

Evaluation de l'activité antibactérienne du *Salvadora Persica* et leur caractérisation chimique

Z. Mammad¹, T. Djassinra¹, A. Kribi², and K. Ounine¹

¹Laboratoire de Microbiologie Appliquée, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000, Kénitra, Maroc

²Laboratoire des Procédés de Séparations équipe de chimie appliquée à l'environnement, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000, Kénitra, Maroc

Copyright © 2015 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: *Salvadora Persica* is a plant known for its medicinal properties whose variety of pharmacological activities have been reported by many studies. Volatile extracts of *Salvadora persica* are obtained either by hydrodistillation or by using a Soxhlet apparatus from crushed roots by using hexane as solvent. The obtained result by hexane extraction 2.5% has given better results than the one got by steam distillation 0.05%. Thus, the extracts obtained have been analyzed by coupling (GC-MS). The following products are among the many products identified: The Eugenol, the Asarone the Borneol the Carvacrol, vanillin, the Cuminal, Camphor, Acetamide the n-benzyl, the benzyl Isocyanate and the oily acids Oleic and palmitic that represents the majority of the products extracted.

The essential oil of action *Persica* - on *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* by the method aromatogram- shows that these bacteria are inhibited. Therefore, essential oil Miswak generated a zone of inhibition of 40, 25 and 15mm respectively on *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Meanwhile, it did not influence *Pseudomonas aeruginosa*.

The antimicrobial activity of the essential oils has been evaluated by determining the minimum inhibitory concentration (MIC). Comparing the antibacterial effect with antibiotics, it was observed that the Miswak has a noticeable antibacterial power. It may, then, be an excellent oral hygiene agent.

KEYWORDS: *Salvadora Persica*; extracts; essential oil ; Soxhlet; GC-MS; *Streptococcus faecalis*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa* MC1; Aromatogram.

RESUME: *Salvadora persica* est une plante connue pour ses vertus médicinales dont de nombreuses études ont rapporté diverses activités pharmacologiques.

Les extraits volatils de *Salvadora persica* sont obtenus soit par hydrodistillation, soit à l'aide d'un appareil de Soxhlet à partir des racines broyées en utilisant l'hexane comme solvant. Le rendement obtenu par extraction à l'hexane 2.5% est beaucoup plus significatif que celui obtenu par hydrodistillation 0.05%. Les extraits ainsi obtenus sont analysés par couplage (CG-SM). Les produits cités ci-suit sont parmi les nombreux produits identifiées :

l'Eugenol, l'Asarone, le Borneol, le Carvacrol, la Vaniline, le Cuminal, le Camphre, l'Acetamide n-benzyl, l'Isocyanate de benzyl et les acides gras Oleique et palmitique qui représentent les produits majoritaire des extraits. L'action d'huile essentielle de *Salvadora Persica* sur *Streptococcus faecalis*, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* par la méthode d'aromatogramme montre que ces bactéries sont inhibées. En effet l'huile essentielle de Miswak a engendré une zone d'inhibition de 40, 25 et 15mm respectivement sur *Streptococcus faecalis*, *Escherichia Coli* et *Staphylococcus aureus*. Alors qu'elle n'a pas donné d'effet sur *Pseudomonas aeruginosa*.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été évaluée par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). En comparant l'effet antibactérien avec les antibiotiques, on observe que le Miswak possède un pouvoir antibactérien notable. Il peut, alors, constituer un excellent agent d'hygiène buccale.

MOTS-CLEFS: *Salvadora persica*; huiles essentielles; Soxhlet; GC-MS; Streptocoque faecalis; Escherichia Coli; Staphylococcus aureus; Pseudomonas aeruginosa MC1; Aromatogramme.

1 INTRODUCTION

Les plantes sont une source naturelle d'agents antibactériens. Elles sont plus efficaces et moins nocives, elles présentent une faible toxicité pour les mammifères et peuvent être manipulées facilement (Deshpan., 2011).

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un potentiel important en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux (Baser et coll., 2002). Pourtant *Salvadora persica* (Miswak ou bâtonnet à curer) est un arbuste ou petit arbre appelé arbre « brosse à dents » car les jeunes rameaux ainsi que les racines sont utilisées pour se brosser les dents (Noumi et coll., 2011). Ils ont été utilisés par de nombreuses communautés musulmanes (Sher et coll., 2010) car leur efficacité pourrait être équivalente à celle des méthodes d'hygiène ultra-modernes. Des recherches scientifiques ont prouvé que cet arbre "brosse à dent ou Miswak" est très utile dans la prévention de la carie dentaire, même en cas d'utilisation sans aucune autre méthode de nettoyage des dents (Hilal et Rajagopal., 2013). Le « Miswak » a des propriétés Antibactériennes, Anticandidal, Antioxydant (Noumi et coll., 2011), Antiviral, Analgésique, Anti-inflammatoire, Anti-pyrétique, Diurétique et activités gastrique amères (Galletti et Chiavari., 1993), Anticaries, Anti-maladies parodontales et antifongiques (Al-Bagieh, Almas 1997).

En ce qui concerne les composés chimiques, on a trouvé différentes compositions dans l'extrait de *Salvadora persica*. Certains de ses constituants chimiques sont biologiquement actifs tels que la vitamine C, salvadorine, Salvadoreurea, Alcaloïdes, la triméthylamine, glycosides cyanogènes, tanins, des saponines et des sels surtout que les chlorures (Alali et coll., 2004; Almas, 2002; Almas et coll., 2005; Rajesh et coll., 2009). Les acides oléique et linoléique ont été suggérés pour leur contribution à l'efficacité du nettoyage, et pour leurs propriétés antifongiques (Abdillah et coll., 2010) (Kamil M et coll., 1999).

L'usage abusif des antibiotiques de synthèse modifie l'équilibre de la flore buccale et favorise le développement de germes pathogènes résistants, pour pallier aux problèmes engendrés par les antibiotiques, une médecine douce est préconisée.

Cependant, l'objectif de ce travail est d'étudier les compositions chimiques des extraits volatils de *Salvadora persica*, en provenance de la Mecque, Arabie Saoudi, et d'évaluer leurs pouvoirs antibactériens

2 MATERIEL ET METHODES

MÉTHODES D'EXTRACTIONS

Les tiges de *Salvadora persica*, emportées d'Arabie Saoudi, ont été séchées à l'étuve à 37°C puis broyées au mortier. Deux types d'extraction ont été réalisés :

D'une part l'hydrodistillation qui est réalisée par un système classique, l'huile essentielle et l'hydrolat obtenus ont subi un relargage au chlorure de sodium et les composés volatils sont obtenus par extraction à l'éther diéthylique. Dans le cas de l'extraction au Soxhlet les composés solubles de *Salvadora persica* sont entraînés par l'hexane puis l'extrait est concentré au rotavapeur. Les extraits ainsi obtenus ont été conservés à 4°C à l'obscurité.

MÉTHODES D'ANALYSE

L'identification des constituants des extraits volatils a été réalisée par comparaison des spectres de masse obtenus à ceux d'une base de données fournie avec l'appareil (NIST).

SOUCHES MICROBIENNES

Les micro-organismes, utilisés pour tester l'activité des extraits : *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*, proviennent de patients du Service de Parodontologie du Centre de Consultation et de Traitements Dentaires du centre Hospitalo-universitaire de Rabat. *Escherichia Coli* isolée des eaux usées (S.Oulkhier et coll., 2008) et *Pseudomonas aeruginosa MC1* Isolée des eaux de puits (Bricha S et coll., 2007). Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 heures à 37°C.

PRÉPARATION DE L'INOCULUM

L'inoculum se présente sous forme de bouillon de culture de 18 à 24 heures correspondant à 10^6 UFC/ml pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* et 10^7 UFC/ml pour *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*.

Des antibiotiques communément utilisés en thérapie ont été retenus comme contrôle positifs. Les disques d'antibiotiques testés contiennent chacun en mg ou UI : (Ampicilline(10), Erythromycine(15), Tétracycline(30), Gentamicine(10)). Les disques d'antibiotiques sont appliqués sur Mueller Hinton couvert par l'inoculum. La sensibilité ou la résistance de la souche est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. L'incubation se fait à 24 heures à 37°C p. Chaque essai est répété trois fois. La sensibilité in vitro des souches en présence des antibiotiques est testée par la méthode des antibiogrammes

MÉTHODE DE DIFFUSION DU DISQUE

ANTIBIOGRAMME

Les antibiotiques testés sont les suivants : l'Ampicilline, l'Erythromycine, la Tétracycline, et la Gentamicine.

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton (MH). Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose (contrôle positif). L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. Après, on détermine le diamètre de la zone d'inhibition pour déduire les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne

AROMATOGRAMME

Les tests sont effectués par la méthode de Vincent (Aromatogramme). Cette dernière consiste à déposer les disques de papier filtre imprégnés d'huile essentielle pure à la surface du milieu gélosé, Mueller-Hinton pour les bactéries, en boîte de pétri préalablement ensemencées par inondation de. Un disque imprégné de solvant (contrôle négatif) est placé dans chaque boîte de Pétri, les boîtes sont incubées après le dépôt des disques, pendant 24 heures à 37°C. Les résultats sont exprimés par la mesure du diamètre des halos d'inhibition, en millimètre (mm).

DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE (CMI).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été évaluée par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la technique de dilution sur gélose (Mayaud.L et coll ; 2008) Cette technique a été réalisée en préparant des milieux contenant différentes concentrations d'HE. La plus petite concentration d'HE pour laquelle aucune croissance bactérienne n'a été visible sur la gélose a été déterminée.

3 RÉSULTATS

RENDEMENT ET COMPOSITIONS CHIMIQUES

Les extraits obtenus à partir de *Salvadora persica* sont de couleur brunâtre avec une très forte odeur persistante. Les rendements d'extractions sont généralement faibles ; à partir de 50g de poudre de Miswak on obtient environ 2.5% en matière organique extractible par l'hexane par contre moins de 0.01% d'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur d'eaux.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE EN PHASE GAZEUSE DE L'EXTRAIT ORGANIQUE DE SALVADORA PERSICA

Les figures 1 rapportent le chromatogramme de l'extrait de *Salvadora persica* retenu par le CG-MS après l'hydrodistillation.

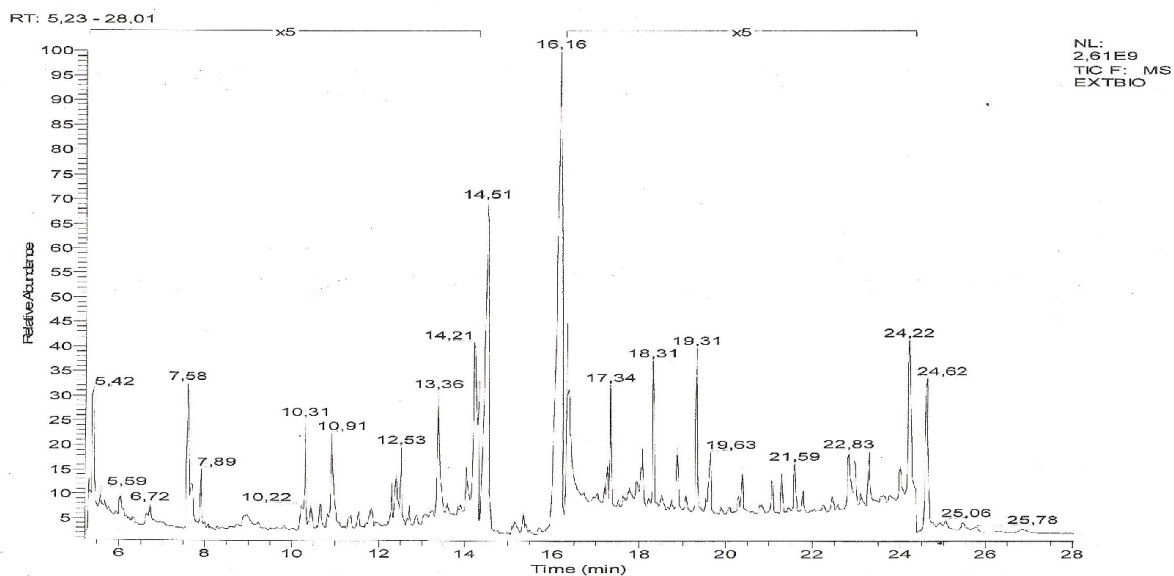


Figure 1 : Chromatogramme de l'extrait de *Salvadora persica* par l'hydrodistillation.

Tableau 1 : Composition chimique de *Salvadora persica* obtenue par Hydrodistillation.

Nom	hydrodistillation		
	RT	%	Formule
Eugenol	7.5	1.1	C10H13O2
Asarone	10.22	0.24	C12H16O3
Acide oleique	16.16	39.31	n-C18H32O2
Acide palmitique	14.51	23.59	n-C16H32O2
Acide hexadecanoique	14.21	1.80	n-C16H30O2
cholesterole	23.29	0.34	C27H46O
β-sitostérol	24.62	8.82	C29H50O
squalene	21.29	0.18	C25H42
Acide stearique	16.29	2.22	n-C18H36O2
Acide heptadecanoique	15.34	0.26	n-C17H34O2
Acide pentanoique	13.41	0.40	n-C15H30O2
dodecane	5.42	0.34	n-C12H26
Acide C11 ::	7.89	0.35	C11H18O2
Acide C13 ::	10.31	0.65	C13H22O2
Acide tetradecanoique	12.39	0.31	n-C14H28H2
Acide C15 ::	12.53	0.34	C15H26O2
Acide en C16	14.03	0.28	C16H32O2
Acide en C18 ::	15.70	0.24	C18H32O2
tricosane	17.27	0.12	n-C23H48
tetracosane	18.08	0.37	n-C24H50
pentacosane	18.87	0.39	n-C25H52
hexacosane	19.31	0.33	n-C26H54
heptacosane	20.37	0.19	n-C27H56
octacosane	21.06	0.1	n-C28H58
nonacosana	21.78	0.14	n-C29H60
triacontane	22.45	0.12	n-C30H62
campesterole	24.01	0.29	C28H48O
Cholesta-22,24 dien 5 ol,4,4-dimethyl	24.22	1.29	C29H46O

Tableau 2 : composition chimique de l'huile essentielle de *Salvadora persica* obtenue par Soxhlet.

Composés	Soxhlet		
	RT	%	Formule brute
Eugenol	18.77	0.58	C10H13O2
Asarone	23.46	0.04	C12H16O3
Acide oleique	32.20	6.14	n-C18H34O2
Acide palmitique	29.14	7.23	n-C16H32O2
Acide hexanoïque	8.32	0.42	C6H12O2
Acide octanoïque	13.07	0.46	C8H16O2
Benzyl isocyanate	13.35	0.65	C7H7NO
Borneol	13.80	0.26	C10H18O
Carvacrol	17.14	0.06	C10H14O
Vaniline	21.15	0.04	C8H8O3
Cuminal	16.31	0.72	C10H12O
Camphre	13.70	0.14	C10H16O
tricosane	32.20	1.62	n-C23H48
tetracosane	32.83	1.20	n-C24H50
pentacosane	35.63	0.88	n-C25H52
hexacosane	36.95	0.99	n-C26H54
heptacosane	38.35	0.87	n-C27H56
octacosane	39.46	0.63	n-C28H58
nonacosane	40.67	0.60	n-C29H60
triacontane	41.83	0.52	n-C30H62
2,4-dimethyl-2pentene	4.96	0.86	C7H16
nonanal	11.66	0.21	C9H18O
2-cyclohexen1one,3methyl	12.31	0.36	C7H11O
Acide benzoïque	14.43	0.43	C7H6O2
Acide nonaïque	15.43	0.81	C9H18O2
Benzen acétique acide	16.47	0.11	C8H8O2
2-vinyl naphthalene	19.73	0.39	C12H10
n-benzyl formamide	21.79	0.26	C8H9NO
Acetamide n-benzyl	22.15	0.42	C9H11NO
octadecane	24.70	0.04	n-C18H38
nonadecane	24.70	0.09	n-C19H40
ecosane	28.18	0.21	n-C20H42
heneicosane	29.79	0.54	n-C21H44
docosane	31.34	0.95	n-C22H46

ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES HUILES ESSENTIELLES DE SALVADORA PERSICA

Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Salvadora persica* a été testé vis-à-vis de quatre bactéries redoutées en santé humaine (Tableau 2), ce tableau illustre les diamètres de la zone d'inhibition des antibiotiques ainsi que les résultats relatifs aux diamètres des zones d'inhibition obtenus après l'action d'extraits sur *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*_MC1.

Tableau 3 : Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Salvadora persica* à l'encontre de *Streptococcus feacalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosas MC1*.

Les souches	Antibiotiques en (mm)				Extraits en (mm)
	AMP	CN	TE	E	SP
<i>Escherichia coli</i>	20S	25S	30S	10R	25
<i>Pseudomonas aeruginosa MC1</i>	36S	30S	37S	11R	—
<i>Streptococcus feacalis</i>	30S	24S	38S	30S	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	39S	35S	34S	40S	15

- Ampicilline(AMP), Gentamicine(CN), Tétracycline(TE), l'Erythromycine(E).
- Les résultats sont notés selon les normes (R : souche résistante, S : souche sensible, I : souche intermédiaire) (Robin et coll., 2010)

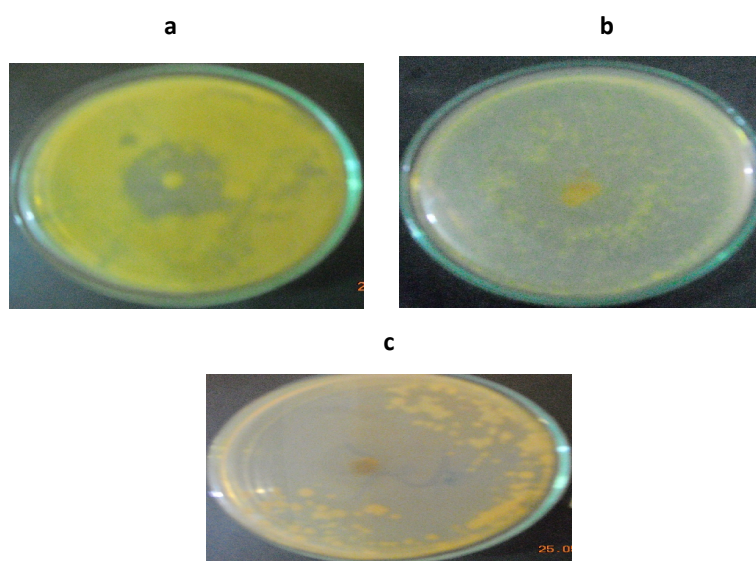


Figure 2 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de Miswak vis-à-vis a-*Staphylococcus aureus* ; b-*Escherichia Coli* ; c-*Streptococcus feacalis*.

Tableau 4 : CMI de l'extraithexanoïque de *S. persica* contre les micro-organismes.

CMI (mg/ml)	
Les souches	extrait
<i>Escherichia coli</i>	0.095
<i>Streptococcus feacalis</i>	0.025
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.12

Le tableau 4 résume la CMI de l'extrait de l'hexane de tige de *S. persica*. la plus forte activité a été observée contre *Strep. faecalis* (CMI: 0.025mg / ml) suivi par *E.Coli* (CMI: 0.095mg / ml) et *Stap.aureus* (CMI: 1.12mg / ml).

4 DISCUSSIONS

L'extraction par distillation montre la présence des hydrocarbures aliphatiques, des acides gras saturés et insaturés, des alcools, et des stérols. Par contre l'extrait obtenu par soxhlet a identifié les alcools, les acides gras saturés et insaturés, les cétones, les composés azotés et aromatiques, les hydrocarbures et les aldéhydes.

Les composés identifiés dans les extraits de *Salvadora persica* sont reportés dans les tableaux 1 et 2, avec leurs temps de rétention (RT) et leurs pourcentages. On note au regard de ces tableaux, que l'Eugénole, l'Asarone, l'Acide Oleique, l'Acide Palmitique, l'Acide Hexadecenoïque sont présents aussi bien dans l'extrait de l'Hydrodistillation que dans l'extrait de Soxhlet, et on note qu'il y a des molécules qui sont présents dans un extrait et absents dans l'autre.

Vingt-neuf composés sont identifiés pour l'échantillon provenant de l'Hydrodistillation et trente-quatre pour celui provenant de Soxhlet (**Tableau 1 et 2**) ; les composés majoritaires sont l'Acide oléique (31,39 %), l'Acide palmitique (23,59 %), le 6-sitostérol (8,82%), l'Acide stéarique (2,22%), et l'Eugénol (1,1 %).

Parmi les molécules identifiées on cite :

- Le Stérol ont trouvé avec l'acide m-Anisique, et Salvadourea [1,3-bis-(3 -) Méthoxy-benzyle)-urée (Ray et coll ; 1975).
- Le Phenol dont les tanins est l'un de ces composants. Ces derniers empêchent l'adhérence des bactéries aux dents.
- L'Acide palmitique ou l'Acide cétylique fait partie des acides gras saturés, des molécules entrant dans la composition des lipides. Comme les autres acides gras saturés, l'acide palmitique ; consommé avec modération ; est bon pour l'organisme. Cet acide gras représente en effet une excellente source d'énergie.
- Le Carvacrol inhibe la croissance de plusieurs souches de bactéries, par exemple *Escherichia coli* (WX et coll ; 2008) et *Bacillus cereus*. Sa faible toxicité ainsi que son goût et son arôme agréables ont conduit à son utilisation comme additif alimentaire pour prévenir la contamination bactérienne (Ultee A et coll ; 2001). Chez *Pseudomonas aeruginosa*, il provoque des lésions de la membrane cellulaire de ces bactéries et, contrairement à d'autres terpènes, il inhibe la prolifération de ces germes (Cox SD et coll ; 2007). On attribue l'origine de ces propriétés antimicrobiennes à une désorganisation de la membrane bactérienne (Di Pasqua R et coll ; 2007)(Cristani M et coll ; 2007).

Des analyses de composés volatiles d'extraits bruts de *Salvadora persica* ont révélé la présence d'Acide oléique (Howaida et al, 2003).

Les quatre souches testées réagissent différemment aux antibiotiques testés, on observe que ces souches sont sensibles à l'Ampicilline, la Gentamicine, et la Tétracycline. Tandis que l'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa MC1* sont résistants à l'Erythromycine.

L'extrait de *Salvadora persica* était actif contre la plupart des bactéries pathogènes testées et le diamètre de la zone d'inhibition le plus important est observé dans le cas de *streptococcus* qui est le plus sensible. L'activité inhibitrice la plus élevée est observée contre le *streptocoque Faecalis* (zone d'inhibition : 40millimètres), alors que l'activité la plus faible était démontrée contre la *Staphylococcus aureus*.

On constate que les souches sont sensibles aux quatre antibiotiques, sauf l'*Escherichia Coli* et *Pseudomonas aeruginosa MC1*. Qui sont résistantes à l'Erythromycine.

L'extrait de Miswak a engendré une zone d'inhibition de 40, 25 et 15mm respectivement sur *Streptococcus faecalis*, *Escherichia Coli* et *Staphylococcus aureus*. Alors qu'il n'a pas donné un effet sur *Pseudomonas aeruginosa MC1*.

En comparant ces résultats avec celle des antibiotiques, on trouve que les bactéries étudiées sont aussi sensibles à l'extrait de *Salvadora persica* : 25-40 mm sur *Streptocoque faecalis*, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ce qui est en accord avec des études qui ont indiqué que l'extrait de *Salvadora persica* est efficace sur *Streptocoque mutans* et *Streptococcus faecalis* (Salehi et Momeni Danaie., 2006), même à des faibles concentrations de l'extrait de *Salvadora persica* (Almas, 1999).

D'autres auteurs montrent que l'activité inhibitrice la plus élevée de *Salvadora persica* a été observée contre le *Streptocoque Faecalis* (zone d'inhibition : 22,3 millimètres) (Firas, 2007).

Les effets antimicrobiens du Miswak sont attribués à l'action combinée de divers produits chimiques contenus dans son extrait, tels que les alcaloïdes, les terpènes, et oléique, linoléique et acide stéarique (Abd EL Rahman., 2003).

Concernant CMI l'*Escherichia coli* et *Streptococcus feacalis* s'avèrent plus sensibles que *Staphylococcus aureus*. Par ailleurs *Staphylococcus aureus* est la plus résistante des souches étudiées (CMI=1.12) alors que *Streptococcus feacalis* est la plus sensible (CMI=0.025). En effet l'extrait a été efficace contre *Streptococcus feacalis* même en utilisant des bas concentrations de l'extrait (Almas K.1999).

5 CONCLUSION

L'usage abusif des antibiotiques peut entraîner l'émergence et la propagation de germes multi-résistants. Les extraits des plantes peuvent être utilisés comme agents de remplacement qui sont efficaces contre les pathogènes d'intérêt et qui ne perturbent pas la flore.

REFERENCES

- [1] **Abdillahi HS, Stafford GI, Finnie JF, Staden JV (2010)** Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Podocarpus sensus latissimo* (S.l). *South Afr J Bot* 76: 1-24.
- [2] **Al-Bagieh NH et Almas K. (1997)**. In vitro antimicrobial effects of aqueous and alcohol extracts of Miswak (chewing sticks). *Journal Cairo Dental* ;13(2):221-224.
- [3] **Almas K, Skaug N, Ahmad I (2005)** An in vitro antimicrobial comparison of miswak extract with commercially available non-alcohol mouthrinses. *Int J Dent Hyg* 3: 18-24.
- [4] **Almas K. (1999)**. The effect of storage condition on the antimicrobial properties of miswak (*Salvadora persica*) used in Saudi Arabia. *Egyptian Dental Journal*; 45(4): 4845-4848.
- [5] **Almas K.(1999)** The antimicrobial effects of extracts of *Azadirachta indica* (Neem) and *Salvadora persica* (Arak) chewing sticks. *Indian J Dent Res* 10: 23-26.
- [6] **Baser (K.H.C.), Demirci (B.), Demirci (F.), Koçak (S.), Akinci (Ç.), Malyer (H.), Güleriyüz (G.) (2002)** - Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multifida*. - *Planta Med.*, 68(10) , 941-943.
- [7] **Bricha S, Khadija Ounine, Said Oulkheir, Nouredine EL Haloui et Benaisa Attrassi (2007)**. "Etude de la qualité physicochimique et bacteriologique de la nappe phréatique M'nasra (Maroc)". *Afrique Science*.3(3):391-404.
- [8] **Cox SD, Markham JL, (2007)** « Susceptibility and intrinsic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* to selected plant volatile compounds », *J. Appl. Microbiol.*, vol. 103, no 4, ,p.6–930 .
- [9] **Cristani M, D'Arrigo M, Mandalari G, et al., (2007)**, « Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, no 15, p.8–6300 .
- [10] **Darout I, Christy A, Skaug N et coll (2000)**. Identification and Quantification of Some Potentially Antimicrobial Anionic Components in Miswak Extract. *Indian J Pharmacol* 32: 11-14.
- [11] **Deshpan R, Kale A, Ruikar A, Panvalkar P, Kulkarni A, et al. (2011)** Antimicrobial activity of different extracts of *Juglans regia* l. against oral microflora. *Int J Pharm Pharm Sci* 3: 200-201.
- [12] **Di Pasqua R, Betts G, Hoskins N, Edwards M, Ercolini D, Mauriello G (2007)** , « Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, no 12, ,p.70–4863 .
- [13] **Dorman (H.J.D.), Deans (S.G.) (2000)** - Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. - *J. Appl. Microbiol.*, 88, 308-316.
- [14] **E Noumi, M Snoussi1, N Trabelsi, H Hajlaoui, R Ksouri, E Valentin, A Bakhrouf (2011)**. « Antibacterial, anticandidal and antioxidant activities of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts » *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(17), pp. 4138-4146.
- [15] **Firas A. AL-BAYATI, Khudir D. SULAIMAN(2007)**. Department of Biology, College of Education, University of Mosul, IRAQ: Antimicrobial Activity of *Salvadora persica* L. Extracts Against Some Isolated Oral Pathogens in Iraq. Article.
- [16] **Galletti GC, Chiavari G, Duale Kahie Y (1993)** Pyrolysis/gaschromatography/ ion-trap mass spectrometry of the "tooth brush" tree (*Salvadora persica* L.). *Rapid Commun Mass Spectr* 7: 651-655.
- [17] HORDE.P 2004 Acide palmitique – Définition ; Sante-Medecine.
- [18] **Howaida F, Abdel R, Nils S, Whyatt AM, Francis GW (2003)**. Volatile Compounds in Crude *Salvadora persica* Extracts. *Pharma Biol.* 41:399–404.
- [19] **Kamil M, Jayaraj AF, Ahmed F, Gunasekhar C, Samuel S, et al. (1999)** Pharmacognostic and phytochemical studies on *Salvadora persica*. *J Pharm Pharmacol* 227: 51-58.
- [20] **Mayaud, L. Carricajo, A. Zhiri, A. and Aubert, G. (2008)**, Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. *Letters in Applied Microbiology* 47 ,167–173
- [21] **Oulkheir.S, K. ounine, N.E.EL Haloui, L. Ikko, S. Bricha and B. Attarassi (2008)**. Présence et excréation des *Escherichia coli* O157: H 7 par les animaux d'élevage et leur prévalence dans les denrées alimentaires d'origine animale. *Rev. Tun. Infectiol*, 2 (3) : 1-10.
- [22] **Rajesh V, Suresh P, Anil B, Brijesh K, Priyanka P (2009)** *Salvadora persica* L (Tooth Brush Tree): A Review. *J PR* 2: 1809-1812.
- [23] **Ray, A. B., Chand, L. and Dutta, S. c. (1975)**: *Salvadourea*: a new urea derivative from *Salvadora persica* Linn. *Chem. Ind.* 12: 517-518.
- [24] **Robin,F., Aggoune-khinache, N., Delmas,J., Nim,M., Bonnet,R.(2010)**. Novel V/M Metallo- β - Lactamase Variant from Clinical Isolates of Enterobacteriaceae from Algeria. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 54 :466-470.
- [25] **Salehi P et Momeni Danaie Sh. (2006)**. Comparison of the antibacterial effects of persica mouthwash with chlorhexidine on streptococcus mutans in orthodontic patients. Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
- [26] **Sher H, Al-Yemeni MN, Yahya SM, Arif HS (2010)** Ethnomedicinal and ecological evaluation of *Salvadora persica* L: A threatened medicinal plant in Arabian Peninsula. *J Med Plants Res* 4: 1209-1215.

- [27] **Ultee A, Smid EJ (2001)**, « Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus* », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 64, no 3, 2001 p.8–373 .
- [28] **WX, Olsen CE, Avena-Bustillos RJ, McHugh TH, Levin CE, Friedman M (2008)**, « Storage Stability and Antibacterial Activity against *Escherichia coli* O157:H7 of Carvacrol in Edible Apple Films Made by Two Different Casting Methods », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56,. p3082