BLIDA



Faculté des sciences Agro-vétérinaires et Biologique

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme

D'ingénieur d'état en biologie

Option: Biotechnologie végétale

Thème :

Etude des 03 effets biologiques et de la toxicité
d'extrait aqueux des feuilles de Jujubier
Ziziphus spina christi L.

Présenté par :

* LAMRAOUI Dalila.

* MEBREK Hafidha.

Date de soutenance:

01 / 07 / 2013

Devant le jury :

- | | | |
|------------------------------|---------------------------|---------------------|
| - M ^{me} Ouarabe.S | Maître de conférence USDB | (Présidente) |
| - M ^{me} Benmansour | Maître assistante | USDB (Examinatrice) |
| - M ^{me} Dif .S | Maître assistante | USDB (Examinatrice) |
| - M ^{me} Ghanai.R | Maître assistante | USDB (Promotrice) |

Promotion : 2012-2013.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers et adorables parents que Dieux me les garde, qui m'ont toujours encouragé, aidé à surmonter tous les obstacles que j'ai rencontré dans ma vie et être à mes cotés dans les moments les plus.

A m'adorable sœur SAFIA et leur enfants Nour el Imen et Mohamed islam.

A mon cher frère Kamel que dieux me le garde.

A mes frères Mohamed, Abd elkader, messoud et morad .

A mon adorable binôme Hafidha et toutes sa famille

A mes meilleurs amies : Somi, Somia, Souad, Amina, fairouz, Mounira et Safia .

A tous ceux qui m'aiment.

Dalila.

Dédicace

*je dédie ce modeste travail à mes très chers parents que Dieux
me les garde.*

A me sœur : saida , Meriem, fatiha et lamo.

Amon mariHamza et toute sa famille.

A l'amie de mon âme Mehamed .

*Ames grands parents, mes oncles, mes tantes et à toute ma
famille.*

A toutes mes amies : Zouzou , Asma, Radhia et Rachida ,

A mon adorable binômeDalila et sa familles.

Hafidha.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à faire part de notre reconnaissance particulière et de notre respect profond aux membres composant le jury :

M^{me} ouarabe maître de conférence à l'USDB qui nous à fait l'honneur d'assurer la présidence du jury.

Notre promotrice **M^{me} GHANAIR** maître assistante à l'USDB pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi.

M^{me} BENMANSEUR maître assistante à l'USDB d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

M^{me} DIF maître assistante à l'USDB qui a bien voulu examiner ce modeste travail.

Nous Remerciement spécial à **M^{eur} FAHISSE.M**, pour son aide, sa gentillesse et ses conciles qui nous ont été d'un grand apport. Sans oublier de remercier tout le personnel du complexe SAIDAL, spécialement l'équipe du laboratoire de la stérilité et de toxicologie.

Adressons également nos remerciements, à tous nos enseignants, qui nous ont donné les bases de la science.

En fin, merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire.

SOMMAIRE

Introduction	01
Rappel bibliographique	
I- Les plantes médicinales	
I-1 Définition.....	03
I-2 Historique.....	03
I-3 Constituants des plantes médicinales.....	04
I-4 Mode d'utilisation.....	04
I-5 Récolte et séchage.....	05
I-6 Conservation.....	05
I-7 Domaines d'application.....	05
I-8 Importance en Algérie.....	06
II-Généralités sur la plante	
II-1 Le jujubier.....	07
II-2 Habitat et répartition.....	07
II-3 Systematique.....	07
II-4 Description botanique.....	08
II-5 Propriétés et usages.....	10
II-6 Multiplication	10
III-Etudes pharmaceutique	
III-1 Effet anti-inflammatoire	
III-1-1 Définition de l'inflammation	11
III-1-2 Action anti-inflammatoire.....	11
III-1-3 Les signes de l'inflammation	11

III-2 Effet antispasmodique

III- 2-1 Définitions de la douleur11

III-2-2Définition d'un spasme.....12

III-2-3Les antispasmodiques.....12

III-3 Effet toxique

III-3-1 Définition de la toxicité.....12

III-3-2 Classification de la toxicité.....12

III-3-3 La dose létale 50%.....13

Matériels et méthodes

I-Matériels.

I-1 Matériels biologiques

I- 1-1 Matériel végétal14

I-1-2 Matériel animal15

I-1-3Les micro-organismes.....16

I-2Matérielsnonbiologiques

I-2-1Appariellages16

II-Méthodes d'études

II-1 Préparation de l'extrait aqueux17

II-2 Etude de l'activité Antimicrobienne

II-2-1 Principe18

II-2-2 Mode opératoire18

II-3 Etude de l'activité anti-inflammatoire

II-3-1 Principe19

II-3-2 Choix des essais.....19

II-3-3 Mode opératoire.....19

II-4 Etude de l'activité antispasmodique	
II-4-1 Principe	21
II-4-2 Choix des essais	21
II-4-3 Mode opératoire.....	21
II-5 Détermination de la toxicité aiguë	
II- 5-1 principes.....	23
II-5-2 Mode opératoire	23
II-5-3 Détermination de la DL50	23
Résultats et interprétations.	
I- Activité antibactérienne.....	24
II-Activité anti-inflammatoire.....	26
III-Activité antispasmodique.....	28
IV- Test de d'inoculte	30
Discussion.....	31
Conclusion.....	33
Références bibliographiques.....	34
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau I: Situation géographique et caractéristique climatique de la station de récolte.....	14
Tableau II: Les souches bactériennes utilisées pour l'étude de l'effet antibactérien.....	16
Tableau III: Les solutions anti-inflammatoires administrées pour chaque lot.....	20
Tableau IV: Caractéristiques des solutions administrées pour chaque lot.....	22
Tableau V: La répartition des lots et des doses utilisées dans le test de toxicité.....	23
Tableau VI: Diamètre des zones d'inhibition du développement des différentes souches bactériennes testées en fonction de des différentes concentrations d'extrait aqueux des feuilles de jujubier.....	24
Tableau VII: Pourcentages de protection enregistrés chez les souris en fonction des différentes solutions administrées.....	28
Tableau VIII: Epaisseurs des pattes postérieures droites (en mm) après injection par l'eau physiologique chez les souris de lot témoin (ANNEXE 03)	
Tableau IX: Epaisseurs des pattes postérieures droites (en mm) après injection par Clophénol chez les souris de lot référence(ANNEXE 03)	

Tableau X: Epaisseur des pattes posterieures droit (en mm) après injection par l'extrait aqueux de jujubier à concentration de 1% chez les souris de lot essai 1..... (ANNEXE 03)

Tableau XI: Epaisseur des pattes posterieures droit (en mm) après injection par l'extrait aqueux de jujubier à concentration de 5% chez les souris de lot essai 2..... (ANNEXE 03)

Tableau XII: Epaisseur des pattes posterieures droite (en mm) injectées par l'extrait aqueux de jujubier à concentration de 10% chez les souris de (ANNEXE 03)

Tableau XIII: Evolution des moyennes d'épaisseurs des pattes des souris de chaque lot (en mm) en fonction de différente solution administré.....(ANNEXE 03)

TableauXIV : Nombre et moyenne, de spasme enregistré chez les souris pendant 10mn après l'injection d'acide acétique..... (ANNEXE 03)

TableauXV : Nombre de mortalité en fonction des différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier (ANNEXE 03)

Liste des figures

Figure 01: La tige de <i>Ziziphus spina christi</i>	08
Figure 02: Les feuilles de <i>Z. Spina Christi</i>	09
Figure 03 : Les fruits de <i>Z.Spina Christi</i>	09
Figure 04: Station de récolte des feuilles de jujubier.....	15
Figure 05: Effet de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier à différentes concentration de 80% et 50% sur le développement de <i>B.subtilis et S.lutea</i>	25
Figure 06: Effet de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier à concentration de 80% et 50% sur le développement de <i>E. coli et S. Aureus</i>	25
Figure 07: Evolution des moyennes des épaisseurs des pattes des souris en fonction du lot témoin et lot de référence.....	26
Figure 08: Evolution des moyennes des épaisseurs des pattes des souris en fonction des lots traitée par les extraits aqueux (1%,5%et 10%)	27
Figure 09: le pourcentage de protection de différentes doses pour chaque lot.....	29
Figure 10 : Seringue d'injection.....	Annexe 02
Figure11 : Seringue de gavage.....	Annexe 02
Figure 12: Pied à coulisse.....	Annexe 02

Figure 13 : Injection de carraghénine dans la patte postérieure de la souris.....	Annexe 04
Figure 14 : Injection intra-péritonéales.....	Annexe 04
Figure 15 : Mesure de l'épaisseur de patte.....	Annexe 04
Figure 16 : Administration orale (gavage).....	Annexe 04
Figure 17 : Lot de souris (6lots)	Annexe 04
Figure 18 : Les cages des souris.....	Annexe 04

Glossaire

Antispasmodique : Combat le spasme et la douleur.

Diurétique : Substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire.

Gavage : technique d'alimentation forcée pratiquement chez l'homme et l'animal par voie orale.

Hypotenseur: Remède qui diminue la tension artérielle.

Œdème: Gonflement des tissus provoqué par une infiltration de liquide interne.

Principe actif : Tout composant d'un médicament qui est destiné à une action pharmacologique ou un autre effet direct en rapport avec le diagnostique.

Tonique : Il s'agit d'une posture se caractérisant par une rigidité, une force, une intensité importante des muscles.

Toxicité : La capacité inhérente à une substance de produire un effet délétère sur l'organisme .

Introduction

Depuis les plus anciennes civilisations, l'homme a recherché dans les plantes un remède à ses blessures et à ses maladies à travers les siècles, il a pu grâce à ces expériences et son intelligence d'accumuler un savoir importante des vertus médicinales des plantes (**Ramdani;1994**).

An moins 35000 espèces végétales sont utilisées dans le monde à des fins médicaux, alors que les médicaments industriels les plus importants sont produits à partir de 90 espèces environ. Les remèdes traditionnels utilisés dans les pays en développement sont généralement élaborés à partir de mélanges d'herbes issues de collectes sauvages. (**Ramdani;1994**).

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale: méditerranéenne, saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (**Ozenda;1977**).

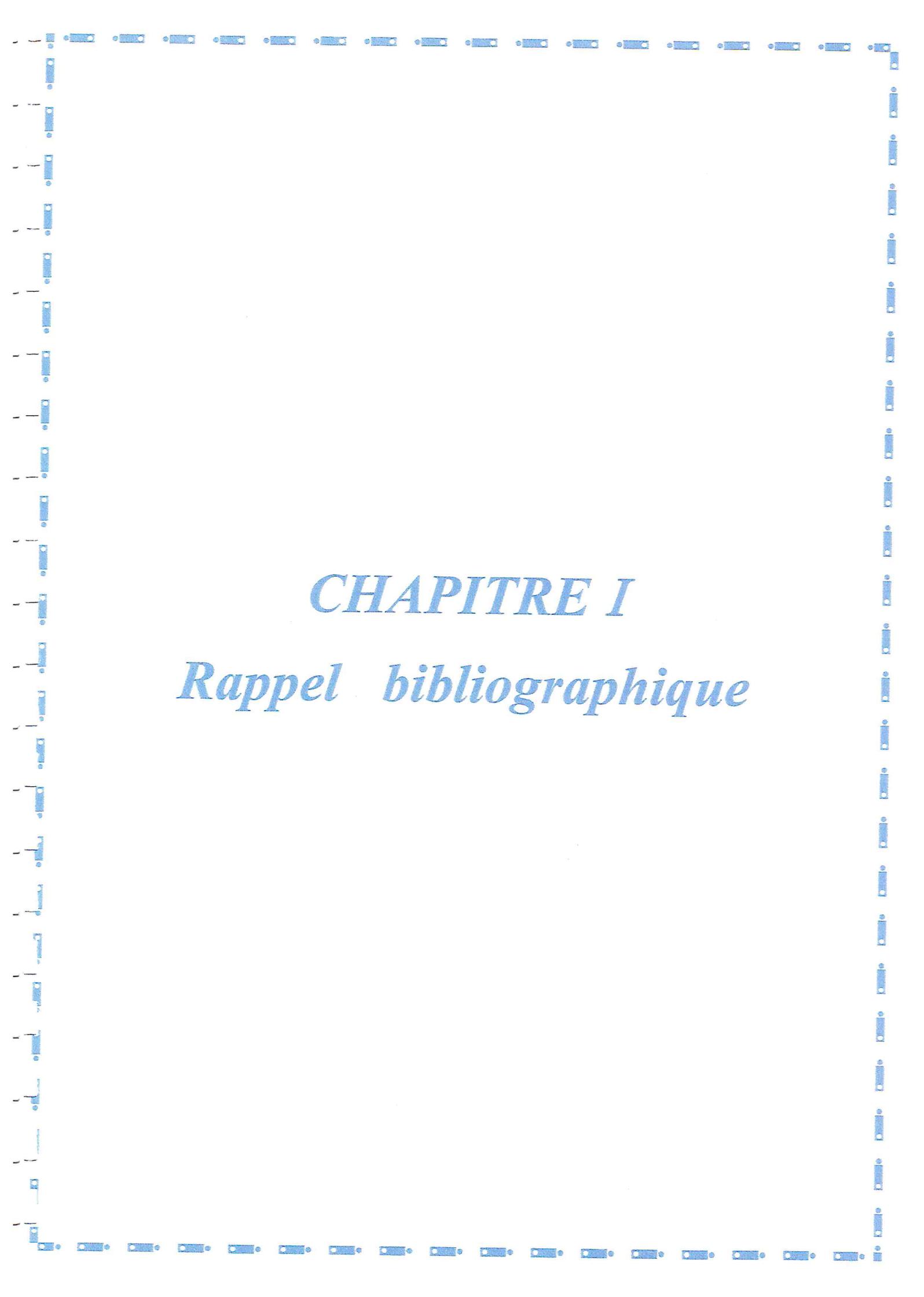
L'Algérie attache encore de l'importance à ces plantes, puisque dans le domaine des industries pharmaceutiques, il existe un projet visant le développement de l'utilisation des principes actifs d'origine végétale dans la fabrication des médicaments (**Gheyouche et Hammache; 1998**)

Les *jujubier* ou *ziziphus* sont un genre de plantes de la famille des *Rhamnacées*, le genre *ziziphus* regroupe 40 espèces d'arbre et d'arbuste possédant plusieurs propriétés thérapeutiques (**Anonyme,2011**).

Peu de travaux ont été réalisés sur ce genre, nous citons le travail de **Asscari (2008)**, qui a étudié la composition chimique des feuilles et des fruits de la plante de *Ziziphus spina christi* L. Nous avons aussi le travail de **Donatien(2009)**, qui a étudié l'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux des feuilles du jujubier.

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de quelques effets thérapeutiques de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier algérien (*Ziziphus spina christi* L), trois objectifs ont été tracés :

- Évaluation de l'activité antibactérienne.
- Etude de son effet anti-inflammatoire et antispasmodique.
- Etude de teste d'inculte (toxicité).



CHAPITRE I
Rappel bibliographique

I-Les plantes médicinales.

I-1 Définition.

On appelle plante médicinale un végétal dont un (ou plusieurs) organe possède des activités pharmacologiques de nature à permettre son emploi en thérapeutique (Boullard, 2010).

Selon Bruneton (1999) ; une plante est dite médicinale lorsque "elle possède des propriétés médicamenteuses".

Selon Thurzova et al (1978), les plantes médicinales ou pharmaceutiques sont qui après avoir été séchées ou traitées par d'autres méthodes que le séchage, interviennent dans la préparation des médicaments. En médecine, les remèdes tirés des plantes portent le nom de préparation galénique, du nom de Galien, médecin du II^{ème} siècle ; des préparations galéniques végétales sont obtenues aussi bien à partir de plantes spontanées qu'à partir de plantes cultivées.

I-2 Historique

Les traces de l'utilisation des plantes médicinales existent en Chine datant de plus de 5000 ans, le papyrus médical d'Ebert (environ 1500) est le premier recueil consacré aux plantes médicinales proposant un inventaire de 12 plantes accompagné de leur mode d'utilisation. (Anton, 1999)

En Inde "le veda" livre sacré contenant toute la sagesse divine, rédigés vers 1500 ans ; témoignent eux aussi de la connaissance des plantes (Lucchesi, 2005).

C'est vers 1865 que le docteur Auguste qui procurait des soins en médecine par les plantes donne le nom « phytothérapie » pour la définir (Bernardet, 1983).

A partir du 19^{siècle}, les recherches ont isolé les principes actifs (Morphine, Quinine...etc.) (Hurabielle, 1981).

Les plantes médicinales comme les autres remèdes thérapeutiques et étiologiques ont toujours été intégrés à la culture d'une époque, ou d'une civilisation donnée (Janike, 1996).

Au début du 20^{siècle}, les progrès de la chimiothérapie, résultats de la chimie de synthèse provoquent le déclin de la médecine à base de plantes. (Hurabielle, 1981).

Il était donc bien normal qu'avec la nécessité d'instaurer de nouveaux rapports entre l'homme et le monde qui l'entoure, les produits naturels reviennent à la mode, aussi bien les aliments que les plantes médicinales; "simples" des premiers temps de la médecine. (Bianchini et corbetta, 1976).

I-3 Constituants des plantes médicinales

Parmi de très nombreuses substances que les plantes élaborent, toutes n'intéressent pas au même degré les pharmacognosistes. Ces derniers s'occupent sur tout des principes actifs des drogues, c'est-à-dire les constituants qui sont doués d'une activité pharmaceutique et par suite responsables de l'effet thérapeutique.

Ces constituants font partie de drogues chimiques très diverses. Ils peuvent s'agir de principes définis (alcaloïdes, hétérosides,...etc.) ou de mélanges complexes (huiles essentielles, résines, gommés, ...etc.). Les constituants des plantes médicinales appartiennent aux substances secondaires qui dérivent des principes primordiaux, résultent de la photosynthèse et dont on ignore la plupart du temps leur rôle dans le métabolisme végétal. (Fintemann et Weiss, 2004).

I-4 Mode d'utilisation

L'action des plantes médicinales ne dépend pas seulement de leurs propriétés et de leur qualité, mais également de la matière dont elles sont appliquées. Il existe en effet de nombreuses façons de les employer: fraîches ou séchées, pour un usage interne ou externe. On peut utiliser une seule ou un mélange de plusieurs drogues. Parfois même les plantes sont combinées avec d'autres préparations naturelles ou synthétiques.

L'utilisation des remèdes dépend de l'effet qu'ils exercent sur l'organisme sain ou malade, certaines ne possèdent qu'une seule substance active; d'autres en ont d'avantage est sont donc utilisées dans des but plus divers, citant comme exemples: tisanes, infusion ,macération, décoction, pommades, les poudres médicales, huiles à base de plantes. (Perroti et al ,1999).

I-5 Récolte et séchage

On récolte les plantes au moment où la teneur en principes actifs est à son point optimal. On choisit un jour ensoleillé pour faciliter le séchage, car celui-ci doit se faire à une température de 40 à 60 degrés (Schamenberg et Ferdinand, 2006).

I-6 Conservation

Les plantes se conservent dans des salles correctement aérées ayant une température constante et sèche, afin de garder le maximum de principes actifs. Les plantes sont alors expédiées vers les différents grossistes mondiaux (Luc-Salle, 1991).

I-7 Domaines d'application

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit de l'industrie : en alimentation et en cosmétologie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutiques.

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse (Bahorun, 1997).

- ✓ **En alimentation:** Assaisonnement, les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont une bonne part responsable des plaisirs de la table. (Smallfield, 2001).
- ✓ **En médecine:** Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire: les produits naturels des plantes depuis des périodes très anciennes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents (Dastidar et al, 2004), elles sont utilisées comme des drogues immunostimulantes, antispasmodique et anti-inflammatoires (Pedneault et al; 2001). Aussi utilisées en urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomacs, laxatifs, sommeil et désordres nerveux (Hampson et Svoboda, 1999).
- ✓ **En cosmétique:** Des parfums et articles de toilette, des produits de beauté et les produits hygiène (Porter, 2001).

I-8 Importance en Algérie

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale: méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale , estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (**Ozenda, 1977**).

De même en Kabylie, lorsque il y'a de la neige et que les routes sont coupées, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner.

Egalement dans la steppe pendant les transhumances, les nomades utilisent l'armoise blanche pour lutter contre les indigestions.

Dans le Hoggar, et en l'absence de médecins, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent les secrets, transmis de père en fils.

L'Algérie attache encore de l'importance à ces plantes , puisque dans le domaine des industries pharmaceutiques, il existe un projet visant le développement de l'utilisation des principes actifs d'origine végétale dans la fabrication des médicaments(**Gheyouche et Hammache, 1998**).

II-Généralités sur la plante

II- 1 Le jujubier

Les jujubiers ou Ziziphus sont un genre de plantes de la famille des Rhamnacées. Le genre ziziphus regroupe 40 espèces d'arbres et d'arbustes épineux des régions tropicales , subtropicales et tempérées chaudes du monde entier.(Anonyme;2013).

II-2 Habitat et répartition

On pense, que le jujubier provient des régions allant de l'Inde à la Chine, la Malaisie et les zones équatoriales, ainsi que l'île arabe et le pays de l'Ethiopie. Il est cultivé aussi en Irak. (Agha et David, 1991) in Asscari (2008)

Les espèces de ce genre résistent aux conditions environnementales défavorables (t° (-29), Pluit...) ; c'est pourquoi leur culture est abondante dans les régions arides et semi-aride dans le monde entier (Randaoua et Kohli,1976)in Asscari(2008)

Selon BABA IASSA

- **Nom vernaculaire arabe : sedre,n'beg, enapiq**
- **Nom vernaculaire français : jujubier.**
- **Nom targui: jujube, ghasl.**

II-4Description botanique

Selon (Abdel Ali ;1967) in Asscari(2008),Le jujubier est une plante vivace à tige brunâtre atteignant une longueur de 3 à 8 m, caractérisée par la présence des épines (figure 01).



**Figure 01 : La tige de *Ziziphus spina christ*
(Anonyme; 2013)**

Les feuilles sont alternées présentant une forme ovale à trois (03) nervures principales, a couleur vert foncé. La face supérieure est lisse, la face inférieure contient des poils. (Abdel Ali, 1967) in Asscari (2008). (Figure 02).



Figure 02: Les feuilles de *Ziziphus spina christi*.
(Anonyme;2012)

Le fruit de jujubier est une drupe, d'une forme globulaire ou cylindrique ou encore large pour certaines catégories, de couleur jaune brillant à maturité (Lyrene; 1979).

Les fruits de *ziziphus spina christi* L ont une grande valeur nutritive, vu leur richesse en vitamine C et en caroténoïdes, qui sont considérés comme anti-oxydantes (Bose; 1985).
(Figure 03)



Figure 03 : Les fruits de *Z. Spina Christi* (Anonyme;2012)

Les graines sont riches en protéines et les feuilles sont riches en calcium, fer et magnésium. (Anonyme; 2013)

II-5 Propriétés et usages

Le jujubier a des effets curatifs ; il est largement utilisé en médecine traditionnelle et en industrie. Les feuilles ont un effet hypoglycémiant et comme désinfectants vitaux contre les bactéries, champignons et virus. (Abbas; 1997).

II-6 Multiplication

La multiplication se fait par semis et par greffage au début du printemps ou de l'automne. (Aghat et David; 1991) in Asscari (2008)

Les arbres fleurissent deux fois par an, la première floraison commence au début de l'automne (Septembre), les fruits restent attachés aux arbres jusqu'à leur maturation.

Au printemps (d'Avril) coïncidant avec l'augmentation de la température, la deuxième floraison aura lieu à la fin du printemps. (Agha et David ; 1991). in Asscari (2008).

L'évolution du fruit du jujube passe par quatre étapes : développement, maturation, maturation finale et sénescence (Abbas, 1997).

III- Etude pharmaceutique

III-1- L'effet anti-inflammatoire

III-1-1- Définition de l'inflammation

La réaction inflammatoire est un ensemble de phénomènes par lesquels les leucocytes et les médiateurs se concentrent dans un territoire agressé de l'organisme, quelle que soit la nature de l'agresseur ; physique, chimique, infectieux, immunologique. (Gaucher et al,1993).

La réaction inflammatoire est la réponse normale d'organisme à des agressions d'origine immunitaire ou non. C'est une réaction du tissu conjonctif et des vaisseaux.(Touiton,2003).

III-1-2- Action anti-inflammatoire

L'action anti-inflammatoire inhibe la réponse inflammatoire quelle que soit l'agent pathogène responsable, entraînant une réduction de la vasodilatation et de l'œdème en diminuant le chimiotactisme et la migration leucocytaire vers le foyer inflammatoire. (Pieri et al, 1992).

III-1-3- Les signes de l'inflammation

Selon (Gaucher et al,1993) plusieurs événements constituent la phase initiale de la réaction inflammatoire :

- Accroissement du flux sanguin vers la zone agressée.
- Augmentation de la perméabilité capillaire locale.
- Migration des cellules à partir du flux sanguin vers le territoire lésé.

III-2- L'effet antispasmodique

III-2-1 Définition de la douleur

La douleur est une sensation spécifique ayant des récepteurs et des conducteurs périphériques et centraux qui lui sont propre. (Serrie et Thurel, 1997).

La douleur apparaît à la suite d'une inflammation, d'une contraction musculaire, d'un spasme vasculaire, d'une infection locale.(Cohen et Jacquot,2001).

Selon **Tuitou (1993)**, l'étude de la douleur est très difficile car, à la douleur proprement dite s'ajoutent les réactions personnelles du sujet : angoisse, anxiété, réactions psychique ... etc..

III-2-2- Définition d'un spasme

Le spasme est une contraction involontaire des fibres musculaires, celle-ci est intense mais passagère. La douleur provient de l'arrêt de la circulation sanguine dans le muscle pendant cette contraction anormale. (**Serrie et Thurel, 1997**).

III-2-3- Les antispasmodiques

Se sont des substances d'origine naturelle ou synthétique, utilisées dans le but de supprimer un spasme (contraction durable au niveau d'un muscle lisse ou d'un sphincter). Ils sont sédatifs et dans certains cas des dépresseurs du S.N.C. (**Pieri et al, 1992**).

III-3- L'effet toxique

III-3-1-Définition de la toxicité

On appelle "toxique" ou "poison" toute substance qui après pénétration dans l'organisme par une voie quelconque à une dose relativement élevée en une ou plusieurs fois très rapprochées, ou par petites doses longtemps répétées, provoque dans l'immédiat ou après une phase de latence plus ou moins prolongée, de façon passagère ou durable, des troubles d'une ou de plusieurs fonctions de l'organisme pouvant aller jusqu'à leur suppression complète, et par suite entraîner la mort. (**Gazengel et Orcchioni, 1999**).

III-3-2- Classification des toxicités

On distingue en général trois formules d'intoxication suivant la rapidité d'apparition, la sévérité, la durée des symptômes, et la rapidité d'absorption de la substance toxique. (**Lawrys, 1982**).

- **Toxicité aiguë** : La toxicité aiguë est celle qui résulte de l'administration très forte, en une fois ou en plusieurs fois d'une substance quelconque. En effet l'administration a

lieu par voie orale chez des rongeurs sub-divisés en plusieurs groupes, et la mortalité de chaque groupe est mesurée au cours des jours suivants. (Frank et al, 1992).

- **Toxicité sub-aiguë** : Elle résulte de l'absorption répétée d'une substance pendant un temps limité (au maximum 90 jours chez l'animal) à des doses relativement élevées mais qui sont insuffisantes pour entraîner des effets toxiques lors d'une administration unique (Chaveron, 1999).
- **Toxicité chronique** : dite aussi à long terme, elle se manifeste avec retard à la suite de l'administration répétée et prolongée d'une substance active. (Chaveron, 1999).

III-3-3 -La Dose létale 50%.

La DL50 est la dose létale qui entraîne la mort de 50% des animaux soumis à l'administration de la substance (Lechat, 1990).

Le but de l'étude de la toxicité aiguë est de déterminer la dose létale (DL50) qui est défini comme : l'estimation statistique d'une dose unique de produit supposé tuer 50% des animaux (Frank et al, 1992).



CHAPITRE II

Matériel et Méthode

Notre travail a été réalisé au sein de laboratoire de stérilité et de pharmacotoxicologie, au niveau de la filiale Antibiotical de l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques SAIDAL (Médéa).

Ce travail a duré un mois (11 février-11 mars).

I-Matériels.

I-1. Matériels biologiques.

I-1-1. Matériel végétal.

Notre étude a porté sur les feuilles de jujubier sauvage (*ziziphus spina christi L*).

Les feuilles ont été récoltées au mois de janvier (stade plein feuillaison), au niveau de la station Ouamri située 30 km à l'ouest de Médéa.

L'arbre de jujubier se trouve sur un terrain plat et vaste entouré par des plantes herbacées, loin des habitations et proche d'une route nationale. (Figure 04).

La situation géographique et les caractéristiques climatiques de la région d'Ouamri, sont montrées dans le tableau suivant :

Tableau I: situation géographique et caractéristiques climatiques de la station de récolte.

Région	Altitude (m)	Caractéristiques climatiques
Ouamri	900	Froid et humide en hiver, tempérée au printemps et chaud et sec en été.

- **Identification** : L'identification a été fait selon l'observation des caractères morphologiques , et selon les critères cités par les auteurs (**Rabiï, 1998**) in **Asscari (2008)**.



Figure 04: station de récolte des feuilles de jujubier

I-1-2. Matériel animal

Notre matériel animal sert à la réalisation de l'essai anti-inflammatoire, antispasmodique et l'étude de la toxicité, Nous avons utilisé des souris qui ont été élevés au niveau du laboratoire de pharmacotoxicologie de l'unité animalerie du complexe **Antibiotical - SAIDAL** de Médéa. Les caractéristiques des souris sont les suivantes :

- **Souris** : espèce *Mus musculus*; race albinos, souche N.M.R.I, d'origine Swiss, de poids variant entre 17-24g. Importée par **SAIDAL** (Médéa).
- **Condition d'élevage** :
 - Air : renouvellement continu.
 - Température : $21\text{C}^{\circ} \pm 1\text{C}^{\circ}$
 - Hygrométrie : 60 à 75%.

- **Alimentation :**

- L'alimentation des souris est formée par des céréales, du son, graine de soja, complémenté par des vitamines et des sels minéraux.
- L'eau de boisson potable est renouvelée quotidiennement.
- Le contrôle chimique et bactériologique de l'eau et de l'aliment est périodique.

Nous avons utilisé des lots de souris, chaque lot contient (06) souris. (**Annexe 04**)

Le nombre de lot est différent pour chaque étude.

I-1-3 Les micro-organismes

Afin de tester l'activité antimicrobienne des extraits aqueux des feuilles de jujubier, nous avons utilisé les souches bactériennes référenciées par la norme **PHARMACOPEE EUROPEENE (2008)**, elles sont été fournies par le laboratoire de microbiologie du complexe **SAIDAL**. (**TableauII**)

Tableau II: Les souches bactériennes utilisées pour l'étude de l'effet antibactérienne.

Les caractéristiques	Les souches bactériennes			
	Gram (+)		Gram (-)	
Gram				
Nom de souche	<i>Bacillus subtilus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Echerichia coli</i>	<i>Sarcina lutea</i>
Famille	Bacillaceae	Micrococcaceae	Anterobacteriaceae	Cryptococcaceae

I-2 Matériel nom biologique

I-2-1 Appareillage

L'ensemble des appareils, verrerie et accessoires utilisés sont montré en **Annexe 01**.

II-Méthodes d'étude.

II- 1 Préparation des extraits aqueux

Après nettoyage et lavage à l'eau courante, les feuilles ont été séchées à température ambiante (à l'abri de la lumière) et dans des endroits bien aérés pour éviter les moisissures, et conservées dans des sacs en papier, pendant une semaine.

Les feuilles séchées sont détruites à l'aide d'un mortier, la poudre est obtenue après tamisage du produit broyé.

Les extraits aqueux sont préparés selon le Protocole donné par SAIDAL :

- nous avons préparé une **solution mère de 10%** (10 g/100 ml).

10 g de poudre des feuilles de jujubier sont dilués dans 100 ml d'eau distillée; le mélange est mis dans un bain marie à 65 C° pendant 30 mn avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est filtré sur papier filtre.

Le filtrat est ensuite mis dans des petits flacons en verre.

A partir de cette solution mère deux dilutions ont été préparées pour l'étude de l'effet antibactérien :

- * Dilution à 80% : Dans un tube à essai nous avons mis 0.8 ml de la solution mère avec 0.2 ml de l'eau physiologique, l'ensemble est agité pendant quelques minutes.
- * Dilution 50% : Dans un tube à essai nous avons mis 0.5 ml de la solution mère avec 0.5 ml de l'eau avec physiologique, puis on agite le mélange pendant quelques minutes.

- **Pour la dose 5%** : 5 g de la poudre des feuilles sèches de jujubier sont dilués dans 100 ml d'eau distillée, le mélange est mis dans un bain marié à 65 C°, avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est filtré sur papier filtre.

Le filtrat est mis dans des petits flacons en verre.

- **Pour la dose 1%** : 1 g de la poudre des feuilles sèches de jujubier est dilué dans 100 ml d'eau distillée, le mélange est mis dans un bain marié à 65 C° pendant 30 mn avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est filtré sur papier filtre.

Le filtrat est mis dans des petits flacons en verre.

II-2 Etude de l'activité antimicrobienne.

II-2-1 Principe

La technique consiste à utiliser des disques de papier buvard stériles qui seront imprégnés dans des différentes concentrations de l'extrait aqueux, puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de germes à étudier.

Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelées zones d'inhibitions.

Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique des extraits aqueux des feuilles de jujubier sur le germe testé. On peut exprimer cette activité selon le diamètre de la zone d'inhibition mesuré en millimètre.

Pour estimer la résistance ou la sensibilité des différents germes testés à l'extrait aqueux on adopte la méthode de (Chifundraet al; 1990) appliquée aux antibiotiques :

- Diamètre compris entre 0 et 9 mm : souche résistante.
- Diamètre compris entre 10 et 15 mm : souche sensible.
- Diamètre compris entre 16 et 20 mm : souche sensible intermédiaire.
- Diamètre plus de 20 mm : souche très sensible.

II-2-2 Mode opératoire

Pour réaliser l'effet antimicrobien, les points suivants ont été pris en considération :

❖ Coulage des boîtes

- Nous avons utilisées le milieu de culture **soja agar**: milieu sélectif pour notre souche bactérienne
- Le milieu de culture a été placés au bain marie jusqu'à liquéfaction totale. Des mouvements de rotation ont été faits par la suite pour bien assurer l'homogénéité du milieu, puis il a été refroidie à température ambiante.
- Le milieu de culture est versé dans des boîtes de pétri en pivotant ces dernières, à raison de 18 ml par boîte dans des conditions d'asepsie et on les laisse se solidifier pendant 15 mn .

❖ Préparation des suspensions microbiennes

A partir des cultures jeunes de 18 h, les suspensions des bactéries ont été préparées séparément, en prélevant à l'aide d'un écouvillon des colonies microbiennes, que l'on dépose dans un tube stérile contenant 10 ml d'eau physiologique et on agite jusqu'à la formation des troubles.

❖ Application des disques buvard

A l'aide d'une pince stérile, on prend un disque en papier absorbant stérile (papier buvard de 9 mm de diamètre et de capacité d'absorbance de 50 à 60 μm) dont on imbibe l'extrémité avec le produit à tester : l'extrait aqueux des feuilles séchées de jujubier sauvage à concentration de 80% et 50%, le disque est déposé sur la surface de la gélose ensemencée par les micro-organismes à tester.

❖ Incubation

Les boîtes de pétri sont mis dans l'étuve à 35 C° pendant 18 h à 24 h. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés pour chaque souche bactérienne à l'aide d'un appareil de mesure.

II-3 Etude de l'activité anti-inflammatoire

II-3-1 Principe

L'inflammation de l'œdème de la souris provoquée par application locale de carraghénine à 0.1% peut être réduite par application des substances anti-inflammatoires (**Rahman et al 2005**).

Cette inflammation est la conséquence de l'augmentation de la perméabilité vasculaire qui est à l'origine de l'œdème suite à une diffusion liquidienne dans les tissus voisins.

Le rôle du produit anti-inflammatoire est la limitation de la perméabilité vasculaire.

II-3-2 Choix des essais

La mise en évidence de l'effet anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode de **LEVY (1969)**, citée par **Berkan et al (1991)** :

- Effet pré-inflammatoire de la carraghénine en comparaison avec l'eau physiologique

❖ **Lecture** : le volume des pattes postérieures droites des souris de 05 lots est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

➤ **Au temps T: 30 m**

- Injecter la solution de carraghénine à tous les souris des lots sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite à raison de 0,5 ml.
- Après l'injection, mesurer l'épaisseur des pattes postérieures droites.
- Le volume des pattes postérieures droites a été mesuré chaque 3mn lot à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats obtenus seront présentés dans l'**Annexe 03**.
- On arrête les mesures, une fois la longueur initiale des pattes des souris obtenue (avant injection).

II-4 Etude de l'activité antispasmodique

La méthode utilisée pour déterminer l'effet antispasmodique de notre extrait aqueux est celle de Vogel et al (1997).

II- 4-1 principes

L'injection d'acide acétique à 1% par voie intra-péritonéale (**Annexe 04**) provoque chez les souris une réaction douloureuse; cette douleur se manifeste par des spasmes sous forme de mouvements de tension de l'abdomen avec étirement des pattes postérieures.

Une substance antispasmodique à la dose active réduit le nombre de ces spasmes (**Rahman et al ; 2005**)

II-4-2Choix des essais

- Les témoins ont été choisis afin de montrer l'effet neutre de l'eau physiologique sur la réduction ou la provocation des spasmes chez les souris.
- L'effet antispasmodique de l'extrait aqueux est testé par rapport aux témoins.
- La comparaison se fait avec un antispasmodique officinal : le spasfon.

II-4-3 Mode opératoire :

Pour cette étude nous avons utilisé les même concentration d'extraits aqueux (10%, 5% et 1%) utilisée précédemment pour l'étude anti-inflammatoire .

* Les souris testées sont reparties en cinq (05) lots de 06 souris mâles et femelles(Annexe02). Les caractéristiques des solutions administrées pour chaque lot sont montrées dans le tableau suivant :

Tableau IV:Caractéristiquesdes solutions administrées pour chaque lot

Lots	Caractéristiques des solutions administrées		
	Nature de solution administrée	Dose (%)	Volume de solution administrée (ml)
Témoin	Eau physiologique	-	0.5
Référence	Spasfon	-	0.5
Essai 01	Extrait aqueux	1	0.5
Essai 02	Extrait aqueux	5	0.5
Essai 03	Extrait aqueux	10	0.5

- **Au temps T₀**: Injecter par voie intra-péritonéale 0.5ml de la dose de l'extrait aqueux équivalente pour chaque lot.
- **Après 30mn** : Tous les souris reçoivent 0.5ml de la solution d'acide acétique.

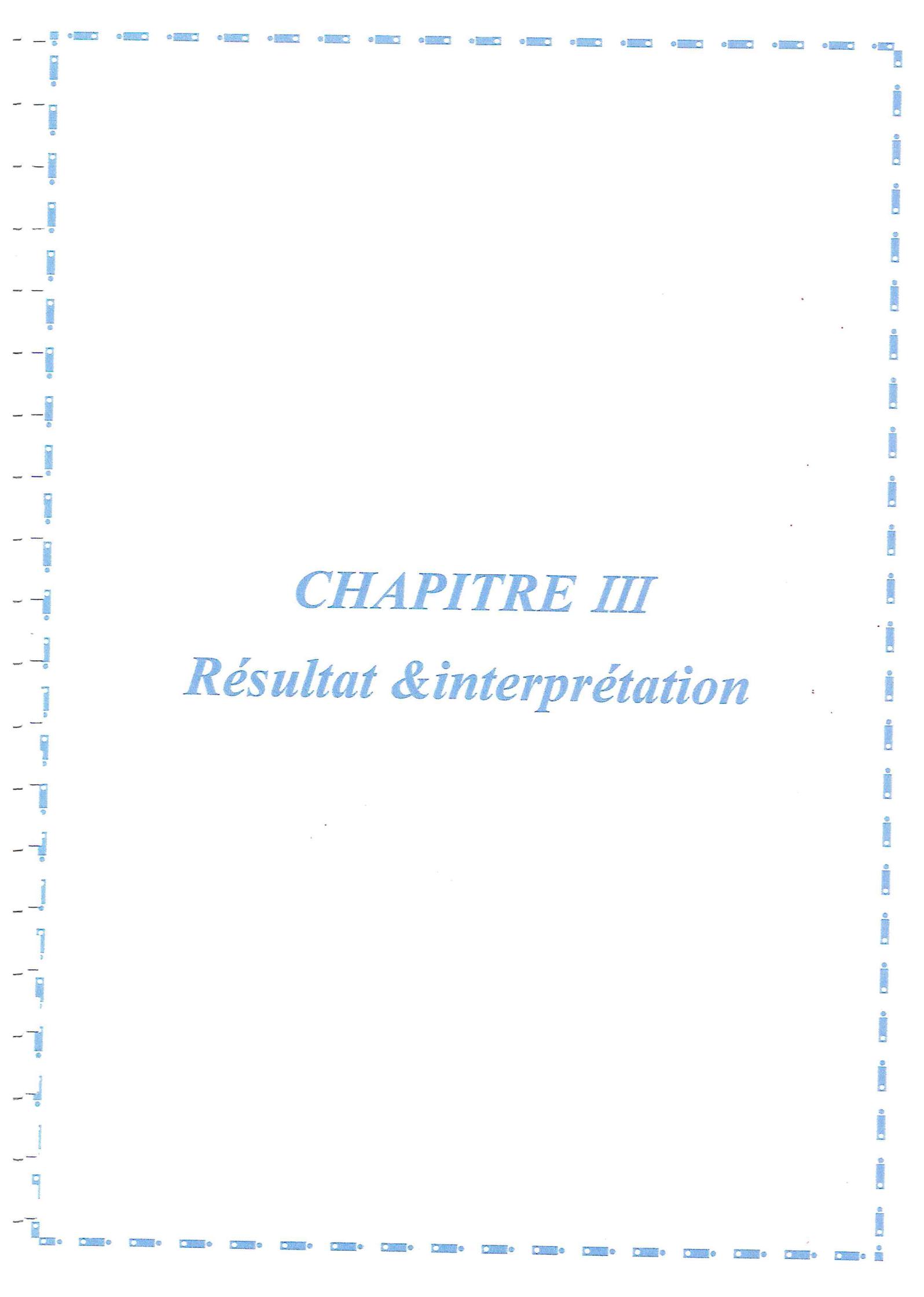
- **Lecture**

La lecture se fait 5 mn après l'injection de l'extrait aqueux.

Le pourcentage de réduction des spasmes (le pourcentage de protection), est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de protection} = \frac{\text{Moyenne des spasmes du lot témoin} - \text{Moyenne des spasme du lot essai}}{\text{Moyenne des spasmes du lot témoin}} \times 100$$

(Volgel et al ; 1997)



CHAPITRE III

Résultat & interprétation

I- Activité antibactérienne.

Les résultats des analyses de l'activité antimicrobiennes de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier sont montrées dans le tableau VI et illustrés dans les figures (5) et (6).

Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition du développement des différentes souches bactériennes testées; en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux des feuilles de jujubier

Concentration de l'extrait aqueux (%)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
	Bactérie Gram (+)		Bactérie Gram (-)	
	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. lutea</i>
80%	16.5	9	9.5	38
50%	18	9.5	10	40

● : Sensible.

●: Résistant.

Le diamètre des zones d'inhibition, nous permet d'estimer la résistance ou la sensibilité des différents germes testés .

En adoptant la méthode de (Chifundra et al 1990); appliquée aux antibiotiques :

- Diamètre compris entre 0 et 9 mm: souche résistante.
- Diamètre compris entre 10 et 15 mm : souche sensible.
- Diamètre compris entre 16 et 20 mm : souche sensible ou intermédiaire.
- Diamètre plus à 20 mm : souche très sensible.

I- L'activité antibactérienne.

Les résultats des analyses de l'activité antimicrobiennes de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier sont montrées dans le tableau VI et illustrés dans les figures 5 et 6.

Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition du développement des différentes souches bactériennes testées; en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux des feuilles de jujubier

Concentration de l'extrait aqueux (%)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
	Bactérie Gram (+)		Bactérie Gram (-)	
	<i>B.subtilus</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. lutea</i>
80%	16.5	9	9.5	38
50%	18	9.5	10	40

● : Sensible.

●● : Résistant.

Le diamètre des zones d'inhibition, nous permet d'estimer la résistance ou la sensibilité des différents germes testés .

En adoptant la méthode de (Chifundra et al 1990); appliquée aux antibiotiques :

- Diamètre compris entre 0 et 9mm: souche résistante.
- Diamètre compris entre 10 et 15mm : souche sensible.
- Diamètre compris entre 16 et 20mm : souche sensible ou intermédiaire.
- Diamètre plus à 20mm : souche très sensible.

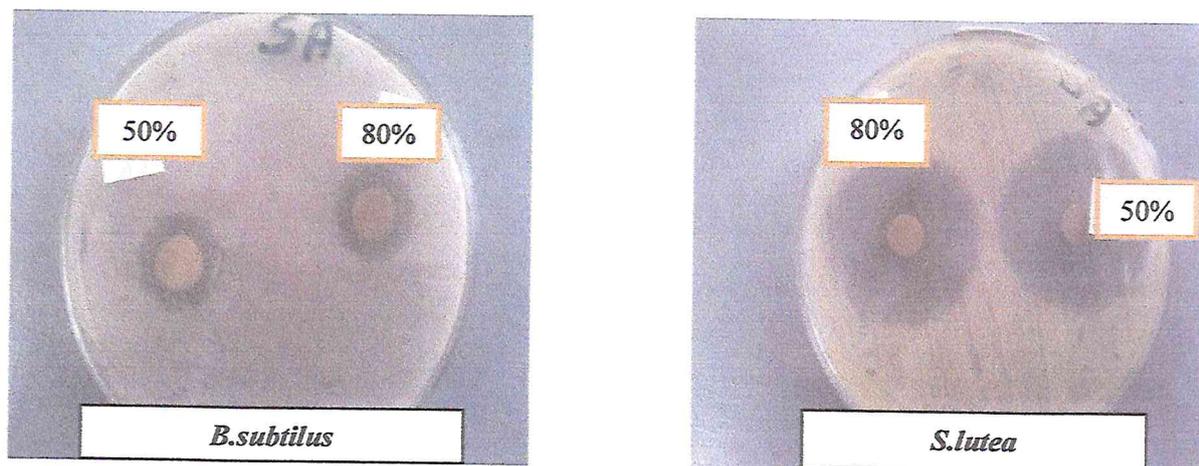


Figure 05: Effet des extraits aqueux des feuilles de jujubier à concentration de 80% et 50% sur le développement de *B. subtilis* et *S. lutea*.

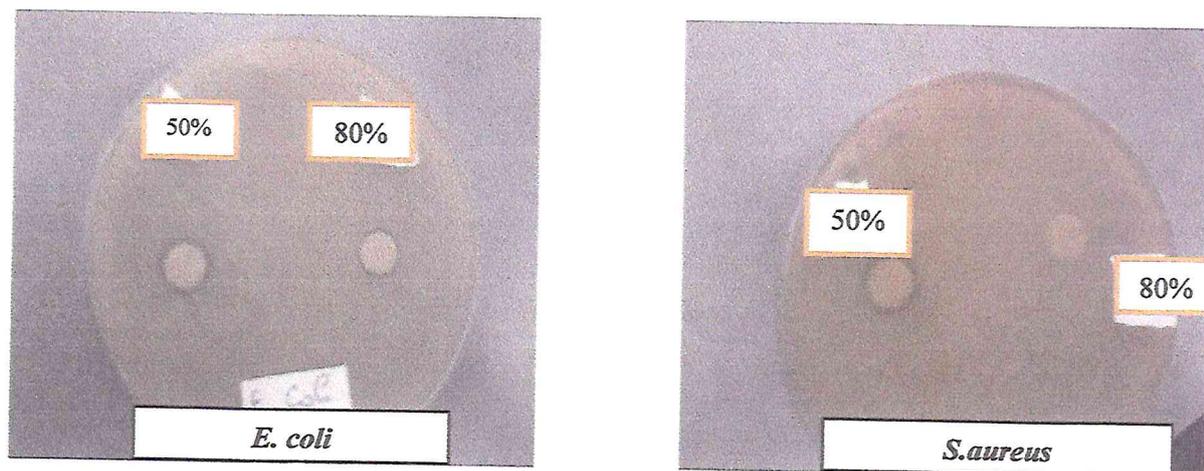


Figure 06 : Effet des extraits aqueux des feuilles de jujubier à concentration de 80% et 50% sur le développement d'*E. coli* et *S. aureus*.

D'après le tableau II, nous pouvons dire le suivant :

- Il existe une activité antimicrobienne de l'extrait aqueux à 80% et à 50% sur : *B.subtilis* et *S.lutea*.
- Pour les mêmes concentrations, nous remarquons qu'il y'a une absence presque totale d'activité antimicrobienne pour les souches *S.aureus* et *E. Coli*.

Selon la méthode de (Chifundra et al ;1990), les germes microbiennes sont considérés comme sensibles pour *B.subtilis* à très sensibles pour *S.lutea* (diamètre des zones d'inhibitions plus de 16mm). Pour les deux concentrations de 80% et 50%.

Les deux souches *E. coli* et *S.aureus* sont résistantes pour les mêmes concentrations

II- Activité anti-inflammatoire

l'ensemble des résultats de l'effet anti-inflammatoire de nos extrait aqueux sont montrées dans l'Annexe (03).

Les figures suivants nous montrent les moyennes des épaisseurs des pattes postérieurs droit (en mm) des souris .

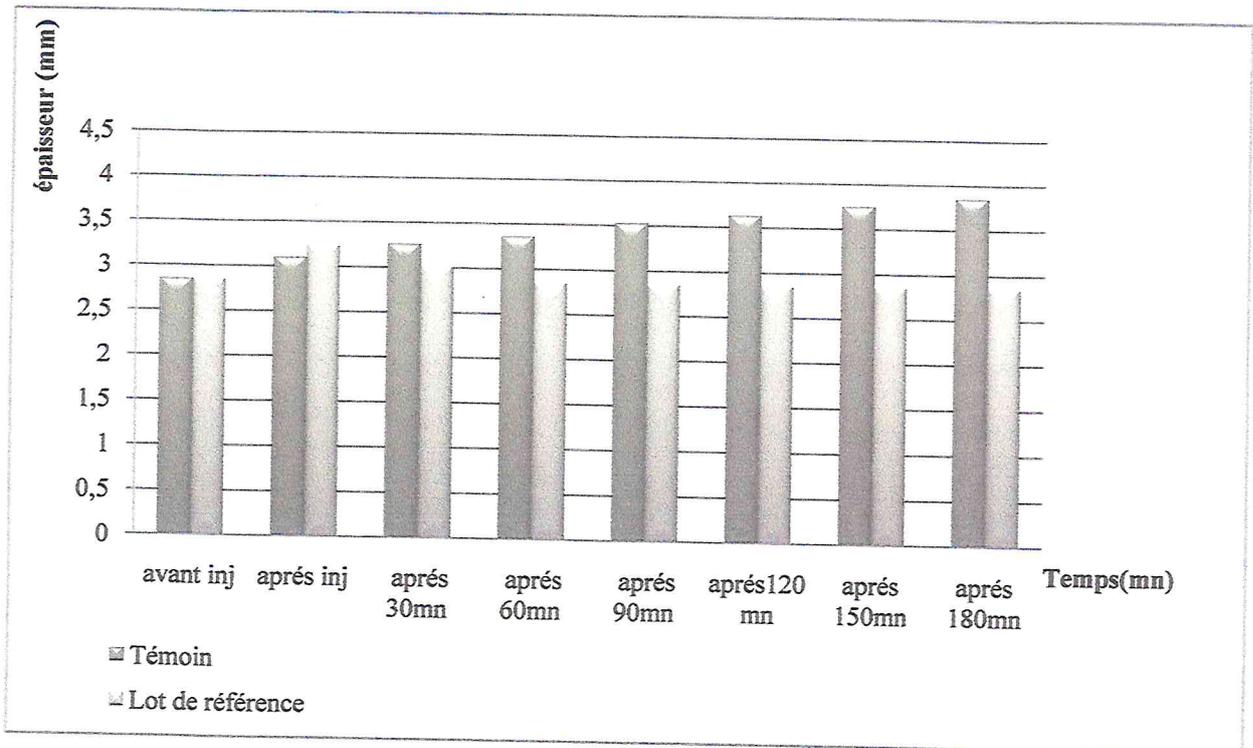


Figure 07: Evolution des moyennes des épaisseurs de pattes des souris en fonction du temps.

Pour le témoin : Après 30mn de l'administration de la carraghénine au niveau des pattes postérieures des souris, nous avons observé une augmentation des épaisseurs de l'œdème des pattes droit des souris atteignent 3.26mn. Cette augmentation se poursuit jusqu'aux 180mn pour atteindre la longueur 3.85mn.

Pour le lot de référence : Nous observons une augmentation de l'œdème suivie par une diminution et une disparition totale de l'inflammation à partir de 60mn. Cette disparition est due à l'activité de médicament anti-inflammatoire (Clophénol). (Figure 06).

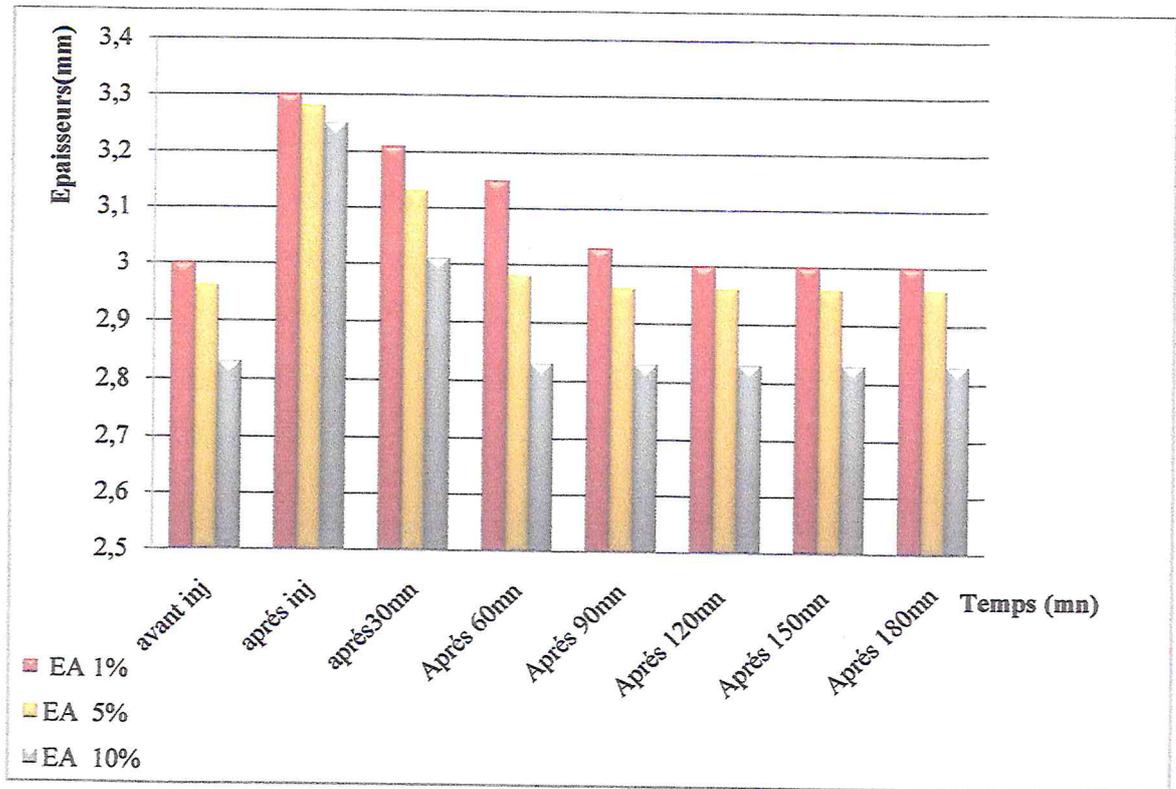


Figure 08: Evaluation des moyennes d'épaisseurs de pattes des souris des lots traités par les extraits aqueux (1%,5% et 10%).

• Pour les souris de l'essai 01 traité par l'EA a dose de 1%, nous avons remarqué une légère baisse de gonflement des l'œdème. La stabilité est atteinte au bout de 120mn. (Figure 07).

• Pour les souris de l'essai 02 traité par l'EA a dose de 5%, nous avons observé une baisse importante des gonflements des œdèmes et la stabilité est atteinte à 90mn. (Figure 07)

• Pour les souris du lot essai 03 dont la dose de l'EA administrée est de 10%, une baisse très importante des gonflements des l'œdème, est observée. La stabilisation est atteinte plus rapidement (60mn). (Figure 07).

D'après ces résultats obtenus, nous pouvons dire que le temps de stabilité est proportionnel à la concentration de l'extrait aqueux (1% ,5% et 10%). Plus la concentration de l'extrait aqueux est élevée plus la stabilité est rapidement atteinte.

III- Activité antispasmodique.

L'effet antispasmodique est expliqué par le pourcentage de protection après administration de l'eau physiologique et les différentes doses de l'EA à des souris à lesquelles la douleur est provoquée par l'injection d'AA à 1% par voie intra-péritonéale.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau VII et la figure 09(Annexe 05):

Tableau VII: Les pourcentages de protection enregistrés chez les souris en fonction des différentes solutions administrées.

Lot	Nature de solution injectée	Dose	Pourcentage de protection (%)
Référence	spasfon	8%	100
Essai 01	Extrait aqueux	1%	56.25
Essai 02	Extrait aqueux	5%	69.81
Essai 03	Extrait aqueux	10%	95.87

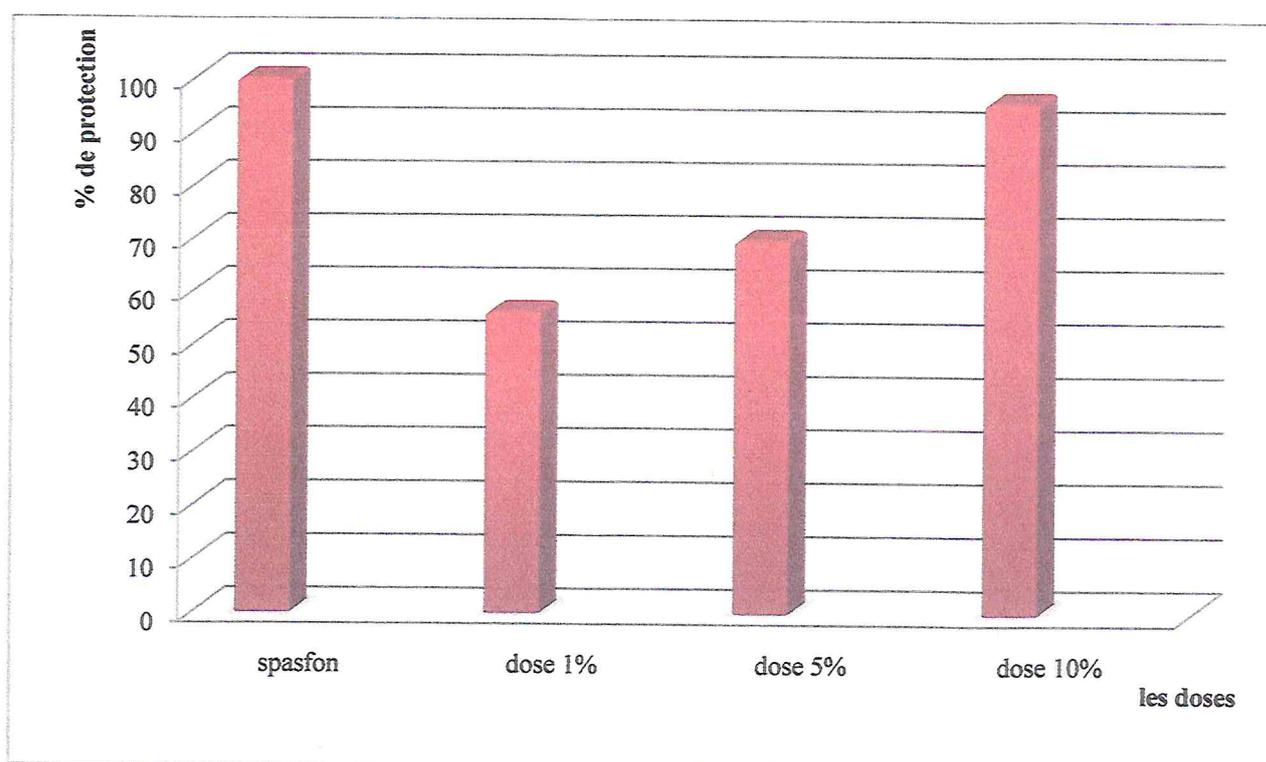


Figure 09 : Le pourcentage de protection de différentes doses pour chaque lot.

Dans les mêmes conditions opératoires ; l'administration de l'extrait aqueux à des doses différentes diminue l'effet de l'acide acétique d'une façon variable :

- Chez les souris du lot **Référence** traité par spasfon, nous avons enregistré un pourcentage de protection maximale (100%)
- Chez les souris du lot **d'essai(01)** traité par une dose de 1% d'EA; nous notons un pourcentage de protection élevé. (56.25)
- Chez les souris du lot **d'essai (02)**; traité par l'EA à une dose de 5%; nous notons un pourcentage de protection plus élevé.(69.81)
- Pour les souris du lot **d'essai (03)**, traité par l'EA a une dose de 10%, le pourcentage de protections est encore plus élève et presque égal au taux de protection maximal. (95.87%).

L'utilisation des différentes doses a permis de noter l'efficacité de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier contre les spasmes provoqués par l'acide acétique à 10%, nous remarquons que le pourcentage de protection augmente jusqu'à 95.87% pour la dose (10%) de EA.

IV-Test de toxicité.

Pour le test de la toxicité. Nous n'avons noté aucun symptômes d'intoxication (troubles nerveux et troubles respiratoires), pour toutes les concentration des 'extraits aqueux testés (1%, 5% et 10%) et cela après 30mn d'administration .(**Annexe 05**)

Après (10) jours, le résultat reste le même et aucun symptôme de toxicité n'a été observée et aucune mortalité n'a été enregistrée pour l'ensemble des lots.

Discussion

Discussion

Le but de notre travail est d'étudier l'effet antibactérien, anti-inflammatoire, antispasmodique et la toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier.

L'étude de l'effet antibactérien a montré l'efficacité des extraits aqueux des feuilles de jujubier sur : *Bacillus subtilus* et *Sarcina lutéa*. *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sont des souches résistantes à concentration de 80% et 50%.

Ces résultats ont été déjà obtenus par Mahesh et Satish (2008), qui ont étudiés l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des feuilles et de tige de *Ziziphus mauritiana*, il ont montrés l'efficacité de l'extrait aqueux de jujubier sur : *Bacillus subtilus*, *Proteus vulgaris* et *Pseudomonas aeruginosa* à une concentration de 100 mg/ml.

Selon Asam.S et al; (2006), l'extrait aqueux des racines de *Ziziphus jujuba* a un effet antimicrobien sur 20 bactéries aussi, l'extrait aqueux des feuilles de *Ziziphus mauritiana* a un effet antibactérien sur quelques souches bactériennes.

D'après (Hatil et al ;2009) La plante *Ziziphus spina christi* a un effet antibactérien sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilus* et *Proteus vulgaris*.

L'étude de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Ziziphus spina christi* a montré que les différentes concentrations (1%, 5% et 10%) provoquent une diminution du gonflement.

Ce résultat est en accord avec les données bibliographiques. (Haq et al; 2006) affirment que la *Ziziphus spina christi* a un effet anti-inflammatoire.

Selon (Asam. S et al ; 2006) la *Ziziphus jujuba* a un effet anti-inflammatoire remarquable, ainsi que l'extrait aqueux des feuilles de *Ziziphus mauritiana* a un effet anti-inflammatoire significatif.

Pour l'étude de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux de *ziziphus spinachristi*, on note le pourcentage de protection pour les concentrations suivants : 10% (95%), 5% (69.81) et 1% (56.25).

Ces résultats ont été déjà obtenus par **Haq et al (2006)**, qui affirment que la *ziziphus spina christi* a un effet antispasmodique.

Asam .S et al 2006 ont montré l'efficacité de fruit de *ziziphus jujuba* comme un antispasmodique.

Conclusion

Ce présent travail consiste à la valorisation d'une plante médicinale fréquente dans le bassin méditerranéen ; connu sous le nom de *Ziziphus spina chrisri* L; cette plante présente un intérêt thérapeutique important.

Les résultats des tests pharmacologiques de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier ont mis en évidence l'existence de plusieurs activités :

Les résultats des tests de l'activité antimicrobienne ont montré que les extrait aqueux des feuilles de jujubier sont efficaces contre le développement des deux souches bactériennes: *Bassilus subtilus* et *Sarcina lutea*. Les deux autre germes : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont montré une résistance vis a vis de ces extrait aqueux.

L'activité anti-inflammatoire a été nettement remarquée pour les différents extraits aqueux à concentration de (1%; 5%et 10%) chez les souris traitées par une solution de carraghénineà 1%.

Les différents extrait aqueux de feuilles de jujubier présentent une activité antispasmodique importante contre les spasmes provoqués par l'acide acétique à 1%; chez les souris. Le pourcentage de protection atteint 95.87 % pour la concentration de 10%.

Les tests de toxicités ont montré que l'extrait aqueux de jujubier n'est pas toxique.

Nos résultats nous permettent de conclure le suivant :

- L'extrait aqueux des feuilles de jujubier possède une activité antimicrobienne sur quelque souche bactérienne.
- l'extrait aqueux des feuilles de jujubier possède une activité anti-inflammatoire et antispasmodique. Plus la concentration de l'extrait aqueux est forte plus l'efficacité des effets anti-inflammatoire et antispasmodique est élevé.
- L'extrait aqueux des feuilles de jujubier n'est pas toxique.

Notre étude doit être complétée par des analyses quantitatives (rendement) et qualitatives (identification) des molécules bioactives dans les feuilles de jujubier .

ANNEXES

ANNEXE 01

Appareillage

- Agitateur vortex.
- Bain marie.
- Balance analytique de précision.
- Bec benzène.
- Etuve de stérilisation.
- Etuve d'incubation.

Verreries et accessoires

- Bécher Erlen Meyer.
- Boîte de pétri à usage unique(en cristal polystyrène).
- Disque buvard.
- Ecouvillon.
- Entonnoirs.
- Etiquette.
- Flacons.
- Gants.
- Matériel d'élevage habituel (bibron, cage de stabilisation).
- Papiers filtres.
- Pince de laboratoire.
- Portoirs pour les tubes.
- Seringues stériles en plastique à usage unique (1 et 5ml).
- Seringues stériles de gavage.

- Tube a essai.

Produits et réactifs

- Acide acétique.
- Carraghénine.
- Eau physiologique.
- Eau distillée.

ANNEXE 02

Les matériels de laboratoire utilisés (Originales 2013):

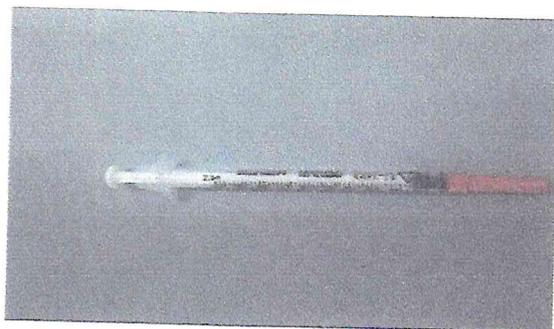


Figure 10 : Seringue d'injection



Figure 11 : Seringue de gavage

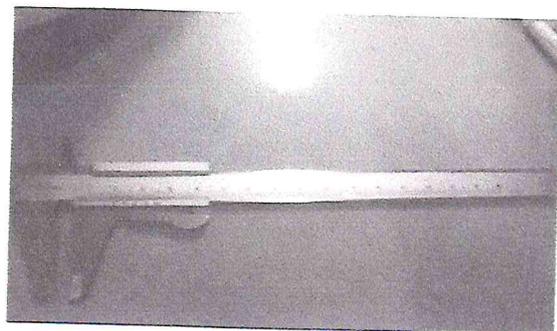


Figure 12: Pied à coulisse

ANNEXE 03

Résultat de l'activité anti-inflammatoire :

Tableau VIII: Epaisseurs des pattes postérieures droites(en mm) après injection par l'eau physiologique chez les souris de lot témoin.

N° des souris Temps (mn)	Souris 1	Souris2	Souris3	Souris4	Souris5	Souris6	La moyenne des épaisseurs
Avant administration	3.00	2.90	3.00	2.90	2.50	2.80	2.85
Après administration	3.20	3.30	3.20	3.20	2.70	3.00	3.10
Après 30mn	3.30	3.30	3.40	3.50	2.90	3.20	3.26
Après 60mn	3.30	3.40	3.50	3.60	3.10	3.30	3.36
Après 90mn	3.50	3.60	3.70	3.70	3.30	3.40	3.53
Après 120mn	3.60	3.70	3.80	3.80	3.40	3.50	3.63
Après 150mn	3.70	3.80	3.90	3.90	3.60	3.60	3.75
Après 180mn	3.90	3.90	4.00	4.00	3.60	3.70	3.85

Tableau IX: Epaisseurs des pattes postérieures droites(en mm) après injection par Clophénol chez les souris de lot de référence.

N° des souris Temps (mn)	Souris 1	Souris2	Souris3	Souris4	Souris5	Souris6	La moyenne des épaisseurs
Avant administration	2.90	2.80	3.00	2.70	2.70	2.90	2.85
Après administration	3.10	3.00	3.20	3.00	3.00	3.10	3.23
Après 30mn	2.90	2.90	3.10	3.10	3.10	3.00	3.01
Après 60mn	2.90	2.90	3.00	2.90	2.80	3.00	2.91
Après 90mn	2.90	2.80	3.00	2.70	2.70	3.00	2.85
Après 120mn	2.90	2.80	3.00	2.70	2.70	2.90	2.85
Après 150mn	2.90	2.80	3.00	2.70	2.70	2.90	2.85
Après 180mn	2.90	2.80	3.00	2.70	2.70	2.90	2.85

Tableau X: Epaisseurs des pattes postérieures droit (en mm) après injection par l'extrait aqueux de jujubier à concentration de 1% chez les souris de **lot essai 01**(1g/ 100ml)

N° des souris Temps (mn)	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	La moyenne des épaisseurs
Avant administration	3.00	3.10	3.10	3.00	2.90	2.90	3.00
après administration	3.30	3.40	3.40	3.50	3.20	3.20	3.3
Après 30mn	3.20	3.30	3.30	3.30	3.10	3.10	3.21
Après 60mn	3.20	3.20	3.20	3.20	3.00	3.10	3.15
Après 90mn	3.10	3.10	3.10	3.00	2.90	3.00	3.03
Après 120mn	3.00	3.10	3.10	3.00	2.90	2.90	3.00
Après 150mn	3.00	3.10	3.10	3.00	2.90	2.90	3.00
Après 180mn	3.00	3.10	3.10	3.00	2.90	2.90	3.00

Tableau XI: Epaisseurs des pattes postérieures droit (en mm) après injection par l'extrait aqueux de jujubier à concentration de 5%chez les souris de **lot essai 02.** (5g / 100ml)

N° des souris Temps (mn)	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	La moyenne des épaisseurs
Avant administration	3.00	2.90	3.00	3.00	3.10	2.80	2.96
Après administration	3.30	3.20	3.30	3.40	3.40	3.10	3.28
Après 30mn	3.20	3.10	3.20	3.20	3.20	2.90	3.13
Après 60mn	3.00	2.90	3.10	3.00	3.10	2.80	2.98
Après 90mn	3.00	2.90	3.00	3.00	3.10	2.80	2.96
Après 120mn	3.00	2.90	3.00	3.00	3.10	2.80	2.96
Après 150mn	3.00	2.90	3.00	3.00	3.10	2.80	2.96
Après 180mn	3.00	2.90	3.00	3.00	3.10	2.80	2.96

Tableau XII : Epaisseurs des pattes postérieures droite (en mm) injectées par l'extrait aqueux de jujubier à concentration de 10% chez les souris de lot essai 03. (10g / 100ml)

N° des souris Temps (mn)	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	La moyenne des épaisseurs
Avant administration	3.00	2.80	2.80	2.70	3.00	2.70	2.83
Après administration	3.40	3.30	3.20	3.00	3.50	3.10	3.25
Après 30mn	3.10	3.10	3.00	2.80	3.20	2.90	3.01
Après 60mn	3.00	2.80	2.80	2.70	3.00	2.70	2.83
Après 90mn	3.00	2.80	2.80	2.70	3.00	2.70	2.83
Après 120mn	3.00	2.80	2.80	2.70	3.00	2.70	2.83
Après 150mn	3.00	2.80	2.80	2.70	3.00	2.70	2.83

Tableau XIII: Evolution des moyennes d'épaisseurs des pattes des souris de chaque lot(en mm) en fonction de différente solution administrée

Solution injecté	Epaisseurs moyennes (mn)							
	Avant inj	Après inj	Après 30mn	Après 60mn	Après 90mn	Après 120mn	Après 150mn	Après 180mn
Témoin	2.85	3.10	3.26	3.96	3.53	3.63	3.75	3.85
Référence	2.85	3.28	3.01	2.85	2.85	2.85	2.85	2.85
Essai 1(EA 1%)	2.00	3.30	3.21	3.15	3.03	3.00	3.00	3.00
Essai 2(EA 5%)	2.96	3.28	3.13	2.98	2.96	2.96	2.96	2.96
Essai 3(EA 10%)	2.83	3.25	3.01	2.83	2.83	2.83	2.83	2.83

ANNEXE 04

Les différentes opérations effectuées (Originales 2013):



Figure 13 : Injection de carraghénine dans la patte postérieure de la souris



Figure 14: Injection intra-péritonéales



Figure 15 : Mesure de l'épaisseur de patte



Figure 16 : Administration orale (gavage)



Figure 17 : Un Lot (6souris)

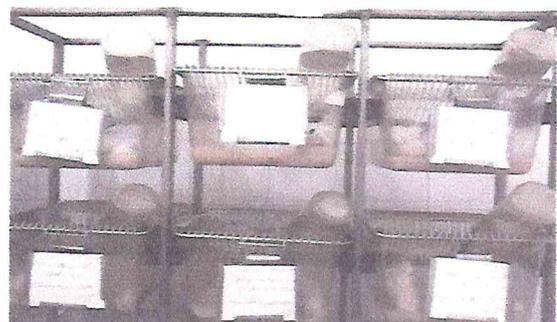


Figure 18: Les cages des souris

ANNEXE 05

Résultat de l'activité antispasmodique :**TableauXIV:** Nombre et moyenne, de spasme enregistré chez les souris pendant 10mn après l'injection d'acide acétique

Lot	Dose	Nombre de spasme	Moyenne de spasme
Lot témoin	Eau physiologique	96	16.00
Essai 01	Spasfon	0	0.00
Essai 02	EA (1%)	42	0.66
Essai 03	EA (5%)	29	4.83
Essai 04	EA (10%)	4	7.00

Résultats de la toxicité aiguë**TableauXV :** Nombre de mortalité en fonction des différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de jujubier.

Lot	Dose	Nombre de souris	La mortalité
Essai 01	EA (1%)	6	00
Essai 02	EA (5%)	6	00
Essai 03	EA (10%)	6	00

Références bibliographiques

- **ABBAS, M. F. 1997** : Jujube. In :Post-harvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits ,(Mitra,K.S.ed) CAB International, Oxford ,England ,P: 405–415
- **ANTON. R; 1999** : Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinales ,science et thérapeutique , 3^{ème} édition , technique documentation ,Paris.pp 22-30.
- **BABA IASSA F ; 1999** :Encyclopédie des plantes utiles ; édition , Librairie Moderne – ALGER , paris, p 145.
- **BAHORUN T; 1997** : Substance naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentiel . AMAS , Food and Agriculture Research Council Réduit . Mauritius.
- **BERNADET MARCEL , 1983** : La phyto-aromathérapie pratique, 2^{ème} édition française : Dargles , p 286.
- **BIANCHINI .F ET CORBETTA .F ; 1976** : Atlas de plantes médicinales. Adaptation de Chade , about et Anne Besanson .illustration de Marinela Pistoia , édition française : Nathan , p 154.
- **BOSE, T. K. 1985** : Fruits of India. Tropical and Sub-Tropical. Naya Prokaash Calcutta six India P 519 .
- **BOULLARD B; 2010** : Plantes médicinales du monde , 7^{ème} édition, paris, p 455.
- **BRUNETON JEAN ; 1999** : Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales , 2^{ème} édition, p 569.
- **CHAVERON . H ; 1999** : Introduction à la toxicologie nutritionnelle , Technique et documentation . Paris ,p 214.
- **CHIFUNDRA K., BURY W M., KIZUNGUB, 1990** : Screening photochimique et antibactérien des extraits de Ficus sycomorus L., short communication phytotherapy. (535, 539) pp.
- **COHEN ,V ET JACQUOT , C, 2001** : Pharmacologie 5^{ème} édition . Paris p 390.
- **DASTIDAR , 2004** : Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. International journal of antimicrobial agents . pp 99-102 .
- **DONATIEN KONE** : Thèse , enquête ethnobotanique de six plants médicinales maliennes- extraction identification d'alcaloïde , caractérisation quantification de polyphénols- etude de leur activité antioxydantes ,2008
- **FINTELMAN .V ET WEISS .R. F ; 2004** : Manuel pratique de phytothérapie . Paris : Vigot ; p235 .

Référence bibliographique

- **FRANK C, LORGUE G, LHUGUENOT J ET RIVVIERE J; 1992** : Toxicologie , édition : Masson, Paris, p 158.
- **GAZENDEL J ET ORCCHIONI , 1999** : Le préparateur en pharmacie , Guide théorique et pratique , 3^{ème} édition TEC & dac , Paris,p 271.
- **GHAUCHER ET AL ; 1993** : Pourer .J, Ragent .D et Mainard .D 1993.Pharmacologie clinique, inflammation imagerie ostéoarticulaire. Edition : Masson , Paris , p 558.
- **GHEYOCHE R ET HAMMICHE Y; 1998** : Plantes médicinales et thérapeutiques. INA , Algèrer vol : 12 Tome : 2, p 68.
- **HAMPSON J.B ET SVOBODA K.P; 1999** : Bioactivity of essential oils of research
- **HAQ.N , Williams J.T, Smith.R et Dunsiger .Z (2006)** : Fruitfor the future 02;Berand other : Jujubier. Revised edition .
- **HURABIELLE ; 1981** : Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome 1 Masson , Paris, pp 1-3.
- **JANIKE. R ; 1996** : Phytothérapie . Edition : Flammarion , France , p 417.
- **LAWRYS .O.H , 1982** : Protein measurement with the folic acid phenol reagent .Journal of biological chemistry , p 275.
- **LECHAT .P , CREMAUX . C, GIROUDJ . P ; 1990:** Pharmacologie médicale , édition : Masson , p 716.
- **LUC-SALLE JEAN ; 1991** : Le totum en phytothérapie , édition : Frison roche , Paris , p 245.
- **LYRENE, P. M. 1979** :The jujube tree. (Ziziphus jujuba Mill.). Fruit Var. J.,pp 33
- **OZENDA. P, 1977** : Flore du Sahara , édition CNRS Paris , France . p 250, 259.
- **PEDNEAULT K; LEONHART S, ANGERS P , GOSSELIN ET DORAIS M ; 2001** : Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Texte de conférence 5^{ème} colloque sur les produits naturels d'origine végétale . Université Laval, Qc, Canada . p 2.
- **PERROTI C ; 1999** : Soigné par les plantes . ISBN édition , Berti, p 124.
- **PHARMOCOPEE EUROPEENNE, 2005.** 6ème Edition : Tome 1 et 2.
- **Pharmacopee europeenne, 2005.** 6ème Edition : Tome 1 et 2.

Référence bibliographique

- **PIERI FRANÇOIS ; 1992** : Pharmacologie et thérapeutique , édition : Nelipses , paris, p 298.
- **PORTER N ;2001** : Essentiel oils and their production . Crop and food research number 39
- **RAHMAN A.U , CHOUDHARY M.I, THOMAS W.J** : Boissy techniques for dray development taylor and francis amesterdam , 2005 ,p 203.
- **RODRIGUES E , 2007** : Plante of restricted use indicated by thrée culturen in Brazil. Journal of ethnopharmacology , 295 – 301.
- **SCHAMENBERG .P ET FERDINAND .M; 2006** : Guide des pantes médecinales, édition : Delochaux et Niestlé , Paris
- **SERRIE .A ET THUREL .C ; 1997** : Douleur et Saïda , édition : ellipses , p 115.
- **SMALLFIELD ; 2001**: Introduction to growing herbs of essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop and food research. pp 45.
- **THURZOVA ;1978** : Les plante santé qui pousse autours de nous - ed: Bordas, Bruxelles ; p268 ; pp 64.
- **TOUITOU YVAN ; 2003** : Pharmacologie , Edition : Masson, p229.
- **TUITON YVAN ; 1993** : Pharmacologie , 7^{ème} édition , p 351.
- **VOGEL . H ET VOGEL WH, 1997** : Drug discovery and evaluation pharmacolical assays , p 382.
- **MAHESH ET SATISH ; 2008:**
- **HATIL et al ; 2009 :**
- **ASAM .S :**
- **ASSCARI; 2008 :** دراسة المحتوى الكيميائي للنموات الخضرية والثمار لنباتي السدر صنف فصامي
Ziziphus spina-christi.(L.)