République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département d'Agronomie
Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition

Thèse de Doctorat en Sciences
FILIÈRE : Sciences Agronomique

OPTION : Biotechnologie Végétale

« Etude des effets antimicrobiens des extraits bruts, phénoliques et à base d'huiles essentielles du Miswak *(Salvadora persica)* sur les microorganismes responsables des infections buccales (caries dentaires, gingivite, parodontite, candidoses…etc. ».

Présentée par :

Mme. AIT CHABANE Ouiza

Soutenu : le 18/06/ 2018

Devant le Jury :

M. BOUDEROUA Kaddour	Professeur	**Président**	Université de Mostaganem.
M. SELSELET-ATTOU Ghalem	Professeur	**Rapporteur**	Université de Mostaganem.
M. AOUES Abdelkader	Professeur	**Examinateur**	Université d'Oran.
M. DJEBLI Noureddine	Professeur	**Examinateur**	Université de Mostaganem.
M. BEKADA Ahmed Mohamed Ali	Professeur	**Examinateur**	Centre Universitaire de Tissemsilt.
M. KATI Djamel Eddine	MCA	**Examinateur**	Université de Bejaïa.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude et ma reconnaissance à tous ceux qui de prés ou de loin ont contribué à ma bonne formation et à leur encadrement agréable, en l'occurrence Monsieur le Professeur **SELSELET-ATTOU. G** de l'Université de Mostaganem (Algérie) qui a eu l'amabilité de m'encadrer ; sans ses orientations, ses conseils judicieux et les encouragements qu'il n'a cessé de me prodiguer tout au long de mon travail cette thèse n'aurait pas vue le jour. Je tiens à vous remercier de m'avoir fait bénéficier de votre expérience ainsi que de votre enthousiasme pour la recherche ; je vous exprime mes respectueux dévouements.

J'exprime mes sincères remerciements dans la même ligne de conduite à Monsieur **BOUDEROUA. K** Professeur à l'Université de Mostaganem, véritable initiateur de cette étude qui a déjà fait l'objet d'une thèse de Magister, de l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de soutenance malgré ses multiples obligations. Je tiens aussi à vous exprimer ma sincère et profonde considération, d'avoir mis à ma disposition en qualité d'Ex Directeur du laboratoire de technologie Agroalimentaire de l'université de Mostaganem tous les moyens nécessaires à mon expérimentation.

Tous mes égards et tous mes respects s'adressent d'une manière aussi spéciale à Monsieur **AOUES Abdelkader** (Professeur à l'Université Ahmed BEN BELLA-Oran 1), à Monsieur **BEKADA Ahmed Mohamed Ali** (Professeur à l'Université de Tissemsilt), à Monsieur **DJEBLI Noureddine** (Professeur à l'Université de Mostaganem) et à Monsieur **KATI. Djamel Eddine** (Maitre de Conférences Classe A à l'université de Bejaïa) de l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de faire partie du jury. Vos remarques, réflexions et critiques constructives vont certainement enrichir le débat et le court de cette étude ; merci vivement.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur et Madame **BELMAHDI. T** ainsi qu'à tous les techniciens et techniciennes qui exercent au laboratoire régional de médecine vétérinaire de Hassi Mameche-Mostaganem pour leur contribution précieuse et d'avoir bien veiller à réunir toutes les conditions adéquates au bon déroulement des analyses microbiologiques.

Mes remerciements les plus distingués sont orientés éventuellement à l'ensemble des étudiants Biologistes et Agronomes de l'Université de Mostaganem qui ont participé dans le cadre de leurs projets de fin de cycle de formation avec sérieux et compétence au bon déroulement de cette étude.

En fin j'associe dans une même reconnaissance :

-Monsieur **OULD MOHAMED. Y** conservateur des forets de la Wilaya de Naama pour m'avoir assister à effectuer les prélèvements d'échantillons de sol et de l'espèce végétale étudiée *Salvadora persica* dans la région d'Arak à Ain Salah au Sud d'Algérie.

-Monsieur **DAHOU. A** Ex chef de production au Complexe Laitier Trèfle Sidi Saada Relizane, pour m'avoir procurer du Danemark les quelques souches pures de références ayant servi à mon expérimentation.

- Monsieur **NOEL DURAND** du CIRAD pour son aide inestimable dans l'identification par HPLC des principaux composés phénoliques de Miswak.

-Monsieur le Docteur **ITALHI. M** responsable du laboratoire d'analyses à l'hôpital de Ain Tedless Mostaganem, ainsi qu'à toute son équipe pour avoir mis à ma disposition les quittes disponibles d'Api systèmes pour la confirmation de l'identité des souches de références.

-Monsieur **GHORINE. M** Directeur du laboratoire régional de l'Institut National des Sols de l'Irrigation et du Drainage El Matmar Relizane pour m'avoir aider dans la réalisation des Analyses de sol.

-Monsieur le professeur **ADDOU** et toute son équipe (**M^{lle} ABDELMALEK F,** …) de m'avoir accueilli chaleureusement au sein du laboratoire de la lithiase de l'université de Mostaganem et d'avoir veillé au bon déroulement des analyses sur la composition chimique de l'espèce végétale étudiée (*Salvadora persica*).

Dédicaces

Louanges à Dieu qui ma donné le privilège de poursuivre mes études et de côtoyer des professeurs de qualité qui m'ont formé et fait progresser dans la vie par leur connaissances et leur expériences.

C'est avec une immense joie que je dédie ce modeste travail, plus particulièrement aux deux êtres qui me sont les plus chers au monde, à mes adorables parents, à mon père et à ma mère, en guise d'amour et de reconnaissance pour tout ce qu'ils ont fait pour moi depuis mon enfance à ce jour et que dieu vous garde longtemps à mes cotés.

Une dédicace très spéciale à mes beaux parents et à mes beaux frères qui m'ont toujours soutenu et encouragé à entreprendre la voie du savoir comme meilleur moyen d'épanouissement et d'émancipation de la femme dans notre pays.

A mon très cher mari qui ma soutenu dans les moments les plus difficiles et à mes adorable enfants chacun par son non: Amrane, Zineb Imane, Ahmed Mohamed Amine et Rayane Omar; raisons de ma vie, que Dieu me les protége.

A mon frère Karim ainsi que son épouse et ses enfants, à mes soeurs Nadia, Fadila, Hayet et Meryam, à mes grands parents que Dieu leur donne longue vie, à toute ma famille sans oublier personne et a tous mes amis (es).

Ouiza

Valorisation des travaux

Ce travail a fait l'objet de publications et communications nationales et internationales suivantes :

- **Publication internationale :**

Ouiza Ait Chabane, Djamel Ait Saada, Ahmed Mohamed Ali Bekada, Ghalem Selselet-Attou, Kaddour Bouderoua, Djamel Eddine Kati and Noel Durand. 2017. *In vitro* Study of the Antimicrobial Effects of Phenolic Extract of the *Salvadora persica* (Miswak) on the Growth of Certain Microorganisms Responsible for Oral Infections. Res. J. Microbiol., 12 (1):58-73.

- **Communications Nationales :**

Ait chabane. O, Bouderoua. K, Ait saada. D et Selselet Attou. G. 2010. Effet antimicrobien des extraits phénoliques de Salvadora persica (Siwak) sur la croissance de certains germes responsables de caries dentaires. Premières Journées Scientifiques de la faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie. 12 et 13 avril 2010.

AIT SAADA. D, AIT CHABANE. O, SELSELET ATTOU.G, BOUDEROUA. K. 2010. Contribution à l'étude de l'action inhibitrice des extraits hyroalcooliques à base de polyphénols de Miswak (Salvadora persica) sur la croissance de Candida albicans. Premières Journées Scientifiques de la faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie. 12 et 13 avril 2010.

Ait chabane. O, Bouderoua. K, Ait saada. D et Selselet Attou. G 2010. Effet antimicrobien des extraits phénoliques de Salvadora persica (Siwak) sur la croissance de certains germes responsables de caries dentaires. Les XVI èmes journées nationales de Microbiologie, UHB Chlef le 27-28 Octobre 2010.

- **Communication Internationale :**

Ait chabane. O, Bouderoua. K, Ait saada. D et Selselet Attou. G. 2008. Effet inhibiteur des extraits phénoliques de *Salvadora persica* sur la croissance de certains germes cariogènes. 1éres Journées Algéro-Tunisiennes de Microbiologie, Tébessa le 18 et 19 Mai 2008.

Liste des abréviations

CE: Conductivité électrique.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMF : Concentration Minimale Fongicide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CPT : Composés Phénoliques Totaux.

CSSRI : Institut des sols salins.

DO : Densité optique.

F_1: Facteur étudié, taux du végétal incorporé lors de l'extraction des extraits bruts et/ou phénoliques.

F_2: Facteur étudié, variations des parties du végétal prélevées de l'espèce *Salvadora persica*.
Inter F_1XF_2: Interaction des facteurs étudiés.

FAO : Organisation mondiale de l'agriculture.

ISO : Norme internationale.

MB : Matière Brute.

méqu : Milli équivalant.

MO: Matière organique.

MRS : Man, Rogosa et Sharpe.

MS : Matière sèche.

n : Nombre de répétitions.

NF : Norme française.

NS: Effet non significatif du facteur étudié.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P< 0.01 : Probabilité au seuil de 1 %.

P< 0.05 : Probabilité au seuil de 5 %.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

ppm : Partie par million.

UFC : Unité formant Clonie.

σ: Ecart type.

%CPA : Pourcentage en composés phénoliques et alcaloïdes.

****:** Effet hautement significatif du facteur étudié.

***:** Effet significatif du facteur étudié.

[mg EAG / 100g MS] : mg Equivalents d'Acide Gallique (EAG) / 100 g de Matière Sèche (MS) de l'espèce végétale étudiée.

[mg EGA / 100 ml EHA] : ou en mg Equivalents d'Acide Gallique (EAG) / 100 ml d'Extrait hydro-alcoolique (EHA).

Liste des tableaux

Tableau 01. Différentes appellations des bâtonnets à dent 06

Tableau 02. Composition chimique des feuilles de *Salvadora persica* (%)..... 08

Tableau 03. Principales bactéries des complexes définis par Socransky et coll 21

Tableau 04. Classification des produits phénoliques d'après le nombre d'atome de carbone..... 25

Tableau 05. Représentation chimique de certaines substances flavanones et flavanonols..... 30

Tableau 06. Principaux composés flavanols 31

Tableau 07. Activités biologiques des composés polyphénoliques..... 38

Tableau 08. Souches de références testées..... 51

Tableau 09. Granulométrie des échantillons de sol prélevés dans la région d'Arak sise à Ain Salah au sud d'Algérie 61

Tableau 10. Caractéristiques chimiques du sol de la région d'Arak prélevés dans la région d'Arak sise à Ain Salah au sud d'Algérie 62

Tableau 11. Variation de la composition chimique de la racine, tige et écorce de *Salvadora persica* 68

Tableau 12. Variations en certains composés phénoliques et alcaloïdes au niveau de la tige, racine et écorce chez *Salvadora persica.* (en % CPA)..... 70

Tableau 13. Effet des extraits hydro-éthanoliques préparés à différentes quantités de racine, tige et écorce de *Salvadora persica* sur la croissance de certains germes responsables d'infections buccodentaires 79

Tableau 14. Influence des extraits aqueux à base d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur le développement des diamètres d'inhibition (mm) chez certains germes responsables d'infections buccales..... 90

Tableau 15. Influence des solutions d'extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur le taux d'inhibition (mm) de certains germes responsables d'infections buccales..... 91

Tableau 16. Influence des solutions d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la croissance de certains germes responsables d'infections buccales 95

Tableau 17. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des solutions d'huiles essentielles (HE) de *Salvadora persica*chez certains germes responsables d'infections buccales..... 97

Tableau 18. Action inhibitrice des solutions d'HE de *Salvadora persica* chez certains germes responsables des maladies buccales 100

Tableau 19. Evaluation du nombre de germes dans les solutions de rinçage à base d'extraits de *Salvadora persica* après 30 jours de traitement buccal chez les patientes éteintes de carie dentaire 112

Tableau 20. Evaluation du nombre de germessur les surfaces des dents chez les patientes atteintes de carie dentaire après 30 jours de traitement buccal aux bains de bouche à base d'extraits aqueux de *Salvadora persica.*..... 114

Liste des figures

Figure 1. Aspect botanique de l'espèce *Salvadora persica* retrouvée dans la région de Hoggar (**Algérie**) 05

Figure 2. Fruits (a) et graines (b) de *Salvadora persica* 05

Figure 03. Tissus de soutien composant les dents 13

Figure 04. Représentation de la structure de base des phénols simples 24

Figure 05. Numérotation chimique des acides phénoliques dérivants des a / acides benzoïques ; b/ acides cinnamiques 26

Figure 06. Représentations chimiques des Coumarines simples (a) et des Furanocoumarines (b) 27

Figure 07. Structure de base des Flavonoïdes 28

Figure 08. Principaux composés dérivants des anthocyanidines 28

Figures 09. Structure chimique des flavones et des flavonols 29

Figure 10. Structure chimiques de base des chalchones, dihydrochalcones et aurones 32

Figure 11. Principaux acides chlorogéniques 33

Figure 12. Composés phénoliques peu répandus 34

Figure 13. Représentation chimique des tanins hydrolysables et condensés 35

Figure 14. Importantes structures chimiques des huiles essentielles 42

Figure 15. Région de prélèvements des échantillons expérimentaux 48

Figure 16. Variations des teneurs en produits phénoliques dans la racine, tige et écorce de *Salvadora persica*. 67

Figure 17. Diagrammes des profils en principaux composés phénoliques et alcaloïdes trouvés chez *Slvadora persica*. 69

Figure 18. Diamètres d'inhibition développés par les extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* et de la fungizone chez *Candida albicans*. 85

Figure 19. Diamètres d'inhibition développés par les extraits aqueux d'huiles essentielles de *Salvadora persica* chez *Streptococcus mutans.* 86

Figure 20. Diamètres d'inhibition développés par les extraits d'huiles essentielles (HE) de *Salvadora persica* chez *Streptococcus mitis* 87

Figure 21. Diamètres d'inhibition développés par les extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* chez *Streptococcus faecalis* 88

Figure 22. Diamètres d'inhibition développés par les extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* chez *Staphylococcus aureus* 89

Figure 23. Effets des extrais d'huiles essentielles de Miswak sur la croissance de *Streptococcus mutans* 92

Figure 24. Effet des extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la croissance de *Streptococcus mitis.* 93

Figure 25. Effet des extraits à base d'huiles essentielles de Siwak sur la croissance de *Streptococcus faecalis.* 94

Figure 26. Effet des extraits à base d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la croissance de *Staphylococcus aureus.* 95

Figure 27. Détermination de la CMF et des CMB des extraits à l'hexane de *Salvadora persica* vis-à-vis de certains germes responsables d'infections buccales 99

Résumé :

Cette expérimentation contribue à l'étude in vitro des effets antimicrobiens des extraits phénoliques et à base d'huiles essentielles de *Salvadora persica* « Miswak » récoltée à Ain Salah au Sud de l'Algérie sur la croissance de quelques souches de germes de références impliquées dans certaines maladies buccodentaires (candidose, parodontite, gingivite et caries dentaires) dont *Candida albicans, Lactobacillus casei, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus feacalis et Staphylococcus aureus.* Les extraits phénoliques à l'éthanol aqueux ont été obtenus d'une part par évaporation sous vide des solutions hydroalcoliques après extraction sur des quantités variables (0; 2.5; 5.0 ; 7.5; 10; 12.5; 15 et 17.5g) de broyat de racine, tige et écorce de l'espèce végétale étudiée. D'autre part, différentes extractions à l'éthanol et par hydro-distillation ont été effectuées sur des prises de 10 g de broyat de tige. Les extraits aqueux purs récupérés après évaporation des solvants sont ensuite dilués chacun à l'eau distillée stérile à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement. Quant aux huiles essentielles de la tige de Miswak récupérées par hydro-distillation, les dilutions ont été réalisées dans une solution émulsifiante ; le TWINE 80. Des essais de fabrication d'un bain de bouche à partir d'extraits aqueux de *Salvadora persica* « Miswak » ont été enfin réalisés et testés comme moyen thérapeutique durant une période de traitement de 30 jours chez 40 patientes présentant une carie dentaire. Les mesures et contrôles ont concerné particulièrement la composition chimique en principaux composés phénoliques de *Salvadora persica*, le test de croissance des microorganismes, les diamètres d'inhibitions, les taux d'inhibitions, la concentration minimale inhibitrice «CMI», la concentration minimale bactéricide «CMB» des espèces bactériennes et la concentration minimale fongicide «CMF» de l'espèce *Candida albicans*.

Les teneurs en produits phénoliques trouvées dans la tige sont 02 fois plus élevées que l'écorce et la racine de *Salvadora persica*. Certains acides chlorogéniques, le catéchine et l'épicatéchine comptent parmi les principaux composés phénoliques contenus dans la racine et la tige; alors que l'écorce semble plutôt être riche en caféine, trigonelline et théobromine (Alcaloïdes).

Les extraits phénoliques du Miswak présentent une forte activité antifongique de type fongicide chez *Candida albicans* impliquée dans la candidose buccale. La croissance de *Streptococcus mutans* considéré comme étant le germe le plus cariogène chez l'homme n'a pas été affecté par les différentes solutions phénoliques d'extractions. En revanche, les autres germes appartenant au genre *Streptocoques* à savoir *Streptococcus mitis*, ainsi que *Streptococcus feacalis*, et ceux du genre *Staphylococcus* dont *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus épidermidis* ainsi que les *Lactobacilus casei* ont été totalement inhibés avec les extraits préparés notamment à partir de 7.5g/100ml de matière végétale soit de racine, tige et/ou d'écorce et renfermant des concentrations en polyphénols variables de 21.64 à 24.17 mg d'acide gallique/100ml, respectivement.

Les huiles essentielles de la tige de *Salvadora persica* concentrée à 80% ont montré des effets antimicrobiens de type fongicide vis-à-vis de *Candida albicans* et de type bactéricide vis-à-vis des autres germes étudiés.

Les bains de bouche à base d'extraits à l'eau préparés en particulier à des taux de 15 et 17.5 % de broyat de tige de *Salvadora persica* semblent constituer un moyen thérapeutique efficace pour lutter contre la carie dentaire et assurer une bonne hygiène buccale. Après une thérapie seulement de 30 jours avec les solutions de rinçage expérimentales des baisses de l'ordre de 98 % en nombre de germes totaux sur les surfaces des dents cariées ($P<0.05$) ont été constatées chez les patientes traitées par comparaison aux sujets placebos ayant subit un traitement à l'eau sans extrait de Miswak. Les germes *Staphylococcus aureus* et *Streptocoques fécaux* impliqués souvent dans certaines autres infections buccales (gingivite et parodontite) ont été totalement éliminés chez les patientes suite à l'usage de ces solutions de rinçage; néanmoins, les *Lactobacillus* semblent être très résistants.

Mots clés : *Salvadora persica* ; extraits phénoliques ; huiles essentielles ; *Candida albicans ;* germes ; infections ; buccodentaires.

Abstract:

This study contributes to evaluate in vitro antimicrobial effects of phenolic and essential oil extracts of *Salvadora persica* "Miswak" harvested at Ain Salah in southern Algeria on the growth of some strains of reference germs responsible for certain oral diseases (candidiasis, periodontitis, gingivitis and dental caries) including *Candida albicans*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus feacalis* and *Staphylococcus aureus*. The phenolic extracts with aqueous ethanol were obtained by evaporation under vacuum of the hydroalcolic solutions after extraction on variable quantities (0; 2.5; 5.0; 7.5; 10; 12.5; 15 et 17.5g) of crushed of root, stem and bark of the studied plant. In addition, different extractions with aqueous ethanol and by hydro-distillation were carried out on samples of 10 g of crushed stem. The pure aqueous extracts recovered after evaporation of the solvents were then each diluted with sterile distilled water at 0, 20, 40, 60, 80 and 100%, respectively. As for the essential oils of the Miswak stem recovered by hydro-distillation, the dilutions were realized in an emulsifying solution (TWINE 80). Mouth rinsing trials with aqueous extracts of *Salvadora persica* "Miswak" were finally tested as a therapy for a 30-day treatment period in 40 patients with dental caries disease. The phenolic compounds were analyzed by the HPLC method. The antimicrobial effects of these extracts were tested on many reference germs. The antimicrobial activity was tested by monitoring the growth of the germs in specific media while using disk diffusion assays. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) of the plant extracts were determined according to the micro broth dilution technique.

The levels of the phenolic compounds found in stem are twice as high than bark and root of *Salvadora persica*. The qualitative analysis revealed that chlorogenic acid, catechin and epicatechin emerged as major phenolic compounds from root and stem of Miswak, while bark extracts were rather rich in caffeine, trigonelline and theobromine (Alkaloids).

The phenolic extracts of Miswak showed a high antifungal activity of fungicidal type in Candida albicans implicated in oral candidiasis. The growth of *Streptococcus mutans* considered as most cariogenic germ in humans was not affected by phenolic extraction solutions. However, other bacteria belonging to Streptococcus genus such as *Streptococcus mitis* and *Streptococcus faecalis* and those belonging to Staphylococcus genus including *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* and the *Lactobacillus casei* were completely inhibited with the extracts prepared at 7.5 g of vegetal matter and containing varying polyphenol concentrations from 21.64 to 24.17 mg gallic acid / 100ml, respectively.

The essential oils of the stem of *Salvadora persica* concentrated at 80% showed fungicidal type of antimicrobial effects vis-à-vis *Candida albicans* and bactericidal type vis-à-vis other germs studied.

The mouthwashes with the water extracts of *Salvadora persica* prepared especially at 15 and 17.5% rates of the crushed stem appears to provide good oral hygiene in people with tooth decay. After only 30 days of therapy with experimental rinsing solutions, a reduction estimated at 98% in total germs on surfaces of carious tooths ($P < 0.05$) were observed in treated patients compared with placebo subjects treated with water without extract of Miswak. The *Staphylococcus aureus* and fecal Streptococci germs involved in some other oral infections (gingivitis and periodontitis) were completely eliminated by the rinsing solutions in all patients; nevertheless, Lactobacillus germs were very resistant.

Key words: *Salvadora persica*; phenolic extracts; essential oils; *Candida albicans*; germs; infections; Oral.

الملخص:

تساهم هذه التجربة في دراسة مخبرية لأثر بعض مضادات الميكروبات المستخلصة من نبتة *Salvadora persica* "مسواك" (المتواجدة في منطقة عين صالح جنوب الجزائر) والمتمثلة خاصة في المركبات الفينولية والزيوت الأساسية على نمو بعض السلالات المكروبية المرجعية المتمثلة في (*Candida albicans, Lactobacillus casei, Streptococcus mutans, Streptococcus mitis, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus feacalis* و *Staphylococcus aureus*) و المسببة لبعض أمراض الفم و الأسنان (كداء المبيضات، التهاب اللثة، مرض اللثة والأسنان). تم الحصول على المستخلصات الفينولية باستعمال الإيثانول المموه وكميات مختلفة (0، 2.5، 5.0، 7.5، 10، 12.5، 15، 17.5 غرام) من مسحوق الجذور, الجذع و لحاء النبتة وهذا بعد عملية تبخيرالايثانول للمحاليل الهيدروكحولية المستخلصة. و من ناحية أخرى، أجريت عمليات استخلاص مختلفة من عينات تحتوي علي 10 غرام من مسحوق الساق باستعمال محلول الإيثانول و طريقة التقطير الهيدروجيني. جل المستخلصات المائية النقية بعد تبخير المذيب خففت بالماء المقطر و المعقم بتركيز0، 20، 40، 60، 80 و 100٪، على التوالي. أما بالنسبة للزيوت العطرية لساق المسواك المتحصلة عليهاعن طريق التقطير المائي أجريت لها تخفيفات في محلول استحلاب؛ توين 80. و أخيرا أجريت تجربة غسل الفم بالمستخلصات المائية ل *Salvadora persica* "ميسواك" لمدة 30 يوما و هذا من أجل اختبار أثره العلاجي عند 40 مرضى نساء مصابات بداء تسوس الأسنان. من بين القياسات المدروسة من خلال هذا البحث نذكر على سبيل المثال التركيب الكيميائي للمركبات الفينولية الرئيسية للنبتة، أقطار المثبطات الميكروبية ، معدلات التثبيط للنمو الميكروبي ، التركيز الأدنى المثبط للنمو الميكروبي "CMI "، التركيز الأدنى المبيد للنموالبكتيري"CMB " و التركيز الأدنى المبيد للفطريات" CMF ".

تبين من خلال التجربة أن تركيز المكونات الفينولية الموجودة في الساق توازي الضعف من تلك الموجودة في اللحاء وجذر *Salvadora persica*. على ما يبدو، بعض الأحماض الكلوروجينية ، الكاتشين و الإبيكاتشين هي من بين المركبات الفينولية الرئيسية في الجذر والساق. في حين أن اللحاء يبدو غنيا نوعا ما بالكافيين، تريجونيلين والثيوبرومين (الألكلويدات). أكدت الدراسة أيضا أن المستخلصات الفينولية للنبتة لها نشاط قوي مضاد لنمو *Candida albicans*. تم الحصول على التركيز الأدنى المثبط للنمو و التركيز الأدنى المبيد للفطريات من هذا النوع الميكروبي بمستخلصات الميسواك المعدات بتركيز 40٪. وفقا لنسبة CMF / CMI القريبة من 1، يبدو أن هذه المستخلصات تمارس تفاعلا من نوع مبيد الفطريات ضد *Candida albicans* المسؤولة عن داء القلاع الفموي . غير أنه لم يتأثر نمو*Streptococcus mutans* التي تعتبر أكثر الجراثيم المسببة لداء تسوس الأسنان لدى البشر لجميع المستخلصات الفينولية المختلفة. في المقابل، فإن الجراثيم الأخرى التي تنتمي خاصة إلى جنس *Streptocoques* (*Streptococcus mitis* و *Streptococcus feacalis*)، وتلك من جنس *Staphylococcus* (*Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus épidermidis*، و كذا *Lactobacilus casei*، تم تثبيطهم جميعا بمستخلصات أعدت لا سيما بمقدار 7.5 غ من جذر، جذع أو لحاء النبتة والتي تحتوي على تركيزات للبوليفينول مقاوتة من 21.64 و 47.05 و 24.17 ملغ حمض الغاليك / 100مل، على التوالي.

أظهرت الزيوت الأساسية المستخلصة من جذع *Salvadora persica* و المركزة بنسبة 80٪ تفاعلا ذو أثر مبيد عميق للفطريات من سلالة *Candida albicans* و كذا مبيد للنمو البكتيري لجميع الكائنات الميكروبية المدروسة الأخرى.

تبين من خلال التجربة الأخيرة أن لاستعمال غسول الفم المركب من المستخلصات المائية المعدات بشكل خاص بنسب 15 و 17.5٪ من طحين جذع *Salvadora persica* وسيلة علاجية فعالة لمكافحة تسوس الأسنان وضمان الصحة الجيدة للفم. بعد 30 يوما فقط من العلاج بهذه المستخلصات، لوحظ انخفاض ملحوظ ($P < 0.05$) بمقدار يتراوح بين 98 و 99٪ من العدد الكلي للمستعمرات البكتيرية على سطح الأسنان المتسوسة مقارنتا مع لمستعمل العلاج الشاهد الوهمي بالماء المقطر فقط. أما بالنسبة للجراثيم *Staphylocus aureus* و*Streptocoques fécaux* المسببة لبعض التهابات اللثة فقد تم القضاء عليها كليا عند المرضى بعد استخدام هذه المحاليل النباتية كوسيلة لشطف الفم. غير أنه تبين أن البكتريا من نوع *Lactobacillus* كانت جد مقاومة لهذا النوع من الغسول.

كلمات المفتاح: *Salvadora persica* ؛ المستخلصات الفينولية ؛ الزيوت الأساسية ؛ *Candida albicans* ؛ جراثيم ؛ الالتهابات ؛ الفم و الأسنان.

Table des matières

Remerciements.

Dédicaces.

Valorisation des travaux.

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Résumé.

Introduction générale. 01

Partie 1 : Étude bibliographique

Chapitre I : Généralité sur les bâtonnets de *Salvadora persica*

1. Historique. 04

2. Physiologie, origine et classification. 04

3. Composition chimique. 07

4-Effets des extraits de *Salvadora pesrsica* sur les germes buccaux et cariogènes. 08

5- Intérêts de *Salvadora persica*.....10

Chapitre II : Généralités sur quelques infections buccales

1. La carie dentaire.....12

1.1. Définition. 12

1. 2. Tissus de soutien des dents.....12

1. 3. Plaques dentaires. 14

1. 4. Germes des plaques dentaires. 14

1.5. Étapes de la carie dentaire. 15

1.6. Facteurs étiologiques de la carie dentaire. 16
1.6.1. Facteurs relatifs à la dent. 16
1.6-2 Facteurs alimentaires. 16
1.6-3 Facteurs bactériens. 18
1.6-4 Facteurs salivaires. 19
1.7. Aliments protecteurs. 19
2. Pathologies parodontales. 19
3. Candidose buccale. 21

Chapitre III : Les principaux composés bioactifs des plantes médicinales

1. Les composés phénoliques. 24
1.1. Classification des produits phénoliques. 24
1. 1.1. Composés phénoliques largement répandus. 26
1.1.1.1. Acides phénoliques et coumarines. 26
a) Acides phénoliques. 26
b) Coumarines. 26
1. 1.1.2. Flavonoïdes. 27
a) Anthocyanes. 28
b) Flavones et Flavonols. 29
c) Flavanones et flavanonols. 30
d) Flavanols. 30
e) Chalcones, Dihydrochalcones et Aurones. 31
1.1.1.3. Acides chlorogéniques. 32
1.1.2. Composés phénoliques peu répandus. 33
1.1.3. Composés phénoliques présents dans la nature sous forme de polyphénols. 35
1.1.3.1. Tanins. 35
1.1.3.2. Lignines. 36
1.2. Implication des phénols chez les végétaux. 36
1.3. Produits phénoliques et santé Humaine. 37
1.4. Propriétés antimicrobienne et antifongique des poly phénols. 39
2. Les huiles essentielles des plantes. 41
2.1. Définition. 41

2.2. Localisation chez les plantes. 41
2.3. Composition chimique. 41
2.4. Facteurs de variation de la composition et du rendement des huiles essentielles. 43
2.5. Activité antimicrobienne des huiles essentielles. 43

Partie 2 : Méthodologie

1. Objectifs. 47
2. Régions de prélèvement et traitements préliminaires des échantillons. 47
3. Méthodes d'extractions des composés bioactifs de *Salvadora persica.* 48
4. Critères d'inclusion des malades touchés par la carie dentaire. 50
5. Activation des inocula microbiens. 50
6. Méthode de contact direct. 52
7. Tests de diffusion sur disques. 52
8. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI). 53
9. Concentration Minimale Bactéricide (CMB) et Concentration Minimale Fongicide (CMF). 53
10. Analyses microbiologiques chez les patientes touchées par la carie 54
10.1. *Germes totaux.* 54
10.2. *Staphylococcus aureus*. 54
10.3. *Streptocoques fécaux.* 54
10.4. *Lactobacillus*. 54
11. Analyses physicochimiques. 54
11.1. Analyses du sol. 55
11.1.1. Matière organique. 55
11.1.2. Potentiel d'hydrogène, pH. 55
11.1.3. Granulométrie. 55
11.1.5. Conductivité. 56
11.1.6. Dosage de l'azote total. 56
11.1.7. Calcaire total. 56
11.1.8. Phosphore assimilable. 56
11.2. Analyses de la racine, tige et écorce de *Salvadora persica.* 56
11.2.1. Matière sèche. 56
11.2.2. Dosage des cendres bruts. 57

11.2.3 Matière organique. 57
11.2.4. Détermination des Composés Phénoliques Totaux (CPT). 57
11.2.5. Profil des poly phénols. 58
a/ Broyage tamisage. 58
b/ Extraction et filtration. 58
C/ Conditions chromatographique. 58
11.3. Analyses sur les extraits bruts à l'eau de *Salvadora persica.* 59
11.3.1. Potentiel d'hydrogène. 59
11.3.2. Nitrates. 59
11.3.3. Ions Sulfates. 60
11.3.4. Ions Chlores. 60
11.3.5. Ions Fluorures. 60
12. Calculs statistiques. 60

Partie 3 : Résultats et Discussion

Chapitre I. Analyses du sol de la zone de l'étude

1. Résultats. 61
2. Discussion. 63
Conclusion. 66

Chapitre II : Composition chimique de *Salvadora persica*

1. Résultats. 67
1.1. Composition chimique. 67
1.2. Profil des produits phénoliques et alcaloïde. 68
2. Discussion. 71
Conclusion. 75

Chapitre III : Effets des extraits hydro-éthanoliques de racine, tige et écorce de *Salvadora persica* sur la croissance des germes responsables d'infections buccales.

1. Résultats. 76
2. Discussion. 80
Conclusion. 84

Chapitre IV : «Effets antimicrobiens des huiles essentielles de la tige de *Salvadora percica* chez certains germes responsables de maladies buccales».

1. Résultats. 85

1.1 Test de diffusion sur disques. 85

1.2. Taux d'inhibition. 90

1.3 Test de contact direct (de croissance sur milieux spécifiques). 91

1.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des germes étudiés. 96

1.5. Concentration minimale bactéricide (CMB) et concentration minimale fongicide (CMF) des germes étudiés. 98

2. Discussion. 101

Conclusion. 110

Chapitre V. Effets des bains de bouche à base d'extraits aqueux de la tige de *Salvadora persica* sur l'hygiène buccale chez les patientes accusant une carie dentaire.

1. Résultats. 111

1.1. Variations du nombre de germes dans les solutions d'extraction de rinçage de *Salvadora persica* (bains de bouche) au 30ème jour de traitement buccal. 111

1.2. Variation du nombre de germes sur les surfaces des dents après 30 jours de traitement buccale aux différents extraits aqueux de *Salvadora persica*. 113

2. Discussion. 115

Conclusion. 120

Conclusion générale. 121

Références bibliographiques.

Annexe.

INTRODUCTION

Aujourd'hui, l'usage du fluor, la consommation d'aliments non cariogènes et l'utilisation de produits hygiéniques dont la composition est très diversifiée (alcool, détergents, acides organiques, teintures…etc.) ont contribué efficacement au bon maintient de la santé buccale et nombreuses sont les personnes qui n'ont pas de caries dentaires notamment en occident ou leur incidences sont faibles **(Dutta and Shaikh, 2012; Riggs *et al.*, 2012; Moynihan and Petersen, 2014).**

Pourtant, il n'en est pas de même dans les pays en voie de développement ou les soins restaurateurs sont rares en raison du faible niveau de vie de la population et de l'absence de structures des soins **(Kanoute *et al.* 2012; Hescot *et al.*, 2013)**. De ce fait, la population est touchée par plusieurs maladies buccodentaires (gingivite, parodontite, candidose, carie…etc.) et l'extraction des dents cariées reste bien le seul moyen le plus accessible.

A côté de ces traitements conventionnels, depuis longtemps, certaines populations d'Asie, d'Afrique, d'Amérique et d'Europe considèrent les bâtonnets de Miswak préparés à partir des racines et tiges particulièrement de *Salvadora persica* ou d'autres plantes (*Citrus mantafolia, Citrus sinensis, Azadirtachta indica*…etc.) ayant les mêmes vertus comme étant une source naturelle capable de prévenir l'installation de la carie dentaire et les inflammations de la gencive **(Rasouli *et al.*, 2014; El-Desoukey, 2015; Abhary and Al-Hazmi, 2016).** Ces plantes sont non seulement utilisés comme moyen pour le nettoyage des dents et de la bouche; mais aussi pour traiter quelques maladies chroniques telles : la splénomégalie, le rhumatisme, les tumeurs, la gonorrhée, les calcules rénaux, la gastrite, le diabète …etc. **(Darmani *et al.*, 2006; Savithramma *et al.*, 2007; Korejo *et al.*, 2010 ; Saleh and Jalaluddin, 2013; Haque and Alsareii, 2015).**

L'organisation mondiale de la santé **(OMS, 1984)** recommande d'ailleurs et encourage vivement l'utilisation des bâtonnets particulièrement de *Salvadora persica* (Miswak) comme moyen très efficace pouvant assurer l'hygiène buccale.

Une nouvelle approche de traitement pour la santé bucco dentaire alliant l'usage des bâtonnets de végétaux et prévention peut être ainsi envisagée et mise en place surtout dans les pays pauvres. D'autant plus que certaines espèces végétales telles le Miswak semblent s'adapter à toutes les conditions édaphiques même les plus sévères. Ainsi, le Miswak peut constituer une médication à moindre coût par rapport aux moyens financiers des populations **(Kumar et *al.*, 2012)**.

Les connaissances sur les principaux composés de *Salvadora persica* intervenant dans l'inhibition des microorganismes responsables de maladies buccale (candidose, gingivite, parodontite, caries dentaires…etc.) chez l'homme restent jusqu'à présent très limitées. Toutefois, de nombreux travaux menées depuis quelques années par **(AL-Ghonaiem et *al.*, 2009; Mariod *et al.*, 2009; Sofrata *et al.*, 2011; Halawany, 2012; Zafar and Ahmed, 2015 ; Muhindi *et al.*, 2016)** ont bien confirmé qu'elle renferme plusieurs substances biologiques actives comme le N-benzyl-2phenylacetamide, le Benzyl isothiocyanate, le chlorure, le souffre, le sulfate, le nitrate, le NaCl, le KCl, les substances organiques sulfurés (salvadourea et salvadorine) , le triméthylamine (un alcaloïde) et de nombreux composés phénoliques comme (les tanins et les flavonoïdes) exerçant une activité antimicrobienne certaine contre de nombreux germes à l'origine de multiples infections buccodentaires chez l'homme dont : *Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis, Streptococcus salivarus, Streptococcus faecalis, Streptococcus mitis, Streptococcus pyogenis, Lactobacillus casei, Lactobacillus acidophilus Staphelococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Haemophilus influenza* et *Candida albicans* **(El-Desoukey, 2015; Saeed Zayed Al-Ayed *et al.*, 2015; Kawakib, 2016; Kumar *et al.*, 2016; Muhindi *et al.*, 2016).**

Cette étude vise d'abord a identifier l'essentiel des composés bioactifs composant l'espèce végétale *Salvadora persica* retrouvée en abondance dans la région d'Arak à Ain Salah au sud de l'Algérie et d'étudier ensuite leur efficacité au maintien de l'hygiène buccale à travers l'étude in vitro de leurs effets antimicrobiens vis-à-vis de certains germes impliqués dans les divers maladies buccodentaires.

Le manuscrit est scindé en trois parties essentielles. La première partie comporte une étude bibliographique retraçant dans un premier chapitre la grande richesse de l'espèce végétale *Salvadora persica* en principaux composés bioactifs pouvant, de par leurs effets antimicrobiens, constituer un moyen efficace pour lutter contre les infections buccales. Le second chapitre est consacré à l'éthologie microbienne de quelques pathologies buccodentaires pouvant toucher l'Homme : carie dentaire, gingivite, parodontite et candidose. Le troisième chapitre rapporte la composition chimique des principaux composés bioactifs retrouvés fréquemment chez les plantes médicinales et leurs mécanismes d'actions antimicrobiens.

La deuxième partie est consacrée à la méthodologie appliquée. Elle a été orientée tout d'abord en vue de faire une caractérisation physicochimique du sol de la zone d'étude, ainsi

qu’une évaluation de la composition chimique de l’espèce végétale expérimentale (*Salvadora persica*). Plusieurs techniques ont été utilisées pour ce suivi des effets antimicrobiens des extraits riches en composés bioactifs (composés phénoliques et huiles essentielles) sur quelques germes de références responsables des infections buccodentaires. Enfin, un test pratique comportant des bains de bouche à base d’extraits aqueux de la plante médicinale étudiée (*Salvadora persica)* ont été confectionnés et testés comme moyen thérapeutique naturel chez 40 patientes présentant une carie dentaire.

La dernière partie comporte l’interprétation et la discussion des résultats obtenus, ainsi que les perspectives de recherche à approfondir dans le cadre du présent projet.

Partie1:
Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur les bâtonnets de Salvadora persica

1-Historique.

Depuis l'antiquité, de part le monde, plusieurs mesures assurant l'hygiène buccale ont été pratiquées par de nombreuses populations (**Al-Bayaty et al., 2010).** Il y'a environ 7000 ans, les vertus de nettoyer les dents par les bâtonnets de tige ou de racine de diverses espèces végétales dont le ***Salvadora persica*** était connu par les Grecs, les Romains, les Egyptiens ainsi que les Musulmans. De nos jours, leurs usages sont retrouvés notamment dans la région de la Méditerranée Orientale, en Afrique, en Asie et en Amérique du sud **(Carl et Zambon, 1993 ; Halawany, 2012 ; Basil, 2014).**

L ' OMS recommande l'utilisation des bâtonnets de tige et/ou de racine de ***Salvadora persica*** (Arak) comme moyen assurant une bonne hygiène dentaire. De plus, en l'an 2000 un rapport international a conclu que davantage de recherches dans divers domaines d'applications thérapeutiques doivent être entreprises sur cette espèce végétale. **(Consensus Statement on Oral Hygiene, 2000)**

2-Physiologie, origine et classification.

La meilleure source de bâtonnet servant au nettoyage des dents est la racine et/ou les jeunes rameaux de ***Salvadora persica*** (**l'Arak)** connu sous différents autres noms scientifiques : *Galenia asiatica* et *Salvadora indica* **(Abdelrahim et Jurner, 1983 ; Batwa et al., 2006 ; Hilal et Rajagopal, 2014).**

Cette plante, désertique appartenant à la famille de ***Salvadoraceae*** , se présente sous forme d'un arbre ou arbuste de petite taille à feuilles persistantes avec des branches blanches et des racines aromatiques **(Sofrata et al., 2008** ; **Noumi et al., 2010; Hilal et Rajagopal, 2014).** Les rameaux flexibles partent directement des racines et les vieux bois produisent des feuilles très coriaces **(Figure 1)**.

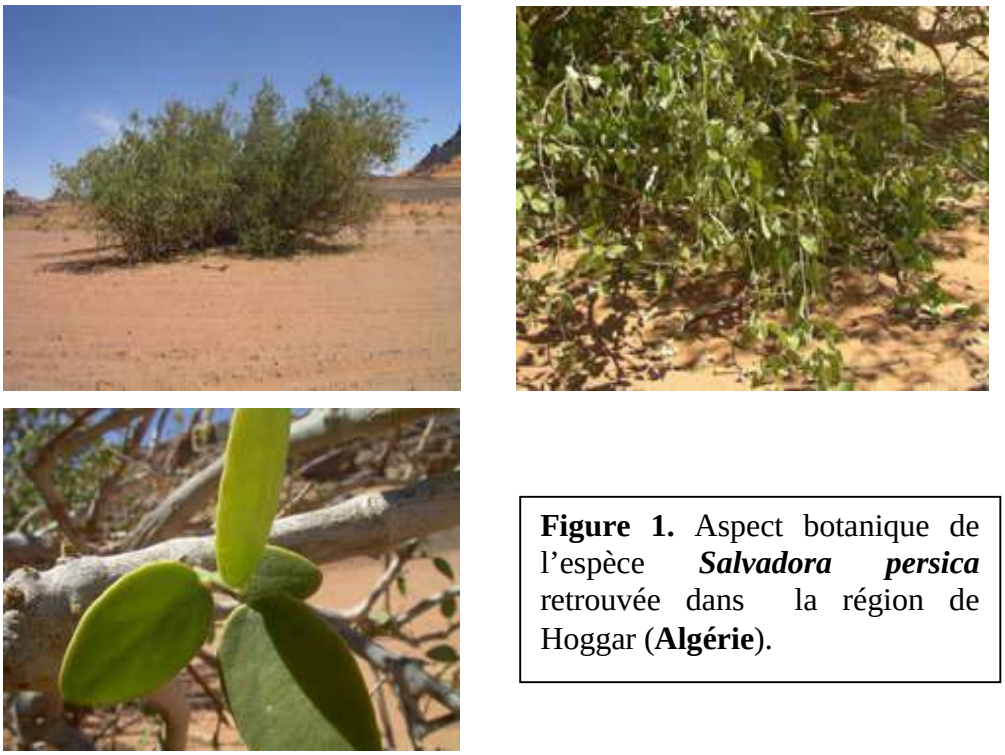


Figure 1. Aspect botanique de l'espèce ***Salvadora persica*** retrouvée dans la région de Hoggar (**Algérie**).

Les fruits sont petits, ronds et soutiennent 1 graine chacun. Les graines sont de couleurs pouvant tourner du blanc, au rose, au rouge pourpre et sont semi-transparents à la maturité. **(FAO, 1990 ; Hilal et Rajagopal, 2014) (Figure 2).**

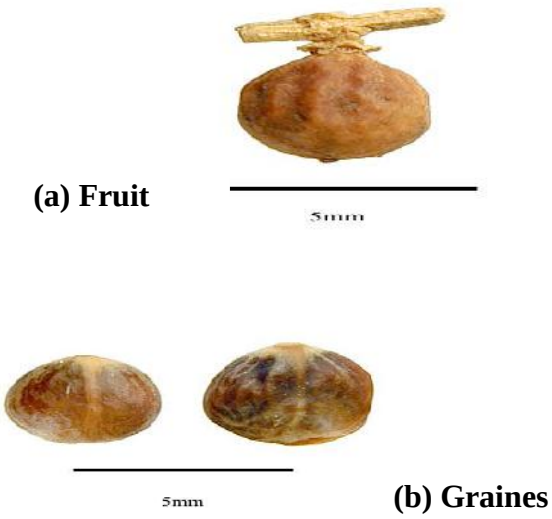


Figure 2. Fruits (a) et graines (b) de Salvadora persica

Cette espèce végétale est bien adaptée à tous les types de sols : argileux, alcalins, très salins, et les sols sans sel. **(R&D, 2002 ; Gururaja et al., 2003).** Habituellement elle préfère les sols argileux ; mais elle peut croître aisément sur les sols noirs et sableux. De plus, elle

s'avère résister aux conditions climatiques très arides et tolère les fortes concentrations en sel du milieu **(FAO, 1988).**

Par ailleurs, chez de nombreuses sociétés les bâtonnets à dent de ***Salvadora persica*** sont connus sous différentes appellations : ***Miswak, Miswaak, Miswaki, siwak, siwoki***. **(Elvin et Lewis, 1980 ; Hattab, 1997) (Tableau 01).**

Tableau 01. Différentes appellations des bâtonnets à dent.

Régions	Nom Familier	Genre et espèce	Auteurs
Algérie	Tidjat, Adjou, Abisga, Babul.	*Salvadora persica*	**(Batanouny et Ezzat, 1971)**
Royaume uni	Toothbrush tree	*Salvadora persica*	**(Batanouny et Ezzat, 1971)**
Allemagne	Senfkom		
Afrique Occidentale	Lime tree, Oange tree et Senna.	*Citrus urantafolia* *Citrus sinensis* *Cassia sleberlanba*	**(Elvin Lewis, 1980)**
Inde	Neem tree	*Azadirachta indica*	**(Almas et Al.lafi, 1995)**
Ethiopie	Mefaka	_	**(Olsson, 1978)**
Namibie	Muthala	*Diospyros lycioides*	**(Addo-Yobo et al., 1991)**
Kenya	–	*Rhus natalensis* *Euclea divinorum*	
Asie	Nut tree	*Juglandaceae regia*	**(Jagtap et Karkera,2000)**
Arabie Saoudite, France et Turkie	Arac, Arak, Meswak, Siwak, Miswak	*Salvadora persica*	**(Batanouny et Ezzat, 1971)**

En outre, l'arbre d'Arak couvre différentes régions du monde en particulier: le Moyen-Orient et l'Afrique **(Elvin-Lewis, 1980 ; Eid et al., 1990 ; Hilal et Rajagopal, 2014).** Mais, il est surtout retrouvé d'une façon abondante dans les zones de la péninsule d'Arabie, en Egypte, et en Inde **(Nadkarni, 1976).**

En Algérie le Miswak est dominant notamment au Sahara central et couvre plus particulièrement les deux régions de Hoggar et de Tassili **(Quesel et Santa, 1962).**

3-Composition chimique.

D'une manière générale, les connaissances profondes sur les principaux composés biologiques du Miswak de ***Salvadora persica*** restent jusqu'à présent très limitées.

Les analyses chimiques des racines révèlent leurs grande richesse en ***B-sitosterol***, en ***acide m- anisique*** **(Ray et al., 1975),** en ***chlorures*** **(Ezmirly et al., 1979)** et en Benzylisothiocyanate **(Al-Bagieh et Weinberg, 1988; Al-Bagieh, 1992; Basil, 2014).**

Parcontre, les rameaux de la tige renferment plusieurs composés benzylamides dont : butanediamideN1N4-bis(phenylmethyl)-2(S)-hydroxy butanediamide, N-benzyl-2-phenylacetamide, Nbenzylbenzamide et le benzylurea **(Khalil, 2006).** De plus, ils contiennent de nombreux glucosides à savoir: sodium l-Obenzyl-fi-D-glucopyranoside-2-sulphate (salvadoside), 5,5' dimethoxylariciresinol4-4'bis-0-/I-D-glucopyranoside (salvadoraside), syringin, liriodendrin et sitosterol 3-0-lucopyranoside **(Kamel et al., 1992).** Parmi, les nombreux autres composés organiques identifiés on site souvent : les dérivés de ***pyrrolidine,*** de ***pyrole***, ainsi que de ***pipéridine*** **(Galletti et al., 1993)** et les ***flavonoides*** dont (***Kaempferol, quercetine, rutine quercitine*** et ***glucose quercitine***) **(Abdel-Wahab et al., 1990).** Aussi, il est retrouvé dans les tiges de ***Salvadora persica*** des chlorures et des teneurs élevées de gypse**. (Porteres, 1974; Ray et al., 1975; Massassati et al., 1981 ; Abdel-Wahab et al., 1990 ; Basil, 2014).**

Par ailleurs, **Dorner (1981)** rapporte l'existence dans la plante de ***Nacl***, de ***Kcl***, de composés organiques ***soufrés*** dont (***Salvadourea*** et ***salvadorine***) et un ***alcaloïde*** a savoir (le ***triméthylamine***). De plus, il est enregistré chez cette espèce des quantités substantielles en ***silice*** **(Almas et Al.lafi., 1995 ;);** alors que le fluorure est très peu représenté **(Hattab, 1997)**.

Une étude menée par **(Darout et al., 2003)** a montré, aussi, que les extraits de ***Salvadora persica*** renferment de nombreux composés ***anioniques potentiels*** ayant une activité antibactérienne certaine et comprenant particulièrement : ***Les chlorures, Les sulfates, les sulfocyanate et les nitrates*** **(Al Sadhan et Almas, 1999).**

D'autres composés sont aussi retrouvés chez cette espèce végétale tels la vitamine C, des traces de tannins, des saponines et du stérol (**Darout et al., 2000, Akhtar et al., 2011).**

D'autre part, la littérature ne rapporte que très peu d'études sur les feuilles de *Salvadora persica* qui renferment, particulièrement, de fortes teneurs en protéines, fibres et éléments minéraux **(Tableau 02).**

Tableau 02. Composition chimique des feuilles de ***Salvadora persica*** (%).

Pays	Matière Sèche	Protéines Brutes	Fibres	Lipides	Cendres	Silice	Phosphore	Ca	Mg	K	Références
Sénégal	27.22	16.30	14.80	03.60	30.20	00.50	00.12	06.00	04.70	02.10	**(Audru, 1966)**
	24.70	10.90	14.80	-	36.50	00.95	00.08	07.60	04.50	01.00	**(Audru, 1966)**
Soudan	29.40	13.80	7.90	01.50	23.10	-	-	-	-	-	**(Curasson,1953)**
Niger	39.20	10.30	9.60	02.60	35.80	02.40	00.08	07.20	09.40	01.70	**(Touzeau, 1970)**
	-	16.10	14.10	02.30	20.30	-	-	-	-	-	**(Bartha, 1970)**

(D'après Le Houérou, 1980)

4-Effets des extraits de *Salvadora pesrsica* sur les germes buccaux et cariogènes

Ezmirly et al., (1979) ont été les premiers à suggérer la présence des composés bioactifs dans le Miswak de ***Salvadora persica*** sans pour autant pouvoir le démonter. Toutefois, il est admis depuis longtemps que la quantité substantielle de silice contenue dans les cendres de ***Salvadora persica*** contribue à l'enlèvement de la plaque dentaire par l'action mécanique du Miswak **(Almas et Al.lafi, 1995 ; Al-Sohaibani et Murugan, 2012).**

Les principes actifs du Miswak ayant servi dans les tests biologiques et antimicrobiens sont le plus fréquemment extraits soit à l'eau ou à l'éthanol. Il a été prouvé que les extraits alcooliques sont efficacement plus antimicrobiens que les extraits à l'eau **(Al-Bagieh et Almas et al., 1997 ; Al-Sabawi et al., 2007 ; Masood et al., 2010).**

Ces extraits présentent un effet inhibiteur sur la croissance de nombreux germes buccaux comme : ***Streptococcus mutans***, ***Streptococcus faecalis***, ***Porphyromonas gingivalis***, ***Prevotella intermedia***, ***Treponema denticola***, ***Fusobacterium nucleatum***, ***Eikenella corrodens*** et ***Campylobacter rectus*** **(Sote et Wilson, 1995 ; Almas, 1999 ; Almas et Al-Bagieh, 1999; Al-Otaibi et al., 2004 ; Khalessi et al., 2004 ; Balto et al., 2013).** Quelques études in vitro sur la flore buccale ont prouvé qu'il peuvent empêcher la croissance de divers bactéries aérobies et anaérobies ainsi que de ***Candida albicans*** **(Al-Bagieh et al., 1994 ; Al.lafi et Ababneh, 1995 ; Balto et al., 2013 ; Alili et al., 2014)**. L'inhibition in vitro de tels

extraits sur la formation de la plaque dentaire, sur la croissance et la production d'acides par diverses bactéries cariogènes a été également signalée par plusieurs autres auteurs **(Lewis, 1980 ; Sadhan et Almas, 1999 ; Balto et al., 2014).**

Il a été démontré que le N-benzyl-2 phenylacetamide extrait de la tige manifeste un effet inhibiteur très efficace sur l'agrégation du collagène impliqué dans la genèse de la plaque dentaire et exerce une activité antibactérienne modérée contre ***Escherichia coli*** **(Khalil, 2006).**

D'après de nombreux auteurs le Benzylisothiocyanate isolé de la racine présente des activités antivirales et antimycosiques **(Al-Bagieh, 1992 ; Balto et al., 2017)** et peut même contrôler la formation de la carie dentaire en empêchant la croissance et la production des acides de ***Streptococcus mutans*** **(Al-Bagieh et Weinberg, 1988** ; **Al-Bagieh et al., 1994).**

Cet effet inhibiteur des extraits de Miswak sur la croissance de ***Streptocoque mutans*** a été confirmé par de nombreux auteurs **(Al-Lafi et Ababneh, 1995 ; Almas et al., 1997 ; Balto et al., 2017).** De plus, une étude menée par **Darout et al.,** (**2002)** au Soudan chez des sujets adultes a montré l'effet inhibiteur sélectif du Miswak sur la croissance de certains germes salivaires dont particulièrement les espèces appartenant au genre ***Streptococcus*.**

D'une manière générale, il est remarqué que ces extraits agissent sur la croissance bactérienne notamment de ***Streptococcus mutans*** et ***Streptococcus faecalis*** à des concentrations de l'ordre de 5g/100ml **(Almas et Al-Bagieh, 1999 ; Padma et al., 2012 ; Saeed Zayed et al., 2016).** L'effet antimicrobien sur ***Streptococcus fecalis*** à une concentration de 5g/100ml du Kikar (Acacia arabica) provenant du Pakistan et de l'Arak d'Arabie Saoudite a été éventuellement avancé par **Almas (2001).**

Darout et al., (2000) ont prouvé que les extraits aqueux de Miswak contiennent des composés anioniques antimicrobiens potentiels comprenant le chlorure, le sulfate, le sulfocyanate et le nitrate. Le nitrate a été révélé capable d'affecter le transport actif de la proline ainsi que de l'aldose ***chez Escherichia coli*** et ***Streptococcus faecalis*** **(Yarbrough et al., 1980)**. En outre, le nitrate agit en inhibant le transport actif de phosphorylation oxydatif et la consommation d'oxygène chez ***Pseudomonase aeruginosa*** et ***Staphylococcus aureus*** **(Abhary** et **Al-Hazmi, 2016).** L'effet antimicrobien in vitro lié à la grande richesse des extraits en sulfates a été également suggéré par **Al-Bagieh et Idowu, (1994).** Aussi, il s'avère que ces composés anioniques peuvent stimuler la synthèse de certaines substances

antimicrobiens salivaires dont : la thiocyanate peroxydase et le peroxyde d'hydrogène **(Tenovuo et al., 1981; Elvin-Lewis, 1982; Thomas et al., 1994 ; Darout et al., 2000).**

D'autre part, **Dorner (1981)** a rapporté que les taux élevés en NaCl, KCl, en substances organiques sulfurés (salvadourea et salvadorine), et en triméthylamine (un alcaloïde) sont en partie responsables des effets antibactériens observés **(Halawany, 2012)**.

La contribution potentielle du fluorure du Miswak de *Salvadora persica* a été considérée peu probable du fait de sa faible solubilité dans l'eau (0.075 g/ml) **(Hattab, 1997).**

5- Intérêts de *Salvadora persica*.

Selon le Rapport du **Consensus Statement on Oral Hygiene, (2000)**, l'utilisation de **Miswak** comme moyen pour le nettoyage buccal prévient efficacement l'installation des caries dentaires et les inflammations de la gencive. En effet, il empêche la décomposition de l'émail dentaire, confère un parfum agréable à la bouche, élimine les mauvaises odeurs, améliore le sens du goût et fait briller les dents **(Masood et al., 2010 ; Halawany, 2012 ; Kumar et al., 2016).** Il est donc conseillé aux intéressés de l'employer au moins 5 fois par jour afin de diminuer d'une manière importante l'accumulation des plaques dentaires **(Gazi et al., 1990).**

De plus, il est préconisé, avant son usage de les tremper dans de l'eau pendant quelques heures ; ce qui d'une part permet le ramollissement des fibres qui peuvent ainsi pénétrer aisément entre les dents et enlever toutes les souillures **(Almas et Al-lafi, 1995)** et d'autre part assure une meilleure exsudation des principaux produits chimiques bactériostatiques qui le constituent **(Hardie et Ahmed, 1995).**

De nos jours, les nombreuses propriétés antibactériennes, astringentes, détergentes et abrasives de la plante ont encouragé son incorporation dans la pâte à dentifrice par certains laboratoires. D'autres auteurs **(Almas, 2002 ; Almas et al., 2006 ; El-Desoukey, 2015 ; Balto et al., 2017)** indiquent même que ses extraits préparés à de fortes concentrations présentent des effets comparables à d'autres désinfectants oraux et agents anti-plaque dentaire commercialisés comme: le Triclosan et le gluconate de Chlorhexidine.

Par ailleurs, il à été rapporté que la décoction des rameaux et racines de ***Salvadora persica*** est souvent employée par la médecine traditionnelle pour traiter certaines maladies telles : la splénomégalie, le rhumatisme, les tumeurs, la gonorrhée, les calcules rénaux, la gastrite …etc. **(Watt et Breyer-Brandwijk, 1962 ; Harfi et lundberg, 1997).** Les extraits de

cette plante possèdent, également, un effet hypoglycémiant dont le mécanisme reste mal connu à ce jour **(Trovato et al., 1998).**

Aussi, les graines de l'Arak fournissent une huile très prisée dans certains pays du monde et les feuilles constituent une bonne source de fourrage pour de nombreux animaux domestiques. L'institut des sols salins (CSSRI) souligne éventuellement la nécessité de la cultiver à grande échelle dans les régions fortement dégradées en indiquant ainsi sa potentialité pour la restauration des terres salines en friche. D'autant plus que, ses intérêts thérapeutiques et fourragères peuvent engendrer une source de revenus nom négligeable dans le secteur rural **(Gururaja et al., 2003, Alali et al., 2005 ; Akhtar et al., 2011).**

Chapitre II:
Généralités sur quelques infections buccales

Si les infections dentaires aux germes habituels de la bouche constituent une part importante de la pathologie buccale, la muqueuse qui tapisse les parois de la bouche n'est pas épargnée. En effet, elle peut être le siège de nombreuses maladies graves dont gingivite, parodontites et candidose.

1. La carie dentaire

La carie est la maladie la plus fréquente susceptible d'affecter les dents ; mais dont la prévention peut être assurée par des gestes simples que chaque personne peut adopter au quotidien: une bonne hygiène bucco-dentaire, un recours au fluor et une consommation d'aliments non cariogènes **(Madani, 1995).**

1.1. Définition

La carie dentaire est une maladie générée par l'érosion acide de l'émail dentaire suite à une fermentation des glucides par les bactéries présentes dans la plaque dentaire **(Konig, 2000).**

1. 2-Tissus de soutien des dents.

Le nom donné à l'ensemble des tissus de soutien des dents est le parodonte. Celui-ci est constitué de 4 éléments principaux à savoir : l'os alvéolaire, le ligament parodontal, le cément et la gencive. Chaque dent se compose de trois parties importantes, la couronne située hors de l'os alvéolaire, le collet par lequel la couronne s'unit avec la racine et la racine qui est incluse dans l'alvéole. Le rôle de l'os alvéolaire est bien sûr de soutenir la dent, le ligament parodontal a son tour assure la fixation de la racine de la dent au sein de cet os alvéolaire, quant au cément il permet l'ancrage du ligament à la surface de la racine et enfin la gencive assure la fonction de manchon ou de gaine plus ou moins étanche permettant le maintien de tous les autres éléments du parodonte à l'abri du milieu buccal **(Figure 03).**

L'émail dentaire est considérée comme étant la structure la plus dure de l'organisme recouvrant la couronne dentaire jusqu'au collet, c'est le plus opaque des tissus dentaires. C'est également le tissu le plus minéralisé très riche en sels minéraux essentiellement de nature phosphocalcique à environ 95 % de son poids **(Muller et al., 1998**).

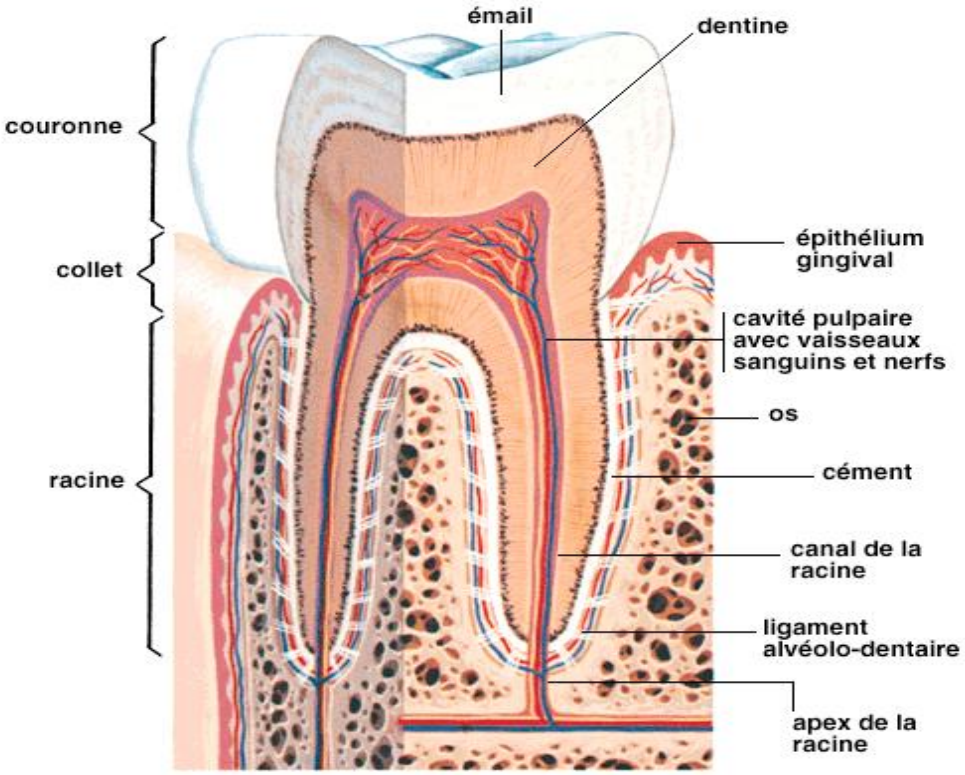


Figure 03. Tissus de soutien composant les dents.

(D'après Johnson, 2000).

La dentine moins solide que l'émail dentaire, se situe sous l'émail coronaire et le cément radiculaire. C'est le tissu dentaire qui a le volume le plus important. Elle contient 70 % de sels minéraux (avec principalement des carbonates de calcium) et 30 % de trame organique constituée essentiellement par du collagène. La dentine possède aussi une structure poreuse et ne contient pas de cellules; ce qui la différencie de l'os. Elle est parcourue par des canalicules dentinaires dans lesquelles circulent des fibres sensitives de Tomes (d'où la douleur) qui émanent de cellules situées en périphérie de la pulpe : les odontoblastes. La dentine est donc un tissu sensible et sa carie est révélée souvent par la présence d'une douleur **(Johnson, 2000**).

La pulpe dentaire est une masse conjonctivo-vasculaire qui occupe la cavité centrale de la dent : le cavum. Elle est composée de tissu conjonctif banal, de fibres collagènes, de vaisseaux sanguins, de vaisseaux lymphatiques et de fibres nerveuses. En cas de carie dentaire la seule manifestation de la sensibilité pulpaire est la douleur pouvant être très intense en cas de pulpite. **(Muller et al., 1998 ; Johnson, 2000**).

Enfin, le cément, est considéré comme faisant partie du parodonte. C'est un tissu minéralisé qui recouvre toute la surface externe de la dentine radiculaire. Il est invisible de l'extérieur car recouvert par le ligament alvéolo-dentaire et l'épithélium gingival. Il présente une teneur en sels minéraux relativement réduite; (45 % environ, alors que la dentine en contient 70 % et l'émail 95 %). Le cément permet l'accrochage du ligament parodontal et de l'os alvéolaire à la racine de la dent; il assure donc l'attache et la fixation de la dent. **(Johnson, 2000**).

1. 3- Plaques dentaires.

La plaque dentaire est un dépôt mou, amorphe, teinté, tenace et terne, adhérant à la surface de la dent, de la gencive et des matériaux dentaires. Elle se développe en quelques heures en l'absence de brossage et ne peut être enlevée par simple rinçage à l'eau **(Pellat, 1985 ; Mouton et Robert, 1994).**

Il s'agit d'un mélange d'eau, de protéines (6-7%), de polysaccharides (30-40%), de lipides (25-30%) d'origine salivaire et/ou microbienne. La plaque contient, également, des éléments inorganiques tels que le calcium, les phosphates, le potassium, le sodium, le fluor et les oligo-éléments. Enfin, au sein de cette matrice existent des micro-organismes aéro-anaérobies, des cellules épithéliales desquamées, des leucocytes et des macrophages **(Pellat, 1985 ; Pellerin et Pellat, 1986 ; Mouton et Robert, 1994)**.

La plaque dentaire agit comme un élément perturbateur de l'équilibre des différents composants de l'écosystème buccal, favorisant ainsi l'installation de pathologies bucco-dentaires telles que la carie et les parodontopathies. **(Ekstrand et Bjorndal, 1997 ; Muller et al., 1998).**

1. 4- Germes des plaques dentaires.

Le genre ***Streptococcus*** est fortement présent dans tous les sites de la cavité buccale et surtout sur la plaque dentaire. Chez l'homme, certains streptocoques jouent un rôle écologique important en raison de leur synthèse de polysaccharides extracellulaires (dextranes, levanes) qui interviennent dans la constitution de la plaque et son métabolisme **(Liebana et Castillo, 1994).**

Streptococcus mutans est un des streptocoques quantitativement dominants de la flore orale humaine. Il synthétise des polysaccharides extracellulaires à partir du saccharose salivaire. De nombreuses études ont montré le rôle étiologique de ce micro-organisme dans la carie (**Liebana et Castillo, 1994).**

Streptococcus sanguis est une des premières espèces bactériennes à coloniser la pellicule exogène acquise, au cours du processus de constitution de la plaque. Ce streptocoque synthétise des mutanes et des dextranes différents de celles de *Streptococcus mutans.* Des études chez le rat ont montré un certain pouvoir cariogène de *Streptococcus sanguis,* Il peut également être responsable d'endocardite chez l'homme **(Liebana et Castillo, 1994).**

Streptococcus salivarius est une espèce également quantitativement dominante des streptocoques de l'homme, principalement présent sur la surface de la dent. Il produit des levanes très labiles qui servent de réserve alimentaire aux bactéries de la plaque bactérienne **(Liebana et Castillo, 1994).**

D'autres ***streptocoques*** (du genre ***Streptococcus faecalis***, ***Streptococcus mitis****...)* peuvent être isolés de la salive ou de la plaque chez l'homme; mais ils s'avèrent qu'ils ne sont pas des commensaux de la cavité buccale **(Ryberg et al., 1991).**

D'autre part, la cavité buccale ne constitue guère une niche écologique normale pour les staphylocoques dont certaines espèces telles ***(Staphylococcus epidermidis*** et ***Staphylococcus aureus*** qui sont occasionnellement isolées à partir de la plaque supra gingivale **(Ryberg et al., 1991).**

1.5- Étapes de la carie dentaire.

La carie dentaire débute huit heures après le dernier brossage par une multiplication importante des streptocoques qui forment une couche d'une vingtaine de cellules d'épaisseur. Ces bactéries métabolisent les oses et les osides dont particulièrement le glucose, fructose, saccharose et le lactose se trouvant en surface des dents et produisent des acides ainsi que des dextranes. Ensuite, les acides produits entraînent une diminution du pH dans la plaque dentaire, dissolvent le phosphate de calcium et désorganisent la structure cristalline de l'émail; il en résulte la formation de chenaux microscopiques dans lesquels s'infiltrent les acides continuellement produits.

Dans une seconde étape qui apparaît vers le deuxième ou le troisième jour, il y a épaississement de la plaque dentaire qui adhère alors fortement à la dent et un remaniement des populations microbiennes qui s'y développent. En effet, il est observé notamment une colonisation intense d'actinomycètes capables de transformer en sels d'ammonium l'urée salivaire et d'alcaliniser le milieu (pH=9); ceci provoque la précipitation à la surface de l'émail des sels de calcium précédemment dissous, en même temps que l'émail continue d'être attaqué en profondeur. De ce fait, la cavité formée par la dissolution du phosphate de calcium est masquée par cette couche superficielle. La carie n'est toujours pas apparente mais elle se

manifeste déjà par une plus grande sensibilité à la chaleur et au froid causant des douleurs plus ou moins intenses. Cette couche superficielle finit par s'effondrer, mettant à nu la cavité creuse dans l'émail ou de nombreuses bactéries peuvent pénétrer et poursuivre leur action destructrice **(Regnault, 2000)**.

1.6- Facteurs étiologiques de la carie dentaire:

La formation d'une carie dentaire est le résultat d'un processus complexe dans lequel interviennent trois facteurs: la dent elle-même, la consommation excessive de certains glucides et les bactéries cariogènes. Il faut aussi tenir compte de la salive dont la composition chimique varie d'un individu à un autre et qui influence le déroulement du processus cariogène **(Keyes, 1962 ; Newbrun, 1978).**

1. **6-1 Facteurs relatifs à la dent:**

Trois facteurs relatifs à la dent retentissent indirectement sur la dureté de l'émail et favorisent la formation et/ou la rétention de la plaque dentaire: la solidité de l'émail, la morphogenèse et la position des dents.

La solidité de l'émail varie d'un individu à un autre et peut être moindre par suite de perturbations de la minéralisation de l'émail au cours de la période d'élaboration des dents; ce qui conduit souvent à l'apparition d'anfractuosités à la surface des dents.

La morphogenèse représente la manière dont les dents sont formées et concerne principalement les anomalies de formation de sillons très profonds à la surface de la dent et des défauts de structure à la jonction cément émail (Racines- Couronnes); ces anomalies laissent à nu une région vulnérable.

En fin, le dernier facteur est lié à la position des dents en particulier à la façon dont elles sont implantées: le chevauchement des dents, par exemple, facilite l'accumulation de débris alimentaires, la formation et la rétention de la plaque dentaire **(Muller et al., 1998 ; Ekstrand et Bjorndal, 1997).**

1.6-2 Facteurs alimentaires:

En vue d'un meilleur fonctionnement des différents composants de l'écosystème buccal, une alimentation saine et équilibrée est nécessaire. Cependant, certains aliments apportés par le régime alimentaire jouent un rôle important dans la formation de la plaque bactérienne. Les principaux glucides alimentaires incriminés dans la carie dentaire sont le glucose, le fructose, le lactose et surtout le saccharose que l'on trouve dans beaucoup d'aliments. Dans la bouche, une partie de ces sucres est métabolisée par les bactéries et transformée en acides organiques

(acide lactique, acide propionique, acide butyrique, etc…) qui dissolvent l'émail. **(Hattab et al., 1997).**

L'épaississement de la plaque résulte de l'accumulation de dextranes et de lévanes, issus du métabolisme du saccharose par des bactéries cariogènes tel que le *Streptococcus mutans*. Ces composés sont des polymères d'une part de glucose et d'autre part de fructose qui se comportent comme une réserve pour les micro-organismes **(Abdallaoui, 1992)** dont la fermentation anaérobiose conduit à une diminution de pH de la plaque et une déminéralisation de l'email ; c'est ce qui provoque la formation d'une cavité carieuse **(Carlen et Col, 1998 ; World Health organisation,1996).**

Les protéines de la plaque proviennent aussi de l'alimentation. Il s'agit notamment de glycoprotéines et de glycosaminoglycanes. Leur rôle est important dans l'édification de la plaque précoce. Les bactéries de la plaque dégradent les protéines et aboutissent à une production basique par accumulation de radicaux ammoniés. Il en résulte une alcalinité de la plaque sous gingivale. Il y a alors, précipitation et dépôt de sels phosphatés et calciques dans la plaque ce qui est à l'origine de la formation de tartre qui est responsable de l'installation de parodontopathies **(Pellerin et Pellat, 1986 ; Mouton et Robert, 1994).**

Concernant les lipides de la plaque, ils proviennent, également, de l'alimentation. Certains auteurs leur attribuent un rôle protecteur contre la carie **(Abdallaoui, 1992)**. Des études ont montré qu'il existe une réduction sélective des micro-organismes acidogéniques de la plaque par l'acide nonanoïque sans qu'il y ait une inhibition de l'ensemble de la plaque. En effet, selon les expériences de Williams, les lipides entraînent une réduction des caries sans une baisse concomitante de la quantité de la plaque **(Bousfiha et al., 1993).** De plus, les lipides rendent la plaque moins perméable aux glucides et contrarient l'adsorption de certaines bactéries. Leur association avec les autres composants alimentaires est un élément modérateur du processus carieux **(Bousfiha et al., 1993 ; Joubert-Noirit, 1996)**. Par contre, pour d'autres auteurs, le métabolisme des lipides fait abaisser le pH de la plaque (**Pellerin et Pellat, 1986**). En effet, les bactéries de la plaque assurent le métabolisme complet de toutes les catégories de lipides et en particulier la beta-oxydation des acides gras qui alimente le cycle de Krebs par la formation de molécules d'Acétyl CoA en aérobiose et contribue à la formation d'acides dérivés (acétate, propionate, ...). En anaérobiose, la cétogenèse est favorisée pour donner naissance à l'acide hydroxybutyrique et à l'acétone diminuant ainsi le pH de la plaque (**Pellerin et Pellat, 1986**). Par ailleurs, (**Abdallaoui, 1992**) affirment que les lipides peuvent jouer un rôle majeur dans le maintien de la cohésion de la plaque dentaire et la régulation des

processus qui mènent à sa minéralisation. Ainsi, le mécanisme d'action des lipides de la plaque est encore mal connu (**Bousfiha et al., 1993**).

Pour les sels minéraux, l'apport alimentaire en phosphates inorganiques augmente le pouvoir tampon de la salive et diminue la capacité de déminéralisation de la plaque dentaire. Les phosphates permettent une neutralisation des acides organiques et donc une diminution de la dissolution des hydroxyapatites et une reminéralisation de l'émail partiellement déminéralisé (**Abdallaoui, 1992**).

Pour le calcium, les avis divergent concernant son rôle dans le développement de la carie. Pour certains auteurs, l'administration du calcium détruit l'équilibre phosphocalcique et en se combinant avec les ions fluor, il empêche leur effet anti-carie. Pour d'autres, les aliments contenant le calcium (fromage, lait) contribuent à une réduction de la déminéralisation et/ou provoque une re-minéralisation de la surface amélaire (**Abdallaoui, 1992**).

Le fluor inhibe la déminéralisation, favorise la re-minéralisation et augmente la dureté de l'émail de la dent en la rendant moins soluble en milieu acide ; une quantité appropriée de fluor empêche et/ou stabilise la carie. La couverture des besoins en fluor de chaque individu peut être assurée systématiquement par la consommation quotidienne d'eau de distribution fluorée et/ou de certaines boissons riches en fluor comme le thé. Une autre alternative repose sur l'usage de la pâte dentifrice, des bains de bouche, des gels buccaux et de vernis dentaires. Néanmoins, la consommation excessive de fluor peut fragiliser la dent et lui conférer une coloration jaunâtre **(Van loveren, 2000).**

Par ailleurs, les caractéristiques physiques de l'aliment, en particulier la manière dont il s'accroche aux dents, sont déterminantes dans l'apparition des caries. Les aliments qui adhèrent aux dents augmentent plus le risque de carie dentaire, en comparaison à ceux qui sont rapidement éliminés de la bouche. En effet, il a été remarqué que les chips et les biscuits, persistent plus longtemps sur les dents que les dragées sucrées et le caramel **(Stamler et al., 2000).** De plus, il s'avère que les aliments riches en glucides demeurent plus longtemps au contact des bactéries de la plaque dentaire, ce qui leurs confèrent plus d'opportunité à produire davantage d'acides susceptibles d'accroître le risque de déminéralisation de la dent **(World Health Organistion, 2000).**

1.6-3 Facteurs bactériens

Plusieurs espèces bactériennes de la flore buccale sont cariogènes, ce sont les *Staphylococcus epidermidis, Streptococcus salivarus, Sterptococcus mitis, Streptococcus*

sanguis, Streptocoque mutens et Lactobacillus casié, aux quelles s'ajoutent quelques espèces *d'Actinomycètes*

Les Streptocoques et principalement *Streptococcus mutens* sont responsables de la formation de la carie dentaire.

Les Lactobacillus sont des bactéries anaérobies, ils se logent dans la partie profonde de la plaque, quant aux A*ctinomycètes,* ils vivent surtout sur la muqueuse et ne participent pas à la formation de la carie dentaire **(Regnault, 2000).**

1.6-4 Facteurs salivaires:

Le rôle de la salive est positif dans la mesure ou elle assure l'auto nettoyage, apporte du calcium qui peut être échangé avec celui de l'email (ce qui en permet la re-minéralisation) et neutralise l'acidité produite par les bactéries de la plaque dentaire. De plus, la salive contient du lysozyme, une enzyme connue pour son pouvoir hydrolytique sur les parois des bactéries et elle contient un anticorps participent à la défense des tissus de surface à savoir: l'immunoglobulines A (**Regnault, 2000**). Par contre, la salive contient une glucoprotéine qui adhère efficacement aux dents et favorise le développement de la plaque dentaire **(Pellerin et pellat, 1986 ; Carlen et Col, 1998).**

Entre les repas, la salive entre en action pour neutraliser les acides et favoriser le processus de re-minéralisation. Si l'aliment ou la boisson est pris trop souvent, l'émail de la dent n'a pas le temps de se re-minéraliser complètement ; ce qui favorise l'apparition de la carie. Aussi, il est établi que, pendant le sommeil le flux de salive est très réduit et les liquides sucrés demeurent plus longtemps au contact des dents ; ce qui parfait également le développement de la carie dentaire **(Hu et al., 2000).**

1.7. Aliments protecteurs.

Certains aliments jouent un rôle protecteur contre l'apparition de la carie dentaire. Le fromage a pâte dure, par exemple augmente le flux de salive et assure un bon apport en principaux minéraux tels le calcium et le phosphore qui favorisent la re-minéralisation des dents. Terminer une alimentation avec un morceau de fromage aide donc à neutraliser les produits alimentaires riches en glucides consommés durant le repas **(Lendander et al., 2000).**

2. Pathologies parodontales

Les maladies parodontales sont des lésions chroniques d'origine infectieuse et qui regroupent deux types principaux de pathologies, à savoir les gingivites et les parodontites.

Les gingivites sont des inflammations au niveau de la gencive, tandis que les parodontites sont des affections plus sévères qui se caractérisent par la destruction des tissus mous et de l'os **(Lamont et Jenkinson, 2010)**. Ces maladies sont le plus souvent causées par des bactéries anaérobies à Gram négatif **(Xiong et al., 2006)**.

Les études transversales et longitudinales ont montré que la gingivite est associée à une augmentation de la charge bactérienne, de l'ordre de 10^4 à 10^6 bactéries par sulcus, et à une augmentation du pourcentage de bactéries à Gram négatif**.** Dans le cas d'une parodontite, on assiste à une augmentation de la charge bactérienne, qui varie de 10^5à 10^8 bactéries par sulcus, avec une nette augmentation de la flore à Gram négatif **(Theilade et al., 1966 ; Darveau et al., 1997).**

Il est actuellement bien établi que la maladie parodontale n'est pas liée à une bactérie mais plutôt à un consortium bactérien au sein duquel certaines espèces jouent un rôle étiologique majeur. Ainsi, un groupe de trois microorganismes, constitué de bactéries à Gram négatif anaérobies ou microaérophiles, ont été identifiées comme étant responsables dans le processus d'initiation et de progression de la maladie parodontale. Il s'agit de *Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythensis* et *d'Actinobacillus actinomycetemeomitans.* Cependant, en ce qui concerne la parodontite chronique, d'autres bactéries sont impliquées dont essentiellement les espèces suivantes : *Campylobacter rectus, Treponema denticola, Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum, Prevotella intermedia, Peptostreptococcus micros, Eikenella corrodens* et *Selenomonas sputigenas* **(Simonson et al., 1992 ; Grossi et al., 1994 ; Zambon et al., 1996 ; Darveau et al., 1997 ; Grenier et Mayrand, 2000).**

Plusieurs travaux **(Socransky et al., 1998 ; Offenbacher et al., 2007)** ont permis de montrer que ces microorganismes lors d'une infection buccale agissent en se groupant à travers des associations spécifiques et non aléatoires d'un ensemble de bactéries tout en adhérant à différentes surfaces de la bouche en formant des biofilms microbiens susceptibles d'induire en parfaite harmonie de multiples maladies buccodentaires. Selon, **Lamont et Jenkinson (2000)** un biofilm comprend des populations microbiennes qui adhèrent entre elles ou à des surfaces et baignent dans une matrice extracellulaire. A l'intérieur du biofilm, il existe un système circulatoire aqueux primitif qui facilite l'apport en nutriments et permet l'évacuation des déchets métaboliques. Les interactions bactériennes existant à l'intérieur du biofilm sont nombreuses et contribuent à l'équilibre de la microflore **(Tian et al., 2010)**. Deux complexes d'associations microbiens (dits rouge et orange) regroupant chacun une série de bactéries à Gram négatif ont été incriminés directement dans l'étiologiques sévère de la

maladie parodontale **(Tableau 3)**. La bactérie *Actinobacillus actinomycetemeomitans* ne fait, cependant, pas partie d'aucun de ces complexes **(Socransky et al., 1998).**

Tableau 3. Principales bactéries des complexes définis par Socransky et coll **(Socransky et al., 1998).**.

Complexe orange	Complexe rouge	Indépendant
- *Prevotella intermedia* - *Prevotella nigrescens* - *Peptostreptococcus micros* - *Campylobacter gracilis* - *Campylobacter. reclus* - *Campylobacter showae* - - *Eubacterium nodatum* - *Streptococcus constellatus* - *Fusobacterium.nucleatum* subsp. *nucleatum* -*Fusobacterium nucleatum subsp. Polymorphum*	- *Porphyromonas gingivalis* - *Tannerella forsythensis* - *Treponema denticola*	- *Actinobacillus actinomycetemeomitans*

3. Candidose buccale

La candidose buccale est une mycose de la muqueuse buccale due à une prolifération d'un champignon levuriforme à savoir *Candida albicans* présent en temps normal dans la flore de la bouche **(Encyclopédie Médicale- Medix of healthcare, 2014)**.

La *Candida albicans* est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes, se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) formant ainsi des colonies blanches crémeuses **(Dupont, 1985 et Eggimann et al., 2003).** Elle est caractérisée par un polymorphisme remarquable. En effet, elle peut exister sous quatre formes morphologiques différentes dont les *blastospores ou blastoconidies* se présentant sous forme de petites cellules ovoïdes de 3,5 à 6 µm sur 6 à 10 µm. C'est la forme la plus courante de multiplication de *Candida albicans* saprophyte. Cette cellule peut émettre à son tour un bourgeon qui peut donner une cellule fille identique à la cellule mère. *Candida albicans* peut se présenter aussi sous forme d'un *pseudo - mycélium* mesurant de 500 à 600 µm de longueur et de 3 à 5 µm de largeur, composé d'un assemblage de cellules mises bout à

bout pour simuler un filament mycélien. La conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Il s'agit d'un blastospore qui a donné naissance à un tube germinatif pour former un vrai mycélium, dont chaque élément sera individualisé par de vraies cloisons. Les *Chlamydospores* enfin (ou *Chlamydoconidies* ou *chromispores de Vuillemin du grec klamydos,* chemise) sont de volumineuses cellules (10 à 15 micromètres), sphériques, à double paroi, réfringentes, le plus souvent terminales, mais pouvant être latérales **(Dupont, 1985)**. Elles sont formées par épaississement du thalle, mesurent deux fois la taille du blastospore et possèdent une paroi plus épaisse **(Buffo et al., 1984)**.

La *Candida albicans* a donc la particularité de pouvoir passer selon les conditions du milieu de la forme levure à la forme de moisissure et vice versa. Grâce à ce dimorphisme, ce microorganisme, peut aisément se soustraire aux mécanismes de défense liés à l'immunité cellulaire. En général, la forme levure est la forme saprophyte, ou la levure vie en symbiose avec l'organisme hôte ; alors que la forme moisissure mycélienne est la forme parasite et donc pathogène susceptible de favoriser l'invasion des tissus et des organes de l'hôte **(Bland, 1984).**

Le passage de la levure à un stade pathogène caractérisé par l'apparition des filaments mycéliens est sous l'effet de nombreux facteurs favorisants qui peuvent être intrinsèques ou extrinsèques. L'immaturité du système immunitaire aux âges extrêmes de la vie et le développement incomplet de la flore commensale dans la période néonatale, expliquent la fréquence du muguet chez les nourrissons et les personnes âgées. Toute altération de la muqueuse digestive telle que la sécheresse buccale, la dyskinésie œsophagienne et l'état inflammatoire associé aux colopathies semble favoriser la colonisation de la muqueuse digestive. De même, la charge en levure est augmentée chez les diabétiques en relation avec le taux élevé de glucose salivaire. Les candidoses digestives sont fréquentes chez les patients avec un dysfonctionnement de l'immunité : hypogammaglobulinémie en particulier en IgA, anomalie qualitative ou quantitative des polynucléaires, altération des lymphocytes bien démontrée dans la candidose muco-cutanée chronique et l'infection par le VIH (**Starosvetskii, 1988** ; **Annales de dermatologie et vénérologie, 2008**). Les facteurs extrinsèques sont également nombreux : utilisation des antibiotiques à large spectre modifiant la flore commensale, traitement abusifs aux corticoïdes et immunosuppresseurs, ainsi qu'au antiacides ou neuroleptiques diminuant la sialorrhée (production de salive) **(Park et al., 2016)**.

Les infections à Candida de la muqueuse buccale sont le résultat d'une interaction entre la virulence fongique et défenses de l'hôte. La prolifération épidermique et la réponse immunitaire des lymphocytes-T sont exprimés par l'hôte pour combattre l'invasion fongique. *Candida albicans* peut exprimer au moins trois types de molécules (agglutin-like sequence ; intégrines ; lectines et protéines spécifiques de la paroi) d'adhérence surface à coloniser les surfaces épithéliales **(Dignani et al., 2003),** ainsi qu'une enzyme protéinase d'aspartyl susceptibles de faciliter la pénétration initiale et plus profonde des cellules de l'épithélium par la formation d'hyphes. La pathogenèse requiert une expression différentielle des facteurs de virulence à chaque nouvelle infection ; ce qui confère un potentiel pathogène très élevé à cette espèce microbienne **(Millon et al., 2002).**

La maladie est très fréquente chez les nourrissons, les jeunes enfants, ainsi que les sujets âgés et les personnes immunodéprimées et se manifeste en générale par une irritation au niveau de la face interne des joues et des lèvres, au niveau des gencives, du pharynx et des commissures labiales , associée à des rougeurs, allant jusqu'à l'ulcération. Parfois, des tâches blanchâtres, plus ou moins pâteuses peuvent siéger sur la langue et le palais. Un traitement est nécessaire pour rétablir l'équilibre de la flore locale **(Hordé et al., 2014)**. Chez un sujet immunocompétent le traitement fait appel souvent aux antifongiques locaux (amphotéricine B en suspension buvable; nystatine et miconazole en gel buccal). En cas d'atteinte bucco-pharyngienne ou bucco-œophagienne, la désinfection du tube digestif peut être obtenue par la prise associée d'amphotéricine B en gélules (6 à 8 par jour en 2 à 3 prises) ou de miconazole en comprimés (6 par jour en 3 à 4 prises). Chez le sujet immunodéprimé un traitement systémique peut être préféré d'emblée ou après échec d'un traitement local préalable. Les antifongiques utilisés sont: le fluconazole; le kétoconazole et l'itraconazole **(Agbo-Godeau et Guedj, 2005)**.

Chapitre III :
Les principaux composés bioactifs des plantes médicinales

Nombreux sont les composés bioactifs des plantes médicinales qui ont des vertus thérapeutiques très intéressantes et qui regroupent en particulier les composés phénoliques et les huiles essentielles.

1. Les composés phénoliques

Les poly phénols sont des molécules synthétisées par les végétaux et appartiennent à leur métabolisme secondaire. Ils comptent plus de 8000 composés différents **(Middleton et al., 2000)** et ils participent surtout à la défense des plantes contre les agressions environnementales; c'est pourquoi ils sont notamment retrouvés à 80% dans les tissus épidermidiques des plantes **(Middleton et al., 2000).**

D'après **Duval et Duval, (1978) ; Harbonne, (1994)**, l'expression «composés phénoliques » regroupe de nombreuses substances organiques de structure aromatique portant un groupement hydroxyle; la molécule mère est **le phénol** dont le corps cyclique est de forme C 6 H 5-OH **(Figure 04).**

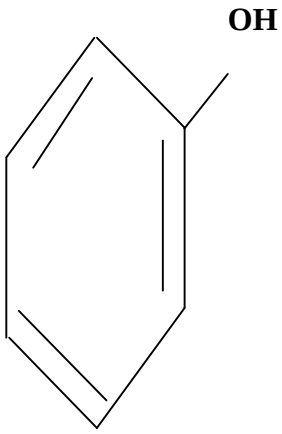


Figure 04. Représentation de la structure de base des phénols simples **(D'après Richter, 1993).**

Ces substances se reconnaissent donc à la présence d'un ou de plusieurs groupes hydroxyles, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique et souvent ils se présentent liés à des glucides. En raison qu'ils contiennent du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, ils sont rapprochés des glucides et des huiles essentielles **(Richter, 1993).**

1.1. Classification des produits phénoliques :

Selon **Harbonne (1994)**, les produits phénoliques peuvent être classés selon le nombre d'atome de carbone **(Tableau 08)** et de même selon leur nature en :

-Composés phénoliques largement répandus.

-Composés phénoliques peu répandus.

-Composés phénoliques présents sous forme de polymères.

Tableau 04. Classification des produits phénoliques d'après le nombre d'atome de carbone **(D'après Harbonne, 1994).**

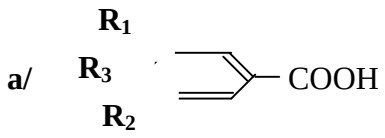
Nombre de carbones	**Squelette de base**	**Classe**	**Exemples**
6	C6	Phénols simples Benzoïques	Catéchol, hydroquinone 2-6-d-méthoxybenzo-quinone.
7	C6-C1	Acides phénoliques	P-hydroxybenzoique, Salicyliques.
8	C6-C2	Acetophénones Acides phénilacetiques	3-acetyle-6- methoxybenzaldehyd p-hydroxyphenylacetique.
9	C6-C3	Acides hydroxy cinnamiques Phenylpropenes Coumarins Isocoumarins Chromones	Caféique, Férulique, Myristicine, Eugenol, Umbelliferone, Aescculetin, Bergenine, Eugénie.
10	C6-C4	Naphtoquinones	Juglone, Plumbagin.
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferine
14	C6-C2-C6	Stilbenes Anthraqinones	Acide cunularique Emodin
15	C6-C3-C6	Flavanoides Isoflavanoides	Quercéine, Malvine Genistein
18	(C6-C3) 2	Lignanes	Podophyllotoxine
30	(C6-C3-C6)2	Biflavonoides	Amentoflavone
N	(C6-C3)n (C6)n (C6-C3-C6)n	Lignines Catéchol, Melanines Flavanes (tanins condensées)	----------

1. 1.1. Composés phénoliques largement répandus

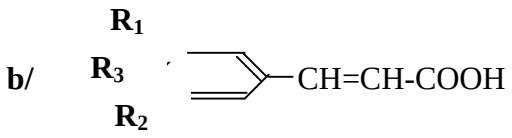
1.1.1.1. Acides phénoliques et coumarines :

a) Acides phénoliques :

La dénomination générale d'acides phénoliques englobe d'une part les composés dérivant des acides benzoïques en C7, et d'autre part ceux dérivant des acides cinnamiques en C9 qui sont en nombre de quatre (acides P-coumariques, caféiques, feruliques et sinapiques). En générale, tous les organes végétaux contiennent au moins l'un des deux. Par ailleurs, les acides P-coumariques et caféiques sont parmi les composés phénoliques les plus répandus chez les végétaux par comparaison aux acides feruliques et sinapique **(Ribereau, 1968 ; Schuster et Herrman, 1985) (Figure 05).**



Acide	R_1	R_2	R_2
p-hydroxybenzoique	H	OH	H
protocatechique	H	OH	OH
vanillique	CH3O	OH	H
syringique	CH3O	OH	CH3O
gallique	CH3O	OH	OH

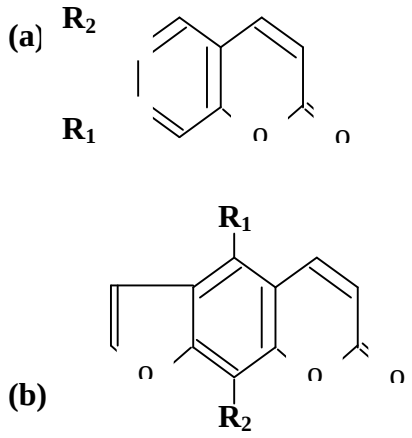


Acide	R_1	R_2	R_2
Pcoumarique	H	OH	H
Caffeique	H	OH	OH
ferulique	CH3O	OH	H
sinapique	CH3O	OH	H

Figure 05. Numérotation chimique des acides phénoliques dérivants des a / acides benzoïques ; b/ acides cinnamiques **(Shahidi et Naczk,1995).**

b) Coumarines :

Les différentes coumarines (coumarines simples et furanocoumarines) dérivent particulièrement des acides Cinnamiques **(Dean, 1963)** et leur répartition est assez limitées chez les végétaux **(Ribereau, 1968 ; Murray et al., 1982).** Selon **Guignard et al., (1985),** les coumarines sont très répandues dans les racines et les écorces des plantes où plus de 500 composés ont été répertoriées. L'odeur caractéristique de certaines espèces végétales provient en faite de la coumarine qui les constituent **(Richter, 1993) (Figure 6).**



Coumarine	$R_1=R_2=H$
Umbelliforme	$R_1=OH$, $R_2=H$
Aesculine	$R_1=R_2=OH$
Seopoletine	$R_1=OH$, $R_2=OCH_3$
Psoralene	$R_1=R_2=H$
Xanthorine	$R_1=H$, $R_2=OCH_3$
Bergaptene	$R_1=OCH_3$, R2=H
Bergaptol	$R_1=OH$, $R_2=H$

Figure 06. Représentations chimiques des Coumarines simples (a) et des Furanocoumarines(b) **(Ribereau, 1968 et Shahidi et Naczk,1995).**

1. 1.1.2. Flavonoïdes :

Comme le laisse supposer, sa dénomination du nom latin flavus, ce groupe comprend des composés de couleur jaune **(Richter, 1993).**

D'après **Guignard et al., (1985)** les Flavonoïdes sont des composés généralement colorés, très répandus chez le règne végétal ou il est recensé plus de 4000 substances**. (Middleton et al., 2000)**. Ils sont retrouvés dissout dans les vacuoles cellulaire à l'état d'hétérosides ou comme constituant de plastes, en particuliers les chromoplastes **(Richter, 1993).**

Les Flavonoïdes sont des hétérosides présentant une séquence de base apparentée aux diphénypropanes (C6+C3+C6) et dont les niveaux d'oxydations du cycle central en C3 souvent de nature pyrane est variable d'un composé à un autre **(Macheix et al, 1989 ; Mazza et Miniat,1994)** . Les plus répandus sont les flavanes jaunes ou orangées, et les anthocyanes rouges ou bleus qui sont des composés hydrosolubles et pouvant s'accumuler dans les vacuoles cellulaires **(Heller et al., 1998) (Figure 07).**

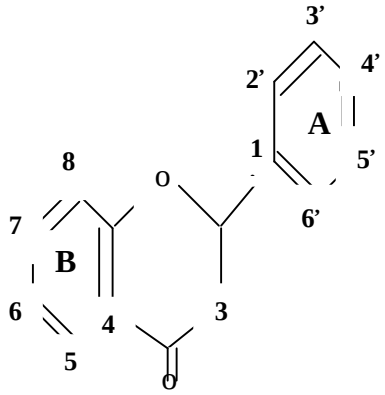


Figure 07. Structure de base des Flavonoïdes (**Richter, 1993).**

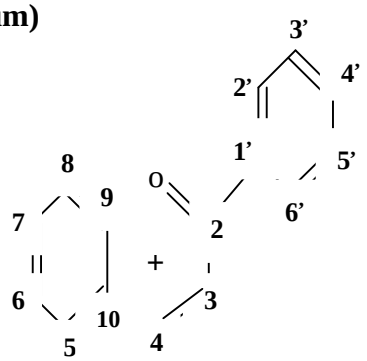
a) Anthocyanes :

Ce sont des substances solubles dans l'eau et responsables de la couleur rouge, bleu et violet de la majorité des plantes en particulier des fleurs et des fruits **(Mazza et Miniati, 1994).** Les anthocyanes ont une structure en C_6-C_3-C_6 **(Figure08)** et comptent plus de 200 composés différents dans le règne végétal **(Ribereau, 1968 ; Macheix et al., 1989).**

La structure de base de ces composés est le cation flavylium (2-phenylbenzopyrillium) susceptible de s'associer à des monoglycosides et/ou diglycosides de pelargonidine, cyanidine, malvidine et peonidine **(Brouillard et al., 1997; Shahidi et Naczk, 1995).**

La couleur de chaque pigment dépend du model d'hydroxylation et de methoxylation du cation flavylium **(Wang et Mazza, 2002).**

(2-phenylbenzopyrillium)



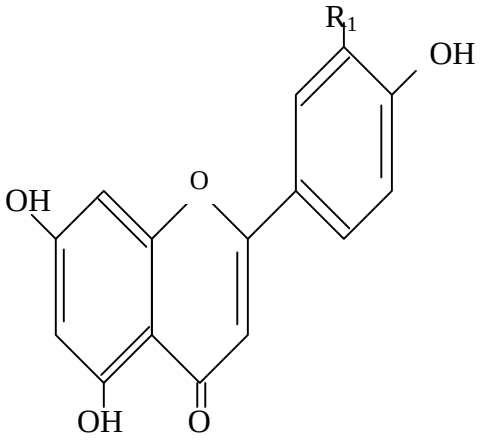
	3	5	6	7	3'	4'	5
Pelargonidine (Pg)	OH	OH	H	OH	H	OH	H
Cyanidine (Cy)	OH	OH	H	OH	H	OH	H
Delphinidine (Dp)	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH
Peonidine (Pn)	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H
Petunidine (Pt)	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH
Malvidine (Mv)	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe

Figure 08. Principaux composés dérivants des anthocyanidines.
(Andersen et Jordheim, 2006)

b) Flavones et Flavonols :

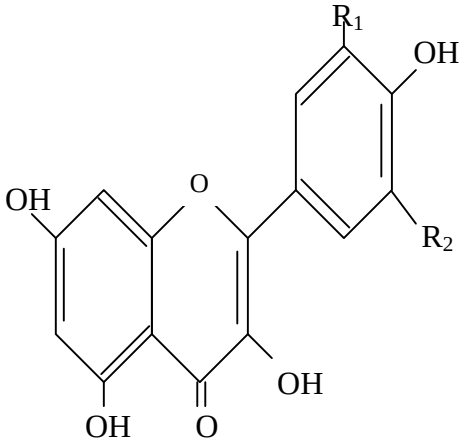
Les composés de cette classe de flavanoides présentent une double liaison en C2 et C3 **(Figure 09)**. Les flavones de teinte jaune en général sont caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle (H3CO-) en position 4 et d'un groupement glucidique le plus souvent relié en position 7.

La seul différence entre les flavones et les flavonols est la présence du groupe hydroxyle en C3 dans les flavonols le caractérisant de : 3-hydroxy flavonols **(Herrmann., 1976 et Siewek et al., 1984).**



Apigénine (R_1=H)
Lutéoline (R_1= OH)

Flavones



Quercétine (R_1= OH, R_2=H)
Kaempférol (R_1= R_2=H)
Myricétine (R_1= R_2= OH)

Flavonols

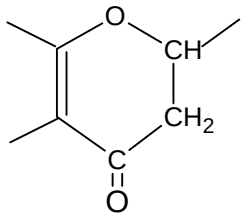
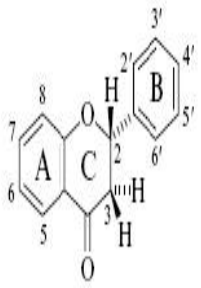
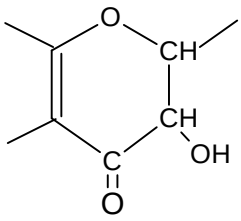
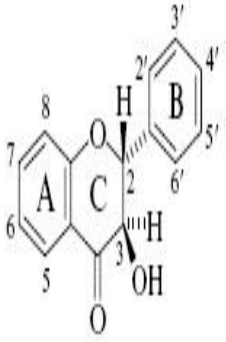
Figures 09. Structure chimique des flavones et des flavonols
(Bakker et timberlake, 1997 ; Andersen et Markham, 2006)

c) Flavanones et flavanonols

Les flavanones et flavanonols sont caractérisés par la présence d'une liaison saturée au niveau du 3^{éme}C et d'un atome d'oxygéne en position 4 de la structure (C3) de base des flavanoides (C6+C3+C6).

Les flavanonols diffèrent des flavanones par le groupement hydroxyle en position 3 les caractérisant ainsi soit de 3 hydroxyflafanones ou de dihydroflavonols **(Kefford et Chandler, 1970) (Tableau 05).**

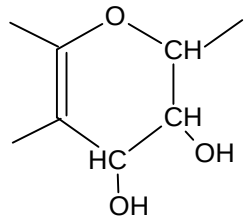
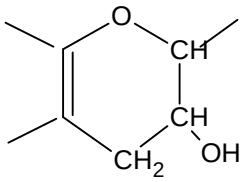
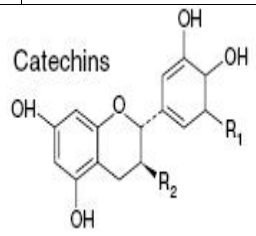
Tableau 05. Représentation chimique de certaines substances flavanones et flavanonols **(Ribereau, 1968 ; Andersen et Markham, 2006).**

Structure de la chaine centrale (C_3)	**Structure chimique**	**Nom de la famille**	**Principales substances**	
			Nom	**Hydroxylation**
 A-CO-CH_2-CHOH-B		Flavanones (Dihydroflavones)	Naringénine Butine Eriodictyol	**5,7, 4'** **7,3', 4'** **5,7,3', 4'**
 A-CO-CHOH-CHOH-B		Flavanonols ((Dihydroflavonols)	Fustine Taxifoline	**7,3', 4'** **5,7,3', 4'**

d) Flavanols

Ces flavanoides sont saturés en 3-C et présentent des groupements hydroxylés tels les flavanes-3,4 diols et les flavanes-3ols. Une douzaine de flavanes-3ols ont été isolées et identifiées des plantes incluant particuliérement : (+) catéchine, (-) épicatéchine, (+) gallocatéchine et (-) épigallocatéchine. **(Macheix et al., 1989) (Tableau 06).**

Tableau 06. Principaux composés flavanols **(Ribereau, 1968 ; Andersen et Markham, 2006).**

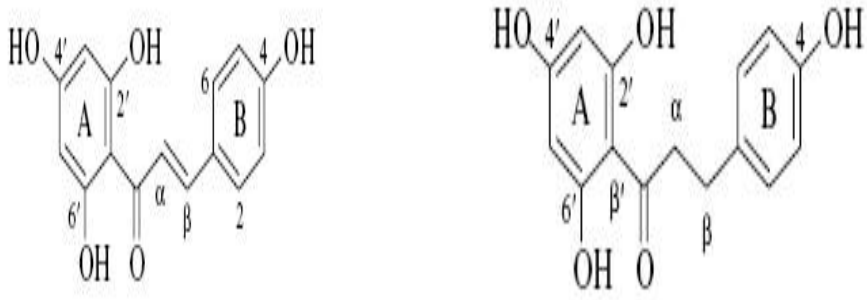
Structure de la chaîne centrale (C_3)	**Nom de la famille**	**Principale substances**	
		Nom	**Hydroxylation**
 A-CHOH-CHOH-CHOH-B	Leucoanthocyanidines (flavanodiols-3,4)	Leucosyanidine Leucodelphinidine	**5,7,3' ,4'** **5,7,3' ,4' ,5'**
 A-CO-CHOH-CHOH-B	 (+)-Catechin (C) ($R_1 = H$, $R_2 = OH$) (−)-Epicatechin (EC) ($R_1 = H$, $R_2 = H$) (−)-Epigallocatechin (EGC) ($R_1 = OH$, $R_2 = OH$) (−)-Epicatechingallate (ECG) ($R_1 = H$, $R_2 = -OC-Ph(OH)_3$) (−)-Epigallocatechingallate (EGCG) ($R_1 = OH$, $R_2 = -OC-Ph(OH)_3$) (−)-Gallocatechin (GC) ($R_1 = -OC-Ph(OH)_3$, $R_2 = H$)		

e) Chalcones, Dihydrochalcones et Aurones:

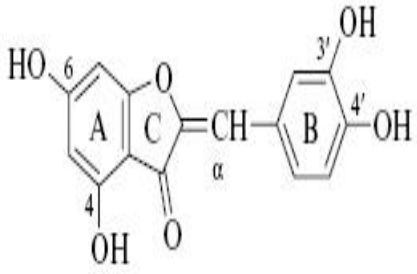
Les chalcones, les dihydrochalcones, et les aurones sont trois classes de flavonoïdes naturelles comportant plus de 900 composés distincts **(Andersen et Markham, 2006).**

Ce sont des composés à structure C_6-C_3-C_6, mais l'élément en C_3, ou bien n'est pas sous forme d'hétérocycle (chalcones et dihydrochalcones), ou bien sous forme d'hétérocycle oxygéné (Aurones) **(Figure 10).**

Calchones, dihydrochalcones et Aurones sont en générale des pigments de couleur jaune et orange des fleurs; mais leurs distribution peut être trouvée dans différents tissus végétaux **(Ribereau, 1968)**.



Chalcones **Dihydrochalcones**

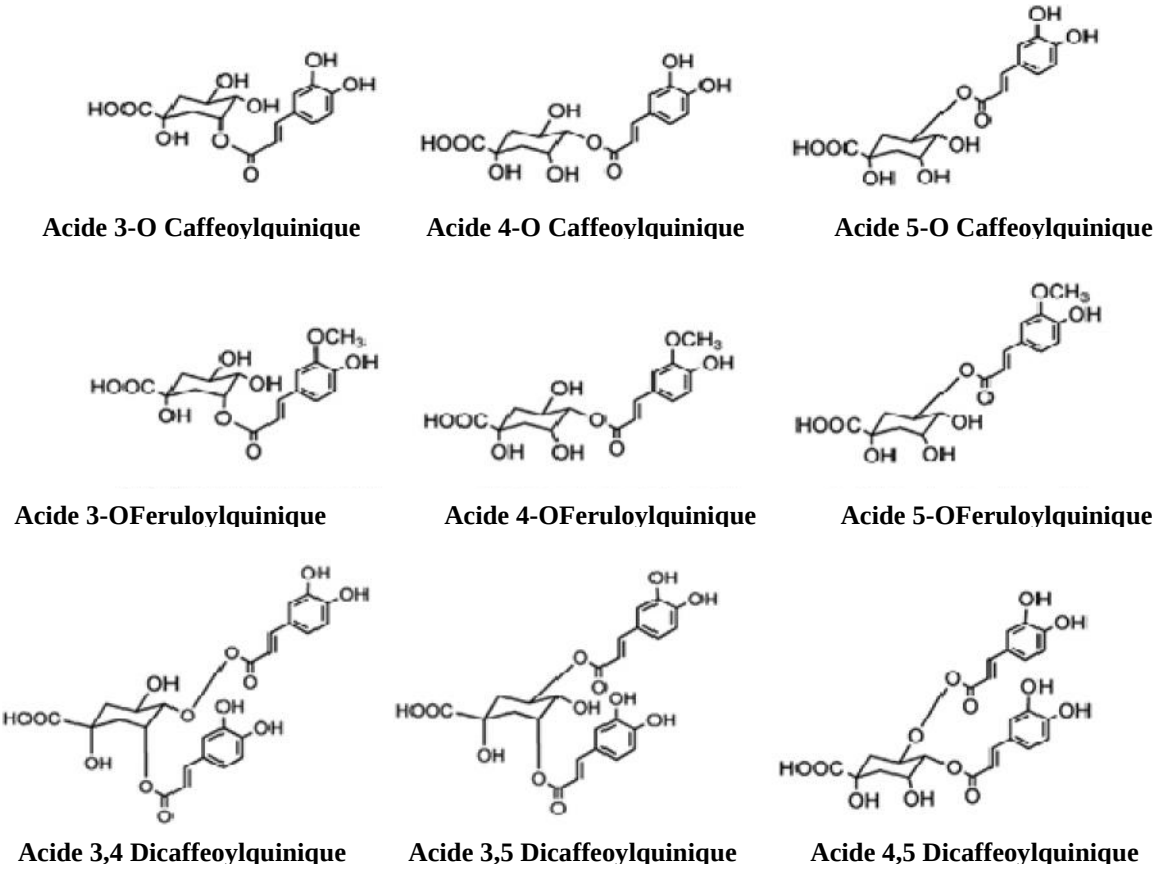


Aurones

Figure 10. Structure chimiques de base des chalchones, dihydrochalcones et aurones **(Veitch et Grayer , 2006).**

1.1.1.3. Acides chlorogéniques

Le terme « acides chlorogéniques » regroupe des polyphénols issus d'une réaction biochimique d'estérification, qui se produit entre les acides hydroxycinnamiques et le quinate **(Macrae et al., 1993 ; Campa, 2006)**. Ils sont retrouvés particulièrement dans le café, ainsi que la plupart des fruits **(Van Buren, 1970)** et leur dégradation est responsable de l'amertume dans certaines denrées alimentaire comme le café lors d'une torréfaction exagérée **(Leloup et al., 1995).** Les principaux sous-groupes qui représentent 98% de tous les acides chlorogéniques les plus fréquemment rencontré chez les végétaux sont surtout les esters d'acides quiniques avec de l'acide caféique (tels les acides caféoylquiniques et les acides dicaffeoylquinic) ou avec de l'acide férulique (dont: les acides feruloylquinic). Le reste des composés sont dits mineurs, comme les esters des acides feruloyl-caféoylquiniques, les acides caffeoyl-feruloylquinic et le p- acide coumarique. **(Clifford, 1985 ; Morishita et al., 1989) (Figure 11).**



Acide 3-O Caffeoylquinique **Acide 4-O Caffeoylquinique** **Acide 5-O Caffeoylquinique**

Acide 3-OFeruloylquinique **Acide 4-OFeruloylquinique** **Acide 5-OFeruloylquinique**

Acide 3,4 Dicaffeoylquinique **Acide 3,5 Dicaffeoylquinique** **Acide 4,5 Dicaffeoylquinique**

Figure 11. Principaux acides chlorogéniques **(Clifford, 1985)**

1.1.2. Composés phénoliques peu répandus :

Selon **Ribereau (1968),** ce groupe de composés phénoliques regroupe des substances qui se retrouvent rarement dans la nature, dont particulièrement :

-Composés phénoliques en C_6 (tels le catechol), en C_6-C_1 (tels l'acide salicylique), en C_6-C_2 (comme le 3 acetyl-6 methoxybenzaldehyde), ainsi qu'en C6-C3 , C6-C4, C6-C1-C6 et C6-C2-C6.

-Benzoquinones, naphtoquinones et anthraquinones.

-Biflavonyles

-Bétacyanines et Béthaxanthines (C_{18}) **(Figure 12).**

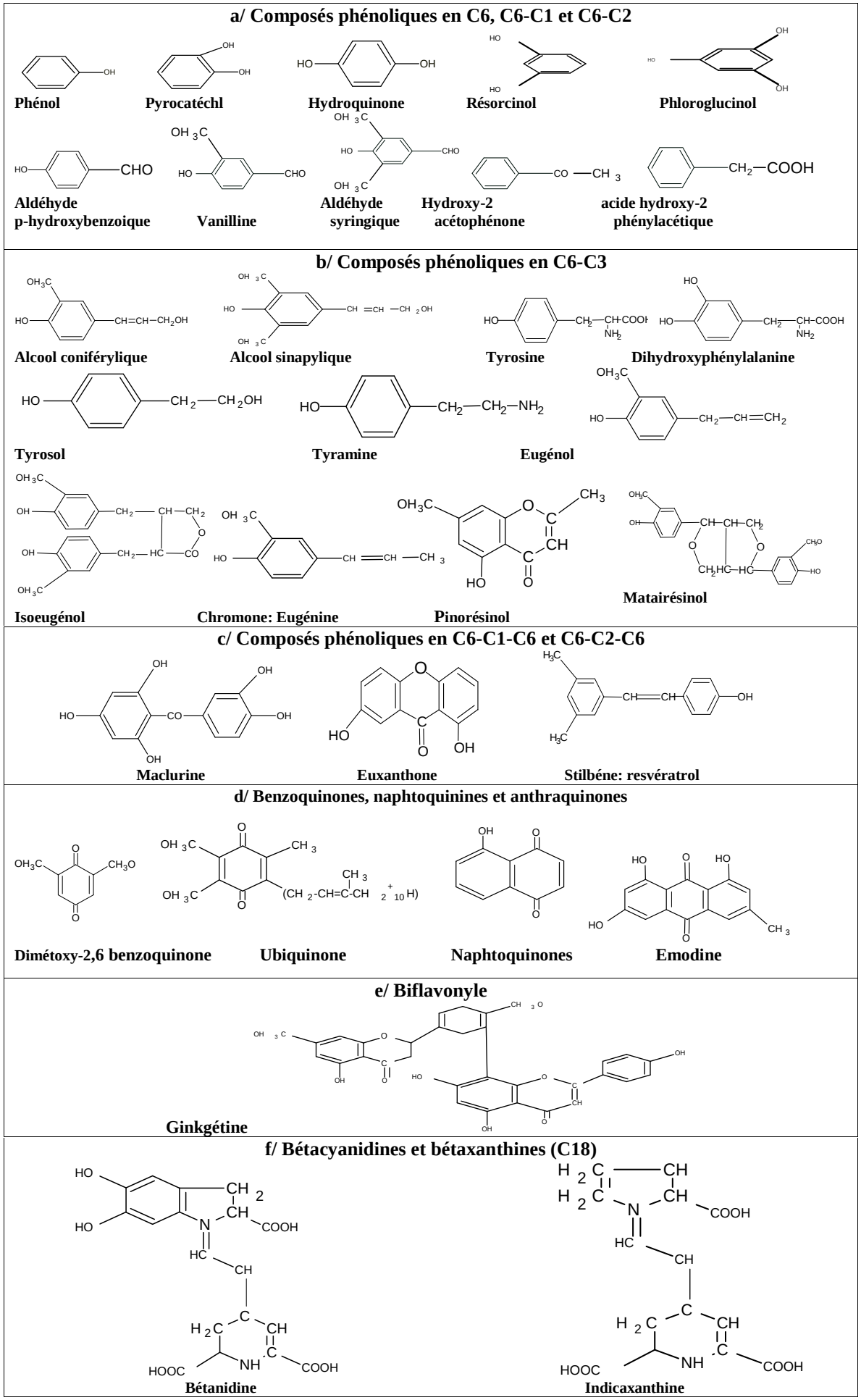


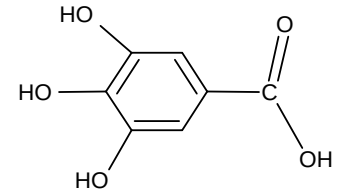
Figure 12. Composés phénoliques peu répandus

1.1.3. Composés phénoliques présents dans la nature sous forme de polyphénols:

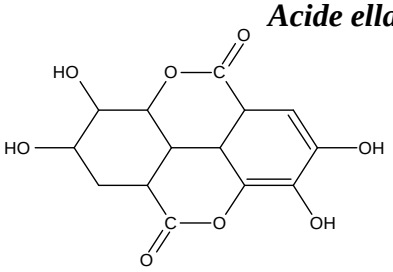
II existe deux types de composés phénoliques qui ne sont pas présents dans les tissus végétaux à l'état libre ou sous forme de combinaisons simples, mais sous forme de polymère ayant des structures plus au moins complexes ; ce sont les tanins et les lignines **(Ribereau, 1968; Cheftel, 1980 ; Metche et Girardin, 1980).**

1.1.3.1. Tanins :

Ces composés regroupent les tanins hydrolysables ou tannoïdes et les tanins condensés vrais non hydrolysables. Les tanins hydrolysables (ou pyrogalliques), résultent d'une estérification des cinq fonctions alcooliques du glucose par divers acides polyphénoliques dont particuliérement l'acide gallique et l'acide éllagique dimére du précèdent. Parcontre, tanins condensés (flavaniques et/ou catéchiques) constituent une famille de substances polyphénoliques hétérogénes formée de 4 à 6 molécules de flavanes **(Figure 13).**

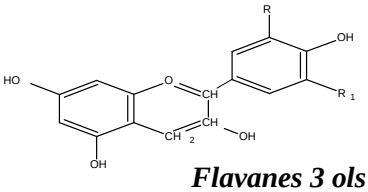


Acide ellagique



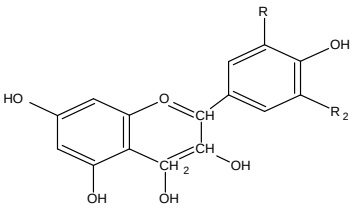
Acide gallique

a/Principaux acides poly phénoliques des tanins hydrolysables



R=OH, R'=H Catechine
R=R'=OH Gallocatechine

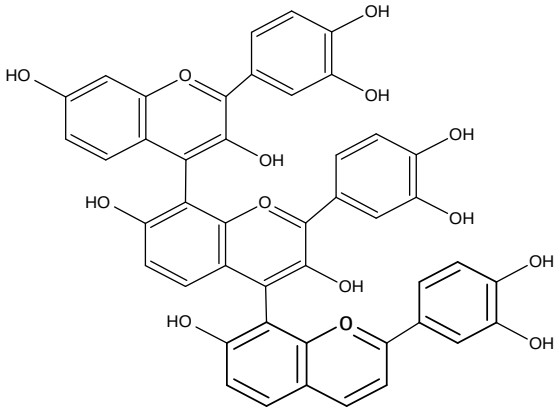
Flavanes 3 ols



R=OH, R'=H Leucocyanidi e
R=R'=OH Leucodelphinidine

Flavanes 3-4 diols

b/ Principaux flavanes hydroxylés des tanins condensés.



c/Structure chimique des tanins condensés

Figure 13. Représentation chimique des tanins hydrolysables et condensés **(Monties, 1980).**

Les tanins ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'ou leurs large utilisation dans le tannage des peaux, ils précipitent également les protéines de la salive ce qui explique leur action astringente. **(Cheftel, 1980)**

Ces poly phénols de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da forment dans les tissus végétaux des complexes avec certains polysaccharides, acides nucléiques et alcaloïdes constitutifs. **(Ozawa et al., 1987 ; Shahidi et Naczk, 1995).** D'après **Hillis (1987) ; Scalbert et al., (1988)**, les tanins condensés sont rencontrés dans les plantes des gymnospermes et des angiospermes ; alors que les tanins hydrolysables sont présents exclusivement chez les espèces appartenant à la classe des dicotylédones. Leur disparition lors de la maturation chez de nombreux fruits indique qu'ils peuvent, comme de nombreux autres composés phénoliques, être réutilisés par les plantes **(Guignard et al., 1985).**

1.1.3.2. Lignines:

Les lignines sont des substances non glucidiques se déposant dans certaines cellules végétales **(Ribereau, 1968 ; Guignard et al., 1985 ; Richter, 1993)** au niveaux des parois cellulaires secondaires en leur conférant une haute résistance à la traction et la pression. La proportion de cette dernière dans la composition des parois cellulaires atteint de 20 à 35% **(Richter, 1993).**

La structure de la molécule lignine n'est pas entièrement connue **(Ribereau, 1968 ; Guignard et al., 1985 ; Richter, 1993)**, bien qu'il est établi qu'elle est un mélange de polymères amorphes de trois constituants fondamentaux de type C6-C3 à savoir : les alcools hydroxycinnamiques, coniféryliques et sinapylique **(Richter, 1993).**

1.2. Implication des phénols chez les végétaux :

Les substrats phénoliques sont responsables en premier lieu du brunissement enzymatique chez les végétaux **(Robert, 1995).**

Des travaux plus anciens **(Bahorun et al., 1996)** ont montré aussi que les phénols sont associés à de nombreux processus physiologiques des plantes : croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation, qualité alimentaire des fruits. Les anthocyanes et certains flavonoïdes participent à la coloration des fruits murs; alors que d'autres polyphénols incolores tels que les flavonols et les flavanones peuvent interagissent avec des anthocyanes et altérer par copigmentation la couleur des fleurs et des fruits **(Brouillard et al., 1997).**

Les composés phénoliques déterminent également la saveur des fruits: les tanins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non murs; alors que les flavanones sont responsables de l'amertume des citrus et peuvent donner naissance, par transformation chimique à des dihydrochalcones à saveur sucrée **(Dubois et al., 1977).**

Il est bien établi que la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec sa richesse en composés phénoliques **(Rees et Harbonne, 1985 ; Harbonne et Baxter, 1999 ; Ren et al., 2001).**

De même, les composés phénoliques contribuent dans la résistance des plantes aux stress biologiques résultants des infections fongiques, bactériennes et virales. Ainsi, l'acide chloroginique semble exercer un effet inhibiteur notable sur la germination des spores de ***Botrytis*** et la croissance de ***mycélium*** **(Shahidi et Naczk, 1995).**

1.3. Produits phénoliques et santé Humaine :

Les poly phénols sont des composés naturels des plantes et faisant partie intégrante de l'alimentation quotidienne pour de nombreux êtres vivants. En effet, l'homme consomme jusqu'à 1g de ces composés par jour **(Bahorun et al., 1994; Gee et Johnson, 2001)**. Ces substances sont dotées d'activités biologiques aussi diverses qu'intéressantes (hépato-protectrices, anti-inflammatoires, anti-allergiques, antithrombotiques, antivirales, anticarcinogène, antibactériennes, anti-radicaux libres, résistance de la plante aux insectes et autres ravageurs…) d'où l'intérêt qu'elles ont suscité en vue de les utiliser dans divers domaines: médical, pharmaceutique, nutritionnel, lutte biologique…etc. **(Middleton et al., 2000 ; Goutier et al., 2006) (Tableau 07).**

Les études entreprises à ce jour et cherchant à évaluer le lien entre certaines maladies et la consommation des flavonols, flavones et/ou d'autres flavonoïdes ont rapportés des résultats contradictoires. Quelques auteurs suggèrent un effet protecteur possible des flavonoïdes contre les maladies vasculaires **(Knekt et al., 1996 ; Mennen et al., 2004)** et certains cas de cancers **(Knekt et al., 1997 ; Sun et al., 2002)**; alors que d'autres démontrent au contraire un risque même accru de ses maladies chez les populations étudiées **(Rimm et al., 1996 ; Sesso et al., 2003).**

Il est bien établi que les poly phénols possèdent des propriétés anti-oxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarettes, polluants, infection), tels que $O_2^{\cdot}$ (Anion superoxide), $HO_2^{\cdot}$ (Radicale perhydroxy), H2O2 (Peroxyde d'hydrogène), $OH^{\cdot}$

(Radical hydroxyle), RO· (Radicale alkoxyle), ROO· (Radicale peroxyle) **(Middleton et al., 2000 ; Wang et Mazza, 2002).** Ils renforcent nos défenses naturelles contre le stress oxydant et préviendraient ainsi diverses maladies chroniques telles que cancers et maladies cardiovasculaires **(Gee et Johnson, 2001).** Il a été même démontré que la consommation des régimes à base de soja riches en isoflavones réduit les risques de cancer de colon **(Dixon, 2004 et Holzbeierlein et al., 2005).**

Tableau 07. Activités biologiques des composés polyphénoliques.
(D'après Bahorun et al., 1994)

Polyphénols	Activités	Auteurs
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes	Didryetal, 1982. Ravnetal, 1984. Hayase et Kato, 1984.
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses	MabryetUlubelen, l980.
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et Diurétiques Antioxydantes	Stavric et Matula, 1992. Dasetal, 1994. Bidet et al., 1987. Bruneton, 1993. Aruoma et al., 1995.
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux	Bruneton, 1993.
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	Masquelier et al, 1979. Bahorun et al, 1994 et 1996. De Oliveira et al., 1972. Browmee et al., 1992. Kreofsky et al., 1992.
Tannins galliques et Catéchiques	Antioxydantes	Okudaetal, 1983. Okamura et al, 1993.

Les mécanismes exacts d'action des polyphénols dont particulièrement les flavonoides et les isoflavanoides dans la prévention des cancers sont encore mal connus; mais leurs effets potentiels anticancéreux ont fait l'objet d'un très grand nombre de travaux. Actuellement, plusieurs investigations sont consentis surtout à la compréhension du rôle des isoflavonoides dans le traitement de certains cas de cancers hormono dépendent tels le cancer du sein et de la prostate **(Adlercreutz, 2002 ; Dixon, 2004 ; Magee et Rowland, 2004 ; Holzbeierlein et al., 2005).**

En plus des bienfaits détaillés précédemment des poly phénols et leurs larges contribution sur le bien être de l'organisme, il a été rapporté que la consommation de 60 à 61.8 mg/jour d'extrait d'isoflavones de soja durant une période variant de 4 à 12 semaines réduit remarquablement les risques d'ostéoporose chez les femmes post ménopausées **(Scheiber et al., 2001 ; Uesugi et al., 2002).** De plus, des études plus récentes menées invivo chez l'Homme ont montrée que l'augmentation des niveaux d'isoflavones et de flavonoides

dans les régimes renfermant des quantités identiques en protéines de soja diminue proportionnellement les concentrations oxydées d'LDL-c plasmatique à l'origines de graves problèmes coronariennes et cardiovasculaires **(Middleton et al., 2000 ; Zhuo et al., 2004).** Les flavonoides réduisent en outre l'agrégation plaquettaires et certaines inhibent aussi la production de thromboxane ce qui contribue a lutter contre les phénomènes de thrombose. **(Middleton et al., 2000)**

1.4. Propriétés antimicrobienne et antifongique des poly phénols :

L'échec des microorganismes à coloniser les plantes a souvent été attribué à la présence des composés inhibiteurs dans les tissus**.** Ainsi, il est bien établi qu'à l'état frais, l'oignon s'oppose efficacement à la prolifération microbienne et peut même jouer un rôle antimicrobien, notamment vis à vis des bactéries gram positives **(Bohm, 1975; Sharma et al., 1979 ; Bohm, 1993).**

D'après **Shahidi et Naczk (1995),** plusieurs composés antibactériens notamment phénoliques isolés des tissus des plantes jouent un rôle dans la résistance contre certaines pathologies connues ; l'acide chlorogénique, l'acide protocatéchique et le catéchol (acide phénolique) exercent des effets inhibiteurs sur la production de toxine de ***Clostridium botulium*** type A et B, la germination des spores de ***Botrytis*** et la croissance de mycélium.

De plus, certains extraits acétoniques riches en di-C-glycosyliques et C-diglycosylflavones ont montrés des effets antibactériens sur deux bactéries gram positives : ***Sarcina lutea*** et ***Bacillus subtilis***; alors que les extraits éthanoliques riches en mono C -glycosylflavones ont dévoilé un effet antibactérien sur une seule espèce bactérienne gram négative à savoir : ***Escherichia coli***. Ces extraits n'ont pas d'effets inhibiteurs sur les germes ***Bacillus pumilus, Brodetella brochiseptica,*** *et* ***Staphylococcus aureus***. (**Miyaichi et Tomimori, 1994).** D'autre part, **(Afifi et al., 1997)** rapportent que le C-Glycosylflavones peut exercer une activité antimicrobienne contre ***E. coli*** *et* ***Staphylococcus aureus***.

Par ailleurs, les flavonoides présentent une activité antifongique plus élevée en comparaison avec les équivalents d'isomères d'isoflavanes et d'isoflavones. En outre, les dérivés de l'acide benzoïque tel que le 2,5 acide dihydroxy-benzoique s'avèrent meilleur inhibiteur contre plusieurs moisissures **(Weidenborner et al., 1990).** D'après ces même auteurs les flavones et les flavonones exercent une activité antifongique plus élevée contre **l'*Aspergillus sp*** que les isoflavones. Aussi, il s'avére que les flavonones peuvent même inhiber la germination des spores de ***Rhizosporus Artocarpi*** et ***Fusarium Oxysporium***. En

revanche, les isoflavones ont montré une très haute activité antifongique contre ***Solani rhizoctoria*** et ***Sclerotium volfsu*****.**

Les isoflavonoides, particulièrement les pterocarpanes, isoflavanes, isoflavones et isoflavanones sont extrêmement toxiques pour les micoorganismes fongiques pathogènes. Ces flavonoïdes agissent en empêchant la germination des spores fongique, l'élongation et la croissance des hyphes en endommageant le système membranaire **(Skipp et Bailey, 1977 ; Higgins, 1978)**. D'autres composés tels que les isoflavonoides de kievitone et de phaseolline, les flavanes, les flavanones, le 3-hydroxyflavanones et les flavonols inhibent la croissance mycélien **(Van Etten et Bateman, 1971).**

Globalement, les phénols agissent par un mécanisme physique, physico-chimique, ainsi que biochimique sur les micro-organismes et leur action inhibitrice est basée surtout sur une multiplicité d'influences individuelles affectant : l'ADN, la synthèse protéique et l'activité de certaines enzymes cellulaires **(Luck et jager, 1997).**

Les phénols sont capables d'inactiver certaines enzymes clés dans le métabolisme cellulaire des espèces fongiques. Ces composés réagissent au niveau des membranes cellulaire en inhibant particulièrement les réactions de phosphorylation oxydative ; alors que d'autres sont des inactivateurs de certaines enzymes extracellulaires sécrétées par les champignons **(Lattanzio et al., 1994**). De même, les phénols peuvent attaquer la membrane cellulaire en la perforant, ce qui se traduit par une augmentation du flux des protons vers l'intérieur de la cellule et un accroissement des besoins en énergie des microorganismes (**Luck et jager, 1997).**

Le caractère lipophile des produits phénoliques est important pour lutter contre les espèces fongiques responsables de l'altération des fruits et légumes. Il détermine le pouvoir de pénétration de ses substances à travers les membranes biologiques. Ainsi, plus ces composés sont insolubles dans la fraction lipidique plus leurs activité antifongique est considérable **(Lattanzio et al., 1994)**. Apparemment, les différences de composition en lipides de la paroi cellulaire des microorganismes peuvent expliquer en partie les variations d'activités inhibitrices entre les bactéries gram positives et gram négatives **(Luck et jager, 1997).**

Les activités anti-microbiennes exigent aussi une certaine solubilité de ces substances phénoliques dans l'eau. En effet, **(Luck et jager, 1997)** avancent que le milieu aqueux favorise la croissance du micro-organisme et la substance anti-microbienne doit être impérativement hydrosoluble afin qu'elle puisse traverser la paroi de la cellule bactérienne.

2. Les huiles essentielles des plantes

2.1. Définition

Le terme huiles essentielles (HES) dérive de « quintaessentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante. Il s'agit des mélanges de substances organiques aromatiques, volatiles, odorantes, de consistance huileuse et sensible à la décomposition sous l'effet de la chaleur qu'on trouve naturellement dans diverses parties des végétaux **(Lardry et Haberkom, 2007).**

2.2. Localisation chez les plantes

Les huiles essentielles sont rencontrées dans divers familles botaniques et n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées. Le végétal aromatique fabrique de faibles quantités des huiles essentielles dans ses cellules excrétrices, de 0.01% à 5% de son poids, qu'il concentre ensuite dans des cellules (dite cellules à huiles essentielles) « Lauraceae», dans des poils sécréteurs « Lamiaceae», dans des poches sécrétrices « Myrtaceae ou Rutaceae » ou dans des canaux sécréteurs « Apiacieae ou Asteraceae » situées dans certaines parties (soit endogènes soit exogènes) du végétal à savoir : fleur, fruit, feuille, tige, rhizome, écorce…etc. (**Dorman et Deans, 2000).**

2.3. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive, à deux groupes de biosynthèse: le groupe de terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane **(Figure 14).** La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés **(Guenter, 1975).**

Les HES contiennent jusqu'à un millier de composés **(Belaiche, 1979)** dont 20 à 60 composés seulement peuvent se retrouver dans les plantes aromatiques à des concentrations différentes. De plus, les HES contenues chez ces plantes, sont caractérisés par deux ou trois composés majoritaires avec des concentrations nettement plus élevées (20-70%) par rapport

aux autres composés présents en faibles quantités. Généralement, les composés majoritaires déterminent le chémotype (ou chimiotype) à l'origine des propriétés biologiques des huiles essentielles de la plante **(Bakkali et** al., **2008).** Par exemple, les huiles essentielles chémotypes (H.E.C.T) de *Thymus vulgaris* à carvacrol est connue pour son activité antiseptique majoritairement ; alors que l'H.E.C.T. de *Thymus vulgaris* à thymol a des propriétés anti-infectieuses majeures **(Franchomme et *al.*, 2001).**

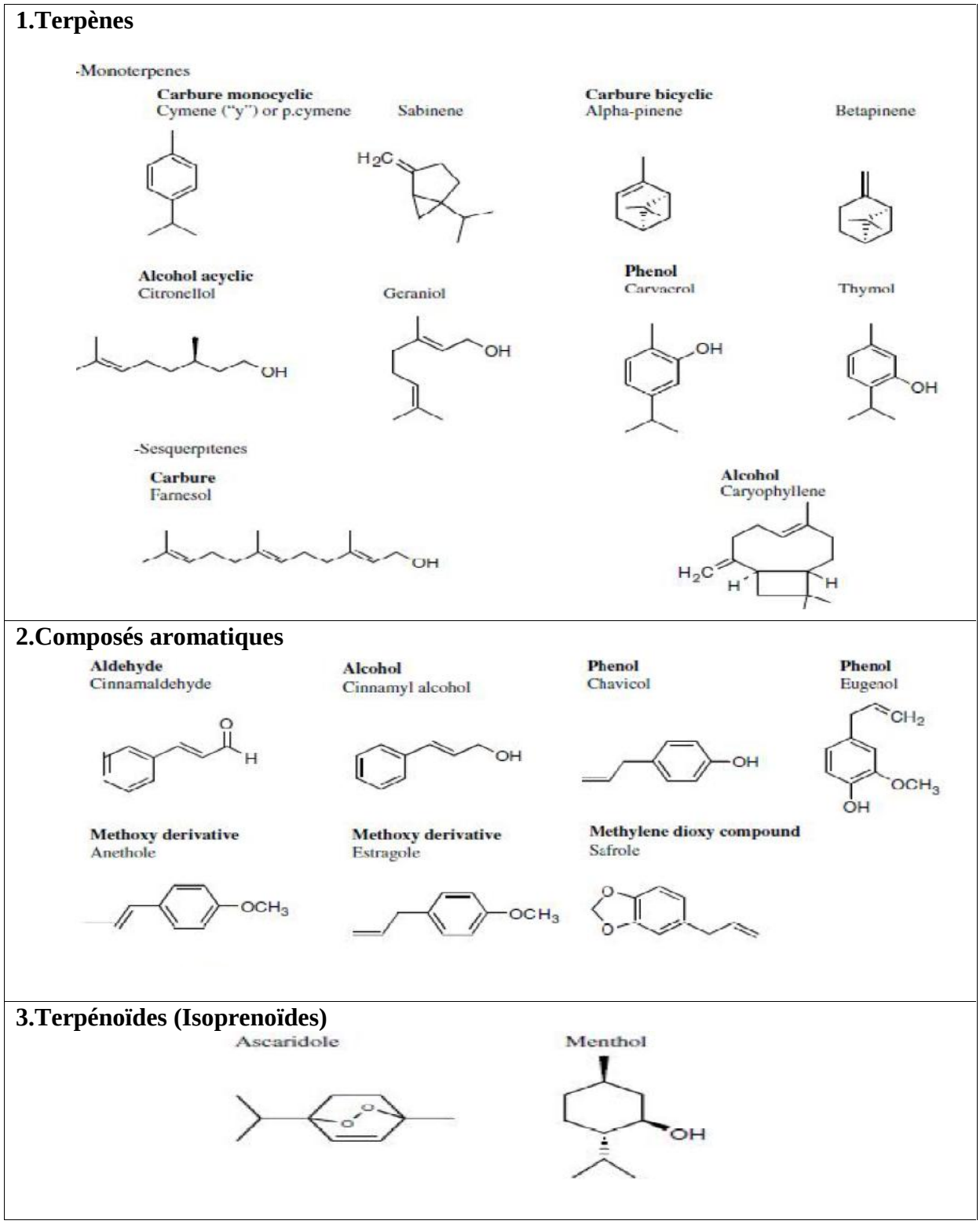


Figure 14. Importantes structures chimiques des huiles essentielles **(Bakkali et al., 2008).**

2.4. Facteurs de variation de la composition et du rendement des huiles essentielles

Les plantes d'origine peuvent produire des essences plus au moins différentes, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement en principaux composés bioactifs. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent peuvent être très différentes d'une huile essentielle à une autre**.** Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque ou extrinsèque **(Wegrzyn et Lamendinh, 2005).**

D'une façon générale, la teneur en huile essentielle ainsi que sa composition peuvent varier surtout selon l'espèce végétale considérée. Toutefois, pour une même espèce donnée la proportion des différents éléments constitutifs de l'huile essentielle peut varier de façon importante tout au long du cycle de développement végétatif. De plus, indépendamment du stade de récolte, tous les HES de la même espèce végétale peuvent renfermer une composition variable selon leurs localisation dans les différentes parties de la plante (fleur, feuille, racine, tige, écorce…etc.) (**Dorman et Deans, 2000 ; Fellah et Clifford, 2006)**.

Par ailleurs, il est bien établi qu'une même espèce végétale peut fournir des huiles essentielles de compositions chimiques différentes **(Couic-Marinier et Lobstein, 2013)** dues surtout au mode d'extraction utilisé et à certains facteurs environnementaux(altitude, ensoleillement, nature du sol, saison…) **(Wegrzyn et Lamendinh, 2005).** En effet, un climat sec et ensoleillé favorise leur production et constitue la cause principale pour laquelle les plantes sont plus riches en huiles essentielles. Le taux d'humidité, la pluviométrie et les conditions édaphiques (composition du sol) représentent aussi autant de facteurs potentiels qui peuvent faire varier la composition chimique en HES d'une plante aromatique **(Fellah et Clifford, 2006).** Pour la même espèce, de même génotype et de même stade de développement, les principaux facteurs extrinsèques dont le climat (température et lumière) et la composition du sol peuvent engendrer des modifications quantitatives et qualitatives importantes en huiles essentielles. La composition chimique en huiles essentielles peut varier aussi en fonction du cycle circadien et des saisons **(Anton et Lobstein, 2005).** L'heure et le moment de l'année sont également des facteurs importants qu'il faut prendre en considération lors de la récolte du matériel végétal **(Lahlou, 2004).**

2.5. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Il est bien connu que les huiles essentielles présentent plusieurs fonctions biologiques : exercent un chimiotactisme en attirant les abeilles pour féconder les fleurs, par leurs propriétés fongicides et bactéricides, protègent les parties durables des plantes contre l'attaque

des microorganismes nuisibles et favorisent aussi, la pollinisation en attirant les insectes pollinisateurs tout en exerçant une action répulsive contre les animaux herbivores **(Franchomme et al., 2001; Walters, 2006).**

Les nombreuses études ayant démontré les vertus antiseptiques des huiles essentielles aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus **(Safaei-Ghomi et Ahd 2010 ; Intertex Belletti, 2010)** s'accordent toutes à dire qu'elles peuvent constituer une thérapie naturelle à moindre coût en remplacement aux traitements conventionnels aux antibiotiques**.**

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, les huiles essentielles peuvent soit induire une activité microbienne létale dite bactéricide ou occasionner une inhibition de la croissance du germe dite activité bactériostatique. Le plus souvent, l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés plutôt bactéricides **(Walsh et al., 2003 ; Kunle et al., 2003; Zhiri, 2006).**

Cette activité biologique est liée à la composition chimique des huiles essentielles, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effet synergiques **(Didry et al., 1993 ; Lahlou, 2004).**

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne ayant le plus large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol) **(Dorman et Deans, 2000 ; Pibiri, 2006)** qui agissent en entraînant notamment des lésions irréversibles sur les membranes des bactéries et sont en particulier utilisés dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quel que soit leur localisation **(Zhiri, 2006).**

Les alcools, (α-terpineol, terpinen-4-ol, linalol), avec 10 atomes de carbones ou (monoterpénols) viennent immédiatement après les phénols, en termes d'activités antibactériennes et sont également des antifongiques efficaces mais ils doivent être utilisés sur de plus longues périodes **(Dorman et Deans, 2000)**. Ils sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives, en dénaturant les protéines **((Dorman et Deans, 2000)**.

Des études fondamentales ont également montré que les alcools et les lactones sésquiterpéniques présentent une activité antifongique très intéressante au même titre que les monoterpénols **(Dorman et Deans, 2000).** Les aldéhydes, enfin, fortement électronégatif à

double liaison, sont de puissants agents antimicrobiens en réagissant avec les composés nitrés vitaux (protéines et acides nucléiques) des bactéries **(Desjobert et al., 1997).**

L'action bactéricide des huiles essentielles sur la cellule bactérienne demeure encore insuffisamment élucidées **(Lakhdar et al., 2012)** et peut être expliquée par plusieurs mécanismes :

-Précipitation des protéines et des acides nucléiques **(Rafi et al., 1994).**

-Inhibition de la synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéines et peptido-glycanes **(Combe et al., 1988).**

-Inhibition de la perméabilité membranaire sélective **(Bouchikhi, 1994)** et détérioration membranaire.

-Inhibition de la glycolyse et déplétion potassique **(Cox et al., 1998).**

-Modification de la morphologie de la cellule bactérienne **(Pattnaik, 1995).**

-Absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion **(Rafi et al., 1994).**

Conclusion de l'étude bibliographique

La flore orale est un écosystème complexe riche en bactéries. 700 espèces sont capables de la coloniser. Cette flore varie en fonction de l'âge, du site de prélèvement et de la situation clinique **(Chardin et al., 2006).** Parmi les bactéries les plus fréquentes de la cavité buccale, on retrouve surtout les germes *Streptococcus salivarus, Streptocoque mutans, Streptococcus oralis* et *Streptococcus sanguis* colonisant les surfaces dentaires, ainsi que le genre *Actinomyces*, qui colonise la salive, les muqueuses, la langue et les cryptes amygdaliennes **(Tibi, 2010 ; Lasfagues et Colon, 2010)**. Cette flore buccale se caractérise par sa stabilité ou « homéostasie microbienne » qui est le reflet d'un équilibre dynamique entre la flore et l'environnement oral. Tout changement majeur au niveau de l'hôte entrainant un déséquilibre aura pour conséquence l'apparition des maladies infectieuses dont (carie dentaire, parodontite, gingivite…etc.).

De nos jours, la médecine traditionnelle recommande l'utilisation des bâtonnets de tige ou de racine de *Salvadora persica* connus sous le nom de Miswak non seulement comme moyen pour le nettoyage buccal pouvant prévenir efficacement l'installation des caries dentaires et les inflammations de la gencive ; mais aussi pour traiter certaines maladies chroniques telles : la splénomégalie, le rhumatisme, les tumeurs, la gonorrhée, les calcules rénaux, la gastrite, le diabète …etc.

Les connaissances profondes sur les principaux composés du Miswak restent jusqu'à présent très limitées et ses principes actifs ayant servi dans les différents tests biologiques ainsi qu'antimicrobiens sont le plus fréquemment extraits soit à l'eau ou à l'éthanol ; les solutions d'extractions alcooliques semblent efficacement plus inhibiteurs de la croissance des germes que ceux à l'eau.

D'une manière générale, il est retrouvé dans ces solutions de nombreux composés anioniques potentiels (tels : chlorures, sulfates, sulfocyanate et nitrates)**,** du N-benzyl-2 phenylacetamide, du Benzylisothiocyanate, du NaCl, du KCl, des substances organiques sulfurés (salvadourea et salvadorine) et le triméthylamine (un alcaloïde) présentant une activité inhibitrice certaine contre plusieurs germes de la cavité buccale comme: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens* et *Campylobacter rectus* **(Al-Bayati and Sulaiman, 2008; Noumi *et al.*, 2010; Padma *et al.*, 2012; Alili *et al.*, 2014; Naseem *et al.*, 2014; El-Desoukey, 2015; Saeed Zayed Al-Ayed *et al.*, 2015; Kawakib, 2016; Kumar *et al.*, 2016; Muhindi *et al.*, 2016).**.

Cependant, davantage de recherches sur l'effet d'autres composés antibactériens non encore identifiés de nature phénoliques, alcaloïdes et/ou terpèneoïdes sur la croissance des germes particulièrement cariogènes, ainsi que, dans divers autres domaines d'applications thérapeutiques doivent être entreprises sur cette espèce végétale.

Partie 2: Méthodologie

1. Objectifs

L'expérimentation a été orientée tout d'abord en vue de faire une caractérisation physicochimique du sol de la zone de l'étude ainsi que de la composition chimique de l'espèce végétale expérimentale (*Salvadora persica*).

Une étude phytochimique, complémentaire, a été aussi entreprise dans le même sens d'idée afin de compléter les connaissances sur les multiples composés bioactifs que peut contenir l'espèce *Salvadora persica*.

Les efforts ont été dirigés, ensuite, vers l'évaluation in vitro des effets antimicrobiens des extraits du Miswak riches en de multiples composés bioactifs (polyphénols et huiles essentielles) sur quelques germes de référence responsables des infections buccodentaires.

Enfin, une dernière étude a été consacrée à concevoir des bains de bouche à base d'extraits aqueux de *Salvadora persica* afin de suivre leurs efficacités hygiéniques chez les patients accusant une carie dentaire.

2. Régions de prélèvement et traitements préliminaires des échantillons

A la fin du mois de septembre 2006 et du mois d'octobre 2008, des prises d'échantillons de *Salvadora persica,* à raison de cinq (05) arbustes, ont été prélevés, respectivement, d'une manière aléatoire, dans la région d'Arak, à Ain Salah au Sud d'Algérie, située à $3^0.70^{'}$ Est de longitude et à $25^0.28^{'}$ Nord de latitude **(Figure 15)**.

Une fois prélevés, les arbustes de Miswak sont par la suite coupés en bâtonnets de tige et de racine de 10 à 12 cm de longueur, étalés sur du papier journal, séchés à l'air ambiant durant deux semaines, puis traités aux rayons UV dans une hôte afin de détruire tous germes de contamination et enfin stockés à -18^{o}C jusqu'aux analyses ultérieures.

Des prises d'échantillons (au nombre de 10) de sol de poids équivalents à 2 kg chacune ont été également réalisées d'une manière aléatoire aux quatre points cardinaux (Nord, Sud, Est et Ouest), respectivement, dans la zone de prélèvement de la plante expérimentale.

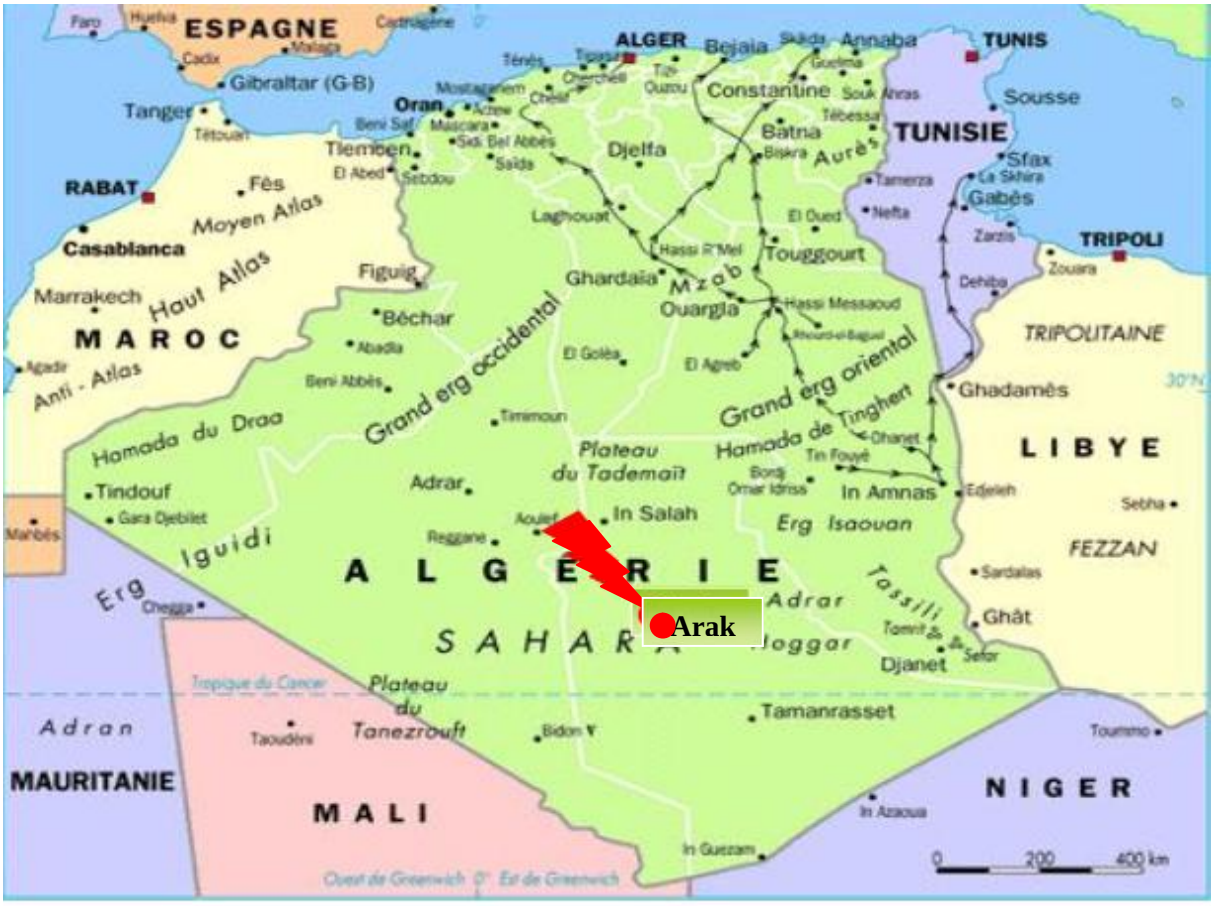


Figure 15. Région de prélèvements des échantillons expérimentaux.

3. Méthodes d'extractions des composés bioctifs de *Salvadora persica*

Selon **Almas et Al-Bagieh (1999)** et **Almas (2001)**, les extraits bruts à l'eau agissent généralement sur la croissance bactérienne notamment de *Streptococcus mutans* et *Streptococcus faecalis* à des taux d'extractions de 5g/100ml de matière végétale de Kikar (*Acacia arabica*) provenant du Pakistan et de l'Arak (*Salvadora persica*) d'Arabie Saoudite.

Dans le cas d'une première approche expérimentale, l'extraction des principaux composés phénoliques de *Salvadora persica* ont été établies sur des prises de poids en six répétitions de chaque partie de la plante expérimentale (racine, tige et écorce) à raison de (0; 2.5 ; 5 ; 7.5 ; 10 ; 12.5 ; 15 et 17.5g), successivement. Les échantillons une fois broyés ont été soumis à une extraction hydro alcoolique des polyphénols constitutifs par la méthode décrite par **Sultana et al. (2009).** Après broyage d'une prise d'échantillons (racine, tige ou écorce) et addition d'une solution aqueuse d'éthanol à 80% (03 X 33.33ml, 80/20, éthanol/eau, v/v), le mélange est laissé macéré durant 06heures à température ambiante sous agitateur orbital, puis filtré sur papier filtre Watman N°4. L'éthanol de la solution hydro alcoolique du filtrat

est évaporé sous vide à 45 °C et la solution obtenue est mise enfin dans un tube en verre entouré d'un papier aluminium pour empêcher l'oxydation des phénols.

Dans une autre approche expérimentale, l'extraction des principaux composés bioactifs a été effectuée uniquement sur la tige de la plante, qui s'avère contenir à priori plus de polyphénols que la racine et l'écorce. L'extraction de ces composés bioactifs de la tige à été réalisée par usage d'un solvant polaire à savoir l'éthanol. Elle à été effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de poudre de tige de *Salvadora persica* a été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid de chaque mélange est laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorise ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs. Les extraits hydro alcooliques ont été filtrées en utilisant un papier filtre Whatman ayant une porosité de 0,2µm et débarrassés du solvants par évaporation sous vide à 45 °C **(Sultana et al., 2009)**. Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés ont été enfin dilués à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement. Les effets antimicrobiens de ces solutions expérimentales ont été enfin testés sur plusieurs germes responsables dans les principales infections buccales. Les résultats de cette étude sont mentionnés dans l'article joint dans le manuscrit qui à fait l'objet d'une publication parue dans un journal indexé.

La méthode d'extraction des huiles essentielles a consisté à mettre 10 g de broyat de tige de *Salvadora persica* seché en contact avec 100 ml d'eau distillée dans un ballon à colle rodé. Le mélange ainsi préparé est porté à ébullition, puis les vapeurs refroidies ont été récupérées par condensation dans un autre tube dit l'extracteur de Soxhelet. L'extrait d'huiles essentielles surnageant l'eau distillée est ensuite séparé par décantation et dilué dans agent émulsifiant à savoir le TWINE 20 à différentes concentrations 0, 20, 40, 60 , 80 et 100%, respectivement. Les solutions de travail ainsi obtenues sont enfin conservées chacune à l'abri de la lumière pour analyses ultérieures.

Dans une dernière expérience les extraits à l'eau de la tige de *Salvadora persica* ont été utilisés comme solutions de bains de bouche pouvant assurer l'hygiène buccale chez des patientes accusant une carie dentaire. Des aliquotes de broyat de matière végétale de la tige de 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15 et 17.5g ont été soumises respectivement à une extraction à froid durant 24 heures dans 100ml d'eau dessillée déminéralisée. Le mélange de chaque solution a

été ensuite centrifugé et filtré sur coton stérile en vue de récupérer les solutions limpides d'extraction appelées aussi bains de bouche qui devront être conservées au froid à 4°C et dont la durée d'utilisation ne doit pas excéder une semaine. **(Al-lafi et Ababneh, 1995).**

4. Critères d'inclusion des malades touchés par la carie dentaire

40 étudiantes résidents à la cité universitaire de Mostaganem, âgés entre 20 et 25 ans et atteintes de caries dentaires ont été impliquées dans l'étude. Les sujets ont été répartis en 8 groupes de 5 individus. Il est demandé à chaque groupe de personnes de rincer au quotidien, à raison de trois (03) fois par jour durant une durée d'un mois soigneusement la bouche pendant au moins 6 minutes avec exactement 06ml de l'une des solutions de bain de bouche préparée comme préalablement.

A la fin de la thérapie, au 30ème jour de traitement, les solutions de bains de bouche après rinçage buccal, ainsi que des prélèvements d'échantillons de germes par écouvillonnage sur les surfaces des dents nettoyées ont été récupérées chez chaque patientes et orientées ensuite à des fins d'analyses microbiologiques.

5. Activation des inocula microbiens:

L'étude a concerné une espèce de levure réputée être responsable de candidose buccale chez les hommes immunodéprimés touchés particulièrement par le sida **(Pappas, 2006 ; Pfaller et Diekema, 2007)**. Il s'agit d'une souche de référence de *Candida albicans* figurant sous le code (ATCC 10231) dans la banque des données de l'institut pasteur d'Alger (Algérie). L'espèce microbienne est tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale. A l'aide d'une anse à platine, un prélèvement de la souche de *Candida albicans* est effectué sur le milieu gélosé de conservation, celui-ci est ensuite cultivé dans 10 ml de bouillon nutritif à 37°C durant 03 heures, puis 0.2 ml de cette dernière solution est pris pour être ensemencé en surface d'un milieu solide gélosé spécifique de Sabourauld et le mélange est enfin incubé à 37°C pendant 24 heures.

Les effets inhibiteurs des extraits de *Salvadora persica* ont été testés également sur la croissance de certaines autres espèces microbiennes à l'origine de multiples infections buccodentaires (parodontite, gingivite et caries dentaires) dont *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus feacalis et Staphylococcus aureus* **(Naseem et al., 2014 ; El-Desoukey, 2015; Saeed Zayed et al., 2016; Kawakib, 2016; Kumar et al., 2016; Muhindi et al., 2016).** Ces espèces

microbiennes de référence conservées au préalable au froid à 4°C dans un milieu gélosé de conservation ont été tout d'abord activées chacune à 37°C durant 03 heures dans 10 ml de bouillon nutritif. Chaque espèce activée est ensuite cultivé soit en surface ou en profondeur sur un milieu gélosé spécifique à des températures d'incubation de 37°C pendant 24 heures **(Tableau 08)**.

Tableau 08. Souches de références testées

Types de souches	**Fournisseur**	**Référence**	**Milieu de culture**	**Type d'ensemencement**
Lactobacillus casei	Lal' food probiotics and health ingredients in food-114 th Terr. 66210 Overland park (KS)	ATCC334	MRS (Man, Rogosa et sharpe)	Surface
Streptococcus mitis		ATCC6249	M 17	
Streptococcus mutans		ATCC700610		
Staphylococcus epidermidis	Lyo-San. Inc. CP 598, 500 bd de l'aéroparc LACHUTE, Québec, J8H4G4	ID32 Staph. test	Chapman	
Staphylococcus aureus	Laboratoire régional de médecine vétérinaire Mostaganem Algérie	ATCC33862	Baird parker	
Streptococcus feacalis		Souche Clinique	Slanetz	Profondeur
Candida albicans	Institut pasteur d'Alger-Algérie	ATCC 10231	Sabourauld	Surface

6. Méthode de contact direct

Une colonie de chaque espèce de microorganismes activés sur milieux solides gélosés spécifiques comme préalablement est prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune est ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue une solution mère d'une bactérie ou levure donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à 10^{-11} pour les *Streptococcus mitis et Streptococcus mutans,* à 10^{-4} pour *Candida albicans* et à 10^{-5} pour les autres germes étudiés à savoir : *Lactobacillus casei, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus feacalis et Staphylococcus aureus*. Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale sont ensuite individuellement ajoutés à 09 ml d'une solution d'eau distillée stérile (témoin) et à 9 ml de chaque extrait expérimental de *Salvadora persica*. Les mélanges des solutions sont enfin ensemencées respectivement à raison soit de 0.2 ml en surface ou de 1 ml en profondeur de trois boites de Pétri renfermant le milieu spécifique de croissance pour chaque espèce microbienne. La lecture du nombre de colonies développé est effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 72 heures pour les *Lactobacillus casei,* ainsi que pour *Candida albicans* et après 24 à 48 heures pour les autres germes étudiés **(Bourgeois et Leveau, 1980).**

7. Tests de diffusion sur disques

Les disques sont confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 3), à raison de 5mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques sont mis dans un tube en verre stérile et stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un four pasteur.

Une colonie de chaque espèce microbienne étudiée est prélevée du milieu gélosé spécifique de croissance après activation, puis chacune est ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif; les mélanges constituent les solutions mères des différentes espèces bactériennes étudiées. Des prises de volume d'1ml de ces dernières solutions sont étalées séparément en surface de plusieurs boites de Pétri contenant le milieu spécifique de croissance de chaque bactérie. A raison de trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque solution d'extraction (aqueux, à l'hexane et alcoolique de racine, tige et écorce) de *Salvadora persica,* ainsi que dans une solution contenant soit un puissant fongicide dont la fungizone **(Prescott et al., 2003)** ou un fort antibiotique dont la gentamicine sont ensuite

déposés successivement à la surface de chaque boite de Pétri contenant le milieu gélosé spécifique ensemencé au germe concerné. La lecture des diamètres d'inhibition est effectuée après incubation des boites de Pétri à 37°C pendant 24 heures **(Guignar, 1998)**.

8. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique, en antifongique et /ou en principes composés bioactifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme **(Olivier, 2007).** Dans le cas de cette étude, c'est les différents extraits de la tige du Miswak contenant différents composés bioactifs selon le type de solvant d'extraction utilisé qui ont servi pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices des principaux espèces microbiennes testées connues comme étant les plus responsables des maladies buccodentaires chez l'homme **(Naseem et al., 2014 ; El-Desoukey, 2015; Saeed Zayed Al-Ayed *et al*., 2016; Kawakib, 2016; Kumar et al., 2016; Muhindi et al., 2016)**. Ainsi, une colonie jeune d'une espèce microbienne donnée est prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir l'inoculum. Des prises de 0,2 ml de l'inoculum sont introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait de tige de Miswak dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton. Le mélange des tubes contenant les extraits phénoliques de *Salvadora persica* préparés à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum du microorganisme sont ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures **(Moroh et al., 2008).** La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI est effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspondra donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur *di* est égale à *df* (*di* = *df*). Le taux de survie du microorganisme est mesuré au spectrophotomètre réglé à 560 nm comme suit :

$$S = \frac{d_f - d_i}{D_f - D_i} X100$$

-S: Taux de survie du microorganisme en %.
-df-di: différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.
-Df-Di : différence de densité optique sans extraits de *Salvadora persica* avant et après incubation à 37°C durant 18 heures **(Kra, 2001 ; Zrihi et al., 2007).**

9. Concentration Minimale Bactéricide (CMB) et Concentration Minimale Fongicide (CMF)

La concentration minimale bactéricide ou fongicide d'une espèce microbienne donnée représente la plus petite concentration d'extrait de Miswak qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation **(Moroh et al., 2008).** Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum microbien) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4}. Cette dilution représente 0,01%

de survie du microorganisme. Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de levure ou de bactérie obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB en cas d'une bactérie ou à la CMF en cas d'une levure ou de moisissure.

10. Analyses microbiologiques chez les patientes touchées par la carie dentaire (Bourgeois et Leveau, 1980).

Au 30ème jour de traitement thérapeutique aux différents extraits de bains de boche de *Salvadora persica*, toutes les solutions de rinçage buccal, ainsi que des prélèvements par écouvillonnage sur les surfaces des dents nettoyées de chaque patientes incluses dans l'étude ont été récupérées et orientées à des fins d'analyses microbiologiques suivantes **(Annexe I)** :

10.1. *Germes totaux.*

Le dénombrement est effectué après une mise en culture d'une prise de dilution sur milieu gélose nutritive dans une étuve réglée à 30°C durant 24 à 72 heures**.**

10.2. *Staphylococcus aureus*.

Les germes sont dénombrés sur milieu Chapman incubé à 37 °C durant 24 à 48 heures**.**

10.3. *Streptocoques fécaux.*

Les germes sont dénombrés sur milieu Slanetz incubé à 37 °C pendant 24 à 48 heures**.**

10.3. Lactobacillus.

Le dénombrement est réalisé après ensemencement d'une prise de dilution sur le milieu spécifique (MRS) incubé à 30°C pendant 24 heures.

11. Analyses physicochimiques.

Les analyses physico-chimiques ont été effectuées en triples essais et ont concerné :

- les échantillons de racine, tige et écorce de *Salvadora persica* ;
- les extraits bruts et phénoliques de racine, tige et écorce de Miswak ;
- et les prélèvements de sol.

11.1. Analyses du sol

11.1.1. Matière organique (NF 44- 041)

Cette méthode de dosage permet de déterminer la matière organique totale dans les amendements organiques et les supports de culture. Appliquée aux sols, elle inclut également l'eau de constitution des argiles. L'échantillon est broyé à 2 mm et calciné à 480°C. La perte de masse par combustion correspond à la combustion de la matière organique.

11.1.2. Potentiel d'hydrogène, pH (Code interne; procédure n° ps0905, CIRAD., 2004)

Cette méthode instrumentale de mesure en routine du pH est appliquée à tous les types de sols séchés à l'air. Une mise en équilibre ionique est réalisée entre la phase solide et la phase liquide. La mesure est effectuée dans des conditions déterminées (rapport sol/solution=1/2,5) de la différence de potentiel existant entre une électrode de mesure et une électrode de référence plongées dans une solution aqueuse en équilibre avec l'échantillon de sol **(Annexe II).**

11.1.3. Granulométrie (Aubert, 1978)

Cette technique permet de déterminer les différentes classes de particules minérales en se référant à leur taille. L'échelle utilisée est celle d'**ATTERBERG** qui donne 5 classes de particules :

-Argiles : 0 à 2 µm,
-Limons fins : 2 à 20 µm
-Limons grossiers : 20 à 50 µm,
- Sables fins : 50 à 200 µm,
-Sables grossiers : 200 µm à 2mm.

L'analyse consiste en une mise en suspension dans l'eau des particules après destruction de la matière organique et des agrégats et dispersion des particules d'argile. Les particules sont, par hypothèse, supposées avoir toutes la même densité et une forme sphérique. Cette suspension étant stabilisée dans des conditions bien définies, la séparation des différentes classes s'effectue par sédimentation gravitaire pour les fractions fines (<50µm) et par tamisage pour les fractions supérieures.

Le pourcentage de sables grossiers, sables fins, limons grossiers, limon fins et d'argile est déterminé après solubilisations périodiques d'une prise d'échantillon de sol dans de l'eau oxygénée à 20 % **(Annexe III).**

11.1.5. Conductivité (ISO 11265, 1995)

La mesure est réalisée à l'aide d'un conductivimètre et la lecture est directe selon l'échelle de lecture sélectionnée. L'appareil est étalonné par rapport à une solution de KCl à 56mg/l dont la conductibilité est de 100 µS/cm à 25°C. Elle indique le degré de salinité des sols. **(Annexe IV)**

11.1.6. Dosage de l'azote totale (NF ISO 11261, 1995)

Cette méthode permet de transformer l'azote organique d'un échantillon de sol en azote minéral [sulfate d'ammonium, $(NH_3)_2SO_4$)] sous l'action de l'acide sulfurique concentré à chaud en présence de catalyseurs appropriés. L'azote est ensuite déplacé du sulfate d'ammonium par l'action d'une lessive de soude. Le NH_3 formé est entraîné par distillation et recueilli dans une solution aqueuse d'acide borique. En fin de distillation la solution borique ammoniacale est titrée par une solution chlorhydrique. **(Annexe V)**

11.1.7. Calcaire total (NF ISO: 10693, 1995)

L'acide chlorhydrique est ajouté à un échantillon de sol, pour décomposer tous les carbonates présents. Le volume de gaz carbonique dégagé est mesuré à l'aide d'un calcimètre BERNARD et est comparé au volume de gaz carbonique produit par du carbonate de calcium pur. Pour éviter de faire des corrections pour des différences de température et de pressions, toutes les mesures sont réalisées dans les mêmes conditions. La teneur en carbonate est exprimée par la concentration équivalente de carbonate de calcium (CaCO3). En fait, on mesure tous les carbonates et bicarbonates présents dans l'échantillon. **(Annexe VI)**

11.1.8. Phosphore assimilable (NF X31-161, 1999)

Cette méthode permet la mise en solution partielle du phosphore par une solution d'oxalate d'ammonium. Elle s'applique en principe à tous les types de sols dont le pH est supérieur à 6,80. L'extraction des formes de phosphore soluble est effectuée par une solution d'acide. La durée d'agitation est de 2 heures. La teneur en phosphore dans une solution limpide est mesurée par un spectrophotomètre à 660nm. **(Annexe VII)**

11.2. Analyses de la racine, tige et écorce de *Salvadora persica*

11.2.1. Matière sèche (NF V03-903, AFNOR., 1985)

Une prise d'échantillon est desséchée jusqu'à masse constante dans une étuve isotherme à une température voisine de (105 ^{o}C ± 1 ^{o}C) pendant au moins 24 heures. Le taux de matière sèche est donné comme suit:

$$\%\,\mathbf{M} = \frac{M_2}{M_1} X100$$

-M_1 : Poids de la prise d'échantillon avant dessiccation.
-M_2 : Poids de la prise d'échantillon après dessiccation.

11.2.2. Dosage des cendres bruts (NF V18-101, AFNOR, 1985)

La teneur en cendres est conventionnellement le résidu de la substance après destruction de la matière organique par incinération pendant 3 à 4 heures à 550 ^{o}C dans un four à moufle.

$$\textbf{Teneur en cendre}\ \ (\text{en \% de la matière brute}) = \frac{m - m_0}{m_1 - m_0} X100$$

- m_o : Masse en gramme du creuset vide.
- m_1 : Masse totale en gramme du creuset contenant la prise d'essai.
- m : Masse en gramme du creuset et les cendres bruts.

11.2.3 Matière organique

La matière organique est déterminée par différence entre la matière sèche et la matière minérale.

$$\mathbf{M.O.}\ (\%\ \text{matière initiale}) = \frac{S - m}{E} X100$$

$$\mathbf{M.O.}\ (\%\ \text{matière sèche}) = \frac{S - m}{S} X100$$

M.O : Matière organique
m : Masse du creuset après refroidissement moins la tare
S : Masse du creuset sorti du dessiccateur moins la tare.
E : Masse de la matière végétale

11.2.4. Détermination des Composés Phénoliques Totaux (CPT) (Chaovanalikit et Wrolstad, 2014).

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits à l'éthanol de la tige de *Salvadora persica* a été évaluée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu. Les extraits phénoliques

récupérés en solution sont évaporés dans un lyophilisateur pour ne pas endommager les principaux composés bioactifs, on mélange ensuite les extraits bruts récupérés (50 mg) avec du réactif Folin-Ciocalteu (0,5 ml) et de l'eau distillée (7,5 ml). Le mélange à été maintenu à la température ambiante pendant 10 minutes puis on a ajouté 1,5 ml du carbonate de sodium à 20%. Le mélange a été chauffé ensuite dans un bain marie à 40 ° C pendant 20 minutes et puis refroidi dans un bain de glace. La teneur en CPT de la tige de *Salvadora persica* a été calculée enfin suite au dosage du mélange après refroidissement au spectrophotomètre réglé à une absorbance de 730 nm et ce en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide gallique. Tous les échantillons ont été analysés en trois répétitions et les résultats ont été exprimés en mg Equivalents d'Acide Gallique (EAG) / 100 g de Matière Sèche (MS) de l'espèce végétale étudiée [mg EAG / 100g MS] ou en mg Equivalents d'Acide Gallique (EAG) / 100 ml d'Extrait hydro-alcoolique (EHA) [mg EGA / 100 ml EHA].

11.2.5. Profil des poly phénols

a/ Broyage tamisage :

Le broyage de la tige et de la racine de ***Salvadora persica*** est effectué avec un broyeur à billes (PM 200 Broyeur planétaire à billes). ; alors que celui de l'écorce est réalisé avec un broyeur à meules (KRUPS GVX 2 – Burr Grinder). Les broyats sont ensuite tamisés avec un tamis ayant des mailles de - 1mm de diamètre.

b/ Extraction et filtration (Jerez et al., 2006)

02 g de poudre d'écorce, de racine ou de tige est dissoute dans 100 ml de méthanol à 98^{o} (CARLO ERBA ; Milano, Italie). Le mélange disposé dans des flacons de 100 ml avec une agitation à 140 rpm est laissé à température ambiante (au lieu seulement pour une période de six heures) pendant une durée d'extraction de 20 heures; en raison du caractère ligneux des échantillons traités, la longue durée d'extraction favorisera la dépolymérisation des principaux constituants (dont la lignine, les substances pectiques) et une meilleure solubilisation progressive des poly phénols). Les extraits phénoliques sont ensuite filtrés sur (filtre cellulose nitrate - SARTORIUS) de porosité de 0,2µm.

C/ Conditions chromatographique

Les principales conditions d'Identification du profil des poly phénols de ***Salvadora persica*** par Chromatographie Liquide Haute Pression (CLHP) sont résumées comme suit :

Détermination par HPLC modèle SHIMADZU						
	Gradient concentration phase mobile					
Durée en min	**0**	**35**	**40**	**45**	**50**	**55**
Méthanol	5	75	100	100	5	5
Acide phosphorique 2Mm	95	25	0	0	95	95

- Longueur d'onde de détection : 327nm
- Débit : 1 ml / min
- Colonne : Lichrospher ODS2 5µm 25 cm
- Température de la colonne : 30°C
- Volume d'injection : 20 µl

Les étalons standards disponibles utilisés sont :

Acides chlorogéniques	**C3Q**	Acide 3-OCaffeoylquinique
	C5Q	Acide 5-OCaffeoylquinique
	C4Q	Acide 4-OCaffeoylquinique
	F5Q	Acide 5-OFeruloylquinique
	Di3,4CQ	Acide 3,4-ODcaffeoylquinique
	Di3,5CQ	Acide 3,5-ODcaffeoylquinique
	Di4,5CQ	Acide 4,5-ODcaffeoylquinique
Kaemphérol	**Flavonol**	
Narengénine	**Flavanones**	
Quercétine	**Flavonol**	
Catéchine	**Flavonol**	
Epicatéchine	**Flavonol**	
Trigonelline	**Alcaloïde**	
Théobromine	**Alcaloïde**	
Cafeine	**Alcaloïde**	

11.3. Analyses sur les extraits bruts à l'eau de *Salvadora persica*

11.3.1. Potentiel d'hydrogène.

Le pH est mesuré par l'entremise d'un pH mettre réglé au préalable avec deux solutions l'une acide et l'autre basique.

11.3.2. Nitrates (Rodier, 1984).

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosonylate de sodium coloré en jaune et susceptible d'être dosé par colorimétrie à 415 nm **(Annexe VIII).**

11.3.3. Ions Sulfates : **(NF T 90-040, Septembre 1986).**

Le principe est basé sur la précipitation des ions sulfates en présence de chlorure de baryum en milieu chlorhydrique à l'état de sulfate de baryum, puis d'une stabilisation du précipité à l'aide d'un agent stabilisant.

La mesure néphélométrie de la solution d'essai s'effectue à une longueur d'onde de 650 nm et la détermination de la concentration en sulfates contenus dans l'échantillon est réalisée par comparaison à une courbe étalon **(Annexe IX).**

11.3.4. Ions Chlores : **(NF T 90-014, Février 1952).**

Le principe consiste à doser le chlore combiné à l'état de chlorure par le nitrate d'argent, en présence de chromate de potassium comme indicateur **(Annexe X).**

11.3.5. Ions Fluorures : **(NF T 90-004, Septembre 1985).**

Le principe de la méthode utilisée est basé sur la mesure, dans l'échantillon à analysé, ou dans une dilution de cet échantillon, de la différence de potentiel entre une électrode sélective de l'ion fluorure et une électrode de référence, à un pH compris entre 5 et 8 et à température et force ionique totale du milieu constant. La détermination de la concentration en ion fluorure s'effectue par lecture directe sur une courbe d'étalonnage **(Annexe XI).**

12. Calculs statistiques

Les résultats ont subi une analyse de la variance mono factorielle et bi-factorielle organisées en randomisation totale, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de **Newman et Keuls** en utilisant un logiciel de statistique software de **(Stat box 6.4)**.

Partie 3:
Résultats et discussion

Chapitre I. Analyses du sol de la zone de l'étude

1. Résultats

L'analyse granulométrique montre de forts taux en sable fin (49% en moyenne) et en sable grossier (30% en moyenne) dans les échantillons de sol prélevés dans la région d'Arak sise à Ain Salah au sud d'Algérie; alors que les pourcentages en limon grossier (10% en moyenne) et en limon fin (7.0 en moyenne) sont faiblement représentés. Quant à l'argile il constitue la fraction la plus basse; avec un taux médiocre de 4 %, en moyenne **(Tableau 09).**

Tableau 09. Granulométrie des échantillons de sol prélevés dans la région d'Arak sise à Ain Salah au sud d'Algérie.

Argile (%)	Limon fin (%)	Sable fin (%)	Sable grossier (%)	Limon grossier (%)
04.00 ± 00.90	07.00 ± 01.01	49.00 ± 01.33	30.00 ± 00.38	10.00 ± 01.62

Chaque groupe est représenté avec un nombre de zones de prélèvements correspondant au nombre de répétitions de n=14 ; les résultats de chaque groupe sont représentés par unevaleur moyenne suivie de l'écart type correspondante.

Par ailleurs, le sol ou a été récolté *Salvadora persica* objet de l'étude accuse un pH basique; avec un potentiel d'hydrogène de l'ordre de 7.76. Les taux de matière organique, d'azote total ainsi que de calcaire dans les échantillons sont faibles et variables de 0.61, 0.48 et 0.31%, respectivement. La salinité des sols s'avère également faible et en nette évolution avec la faible conductivité électrique enregistrée; 0.71 ms/cm. Toutefois, le niveau de phosphate assimilable (P_2O_5) noté dans le sol expérimental est remarquablement très élevé (245.83 ppm) et proche de ceux des terrains de grandes cultures tels les sols lourds (250 ppm) très pourvus en ce composant **(Tableau 10).**

Tableau 10. Caractéristiques chimiques du sol de la région d'Arak prélevés dans la région d'Arak sise à Ain Salah au sud d'Algérie.

	Ph	**Matière organique (%)**	**AzoteTotal (%)**	**Conductivité électrique (CE) (ms/cm)**	**CalcaireTotal (%)**	**P_2O_5 assimilable (ppm)**
	07.76 ± 00.03	00.61 ± 00.35	00.48 ± 00.08	00.71 ± 00.02	00.31 ± 00.18	245.83 ± 13.82
Normes	pH< 3.5.…hyper acide 3.5< pH<5…très acide 5< pH<6.5…acide 6.5< pH<7.5…neutre 7.5< pH<8.5…basique PH >7.8…très basique	<1..Très pauvre 1 à 2…Pauvre 2 à 4...Moyenne >4..Bien pourvu	<0.5…Très pauvre 0.5 à 1.0…Pauvre 1.0 à 1.5.Moyenne >1.5..Bien pourvu	CE= 0.6……Peu salé CE= 1.2……..Salé CE= 2.4…… Très salé CE= 6..Extrêmement salé	<2…….Trace 02 à 10..Faible 10 à 25..Moyen 25 à 55..Forte >55….Très forte	
Sources	**(Cirad, 2004)**	**(NF 44- 041, 1995)**	**(NF ISO 11261., 1995)**	**(ISO 11265., 1995)**	**(NF ISO: 10693., 1995)**	

Grandes cultures et prairies

	SLé	**SM**	**SLo**
Très faible	40	50	100
Faible	50	100	150
Moyenne	100	150	200
Bien pourvu	150	200	250

Maraîchage

	SLé	**SM**	**SLo**
Très faible	50	100	150
Faible	100	150	200
Moyenne	150	200	250
Bien pourvu	200	250	300

Vignes et arbres fruitiers

	SLé	**SM**	**SLo**
Très faible	-	40	50
Faible	40	50	100
Moyenne	50	100	150
Bien pourvu	100	150	200

(NF X31-161., 1999)

Chaque groupe est représenté avec un nombre de répétitions n=14 ; les résultats de chaque groupe sont représentés par une valeur moyenne suivie de l'écart type correspondante. CE: Conductivité électrique; MO: matière organique; SLé : Sol léger ; SM: Sol moyen ; SL: Sol lourd; Chaque valeur représente la moyenne ± écart type de quatre zones de prélèvements.

2. Discussion :

Il apparaît d'après le diagramme triangulaire de texture que le sol prélevé dans la région d'Arak sise à Ain Salah au sud d'Algérie ou l'espèce végétale *Salvadora persica* semble bien adapter est de type sable pur **(United States Department of Agriculture - USDA, 1981).** Le niveau d'argile dans les échantillons de sol collectées est très faible (04.00%) comparativement au limon fin et grossier (17.00%) ainsi qu'au taux de sable fin et grossier qui ont avoisiné les 79 %. Cette texture influe sans doute sur le développement, la croissance et le rendement en cas de culturede *Salvadora persica* et qui explique en partie sa répartition éparse dans la zone expérimentale où elle pousse de nos jours seulement à l'état sauvage **(Zhao et al., 2003).** Toutefois, le changement des propriétés de ce type de sol peut être d'un appui certain pour promouvoir le développement à large échelle de cette espèce végétale autochtone dans la région d'arak relevant de la wilaya de Ain Salah où elle s'avère bien supporter les conditions sévères du milieu **(Orlando et al., 1986).**

Il est bien établi que l'acidité du sol ne constitue pas une contrainte importante aux plantes qu'a des pH (H_2O) faibles; inférieurs a 5.5 **(Kamprath, 1978)** ou même à 5 **(Mughogho, 1988).** Les valeurs de pH (H_2O) mesurées (07.76) dénotent que le sol prélevé dans la région d'Arak est basique **(Afes, 1988).** A ce pH du milieu, la plante ne peut connaître de limitation d'absorption en certains éléments nutritifs dont P, Ca, Mg, Mo **(Mehlich, 1981).** Selon **Ramade (1984),** le pH de l'eau interstitielle des sols dépend surtout de sa proportion relative en sels minéraux et en molécules organiques dissoutes. Le pH peut être ainsi abaissé par les acides organiques libres produits par la biodégradation microbienne des détritus végétaux ainsi que des excrétas et des cadavres de la faune terrestre. Selon le même auteur, il peut en exister une étroite relation entre teneur en calcium et degré d'acidité d'un sol, lesquels varient en sens inverse. Il est clair que, *Salvadora persica* apparait comme une espéce calcicole puisque le milieu est basophile. Néanmoins, les résultats en calcaire

totale ($CaCO_3$ total) enregistrés dans les prélèvements de sol dénotent une présence qu'à l'état de trace **(ISO 11265, 1995).**

Le phosphore assimilable, l'un des éléments majeurs indispensables à la croissance et au développement des végétaux **(Ramade, 1984)** parait en proportions importantes dans les sols colonisés par l'espèce végétale *Salvadora persica* **(AFNOR, 1999).**

La matière organique du sol provient essentiellement de la litière, laquelle est constituée de feuilles mortes, de brindilles et d'autres fragments végétaux. Les branches et les troncs morts et dans une bien moindre mesure les excréments des herbivores issus des différents élevages domestiques dans la région (camelin et ovins notamment) contribuent assurément à cet apport de matières organique **(Ramade, 1984).** Nos résultats montrent de très faibles pourcentages en matière organique dans les sols analysés **(Cirad, 2004).** Cette faible accumulation de matière organique qui est en étroite relation avec le niveau de carbone organique considéré comme étant le plus grand indicateur universel de la qualité du sol actuellement disponible **(Rasmussen et Collins, 1991)** peut expliquer la mauvaise structure, les faibles infiltrations et rétentions d'eau, le médiocre pouvoir tampon et l'activité biologique très basse du sol caractérisant la région **(Arshad et Coen, 1992).**

L'azote suit dans une grande ligne de conduite le carbone organique avec le quelle il est associé dans toutes les substances protéiques **(Ramade, 1984).** Avec un taux de 0.48% d'azote total, les prélèvements du sol dominé par l'espèce *Salvadora persica* n'accusent pas une carence très importante en azote. En effet, d'après **Thung (1991) et Tekalign et al. (1991),** le niveau critique de ce macro-élément dans le sol se situe à 0.20%. Quoique cette faible teneur enregistrée en azote reflète une minéralisation vraisemblablement lente de la matière organique très pauvre dans les sols prélevés **(Rutunga et Mutwewingabo, 1987).** De plus, cette minéralisation azotée s'avère fortement corrélée avec certaines paramètres du sol comme l'humidité et la température **(Stevenson**, **1982 ; Gordon, 1986, Haynes, 1986 ;**

Thevathasan, 1998), le type de sol, la densité végétale, et le climat **(Haynes, 1986 ; Reynolds et al., 1997).**

La conductivité électrique mesurée est une propriété qui renseigne sur la salinité du sol **(De Jonget al., 1979 ; Williams etHoey, 1982 ; Job, 1992).** Il s'avère que les prélèvements de sols effectués sur site sont très pauvres en sels (0.71 ms/cm) **(ISO 11265, 1995)** et ne peuvent donc limiter ou complètement arrêter la croissance du végétal suite à une élévation de la pression osmotique du milieu ou à l'effet toxique spécifique des éléments **(Gouny et Cornillon, 1973).** Néanmoins, ces seuils de sensibilité sont encore mal identifiées et très discutables à ce jour **(Suarez, 2001).**

Conclusion :

Le sol de la zone de l'étude sise dans la région d'Arak relevant de la Wilaya de Ain Salah au sud d'Algérie où ont été effectués les prélèvements d'échantillons de *Salvadora persica* est caractérisé selon le triangle de texture de sable pure.

Il est faiblement riche en matière organique, en azote totale et en calcaire assimilable.

En revanche il s'avère contenir des proportions considérables en sels et en phosphate assimilable.

Cette composition du sol apparait très appropriée au développement de l'espèce végétale autochtone *Salvadora persica* dans la région, où elle semble très adaptée et où elle pousse à l'état sauvage et d'une manière éparse.

Toutefois, la multiplication de la culture sous serre, la maitrise des conditions de culture, des techniques culturaux et de la qualité du sol peuvent contribuer largement à améliorer sa propagation dans son écosystème naturel.

Chapitre II : Composition chimique de *Salvadora persica*

1. Résultats :

1.1. Composition chimique

L'écorce s'avère contenir une quantité significativement (P<0.01) plus importante en matière sèche (93.367 %MB en moyenne) par comparaison aux deux autres parties du végétal ; tige (91.37 %MB) et racine (88.68 %MB). Concernant, la matière minérale, les forts taux (P<0.01) sont observés au niveau de l'écorce (13.06 %MS); alors que les faibles teneurs sont décelés dans la partie racinaire (9.78%MS). Par ailleurs, la tige et l'écorce ont accusé des valeurs comparables en cendres (P>0.05); 12.24 % vs 13.06% MS. Le niveau de matière organique dans la tige (87.76 %MS) est statistiquement (P>0.05) identique à celui enregistré dans l'écorce (86.94 %MS). Cependant, ces taux sont significativement (p<0.01) moins élevés à ceux de la tige (90.22%MS).

Les concentrations de nitrates dans les extraits aqueux de la racine (0.34 mg/100ml) et de la tige (00.29 mg/100ml) sont significativement très faibles (p<0.01) à ceux de l'écorce (02.65 mg/100ml). Néanmoins, les extraits de racine et de tige ont présenté des teneurs identiques (P>0.05) en nitrates. Par ailleurs, les extraits bruts de racine et de tige ont enregistré des taux similaires en sulfates (P>0.05); 10.44 vs 08.38 mg/100ml. Ces valeurs restent nettement inférieures (P<0.01) à ceux de l'écorce ; 19.572 mg/100ml. Les extraits aqueux de tige sont fortement chargés (P<0.05) en ions chlore par rapport à ceux de la racine et de l'écorce ; 37.27 vs 19.52 vs 12.75 mg/100ml. Enfin, aucune trace de fluorures n'a été détectée dans les différents extraits à l'eau des matières végétales (racine, tige et écorce) de la plante (*Salvadora persica*) objet de l'étude récoltée dans la région d'Arak à Ain Salah au sud d'Algérie **(Tableau 11)**.

Enfin, les produits phénoliques quantifiés dans la tige sont remarquablement (P<0.01) plus élevés que la racine et l'écorce de *Salvadora persica* ; 411.91 vs 195.23 vs 207.12 mg EAG / 100g MS **(Figure 16).**

Tableau 11. Variation de la composition chimique de la racine, tige et écorce de *Salvadora persica.*

Composants chimiques	Racine	Tige	Ecorce	Effet des parties du végétal
Matière sèche (%MB)	88.68 [a] ± 00.91	91.37 [b] ± 00.84	93.367 [a] ± 01.06	**
Matière minérale (%MS)	09.78 [b] ± 00.55	12.24 [a] ± 00.44	13.06 [a] ± 00.42	**
Matière organique (%MS)	90.22 [a] ± 00.55	87.76 [b] ± 00.44	86.94 [b] ± 00.42	**
Nitrates (mg/100ml)	00.34 [b] ± 00.3	00.29 [b] ± 00.22	02.65 [a] ± 01.97	**
Sulfates (mg/100ml)	10.51 [b] ± 06.53	08.38 [b] ± 08.27	19.57 [a] ± 01.92	**
Ions chlore (mg/100ml)	19.52 [b] ± 00.19	37.27 [a] ± 00.29	12.75 [c] ± 00.43	**
Fluorures (mg/100ml)	00.00	00.00	00.00	**NS**

Pour chaque groupe n = 5. Les résultats sont exprimés en valeur moyenne suivie de l'écart type correspondante. Les moyennes figurant dans la même colonne avec différentes souscriptions sont significativement différentes.

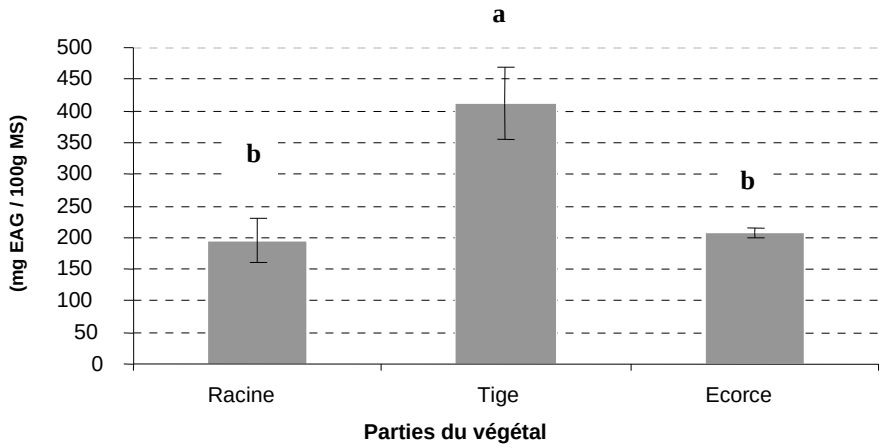
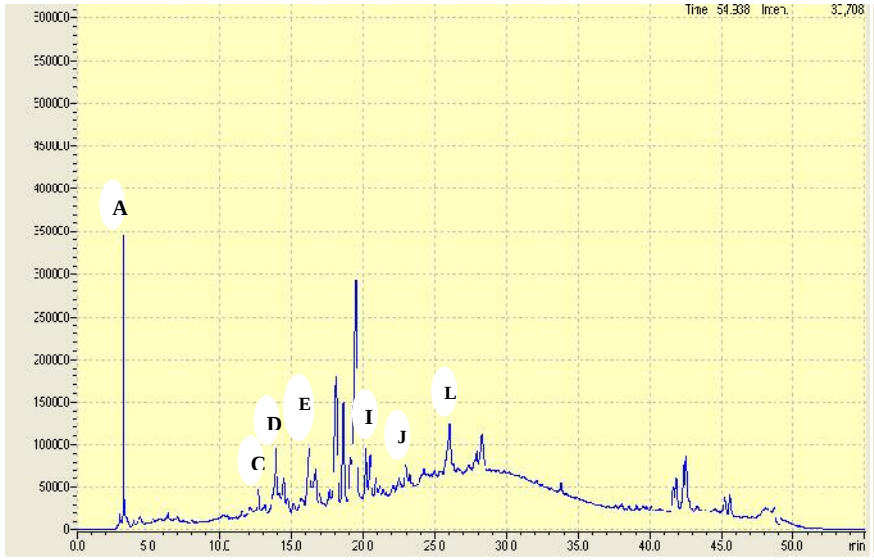


Figure 16. Variations des teneurs en produits phénoliques dans la racine, tige et écorce de *Salvadora persica.*

1.2. Profil des produits phénoliques et alcaloïde

L'acide 5O caffeoylquinique et l'acide 4-5 O caffeoylquinique comptent parmi les principaux poly phénols constitutifs de la racine. La tige est très riche en acide 5 O caffeoylquinique, acide 3-5 O caffeoylquinique, catéchine et epicatéchine. L'écorce, enfin, a accusé une forte teneur en narengenine ainsi qu'en certains alcaloïdes dont la caféine, trigonelline et théobromine **(Figure 17 et Tableau 12).**



a/ Racine.

b/ Tige.

c/ Ecorce.

-A: Trigonelline.	**-I: Acide 5-OFeruloylquinique**
-B: Théobromine.	**-J: Acide 3,4-ODcaffeoylquinique.**
-C: Acide 3-OCaffeoylquinique.	**-K: Acide 3,5-ODcaffeoylquinique.**
-D: Catéchine.	**-L: Acide 4,5-ODcaffeoylquinique.**
-E: Acide 5-OCaffeoylquinique.	**-M: Narengénine.**
-F: Acide 4-OCaffeoylquinique.	**-N: Quercétine.**
-G: Caféine.	**-O: Kaemphérol**
-H: Epicatéchine.	

Figure 17. Diagrammes des profils en principaux composés phénoliques et alcaloïdes trouvés chez *Slvadora persica*.

Tableau 12. Variations en certains composés phénoliques et alcaloïdes au niveau de la tige, racine et écorce chez *Salvadora persica.* (en % CPA)

Profil des composés phénoliques et alcaloides			Racine	Tige	Ecorce	Effet des parties du végétal
Acides chlorogéniques	**C3Q**	Acide 3-OCaffeoylquinique	00.08 ± 00.04	00.45 ± 00.02	01.70 ± 00.95	NS
	C5Q	Acide 5-OCaffeoylquinique	02.65 ± 01.37	04.88 ± 02.48	02.63 ± 00.41	NS
	C4Q	Acide 4-OCaffeoylquinique	^{c}00.00 ± 00.00	^{a}01.57 ± 00.04	^{b}00.55 ± 00.07	**
	F5Q	Acide 5-OFeruloylquinique	00.20 ± 00.06	01.22 ± 0.45	02.53 ± 01.85	NS
	Di3,4CQ	Acide 3,4-ODcaffeoylquinique	00.37 ± 00.10	00.65 ± 00.20	00.63 ± 00.13	NS
	Di3,5CQ	Acide 3,5-ODcaffeoylquinique	^{b}00.32 ± 00.05	^{a}06.76 ± 03.12	^{b}00.79 ± 00.20	*
	Di4,5CQ	Acide 4,5-ODcaffeoylquinique	02.01 ± 01.00	00.75 ± 00.25	02.07 ± 01.53	NS
Kaemphérol	**Flavonol**		^{c}00.00 ± 00.00	^{a}00.45 ± 00.02	^{b}00.09 ± 00.01	**
Narengénine	**Flavanones**		^{b}00.00 ± 00.00	^{b}00.00 ± 00.00	^{a}00.16 ± 00.03	**
Quercétine	**Flavonol**		^{c}00.00 ± 00.00	^{a}00.24 ± 00.02	^{b}00.07 ± 00.03	**
Catéchine	**Flavonol**		^{c}00.11 ± 00.04	^{a}07.20 ± 00.51	^{b}02.42 ± 01.15	**
Epicatéchine	**Flavonol**		^{b}00.65 ± 00.03	^{a}06.35 ± 00.53	^{b}00.00 ± 00.00	**
Trigonelline	**Alcaloïde**		^{b}01.00 ± 00.59	^{b}00.54 ± 00.29	^{a}04.31 ± 00.11	**
Théobromine	**Alcaloïde**		^{b}00.04 ± 00.01	^{b}00.36 ± 00.14	^{a}01.24 ± 00.15	**
Caféine	**Alcaloïde**		^{b}00.08 ± 00.01	^{c}00.00 ± 00.00	^{a}00.88 ± 00.02	**

Pour chaque groupe n = 3 ; Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondantes ; Les moyennes figurant dans la même colonne avec différentes souscriptions sont significativement différentes ;* : Effet significatif du facteur étudié (parties de la plante : racine, tige et écorce) ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (parties de la plante : racine, tige et écorce) ; NS : Effet non significatif du facteur étudié (parties de la plante : racine, tige et écorce) ; %CPA: en pourcent (%) des Composés Phénoliques et Alcaloïdes.

2. Discussion :

Les quantités de matières organiques enregistrées chez *Salvadora persica* sont très intéressantes et plus abondantes ($P<0.01$) notamment au niveau de la racine, que la tige et l'écorce. Ceci peut refléter les nombreux composés biologiques actifs que peut probablement renfermer les différentes parties du végétal et qui restent jusqu'à présent non entièrement explorés. En effet, cette espèce végétale a montré une grande richesse en principaux composés phénoliques concentrés plus particulièrement à des forts taux au niveau de la tige ou les teneurs mesurées apparaissent deux fois plus élevées ($p<0.01$) par comparaison à la racine et l'écorce. Ceci est confirmé par les travaux de **Abdel-Wahab et al. (1990)** qui signalent l'existence de plusieurs substances flavanoides chez le Miswak dont (Kaempferol, quercetine, rutine quercetine et glucose quercetine). Deux flavanols appartenant a la classe des flavanoides **(Macheix et al., 1989 ; Macheix et al., 2005)** ont été identifiés dans le cas de cette étude dans la tige dont : le catéchine et l'epicatéchine. Les catéchines et dérivés sont des antioxydants très puissants **(Nakagawa et Yokozawa, 2002; Xu et al., 2004)** qui jouent un rôle anticancéreux très important (**Cao et Cao, 1999; Lamy et al., 2002)** et qui aident également à prévenir les maladies inflammatoires, coronariennes **(Hertog et al., 1995 ; Yang et al., 2001),** ainsi que les maladies cardiovasculaires **(Aneja et al., 2004; Stephanou, 2004; Townsend et al., 2004)** en induisant une baisse plasmatique notable des niveaux de lipoprotèines à l'origine d'athérosclérose **(Young et al., 1967; Akinyanju et Yudkin, 1967)** , de cholestérol et de triglycérides plasmatiques **(Muramatsu et al., 1986; Ikeda et al., 2005).** Selon **Macheix et al. (1989) et Macheix *et al.*(2005)**, environ une douzaine d'autres de ces composées peuvent être rencontrés dans les plantes incluant surtout : le (+) gallocatechine et le (-) epigallocatechine. Les principaux acides chlorogéniques enregistrés au niveau de la tige concernent l'acide 5-OCaffeoylquinique et l'acide 3,5-ODcaffeoylquinique. Ces composés comptent parmi les principaux sous groupes représentant 98% de tous les acides chlorogéniques dont les plus fréquemment rencontrés

chez les végétaux sont constitués surtout par les esters d'acides quiniques avec de l'acide caféique tels les acides caffeoylquiniques et les acides dicaffeoylquiniques ou avec de l'acide férulique comme les acides feruloylquiniques. Faute d'étalons standards appropriés, le reste de ces composés dits mineurs dont les acides feruloyl-feruloylquiniques, les acides caffeoyl-feruloylquinique et l'acide coumarique n'ont pas été identifiés chez l'espèce expérimentale *Salvador persica* collectée dans la région d'Arak à Ain Salah au sud d'Algérie **(Clifford, 1985 ; Morishita et al., 1989).** Selon **Clifford(1999) et Clifford (2000)**. L'acide 5-OCaffeoylquinique et généralement l'acide chlorogenique sont les plus prépondérants chez certaines plantes comme le café, les pommes, les poires et les tubercules de la pomme de terre. L'acide chlorogenique a été trouvé également, mais à de faibles taux dans la racine de la plante étudiée à coté d'un autre composé à savoir l'acide 4,5-ODcaffeoylquinique. Ces substances possèdent toutefois à titre indicatif de fortes propriétés antioxydantes impliquant le balayage de radical libre, la chélation d'ion métal et l'effet inhibiteur de certains enzymes spécifiques responsables de la formation de radicaux libres et d'hydro peroxyde **(Chen et Ho, 1997 ; Kikuzaki et al., 2002).** Concernant l'écorce et par comparaison aux autres parties du végétale étudiées il semble renfermer une forte proportion en narengénine qui est l'un des composés flavanones **(Kefford et chandler, 1970 ; Andersen et Markham, 2006).** Egalement, il s'avère relativement riche en caféine (1.3.7 trimethylxanthine) et en théobromine (3,7 dimethylxanthine) qui sont les plus important alcaloïdes methylxanthines retrouvés chez les plantes **(Eteng et al., 1997).** Ces substances présentent plusieurs effets très intéressants sur les différents systèmes du corps humain dont : le systhème nerveux central, cardiovasculaire, gastro-intestinal, respiratoire et rénaux **(James, 1991 ; Nehlig, 1992).** La dose thérapeutique de 500 mg/kg de théobromine est de puis longtemps employée dans le traitement de l'oedème cardiaque et de l'angine de poitrine et ses analogues de pentoxyfylline, suramin-théobromine et lisophylline sont actuellement exploités en chimiothérapie de certains cas de cancers **(Chang et al., 1993 ; Clark et al., 1996).** L'un des

autres alcaloïdes les plus remarqués dans l'écorce que la tige ou la racine de *Svadora persica* est la trigonelline ou l'acide N-mthylnicotinique qui est un composé dérivant de la pyridine **(Poulton, 1981 ; Johns, 1985 ; Barz, 1985).** La littérature rapporte plusieurs effets bénéfiques de la trigonelline sur la santé humaine : hypocholestérolémiant**(Ajabnoor etTilmisany, 1988 ; Al-Habori, 1998),** hypoglycémiant **(Ribes et al., 1984 ; Duke, 2001),** antibactérien **(Bhatti et al., 1996),** antiviral **(Ghosal et al., 1974),** antiinflammatoires **(Ahmadiani et al., 2001)** antioxydant **(El-sokkary et al., 1951),** stimulant d'appétit **(Petit et al., 1993)…**etc.

Les teneurs en matière minérale enregistrées, chez l'espèce étudiée autochtone *Salvadora persica* prélevée au sud du pays où elle pousse à l'état sauvage, sont remarquablement très élevées et varient significativement ($p<0.01$) de 9.8%MS dans la racine à 12.65%MS dans la tige et l'écorce. D'après **Massassati et al. (1981) et Abdel-wahab et al. (1990),** il est rencontré dans la tige de *Salvadora persica* de fortes teneurs en éléments minéraux se présentant notamment sous forme de chlorures et de gypse. De plus, **Dorner, (1981) et Almas et Al-lafi (1995),** rapportent l'existence dans la plante de Nacl, ainsi que de Kcl et des quantités substantielles en silice. Selon **Le Houérou, (1980),** la proportion en cendres dans les feuilles chez *Salvadora persica* est très considérable (36%MB); avec des quantités appréciables en calcium (07.20%), en silice (02.40%), en Magnésium (09.40%) et en potassium (01.70%). De plus, la silice composant les bâtonnets à brosse à dent notamment de la tige de Miswak est souvent incriminée par certains auteurs **(Almas et Al lafi, 1995)** dans l'enlèvement physique de la plaque dentaire lors de son utilisation. Par ailleurs, plusieurs composés anioniques potentiels ayant une activité antimicrobienne certaine **(Darout et al., 2003)** ont été détectées chez *Salvadora persica* ce qui peut expliquer aussi en partie les fortes teneurs en matière minérale constatées chez cette plante objet de l'étude**.**En effet, l'écorce est fortement concentré en ions sulfates et nitrates que la racine et la tige. Pour les ions chlore, l'écorce a accusé les plus faibles ($p<0.01$)

teneurs par comparaison à la racine et la tige. Quant aux fluorures, les analyses ont montré une absence quasi-totale dans les différentes parties étudiées de la plante. Ceci corrobore les résultats de **Hattab, (1997)** qui confirment l'existence de très peu de fluorures au niveau de la racine et de la tige de l'Arak (*Salvadora persica*).

Conclusion :

La fraction minérale est relativement importante chez *Salvadora persica* prélevée dans la région d'Arak au Sud de l'Algérie. Les teneurs enregistrées, notamment, au niveau de l'écorce sont remarquablement plus importantes que ceux de la tige et de la racine ($p<0.01$).

Les teneurs en matière organique sont plus élevées au niveau de la racine (90.22 %MS) et de la tige (87.76 %MS) qu'au niveau de l'écorce (86.94%MS) ($p<0.01$).

Les proportions en produits phénoliques totaux sont notablement plus importantes dans la tige (411.91 mg %MS), que dans l'écorce (207.12 mg %MS) et dans la racine (195.23 mg % MS).

La tige s'avère très riche en acide 5 O caffeoylquinique, acide 4-O caffeoylquinique, acide 3-5 O caffeoylquinique, catéchine et epicatéchine. L'acide 5O caffeoylquinique et l'acide 4-5 O caffeoylquinique comptent parmi les principaux polyphénols constitutifs de la racine.L'écorce, présente une forte proportion en Acide 3-O caffeoylquinique, en acide 5-O caffeoylquinique, en acide 5-Oferuloylquinique, en Acide 4,5-OD caffeoylquinique, en catéchine**,** en narengenine ainsi qu'en certains alcaloïdes dont caféine, trigonelline et théobromine.

Les extraits à l'eau de l'écorce sont plus riches en nitrates et en sulfates que les extraits de tige et de racine. Les ions chlore sont prépondérants dans les extraits aqueux de la tige. D'une façon générale, ces ions (nitrates, sulfates et ions chlore) sont d'autant plus élevés dans les extraits aqueux que le taux de matière végétale utilisée au cours de l'extraction est élevée. Par ailleurs, ces extraits à l'eau préparés notamment à partir de quantités élevées de matière végétale enregistrent les plus fortes valeurs d'acidité et ne renferment aucune trace d'ions fluorures.

Chapitre III : Effets des extraits hydro-éthanoliques de racine, tige et écorce de *Salvadora persica* sur la croissance des germes responsables d'infections buccales.

1. Résultats :

D'une manière générale, les extraits hydroéthanoliques préparés à des quantités croissantes de matières végétales de *Salvadora persica* ont provoqué une baisse appréciable dans le développement de *Lactobacillus casei* ($P<0.05$). Par rapport au témoin, l'accroissement de ce germe commence déjà à diminuer remarquablement sous l'action des extraits préparés à 02.5g de matière végétale ($P<0.01$); 222 10^5 vs 35 10^4 UFC/ml, en moyenne. A des taux d'extractions supérieurs ou égales à 5 g de broyat de la plante l'inhibition du germe *Lactobacillus casei* dans l'extrait hydro-alcoolique après évaporation du solvant est absolue. Par ailleurs, il s'avère que les principes composés bioactifs contenus dans les extraits soit de racine, de tige ou d'écorce ont exercé un effet inhibiteur identique vis-à-vis de la prolifération de la bactérie ($P>0.05$); les niveaux de croissance du germe ont été estimés à 278 10^5, 29 10^5 et 278 10^5 UFC/ml en moyenne, respectivement. En outre, il à été constaté que l'inhibition totale du germe *Lactobaciluscasei* est obtenue avec des extraits hydro-éthanoliques préparés à 2.5 g des matières végétales de racine et d'écorce et à 5.00g pour la partie tige de la plante.

Quant au nombre de *Streptococcus mutans* en fonction des concentrations d'extraits préparées à des taux de 0, 2.5, 5 et 7.5 g de matière végétale / 100 ml d'éthanol aqueux, il a connu une évolution proportionnelle ($P<0.01$); soit des accroissements microbiens qui ont varié respectivement de 142 10^{11} , à 64 10^{12}, à 69 10^{12} et à 75 10^{12}UFC/ml, en moyenne. A des concentrations d'extraits préparées à des taux de 10g et plus de broyat de racine, tige et écorce le développement de ce germe semble devenir indénombrable et marque des proliférations impressionnantes.

Les extraits hydroétanoiques de l'écorce de *Salvadora persica* préparés en particulier à des taux de matière végétale de 2.5 et 5 g/100ml ont exercé par comparaison au témoin un

moindre effet ($p<0.01$) inhibiteur vis à vis de l'espèce cariogène *Streptococcus mitis*; les niveaux de multiplication microbienne enregistrés dans ces solutions d'extraction sont de l'ordre de 296 10^{10} vs 30 10^{10} vs 580 10^{11} UFC/ml, en moyenne. Au contraire, les extraits préparés à de faibles taux, de broyat racinaire ainsi que de broyat de la tige, de 2.5 g/100ml,ont inhibé,entièrement, la prolifération du germe. Apparemment, quel que soit la partie du végétal utilisée lors de l'extraction (tige, racine ou écorce), les extraits préparés à partir de12.5g de broyat de la plante s'avèrent exercer un effet antimicrobien quasi-totale sur la croissance de l'espèce microbienne étudiée ; *Streptococcus mitis*.

Concernant les *Streptocoques faecalis* et comparativement à la solution témoin (sans extrait de *Salvadora persica*) le nombre enregistré après culture est fortement ($P<0.01$) réduit dans les extraits hydro-éthanoliques préparés à 2.5g des broyats de racine, tige et écorce de la plante; soit des baisses de 100, 99.45 et 100%, successivement. Toutefois, à des concentrations d'extraits préparés à des taux de matières végétales supérieurs à 2.5g aucune croissance de l'espèce bactérienne n'est observée, même au terme d'une incubation prolongée pendant 72 heures sur milieu gélosé spécifique.

Les extraits hydro-alcooliques de la tige et d'écorce de *Salvadora persica* préparés à de faibles taux de 2.5g/100ml (EthOH-Eau, 80/20, v/v) ont engendré une croissance nulle du germe *Staphylococcus aureus* contrairement au nombre appréciable de ce germe enregistré in vitro dans la solution témoin ($p<0.01$); 110 10^5 UFC/ml, en moyenne. L'accroissement de ce microorganisme s'avère toutefois s'estamper ($p<0.01$) à partir d'extraits d'écorce préparés à des taux plus élevés de matière végétale ; égal ou supérieur à 5g de broyat racinaire, de tige ou d'écorces. Ainsi, les extraits hydro-éthanoliques préparés à 5 g de n'importe quelle partie de matière végétale de *Salvadora persica* (soit de tige, racine ou écorce) semblent contenir l'essentiels des composés bioactifs antimicrobiens capables de détruire totalement la prolifération de l'espèce bactérienne objet de l'étudie à savoir *Staphylococcus aureus*.

A l'instar du témoin qui à occasionné un développement microbien remarquable de l'ordre de 123 10^5 UFC/ml, le nombre de *Staphylococcus epidermidis* a été nettement abaissé de 100% ($P<0.01$) dans l'extrait préparé à 2.5 g de broyat de racine. Enfin, concernant les autres extraits expérimentaux, l'inhibition totale de *Staphylococcus epidermidis* a été atteinte avec les solutions d'extractions hydro-éthanoliques préparées à partir de 5 g de matière végétale (de tige ou d'écorce) de Miswak **(Tableau 13).**

Tableau 13. Effet des extraits hydro-éthanoliques préparés à différentes quantités de racine, tige et écorce de *Salvador persica* sur la croissance de certains germes responsables d'infections buccodentaires**.**

	Parties du végétal	Extraits de *Salvadora persica* préparés à des taux de matière végétale de								F1	F2	Int F1XF2
		00.00 g (Témoin)	02.5 g	05.0 g	07.5 g	10.00 g	12.5 g	15.0 g	17.5 g			
Lactobacillus casei	Racine	$222\ 10^{5\ a}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	**	NS	**
	Tige	$222\ 10^{5\ a}$	$106\ 10^{4b}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
	Ecorce	$222\ 10^{5\ a}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
Streptococcus mutans	Racine	$142\ 10^{11}$	$63\ 10^{12}$	$43\ 10^{12}$	$49\ 10^{12}$	IND	IND	IND	IND		-	
	Tige	$142\ 10^{11}$	$62\ 10^{12}$	$98\ 10^{12}$	$71\ 10^{12}$	IND	IND	IND	IND			
	Ecorce	$142\ 10^{11}$	$67\ 10^{12}$	$65\ 10^{12}$	$105\ 10^{12}$	IND	IND	IND	IND			
Streptococcus mitis	Racine	$580\ 10^{11b}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	**	**	**
	Tige	$580\ 10^{11b}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
	Ecorce	$580\ 10^{11b}$	$296\ 10^{10a}$	$30\ 10^{10b}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
Streptocoques faecalis	Racine	$243\ 10^{5a}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	**	NS	**
	Tige	$243\ 10^{5a}$	$133\ 10^{3b}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
	Ecorce	$243\ 10^{5a}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
Staphylococcus aureus	Racine	$110\ 10^{5a}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	**	NS	**
	Tige	$110\ 10^{5a}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
	Ecorce	$110\ 10^{5a}$	$33\ 10^{33\ b}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
Staphylococcus epidermidis	Racine	$123\ 10^{5a}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	**	NS	**
	Tige	$123\ 10^{5a}$	$100\ 10^{3\ b}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			
	Ecorce	$123\ 10^{5a}$	$43\ 10^{5b}$	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}	00^{b}			

Pour chaque groupe n = 5 ; Les résultats sont exprimés en valeur moyenne; F_1: Facteur étudié, quantité de matière végétale utilisée lors de l'extraction ; F_2: Facteur étudié, parties du végétal de l'espèce *Salvadora persica* utilisée lors de l'extraction ; Inter: Interaction des facteurs F1XF2 ; IND : nombre de germes indénombrables ; Les moyennes figurant dans la même colonne avec différentes souscriptions sont significativement différent111es.

2. Discussion:

Les nombreuses études menées jusqu'à présent sur les plantes riches en composés phénoliques dont le Miswak (*Salvadora persica*) indiquent souvent qu'elles présentent une activité antimicrobienne certaine contre plusieurs germes à l'origine des multiples maladies buccodentaires en l'occurrence la gingivite, la parodontite et la carie dentaire **(Puupponen-pimia et al., 2001; Taguri et al., 2004; Ezekiel et al., 2009; Todkar et al., 2010; El-Tatari et al., 2011; Padma et al., 2012;Naseem et al., 2014; Zaid et al., 2015; Abhary and Al-Hazmi, 2016; Kumar et al., 2016).**

Nos résultats montrent, néanmoins, que les polyphénols extraits de l'arbre de *Salvadora persica* prélevé au sud d'Algérie n'exercent aucun effet inhibiteur particulier sur la croissance de l'espèce microbienne *Streptococcus mutans* même à des concentrations sévères de l'ordre de 106.64 mg Equivalents d'Acide Gallique (EAG) / 100 ml d'Extrait hydro-alcoolique (EHA) [mg EGA / 100 ml EHA]. Ceci ne concorde pas aux propos de plusieurs auteurs **(Almas et al., 2006; Al-Bayati et Sulaiman, 2008; Sofrata et al., 2008; Al-Sohaibani and Murugan, 2012; Padma et al., 2012; Naseem et al., 2014 ; Abhary and Al-Hazmi, 2016)** qui ont rapporté un effet antimicrobien marquant des extraits soit alcooliques ou aqueux de *Miswak* chez notamment *Streptococcus mutans* réputée comme étant l'espèce microbienne la plus cariogène. Il est bien établi que les polyphenols peuvent affecter la croissance du germe en inhibant surtout l'activité de certains enzymes telles la glucosyltransferase tout en réduisant le phénomène d'adsorption de la GTFs à la cellule bactérienne **(Jagtap et Karkera, 2000)**. Il s'avère aussi que certains catéchines peuvent endommager même les structures membranaires de la bactérie **(Ikigai, 1993)**. Apparemment, les principaux composés antimicrobiens analysés comme l'acides chlorogéniques, flavanols (kaempherol, quercitine et catechine) et flavanones (narengénine) ont été retrouvé qu'à de faibles proportions dans les différentes solutions d'extraction de *Salvadora persica* et n'ont

donc certainement pas influencé la croissance de l'espèce microbienne étudiée *Streptococcus mutans*.

Les autres germes du genre *Streptocoques* étudiés ont été remarquablement inhibés par les principaux composés bioactifs poly-phénoliques contenus dans les extraits hydro-éthanoliques de *Salvadora persica*. Ainsi, l'effet bactéricide de *Streptocoque mitis* qui est une espèce bactérienne éventuellement très cariogène est constaté avec les solutions d'extractions à l'éthanol aqueux préparées à partir de 2.5g de broyats de racine, ou de tige et renfermant respectivement 7.21 et 15.68 mg EGA / 100 ml EHA. Cette effet antimicrobien de *Streptococcus mitis* est enregistré éventuellement avec les extraits préparées à 7.50g de matière végétale d'écorce et contenant un taux plus important de polyphénols; de l'ordre de 24.17 mg EGA / 100 ml EHA. De nombreux auteurs ont confirmé nos résultats et suggèrent que les extraits à l'éthanol aqueux de *Salvadora persica* exercent des effets inhibiteurs significativement ($p<001$) important contre *Streptococcus mitis* **(Prashant et al., 2007; El-Tatari et al., 2011; Fatin-Majdina et al., 2014; Zaid et al., 2015)**. D'après la nature des composées phénoliques analysées chez l'espèce végétale (*Salvadora persica*), il est bien connu que certains acides chlorogéniques et alcaloïdes comme la trigonelline exercent un effet antimicrobien appréciable contre de nombreuse bactéries **(Bhatti et al., 1996)**. Ces extraits renferment certainement d'autres composés non identifiés et dont les mécanismes d'actions ne sont pas bien élucidés à ce jour.

Les *Streptococcus faecalis* ont été entièrement inhibés avec les extraits hydro-éthanoliques préparés à 2.5g de racine et d'écorce et renfermant successivement des teneurs en composés phénoliques de l'ordre de7.21 et 8.05 mg EGA / 100 ml EHA. Par ailleurs, cet effet bactéricide de ces entérobactéries est constaté également avec les solutions d'extraction préparées à 5g de tige et contenant un niveau de poly-phénols de 31.36 mg EGA / 100 ml EHA. Nos observations confirment ceux avancés par **(Darout et al., 2002)** qui affirment que les extraits hydro-éthanoliques de *Miswak* présentent une activité antimicrobienne avérée

contre *Streptococcus faecalis*. **Al-Bayati et Sulaiman (2008), Saeed Zayed *et al.* (2016) et Muhindi *et al.* (2016)** ont montré aussi l'efficacité antibactérien d'extraits aqueux et au méthanol de *Salvadora persica* sur ce pathogène responsable d'infections de la cavité buccale.

Les extraits préparés à 2.5g soit de racine ou d'écorce de *Salvadora persica* et renfermant successivement 7.21 et 8.06 mg EGA / 100 ml EHA ont exercé un effet bactéricide notable chez *Lactobacillus casei.* En outre, l'extrait à l'éthanol aqueux préparé à 5g de tige et contenant une quantité de 31.36 mg EGA / 100 ml EHA a inhibé totalement la prolifération de ce germe. Ces constatations ne corroborent pas ceux de **(Almas et Alzeid, 2004)** qui avancent l'inefficacité des extraits hydroalcooliques de *Salvadora persica* à inhiber tous les germes du genre *Lactobacillus* dont *Lactobacillus casei*. Cependant, des études plus récentes ont rapporté des preuves contradictoires et ont montré un effet inhibiteur drastique des extraits au méthanol de *Salvadora persica* à l'égard de la croissance de l'espèce bactérienne à savoir : *Lactobacillus casei* **(Al-Sieni, 2014, Kumar et al., 2016).** Les nombreux composés phénoliques et alcaloïdes identifiés dans les différentes parties de la plante (racine, tige et écorce) de la plante objet de l'étude (*Salvadora persica*) sont probablement à l'origine des divers effets antimicrobiens observés chez les bactéries étudiées. Cela n'exclut pas l'existence d'autres substances biologiquement actives dans la plante et qui n'ont pas été identifiées dans les différentes solutions d'extraction.

L'espèce bactérienne la plus pathogène à savoir *Staphylococcus aureus* qui n'est pas cariogène et pouvant coloniser surtout le nasophyrynx est entièrement inhibée avec les extraits hydro-éthanoliques riches en composés phénoliques et préparés surtout à partir de 5g de matières végétales soit de tige, de racine et/ou d'écorce. Ces solutions d'extractions à l'éthanol aqueux ont engendréà ce titre un même effet de type bactéricide sur l'espèce microbienne cariogène *Staphylococcus epidermidis*. Ces résultats ne confirment pas, toutefois, ceux de **(Almas, 2001)** qui na pas remarqué d'inhibition de la croissance des germes *Staphylococcus aureus et Staphylococcus epidermidis,* par les extraits à l'eau et aux

divers solvants organiques (éthanol, méthanol et hexane) aqueux de *Miswak;* alors qu'ils sont entièrement en accord avec ceux de **(Yarbrough *et al.*, 1980; Naseem et *al.*, 2014; El-Desoukey, 2015; Abhary and Al-Hazmi, 2016; Kawakib, 2016; Kumar *et al.*, 2016; Muhindi et *al.*, 2016)** qui suggèrent l'existence chez l'espèce *Salvadora persica* de nombreux constituants antimicrobiens (comme les nitrates et les sulfates) capables d'empêcher l'activité du transport phosphooxydatif ainsi que la consommation d'oxygène chez notamment *Staphylococcus aureus.* L'effet antimicrobien des composés phénoliques tels le (glycosylflavones) a été rapporté aussi par certains auteurs **(Afifi et al., 1997)** chez *Staphylococcus aureus ;* mais aucune étude n'a été effectuée à notre connaissance à ce jour chez l'espèce bactérienne *Staphylococcus epidermidis*.

Conclusion :

Les extraits à l'éthanol aqueux (soit de racine, de tige ou d'écorce) de *Salvadora persica* n'ont pas affecté la croissance de *Streptocoques mutans*.

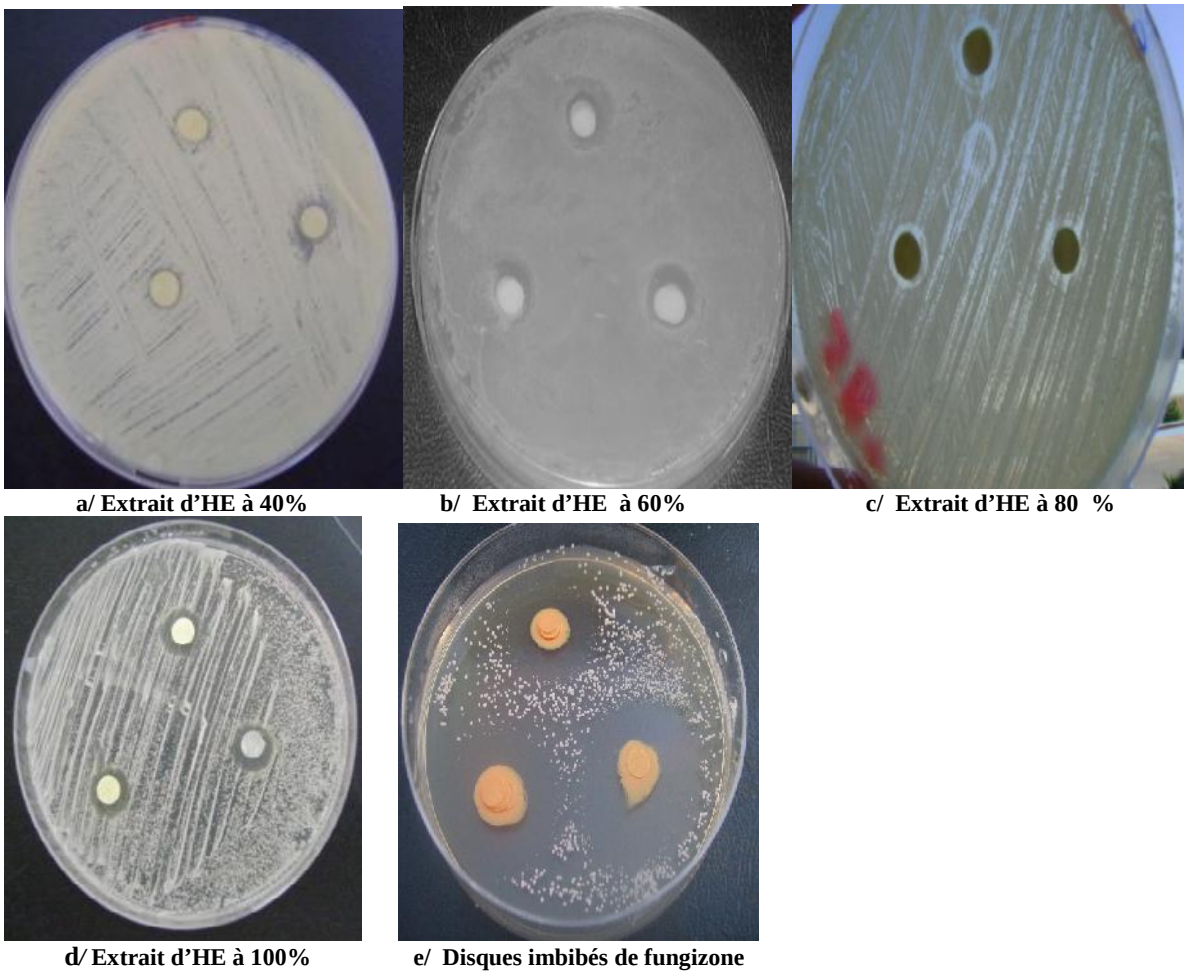
En revanche, les extraitshydro-alcooliques préparés à partir de 02.5 g de broyat de racine et renfermant un taux de poly phénols égale ou supérieur à (07.21 mg EGA / 100 ml EHA) ont inhibé l'ensemble des autres germes cariogènes étudiés et responsables de certaines infections buccodentaires (*Streptococcus mitis, Streptocoques faecalis, Lactobacillus casei, Stahylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*). L'inhibition totale de ces germes est atteinte également avec les extraits préparés à partir de 5 g de matière végétale de tige renfermant (31.36 mg EGA / 100 ml EHA) et à 7.5 g d'écorce contenant (24.17 mg EGA / 100 ml EHA).

Chapitre IV : «Effets antimicrobiens des huiles essentielles de la tige de *Salvadora percica* chez certains germes responsables de maladies buccales».

1. Résultats

1.1 Test de diffusion sur disques

Les diamètres d'inhibitions développés par les différentes solutions d'huiles essentielles (HE) de *Salvadora persica* chez *Candida albicans* sont illustrés dans la **(Figure 18)**.



a/ Extrait d'HE à 40% **b/ Extrait d'HE à 60%** **c/ Extrait d'HE à 80 %**

d/ Extrait d'HE à 100% **e/ Disques imbibés de fungizone**

Figure 18. Diamètres d'inhibition développés par les extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* et de la fungizone chez *Candida albicans*.

Le fungizone dénote un meilleur diamètre d'inhibition ($p<0.01$) chez *Candida albicans* (20,33mm, en moyenne) par comparaison aux autres solutions expérimentales d'huiles essentielles de *Salvadora persica*. Par rapport à ce fongicide, le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu chez l'espèce de levure étudiée avec l'extrait pur de Miswak préparé à 100% d'HE ($p<0,01$) ; 20.33 vs 12,67mm, en moyenne. Au contraire, les plus faibles résultats ($p<0,01$) sont réalisés en présence des extraits dilués à 40, 60 et 80 %; 7,67, 8,67 et 9,67 mm, en moyenne, respectivement. Cependant, tous les diamètres d'inhibition développés par les

extraits d'huiles essentielles préparés à 40, 60 et 80 % chez *Candida albicans* après 24heures de culture s'avèrent statistiquement ($p<0,05$) identiques.

Chez *Streptococcus mutans*, les diamètres antimicrobiens développés par les différents extraits d'huiles essentielles de Miswak sont mentionnés dans la **(Figure 19)**.

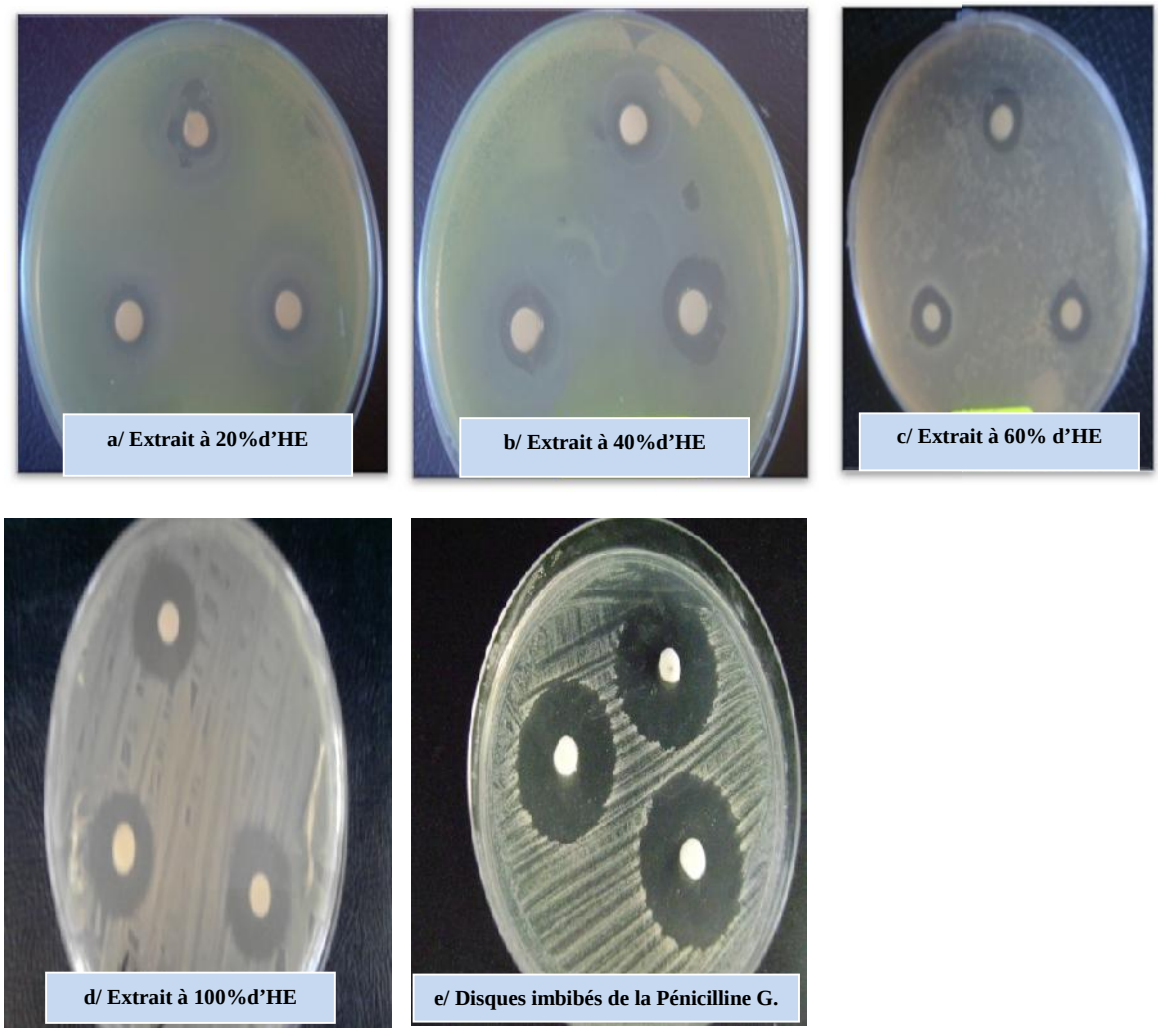


Figure 19. Diamètres d'inhibition développés par les extraits aqueux d'huiles essentielles de *Salvadora persica* chez *Streptococcus mutans*.

La pénicilline G à enregistré un diamètre d'inhibition (18mm, en moyenne) deux fois plus élevé ($p<0.01$) chez cette espèce bactérienne (*Streptococcus mutans*) par comparaison à ceux réalisés avec les différents extraits expérimentaux à base d'huiles essentielles dont les valeurs ont varié seulement ($p>0.05$) de 9.67 à 8.00 mm, en moyenne.

Concernant *Streptococcus mitis*, les effets antimicrobiens occasionnés chez ce dernier germe parles différentes solutions d'HE de Miswak sont relevés dans la **(Figure 20).**

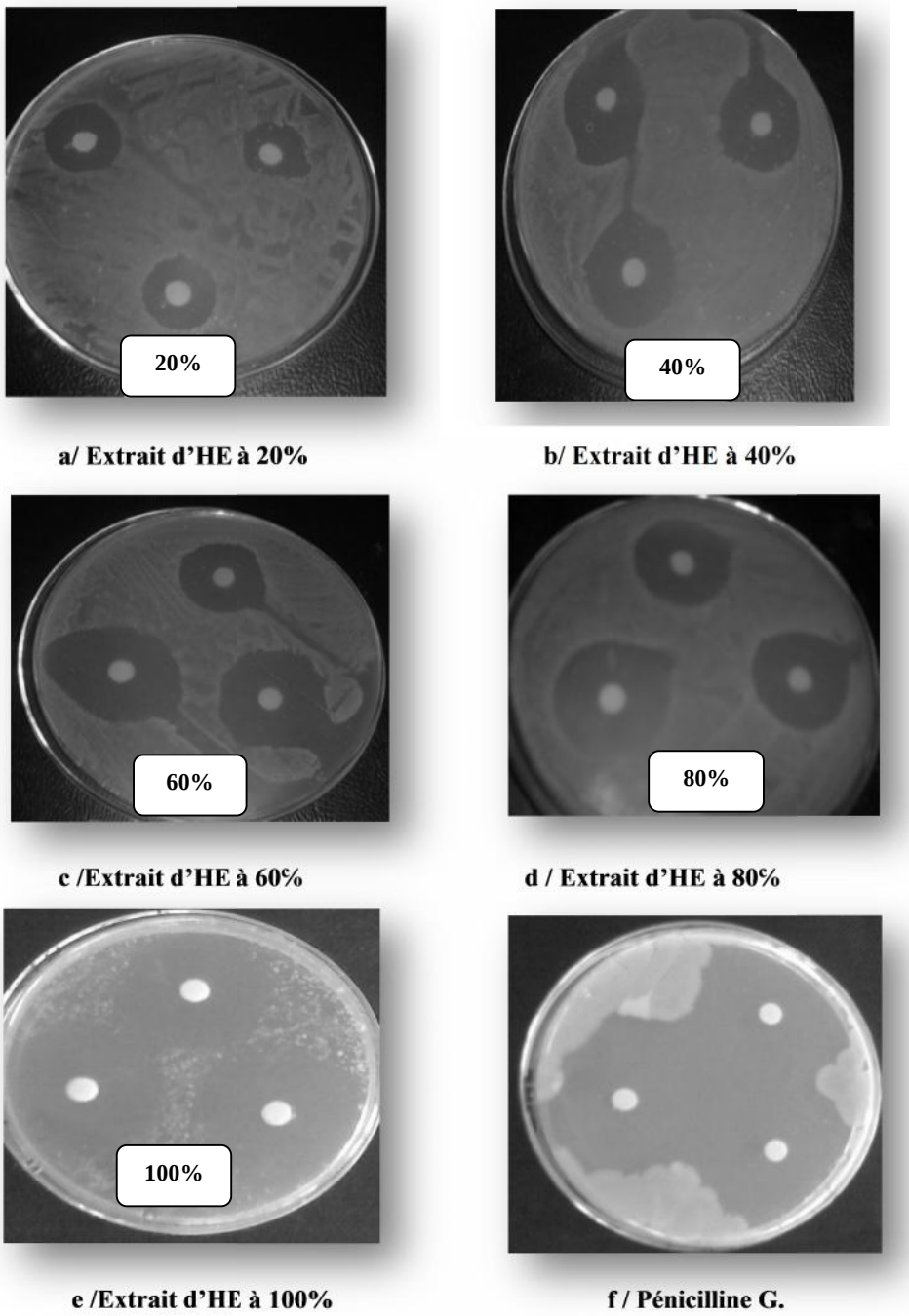


Figure 20. Diamètres d'inhibition développés par les extraits d'huiles essentielles (HE) de *Salvadora persica* chez *Streptococcus mitis.*

Le faible diamètre d'inhibition de *Streptococcus mitis* à été obtenu avec la solution préparé à 20% d'HE ($p<0,01$) ; 19 mm, en moyenne. Quant aux extraits préparés à 40 et 60%, ils ont occasionné des diamètres d'inhibitions comparables ($p>0.05$) et beaucoup plus élevés ($p<0.01$) que la solution précédente concentrée à 20% d'HE; 24,33 et 27,33mm, respectivement. Par ailleurs, les meilleures zones d'inhibitions ($p<0.01$) sont décelées chez *Streptococcus mitis* traitée avec les extraits à 80 et 100% d'HE; 28,67 et 29, 67 mm, en moyenne. Cependant, la pénicilline G s'est démarquée nettement des autres extraits

expérimentaux chez cette espèce microbienne avec des diamètres d'inhibition beaucoup plus élevés ($p<0,01$) ; de l'ordre de 44mm, en moyenne.

A propos de *Streptococcus faecalis*, les solutions à base d'huiles essentielles de Miswak ont présenté une activité antimicrobienne très remarquable contre ce germe cariogène*;* soit des zones d'inhibitions qui ont varié d'une manière proportionnelle ($p<0.01$) de 20,33 à 39,67 mm avec l'élévation de 20 à 100% de la concentration en huiles essentielles dans les différentes solutions expérimentales testées. Par ailleurs, l'extrait pur à 100% d'HE de Miswak a démontré chez cette espèce bactérienne une activité antimicrobienne sensiblement très proche ($p>0,05$) de celle de la pénicilline G; 39.67 vs 44mm, en moyenne **(Figure 21).**

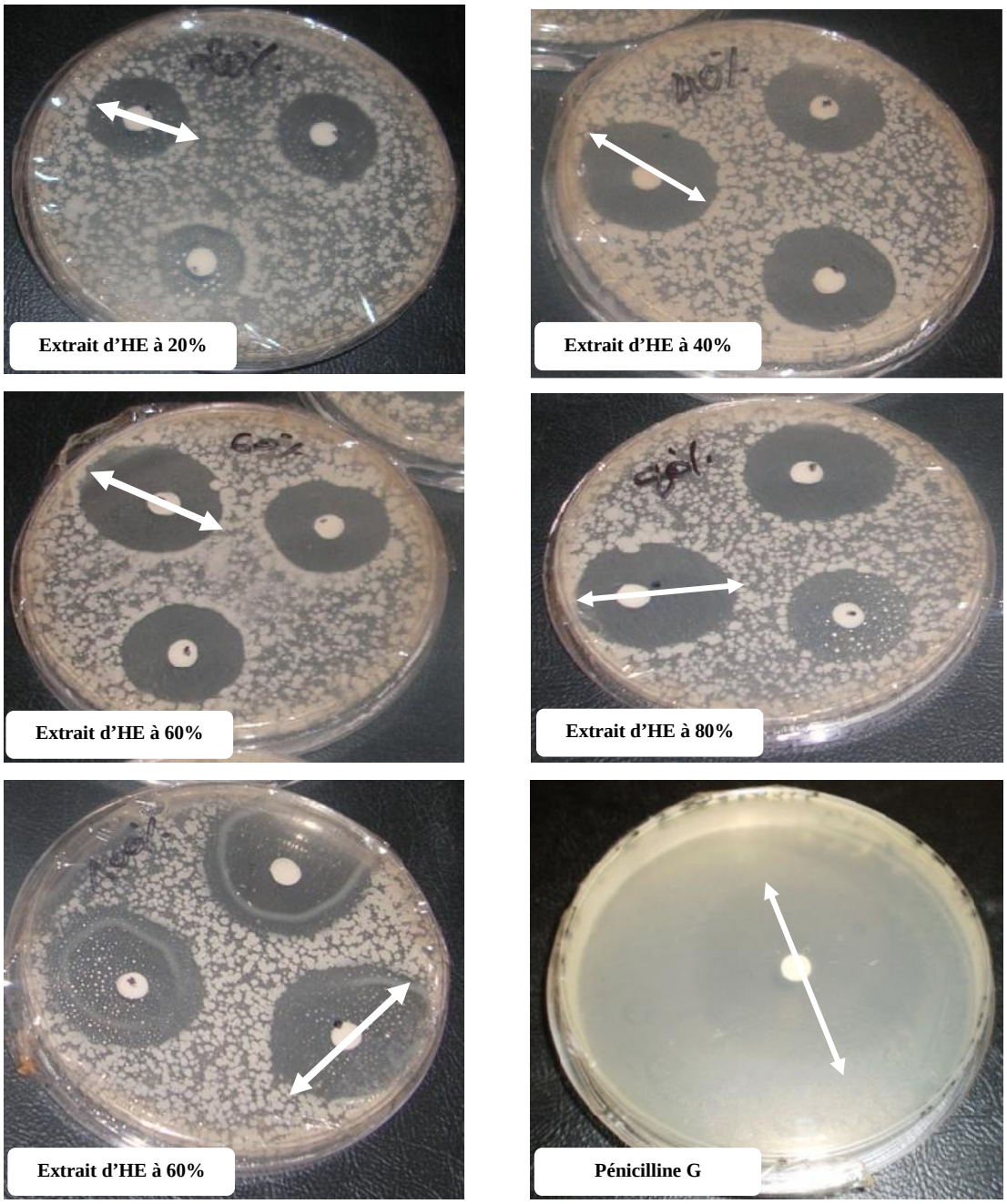


Figure 21. Diamètres d'inhibition développés par les extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* chez *Streptococcus faecalis.*

Les effets inhibiteurs des extraits à base d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la prolifération de *Staphylococcus aureus* déterminés par la méthode des disques sont représentés dans la **(Figure 22).**

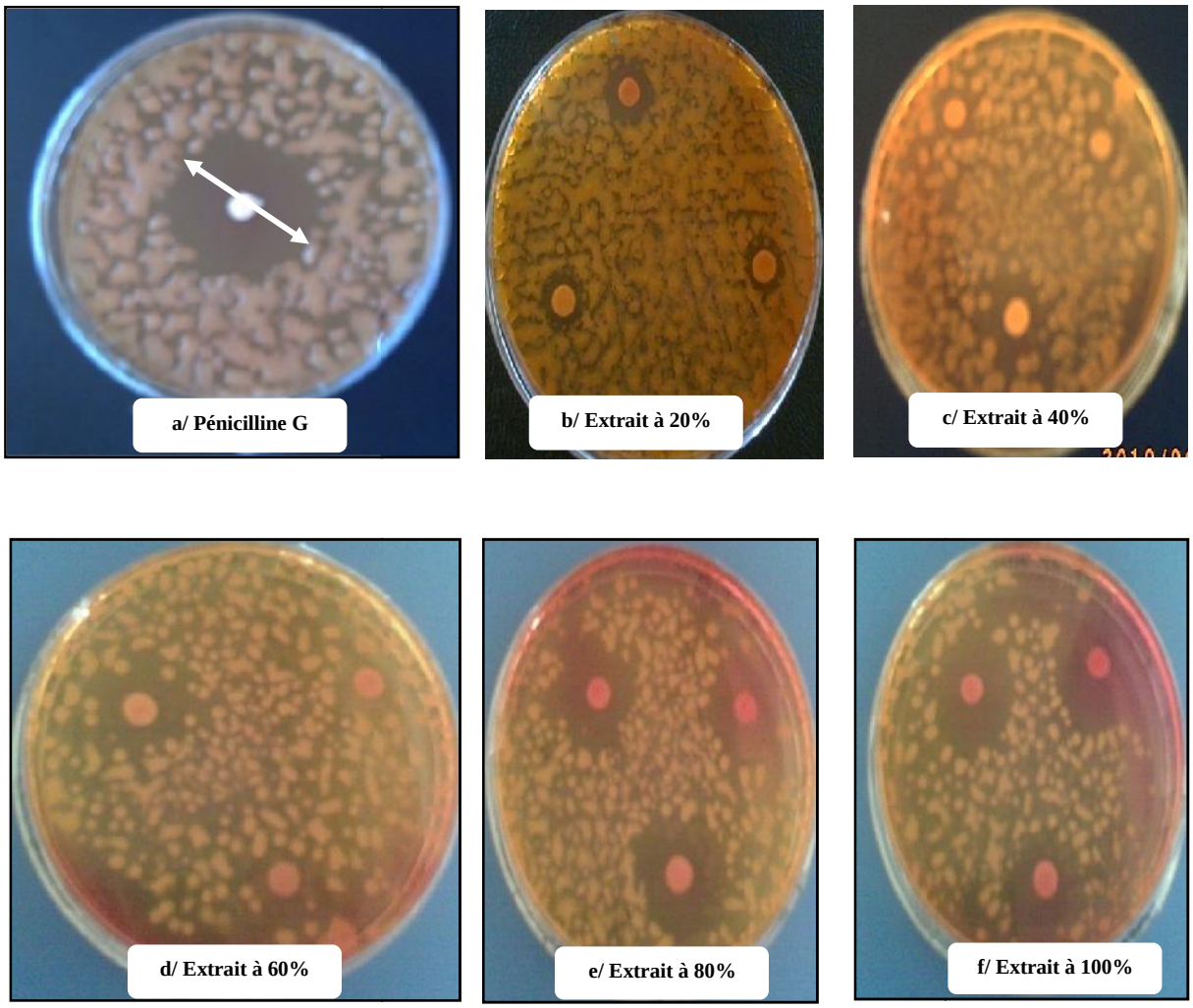


Figure 22. Diamètres d'inhibition développés par les extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* chez *Staphylococcus aureus.*

La pénicilline G à enregistré chez cette espèce bactériennedes diamètres d'inhibitions 02 fois plus élevées ($p<0.01$) que les autres extraits expérimentaux à base d'HE de Miswak ; 34.33 vs 16 mm, en moyenne. Par ailleurs, en fonction des concentrations en huiles essentielles variables de 20 à 100%, les zones d'inhibitions développées chez *Staphylococcus aureus* ont connu des augmentations significatives ($p<0.01$) de 04.67 à 25.33 mm, en moyenne **(Tableau 14)**.

Tableau 14. Influence des extraits aqueux à base d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur le développement des diamètres d'inhibition (mm) chez certains germes responsables d'infections buccales.

Germes	Fungizone ou Pénicilline G	Concentrations des solutions d'huiles essentielles de *Salvadora persica*						Effets des différentes solutions
		100%	**80%**	**60%**	**40%**	**20%**	**0%** Témoin	
Candida albicans	20.33 [a] ± 00.58	12.67 [b] ± 02.08	09.67 [c] ± 01.16	08.67 [c] ± 00.58	07.67 [c] ± 01.16	-	-	P<0.01
Streptococcus mutans	18 [a] ± 02.00	09.67 [b] ± 00.58	09.00 [b] ± 01.00	08.67 [b] ± 00.58	08.33 [b] ± 00.58	08.00 [b] ± 00.01	-	P<0.01
Streptococcus mitis	44 [a] ± 03.61	29.67 [b] ± 0.58	28.67 [b] ± 00.58	27.33 [c] ± 02.08	24.33 [c] ± 00.58	19 [d] ± 01.73	-	P<0.01
Streptocoques feacalis	44 [a] ± 00.01	39.67 [a] ± 03.22	30.00 [b] ± 04.36	28.67 [b] ± 04.73	27.33 [b] ± 01.00	20.33 [c] ± 02.52	-	P<0.01
Staphylococcus aureus	34.33 [a] ± 08.15	25.33 [b] ± 05.03	23.00 [bc] ± 01.00	15.67 [cd] ± 01.53	11.33 [de] ± 01.16	04.67 [e] ± 04.16	-	P<0.01

Pour chaque groupe n = 5; Les résultats sont exprimés en valeur moyenne suivie de l'écart type correspondante; Les moyennes figurant dans la même colonne avec différentes souscriptions sont significativement différentes.

1.2. Taux d'inhibition

Les variations des taux d'inhibitions des extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la croissance de *Candida albicans* sont marquées tout d'abord par des niveaux d'inhibitions relativement très élevés (p<0 ,01) allant de 62,30 à 47, 54 et à 42,62%, en moyenne, pour successivement les extraits d'huiles essentielles de Miswak préparés à 100, 80 et 60%. Par contre, le taux le plus faible (p<0,01) est constaté à 40% d'huiles essentielles de la plante; 37,71 %, en moyenne.

Concernant l'espèce *Streptococcus mutans* les taux d'inhibitions de ce germe ont varié d'une manière proportionnelle (p<0.01) de 44.44, à 46.29, à 48.15, à 50 et à 53.71% en fonction de la concentration en huiles essentielles de Miswak des solutions préparées pour respectivement à 20, 40, 60, 80 et 100%.

Chez l'espèce microbienne *Streptococcus mitis*, il apparait clairement que les extraits à base d'huiles essentielles préparés à 60,80 et 100% ont induit des taux d'inhibition similaires (p>0.05) et significativement plus élevés (p>0.01) par rapport aux extraits préparés à 20 et 40% d'HE; 62,121, 65,151 et 67,42% contre 43,18 et 55,30%, successivement.

Les variations des taux d'inhibitions de *Streptococcus faecalis* ont été caractérisées par des seuils qui ont augmentés ($p<0.01$) de 46,2, à 61,36, à 65,18, à 68,18 et à 87,878%, pour respectivement les solutions d'HE de Siwak préparés à 20, 40, 60, 80 et 100%. La solution d'HE préparées à 20% a réalisé le plus faible taux d'inhibition (46,21%) chez cette espèce cariogène; alors qu'à l'inverse le taux d'inhibition le plus important ($p<0.01$) a été établi avec la solution préparée à 100% d'HE (87,878%). Apparemment, les autres solutions d'HE de *Salvadora persica* ont induit des effets antimicrobiens comparables ($p>0.05$) sur la croissance du germe étudié.

Les taux d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* sont relativement faibles avec les huiles essentielles préparés à 20% (13.60%), augmentent significativement ($P<0.01$) à 33.04 et 45.68% avec les solutions d'extraits à base d'huiles essentielles préparés respectivement à 40 et 60% et deviennent significativement très élevés avec les extraits préparés 80 et 100% d'HE ; 67.05 vs 73.86%, en moyenne. Par ailleurs, les extraits préparés à 40 et 60% d'HE ont enregistré des taux d'inhibitions comparables ($P>0.05$) ; 33.04 vs 45.68%, en moyenne. Les extraits à base d'huiles essentielles préparés à 80 et 100% ont aussi occasionnés des niveaux d'inhibitions identiques ($P>0.05$) de la croissance du germe étudié *Staphylococcus aureus*; 67.05 vs 73.86%, en moyenne **(Tableau 15)**.

Tableau 15. Influence des solutions d'extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur le taux d'inhibition (mm) de certains germes responsables d'infections buccales.

Germes	Fungizone* ou Pénicilline G	Concentrations des solutions d'huiles essentielles de *Salvadora persica*						Effets des différentes solutions
		100%	80%	60%	40%	20%	0% (Témoin)	
Candida albicans*	-	62.30 [a] ± 10.24	47.54 [a] ± 05.68	42.62 [a] ± 0	37.71 [b] ± 05.68	-	-	P<0.05
Streptococcus mutans	-	53.71 [a] ± 03.21	50.00 [ab] ± 05.56	48.15 [ab] ± 03.21	46.29 [ab] ± 03.21	44.44 [b] ± 00.01	-	P<0.01
Streptococcus mitis	-	67.45 [a] ± 01.31	65.15 [a] ± 01.31	62.12 [a] ± 04.73	55.30 [b] ± 01.31	43.18 [c] ± 03.93	-	P<0.01
Streptocoques feacalis	-	87.88 [a] ± 07.31	68.18 [b] ± 09.91	65.15 [b] ± 10.74	61.36 [b] ± 02.27	46.25 [c] ± 05.72	-	P<0.01
Staphylococcus aureus	-	73.86 [a] ± 14.67	67.05 [a] ± 02.92	45.68 [b] ± 04.45	33.04 [b] ± 03.37	13.60 [c] ± 12.14	-	P<0.01

Pour chaque groupe n = 5; Les résultats sont exprimés en valeur moyenne suivie de l'écart type correspondante; Les moyennes figurant dans la même colonne avec différentes souscriptions sont significativement différentes.

1.3 Test de contact direct (de croissance sur milieux spécifiques)

L'extrait de Miswak préparé à 40% d'HE a révélé une faible croissance ($p<0,01$) de *Candida albicans* par rapport au témoin à base d'eau distillée sans extrait de *Salvadora*

persica ou sa multiplication microbienne a été plus prononcée; 51.10^5 vs 180.10^5 UFC/ml. La prolifération de ce microorganisme a continué à diminuer significativement ($p<0,01$) sous l'action de l'extrait de la plante préparé à 60% d'HE, $2,66.10^5$ UFC/ml. Cependant, les solutions expérimentales préparées à 80 et 100% d'HE ont exercé une absolue action fongicide sur *Candida albicans*; en effet, aucun développement de cette espèce de levure microbienne n'a été observé dans le milieu spécifique de croissance après incubation.

Les effets antimicrobiens des différentes solutions d'extraits d'huiles essentielles de Miswak sur la croissance de *Streptococcus mutans* sont mis en avant dans la **(Figure 23)** ci dessous.

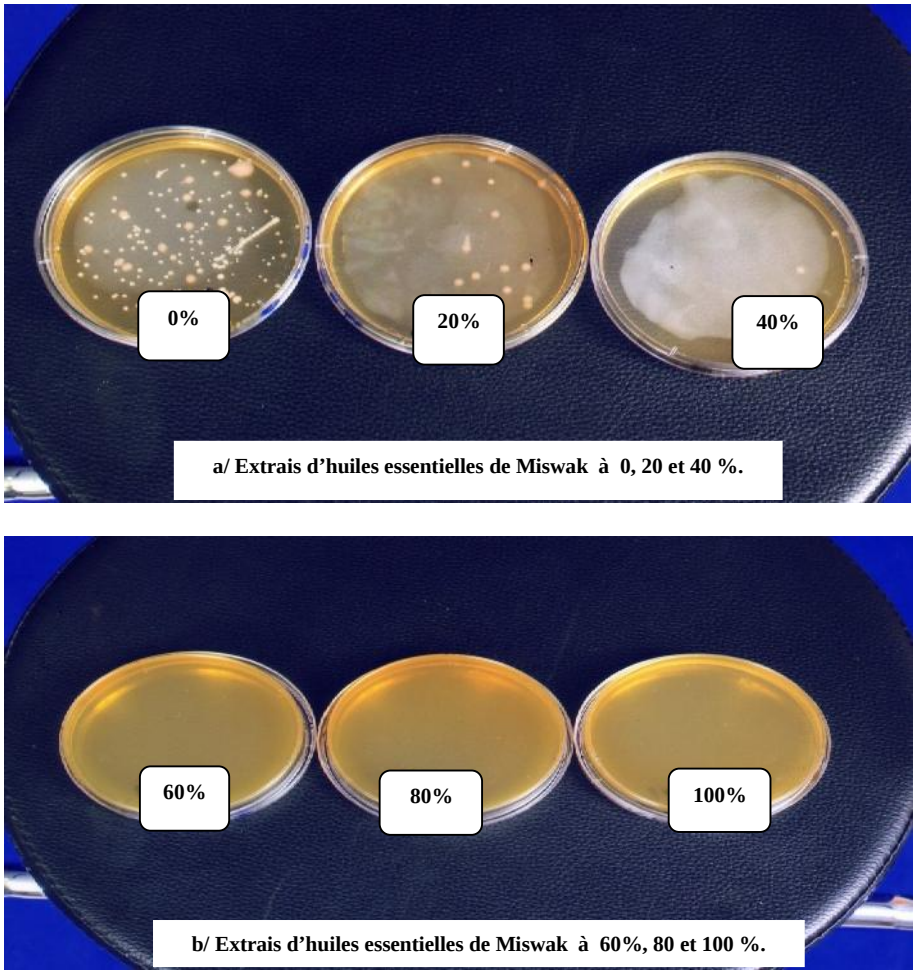


Figure 23. Effets des extrais d'huiles essentielles de Miswak sur la croissance de *Streptococcus mutans.*

Comparativement à la solution témoin sans huiles essentielles (HE) ou la croissance de *Streptococcus mutans* sur milieu gélosé spécifique a été maximale ($175\ 10^7$ UFC/ml), la multiplication de ce germe cariogène a commencé à diminuer d'une façon significative ($p<0.01$) sous l'action d'extrait préparé à 20% d'HE de Miswak, ensuite sa multiplication a été abaissée notablement ($p<0.01$) à (2.10^7UFC/ml) en présence d'extrait préparé à 40%

d'HE et à des taux d'extraits d'HE de 60, 80 et 100% aucune croissance du germe n'a été constatée.

La croissance de *Streptococcus mitis* a été largement freinée par les différentes solutions d'extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* **(Figure 24).** En effet, aucune prolifération du germe n'a été remarquée avec les extraits préparés particulièrement à 80 et100% d'HE.

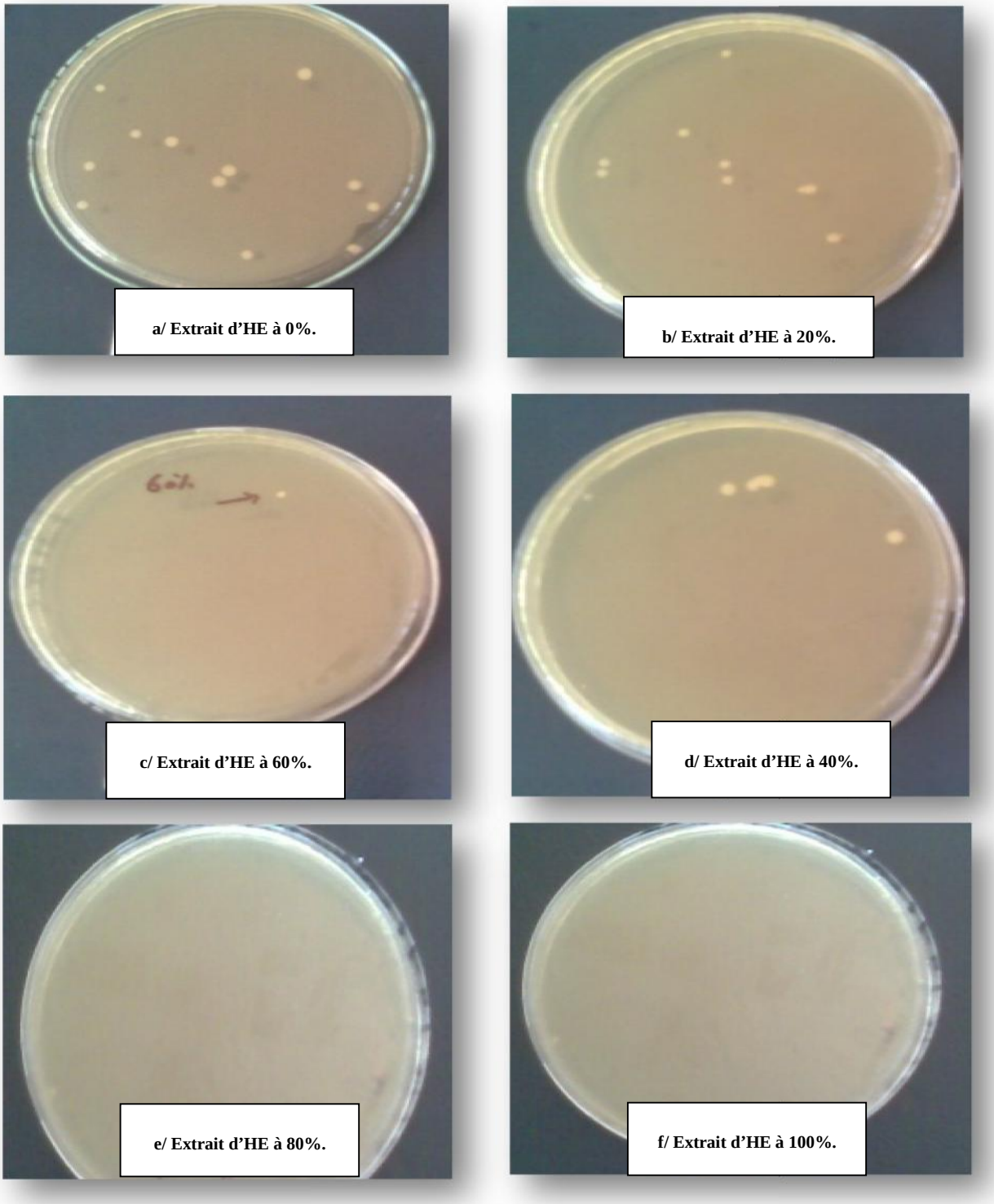


Figure 24. Effet des extraits d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la croissance de *Streptococcus mitis.*

Pour l'espèce *Streptococcus faecalis*, l'effet antimicrobien été très marquant surtout avec les solutions expérimentales préparées à 40, 60, 80 et 100% d'huiles essentielles de *Salvadora persica* ou aucun développement microbien n'a été obsercé **(figure 25)**.

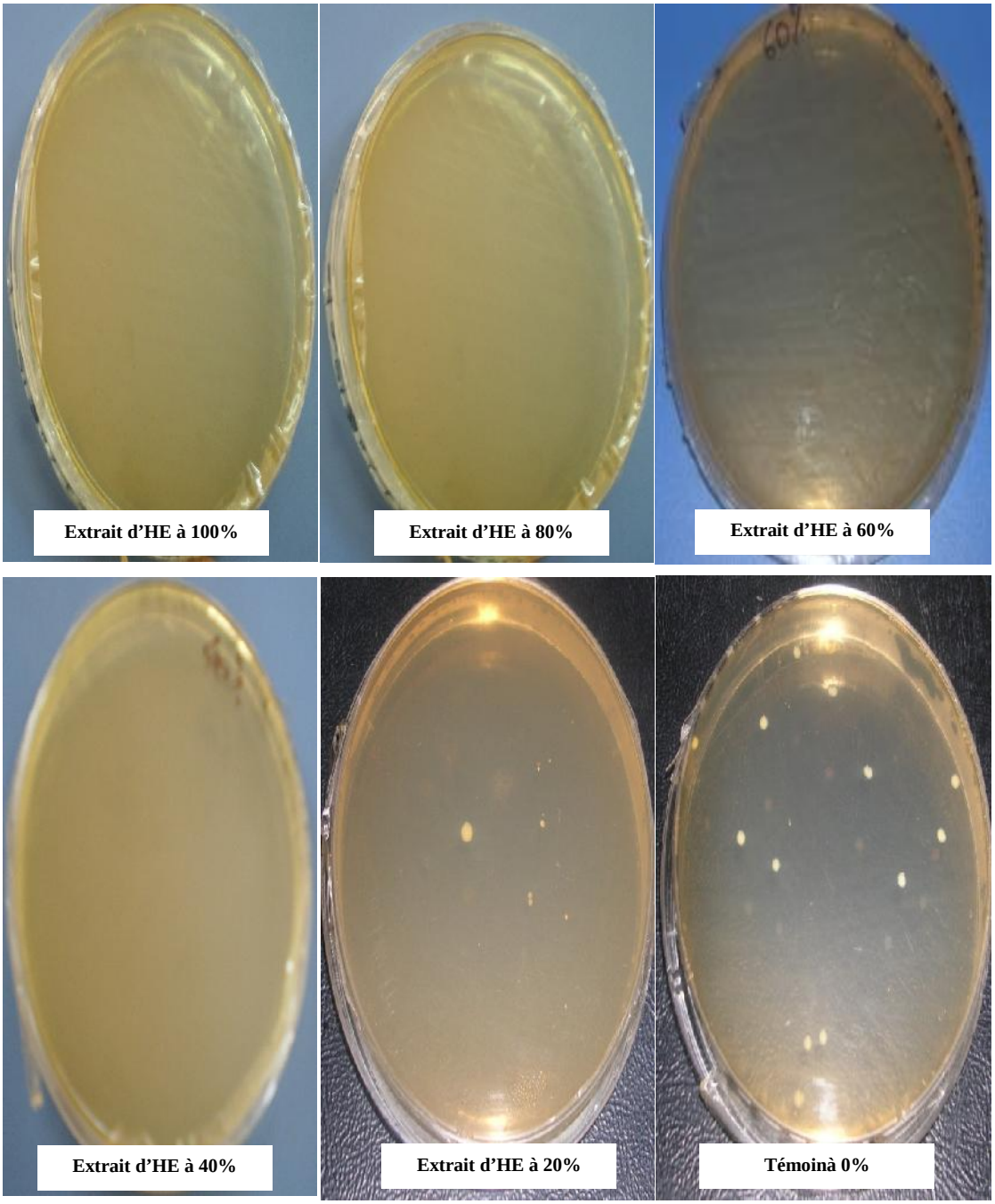


Figure 25 . Effet des extraits à base d'huiles essentielles de Siwak sur la croissance de *Streptococcus faecalis*.

Concernant l'espèce *Staphylococcus aureus* et d'une façon générale, aucune croissance du germe n'a été remarquée sous l'effet des solutions à base d'huiles essentielles de *Salvadora persica* préparées à des concentrations de 60, 80 et 100%

(Figure 26). La réduction (p<0.0) de la croissance de cette espèce bactérienne a été ressentie tout d'abord à 20% d'HE de Miswak (8.10^4 UFC/ml), ensuite la baisse (p<0.01) de sa prolifération a été plus prépondérante dans les solutions préparées à 40% d'HE (4.10^4UFC/ml), enfin, la croissance du germe a été totalement annihilée avec l'usage des extraits préparés respectivement à 60, 80 et 100% d'HE de Miswak **(Tableau 16).**

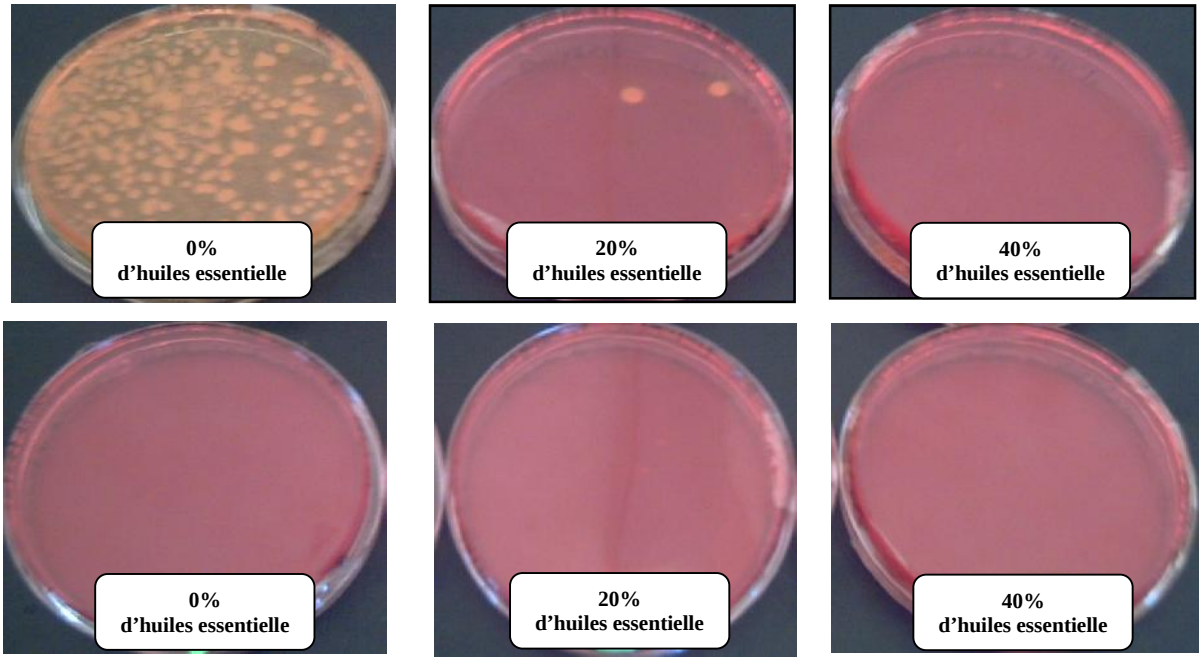


Figure 26. Effet des extraits à base d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 16. Influence des solutions d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la croissance de certains germes responsables d'infections buccales.

Germes	Fungizone ou Pénicilline G	Concentrations des solutions d'huiles essentielles de *Salvadora persica*						Effets des différentes solutions
		100%	**80%**	**60%**	**40%**	**20%**	**0%** Témoin	
Candida albicans	-	0^{c}	0^{c}	$200\ 10^{3c}$	$51\ 10^{5b}$	-	$180\ 10^{5a}$	P<0.01
Streptococcus mutans	-	0^{b}	0^{b}	0^{b}	$200\ 10^{5b}$	$120\ 10^{6b}$	$175\ 10^{7a}$	P<0.01
Streptococcus mitis	-	0^{c}	0^{c}	$33\ 10^{3c}$	$40\ 10^{4b}$	$66\ 10^{4b}$	$266\ 10^{4a}$	P<0.01
Streptocoques feacalis	-	0^{b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}	$240\ 10^{6b}$	$53\ 10^{7a}$	P<0.01
Staphylococcusa ureus	-	0^{c}	0^{c}	0^{c}	$40\ 10^{3b}$	$80\ 10^{3b}$	$30\ 10^{6a}$	P<0.01

Pour chaque groupe n = 5; Les résultats sont exprimés en valeur moyenne suivie de l'écart type correspondante; Les moyennes figurant dans la même colonne avec différentes souscriptions sont significativement différentes; UFC : Unité Formant Colonie.

1.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des germes étudiés

La solution d'huiles essentielles préparée à 40% laisse un taux de survie chez *Candida albicans* d'environ 49,714%; alors qu'a des taux d'extraits d'huiles essentielles supérieurs ce microorganisme s'avère incapable de survivre après 18 heures d'incubation à 37°C. C'est à partir de l'extrait préparé à 60% d'HE que la croissance de *Candida albicans* s'annule d'une manière absolue; cette concentration est retenue comme étant la concentration minimale inhibitrice chez cette espèce de levure.

Les espèces bactériennes *Streptococcus mutans* et *Streptococcus mitis* n'ont pas été sensibles aux solutions d'huiles essentielles préparées à 0, 20 et 40% ; mais elles s'avèrent incapables de se développer au contact d'extraits préparés à des concentrations supérieures ou égales à 60% d'HE. La solution d'extrait de Miswak préparé à 60% d'HE est donc la concentration minimale inhibitrice (CMI) capable d'inhiber totalement la croissance de ces deux germes de référence.

Quant à l'espèce *Streptococcus faecalis* elle s'avère capable de survivre à 77,77% sous l'effet antimicrobien de l'extrait d'huiles essentielles de Mswak dilué à l'eau à 20%. A des taux supérieurs de 40 et 60% d'HE la bactérie à connu des niveaux de survie de l'ordre de 55,55 et 44,44%, respectivement. La prolifération de ce germe est totalement anéantie dans les extraits préparés à 80 et 100% d'HE. La plus faible concentration d'HE de *Salvadora persica* à savoir de 80% représente ainsi la concentration minimale inhibitrice (CMI) ou l'espèce *Streptococcus faecalis* se trouve incapable de survivre.

La plus petite concentration pour laquelle il y a absence de variation de la densité optique durant 24 heures d'incubation chez *Staphylococcus aureus* est réalisée enfin avec la solution d'extrait préparée à 60% ; cette solution à base d'huiles essentielles de Miswak représente donc la CMI capable d'inhiber totalement la croissance de l'espèce microbienne étudiée **(Tableau 17).**

Tableau 17. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des solutions d'huiles essentielles (HE) de *Salvadora persica* chez certains germes responsables d'infections buccales.

Germes	Paramètres	Témoin	Concentrations des solutions d'huiles essentielles de *Salvadora persica*				
			20%	40%	60%	80%	100%
Candida albicans	Di	00.168	00.200	00.180	00.221	00.252	00.307
	Df	00.343	00.287	00.260	00.186	00.187	00.307
	Df –Di	00.175	00.087	0.080	-00.035	-00.065	00
	S %	100	49.714	45.71	00	00	00
CMI				60%			
Streptococcus mutans	Di	00.092	00.054	00.090	00.138	00.196	00.267
	Df	00.241	00.132	00.175	00.126	00.193	00.267
	Df –Di	00.149	00.078	00.085	-00.012	-00.003	00.00
	S %	100	52.35	57.05	00	00	00
CMI				60%			
Streptococcus mitis	Di	00.06	00.06	00.08	00.95	00.13	00.17
	Df	00.36	00.31	00.33	00.22	00.13	00.17
	Df –Di	00.30	00.25	00.25	-00.73	00	00
	S %	100	83.83	83.83	00	00	00
CMI				60%			
Streptocoques feacalis	Di	00.07	00.06	00.07	00.06	00.07	00.07
	Df	00.16	00.13	00.12	00.10	00.07	00.07
	Df –Di	00.09	00.07	00.05	00.04	00	00
	S %	100	77.77	55.55	44.44	00	00
CMI				80%			
Staphylococcus aureus	Di	0.03	0.09	0.15	0.23	0.29	0.29
	Df	0.33	0.24	0.29	0.23	0.29	0.29
	Df –Di	0.30	0.15	0.14	0	0	0
	S %	100	50	46.67	0	0	0
CMI				60%			

Df : Densité optique après incubation ; **Di** : Densité optique avant incubation ; **S** : pourcentage de survie ; **CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

1.5. Concentration minimale bactéricide(CMB) et fongicide (CMF) des germes étudiés

La **(Figure 27)** représente le nombre de microorganismes développés après 24 heures d'incubation à 37°C d'une part des différentes dilutions d'inoculas microbiens de référence allant de 10^{-1} à 10^{-4} et d'autre part des différentes solutions d'extraits à base d'huiles essentielles expérimentales ayant servies au préalable à la détermination des CMI de chaque microorganisme testé après 24 heures d'incubation à 37°C.

A travers cette figure, il apparait que l'extrait d'HE de Miswak préparé à 40% n'a pas inhibé totalement la croissance de *Candida albicans*. Cependant, la solution à 60% d'HE à engendré un pourcentage de survie porche de 0,01% de l'espèce microbienne testée; cette solution expérimentale constitue donc la concentration minimale fongicide (CMF) chez l'espèce de levure étudiée à svoir *Candida albicans.*

La solution d'extrait de *Salvadora persica* préparée à 20% d'HE n'a pas inhibé totalement la croissance de *Streptococcus mutans* et de *Streptococcus mitis,* à 40% d'HE les niveaux d'inhibitions sont plus élevés et à 60% les pourcentages de survie des deux germes sont proches de 0.01%; cette dernière concentration d'HE de Miswak peut être considérée comme étant la concentration minimale bactéricide (CMB) chez ces deux bactéries (*Streptococcus mutans* et *Streptococcus mitis*).

Pour *Staphylococcus aureus*, il apparait nettement que la concentration minimale ayant un pouvoir antimicrobien de type bactéricide (CMB) est bien la solution d'extrait d'huiles essentielles de *Salvadora persica* préparée à 60%.

A l'instar des microorganismes précédemment cités, la CMB a été perçue exceptionnellement chez *Streptococcus faecalis* à une concentration d'HE de *Salvadora persica* beaucoup plus sévère ; de l'ordre de 80%.

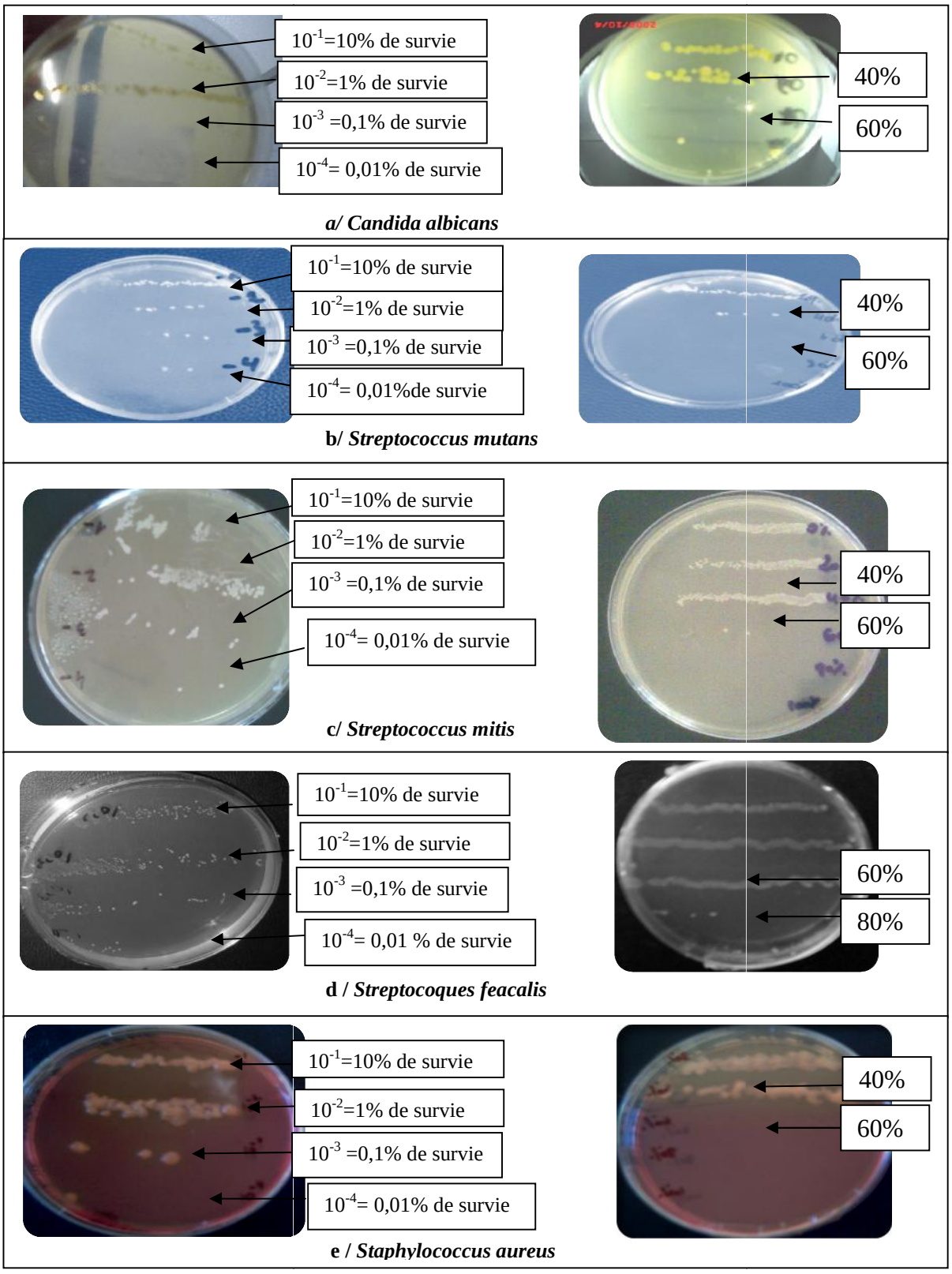


Figure 27. Détermination de la CMF et des CMB des extraits à l'hexane de *Salvadora persica* vis-à-vis de certains germes responsables d'infections buccales.

Il résulte, à partir des rapports CMF/CMI et CMB /CMI que les huiles essentielles de *Salvadora persica* exercent des effets inhibiteurs de type fongicide contre *Candida albicans* d'une part et de type bactéricide en d'autre part chez respectivement les espèces microbiennes

étudiées : *Streptococcus mutans***,** *Streptococcus mitis*, *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* **(Tableau 18).**

Tableau 18. Action inhibitrice des solutions d'HE de *Salvadora persica* chez certains germes responsables des maladies buccales.

Germes	**CMF*** **ou CMB**	**CMI**	**CMF/CMI ou CMB/CMI**	**Type d'inhibition microbien des huiles essentielles de *Salvadora persica***
Candida albicans*	60%	60%	01	Fongicide
Streptococcus mutans	60%	60%	01	Bactéricide
Streptococcus mitis	60%	60%	01	Bactéricide
Streptocoques feacalis	80%	80%	01	Bactéricide
Staphylococcus aureus	60%	60%	01	Bactéricide
Normes	➢ **D'après (Denis *et al.*, 2011)** : **CMF/CMI ≤ 2** (Effet Fongicide ou Bactéricide) **CMF/CMI > 2** (Effet Fongistatique ou Bactériostatique) ➢ **D'après (Marmonier, 1990) :** **CMF/CMI≤4** (Effet Fongicide ou Bactéricide) **CMF/CMI≥4** (Effet Fongistatique ou Bactériostatique)			

2. Discussion:

La cavité buccale est un carrefour aéro-digestif ou transitent en permanence les aliments et l'air contaminés par de nombreux micro-organismes de l'environnement. Il n'est donc pas étonnant qu'une flore microbienne très abondante associée aux muqueuses buccales, aux tissus dentaires et aux sécrétions salivaires **(Berche et al., 1988)** soit à l'origine de multiples maladies buccodentaires.

L'une des infections très redoutables chez les nourrissons, enfants et individus immunodéprimés est la candidose buccale causée par *Candida albicans* **(Pappas, 2006 ; Pfaller et Diekema,2007).**

Les solutions d'huiles essentielles (HE) de Miswak (*Salvadora persica*) prélevé de la région d'Arak sise à Ain Salah au sud d'Algérie ont induit une régression remarquable ($p<0,01$) de la croissance de cette espèce microbienne. Par comparaison à la solution témoin sans huiles essentielles, l'effet inhibiteur sur l'espèce fongique a commencé à apparaitre à 40% d'HE; mais l'effet antimicrobien devient important surtout à 60% d'HE. Par ailleurs, aucun développement de *Candida albicans* n'a été observé avec les extraits préparés à 80 et 100% d'HE de la plante. A ce propos, plusieurs auteurs ont confirmés la présence d'huiles essentielles dans le Miswak et que leurs constituants bioactifs tels les composés terpéniques présentent une action antimicrobienne potentielle contre de nombreux micro-organismes dont l'espèce de levure étudiée à savoir *Candida albicans* **(Ezmirly et al., 1979 ;Al-Bagieh et Almas et al., 1997 ; Abdullah et al., 2010 ; Noumi et al., 2010).**

L'analyse de la composition chimique chez cette espèce végétale à montré qu'elle renferme de nombreux autres substances ayant des activités antimicrobiennes variables d'une espèce microbienne à une autre. Les composés phénoliques (tannins et flavonoïdes) **(Farooqui et Sriastava, 1968)**, les glucosides ainsi que les composés sulfurés **(Kamel et al., 1992),** le β sitostérol, le Salvadourea [1,3-bis-3 - Méthoxy-benzyle-urée] et l'acide m-anisique

(Ray et al., 1975) sont autant de substances bactériostatiques signalées depuis longtemps chez *Salvadora persica*.

De même, les extraits de la tige de *Salvadora persica* obtenus par hydro distillation peuvent être très riches en certains composés bioactifs solubles dans l'eau comme l' acide 3-4 OD caffeolylquinique, le catéchine et l'épi catéchine qui sont de puissants antioxydants **(Zhang et al., 1997; Guo et al., 1999; Xu et al., 2004)** dont l'activité antimicrobienne contre *Candida albicans* n'est pas encore démontrée à ce jour et dont les effets bénéfiques sont très approuvés contre de nombreuses maladies telles (cancers, coronariennes, cardiovasculaires, hypercholestérolémie…etc.) **(Nakagawa et Yokozawa, 2002; Stephanou, 2004; Townsend et al., 2004 ; Ikeda et al., 2005).**

Le « Miswak » a de multiples autres composés bioactifs ayant des propriétés particulières citées par de nombreux auteurs dont antibactériennes, antioxydant **(Noumi et al., 2010),** antiviral, analgésique, anti-inflammatoire, anti-pyrétique, diurétique **(Galletti et al., 1993)**, anti-caries, anti-maladies parodontales et antifongiques **(Al-Bagieh et Almas et al., 1997).**

Apparemment, les extraits préparés à 60, 80 et 100% d'HE de Miswak ont occasionné des taux d'inhibitions élevés chez *Candida albicans* et variables respectivement de 42,62 à 62,30% ; alors que la solution préparée à 40% d'HE a enregistré de faibles ($p<0.05$) valeurs de l'ordre de 37,705%. Ceci confirme bien que les huiles essentielles de Miswak exercent un effet antifongique avéré sur la croissance de *Candida albicans.* Plusieurs auteurs **(Al-lafi et Abanech, 1995 ; Runyoro *et al.*, 2006 ; Noumi *et al.*, 2010 ; Noumi et al., 2010; Alili *et al.*,2014 ; Naseem *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2016)** ont prouvé à ce propos *in-vitro* l'effet inhibitrice des extraits aqueux, aux solvants organiques et à base d'huiles essentielles du Miswak sur la croissance de divers bactéries aérobies buccales ainsi que chez l'espèce expérimentale étudiée *Candida albicans.*

Les solutions concentrées d'huiles essentielles de la tige de Miswak Algérien ont manifesté selon une relation dose à effet une activité antifongique très active en inhibant proportionnellement la croissance *in-vitro* de *Candida albicans*. L'analyse de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale fongicide (CMF) a montré par ailleurs que cette espèce de levure est sensible à 60% d'extrait d'huile essentielles de Miswak avec un rapport CMI/CMF égale à 1. D'après **(Denis *et al.*, 2011)** étant donné que le rapport CMI/CMF est inferieur ou égale à 2 la substance antimicrobienne exerce un effet de type fongicide**. (Marmonier, 1990),** rapporte à son tour que lorsque le rapport est inférieur ou égale a 4 ceci suppose que la substance antimicrobienne présente un effet de type fongicide ; alors que si le rapport est supérieur à 4 elle présente un effet plutôt fongistatique. L'extrait d'huiles essentielles préparé à 60% semble donc exercer un effet de type fongicide vis-à-vis de l'espèce étudiée *Candida albicans.*

Malgré que le fungizone est très utilisé dans le traitement des candidoses, cet antifongique peut être la cause de toxicités graves chez certains patients caractérisées lors d'un traitement prolongé par une rétention azotée avec augmentation de l'urée sanguine, des pertes importantes d'électrolytes (Hypokaliémie) et des lésions prononcées des tissus rénales pouvant évoluer vers une insuffisance rénale chronique **(Viguié-Vallanet, 2005)**. La recherche d'autres composés bioactifs naturels retrouvés chez certaines plantes médicinales autochtones comme les huiles essentielles de *Salvadora persica* est plus que nécessaire pour lutter contre de nombreuses maladies dont les candidoses. Ils peuvent constituer certainement une thérapie naturelle très efficace, de substitution aux traitements conventionnels dont les effets néfastes seront certainement très négligeables chez les patients**.**

Dans ce contexte, l'efficacité thérapeutique du carvacrol et de l'eugénol qui sont deux composés phénoliques d'huiles essentielles de *Salvadora persica* a été bien démontrée dans le traitement de la candidose buccale engendrée par *Candida albicans* **(Onawunmi et al., 1984 ; Wu et al.,1996)**. Les études *in-vitro* réalisées par (**Al-Bagieh et Abanech, 1995)** sur la

flore buccale ont également confirmé que les principes composés bioactifs constitutifs de Siwak (*Salvadora persica*) empêchent non seulement la croissance de *Candida albicans* ; mais aussi de multiples bactéries aérobies et anaérobies, pouvant coloniser la cavité buccale et qui sont responsables de la formation de la plaque dentaire ainsi que de la production d'acides organiques capables de causer une déminéralisation des dents en favorisant par voie de conséquence l'apparition de la cavité carieuse chez les malades **(Elvin lewis, 1980 ; Sadhan et Almas, 1999)**. Plusieurs auteurs préconisent ainsi l'utilisation du Miswak comme moyen pouvant assurer l'hygiène buccale et indiquent que ses extraits préparés notamment à de fortes concentrations présentent des effets comparables sinon meilleurs par comparaison à d'autres désinfectants oraux et agents anti plaque dentaire usuellement commercialisés **(Almas et al ., 2002 et Almas et al., 2006).**

Il est bien évident que les huiles essentielles de la tige de *Salvadora persica* collectée dans la région d'Arak à Ain Salah au sud d'Algérie et obtenues par hydro-distillation contiennent l'essentiels des composés bioactifs susceptibles d'inhiber efficacement la prolifération de *Candida albicans.* Ils peuvent constituer certainement une thérapie naturelle de choix à moindre cout des candidoses constatées le plus souvent chez particulièrement les enfants et les malades touchés par le sida accusant une immunodépression **(Pappas, 2006 ; Pfaller et Diekema,2007).**

En outre, les huiles essentielles de la tige de *Salvadora persica* étudiée semblent disposer d'un incroyable effet antimicrobien sur la croissance de *Streptococcus mutans* communément connu comme étant le principal germe cariogène **(Liebana et Castillo, 1994)**. En effet, la prolifération de cette espèce microbienne est entièrement estampée au contact d'extraits d'huiles essentielles de Miswak préparés à 60,80 et 100%.

A ce sujet, plusieurs auteurs ont confirmé la présence d'huiles essentielles dans l'arbre d'Arak (*Salvadora persica*) possédant un effet antimicrobien contre plusieurs germes

responsables de la carie dentaire dont *Streptococcus mutans* **(Dorner, 1981 ; Al-Bagieh et Almas et al., 1997).**

Apparemment, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) de ce germe ont été obtenues avec la solution d'extrait d'huiles essentielles préparée à 60%. Cet extrait dont l'action inhibiteur est deux fois moindre que la pénicilline G s'avère exercer un effet antimicrobien de type bactéricide chez cette espèce bactérienne **(Marmonier, 1990 ; Denis *et al.*, 2011)**.

A ce propos, plusieurs auteurs **(Al-Bagieh et al ., 1994 ; Al- lafi et Abanenh, 1995 ; Padma et al., 2012; Naseem et al., 2014 ; Abhary and Al-Hazmi, 2016; Kumar et al., 2016)** ont prouvé in vitro l'action inhibitrice chez *Streptococcus mutans* de nombreux extraits de Miswak outre que les huiles essentielles obtenues non pas par hydro distillation ; mais par macération à l'eau ou par usage d' autres solvants organiques (éthanol, méthanol, hexane..etc.).

Il est bien établi qu'en générale, les huiles essentielles exercent l'effet inhibiteur contre la croissance des microorganismes par plusieurs mécanismes ; physiques, physicochimiques ainsi que biochimiques. Cette action inhibitrice se manifeste par une multiplicité d'influence individuelles affectant l'ADN quelques protéines spécifiques et l'activité de certains enzymes cellulaire **(Luck et Jager ,1997 ; Cowan, 1999).**

De plus, l'effet antimicrobien de tels extraits est expliqué par leurs pouvoirs de s'adsorber sur la membrane cellulaire tout en privant les bactéries de certains ions métalliques **(Scalbert, 1991).** Selon **(Luck et Jager, 1997),** les huiles essentielles peuvent éventuellement attaquer la membrane cellulaire en la perforant, ce qui peut se traduire par une augmentation du flux de protons, vers l'intérieur de la cellule et un accroissement des besoins en énergie des microorganismes.

L'autre bactérie commensale qui peut coloniser les surfaces dures dans la cavité buccale telles que les tissus dentaires ainsi que les muqueuses est *Streptococcus mitis* **(VanHoute et Jansen, 1970).**

Les extraits de *Salvadora persica* préparés notamment à des concentrations d'huiles essentielles de 80 et 100٪ ont engendré un effet antimicrobien potentiel de type bactéricide chez cette espèce microbienne.

Dans ce contexte, l'existence de plusieurs composés bioactifs dans le Miswak ayant une activité inhibitrice contres la croissance de nombreux germes appartenant au genre *Streptococcus* dont *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivavius* et *Streptococcus sanguis* a été constatée par plusieurs auteurs (**Al-Bagieh,1992 ;Al Bagieh,1997 ;Daroutet al.,2002 ; Darout et al.,2003 ; Padma et al., 2012; Naseem et al., 2014 ; Rasouli et al., 2014 ; Abhary et Al-Hazmi, 2016; Kumar et al., 2016).** La majorité de ces substances exerçant des effets antimicrobiens spécifiques contre l'espèce *Streptococcus mitis* ont été extraites du Miswak surtout soit à l'eau ou par l'entremise de solutions aqueuses hydro-alcooliques à l'éthanol ou au méthanol **(Prashant et al., 2007 ; El-Tatari *et al.*, 2011; Fatin-Majdina*et al.*, 2014 ; Zaid *et al.*, 2015).** Il à été prouvé que certains de ses constituants chimiques sont biologiquement très actifs tels que la vitamine C, la salvadorine, le salvadourea, les alcaloïdes, la triméthylamine, les glycosides cyanogènes, les tanins, les saponines et les chlorures **(Almas et al., 2006 ; Rajesh et al., 2009)**. Néanmoins, aucune étude à notre connaissance n'a été rapportée à ce jour sur l'action antimicrobienne particulière des principaux constituants d'huiles essentielles de *Salvadora persica* sur la croissance de *Streptococcus mitis* considérée comme étant l'une des espèces bactériennes la plus cariogène chez l'homme (**Bisno et Van De Rijin,1995 ; Farge,1998 et Regnault, 2000).**

Il faut rappeler que l'activité de tels extraits du végétal dépend de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction, le type des solvants utilisés et les concentrations en principes actifs appliquées **(Wagner, 1993).** Il est bien établi qu'en générale, les huiles essentielles exercent

l'effet inhibiteur contre les microorganismes par plusieurs mécanismes dont d'une part par interférence avec la double couche lipidique de la membrane cellulaire en provoquant une augmentation de la perméabilité et de la perte des constituants cellulaires et en d'autre part par altération des différents systèmes enzymatiques tels ceux impliqués dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure **(Véronique et al., 1998).**

Par ailleurs, les huiles essentielles de *Salvadora persica* ont dévoilé une activité antimicrobienne potentielle sur la croissance de *Streptococcus faecalis* impliqué dans la carie dentaire **(Ryberg et al., 1991)** et sur l'un des germes le plus pathogène pouvant coloniser le nasophyrynx **(Tanner, 1994)** et responsable fréquemment des infections nosocomiales **(Almas, 2004)** à savoir *Staphylococcus aureus*. En effet, aucune croissance de ces deux bactéries n'a été observée dans les solutions préparées à 60, 80 et 100% d'HE de Miswak.

Cet effet antimicrobien qu'exercent les huiles essentielles de *Salvadora persica* contre *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* a été bien rapporté par plusieurs auteurs **(Al-bagieh et al., 1994 ; Al-lafi et Abaneh, 1995; Almas,1999 ; Almas, 2002 ; Daroutet al., 2003).** A ce propos, il est bien établi que les composés terpéniques comptent parmi les principaux constituants des huiles essentielles chez cette espèce végétale ayant un effet inhibiteur avéré contre de nombreux germes. En plus, les huiles essentielles sont dotées de plusieurs groupements fonctionnels tels que les phénols et des aldéhydes capables de réagir avec les enzymes membranaires des bactéries tout en affectant le métabolisme cellulaire et par voie de conséquence leurs facultés à croitre convenablement dans le milieu **(Knobloch et al, 1989).**

D'après **(Yarbrough et al., 1980)** ces principaux composés bioactifs peuvent agir surtout en bloquant le transport actif de la proline et des aldolase chez *Streptococcus faecalis* tout en empêchant l'activité du transport phosphooxydatif ainsi que de la consommation d'O_2 chez les *Staphylococcus aureus***.**

Les tests relatifs aux zones d'inhibitions et les taux d'inhibitions des HE de Miswak sur la croissance de *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* viennent confirmer les résultats préalables. Il s'avère que la croissance de ces deux germes est inversement proportionnelle à la concentration des solutions expérimentales en huiles essentielles de la plante. De plus, l'analyse de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) a montré clairement que les huiles essentielles de Miswak exercent un effet antimicrobien de type bactéricide vis-à-vis de *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* **(Marmonier, 1990 et Denis *et al.*, 2011**). *Streptococcus faecalis* a été inhibée totalement avec la solution expérimentale concentrée à 80% d'HE ; alors que le germe *Staphylococcus aureus* a été entièrement détruit à 60% d'HE de Miswak.

D'après une expérience réalisée au soudan, les extraits aqueux et hydroalcooliques de Siwak présentent un effet inhibiteur sélectif sur la croissance de nombreux germes salivaires appartenant au genre *Streptococcus* **(Darout et al., 2003).** Cet faculté antimicrobienne des extraits de *Salvadora persica* chez particulièrement l'espèce *Streptococcus faecalis* a été bien révélée dans les études menées par **(Saeed Zayed et al., 2016 et Muhindi et al., 2016).**

Par ailleurs, les résultats trouvés semble contradictoire à ceux de **(Almas, 2004)** qui n'ont pas remarqué de développement des zones d'inhibitions chez *Staphylococcus aureus*; alors qu'ils sont en entière accord avec ceux rapportés par **(Yarbrough et al., 1980 ; Naseem et *al.*, 2014; El-Desoukey, 2015; Abhary and Al-Hazmi, 2016; Kawakib, 2016; Kumar *et al.*, 2016; Muhindi et *al.*, 2016)** et qui ont suggéré l'existence chez l'espèce *Salvadora persica* de nombreux constituants bioactifs en l'occurrence les huiles essentielles riches particulièrement en composés terpéniques ayant montré des aptitudes potentielles à empêcher la croissance de ce germe.

Les bâtonnets à brosse à dent soit de la tige ou de la racine de l'espèce végétale *Salvadora persica* prélevée dans la région d'Arak, à Ain Salah, au sud d'Algérie semblent donc contenir l'essentiel des composés bioactifs capables d'inhiber plusieurs bactéries

banaux et/ou pathogènes. Ils peuvent assurément constituer un moyen efficace susceptibles d'assurer une bonne hygiène buccale au même titre que les traitements conventionnels usuellement utilisés de nos jours (dentifrices, bains de bouche…etc.). Il est d'ailleurs,conseillé de les employer, comme moyen thérapeutique, au moins 5 fois par jour, pour lutter efficacement contre les multiples bactéries à l'origine des nombreuses infections buccodentaires pouvant toucher la santé humaine dont (carie dentaire, gingivite, parodontite et candidose) (**Consensus Statent on Oral Hygiène, 2000)**.

Conclusion:

Les huiles essentielles de la tige de *Salvadora persica* obtenus par hydro-distillation ont montré des effets antimicrobiens très intéressants chez *Candida albicans* ainsi que chez certains germes communément responsables des infections buccales dont *Streptococcus mutans, Streptococcus mitis, Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus.*

Le degré d'inhibition de la croissance de ces microorganismes s'avère dépendre de la concentration en huiles essentielles des solutions inhibitrices utilisées. Ainsi, plus la concentration en huiles essentielles de la tige de Miswak est importante plus le niveau d'inhibition des principaux microorganismes testés est considérable.

L'analyse de la concentration minimale inhibitrice (CMI), de la concentration minimale bactéricide (CMB) et de la concentration minimale fongicide (CMF) a montré clairement que les huiles essentielles exercent un effet antimicrobien de type d'une part fongicide vis-à-vis de *Candida albicans* et d'autre part bactéricide vis-à-vis des autres germes étudiés. Le germe *Streptococcus faecalis* a été par ailleurs inhibé totalement avec la solution d'extrait de *Salvadora persica* concentrée à 80% d'huiles essentielles ; alors que *Candida albicans, Streptococcus mutans, Streptococcus mitis* et *Staphylococcus aureus* ont été entièrement détruits à 60% d'huiles essentielles.

Chapitre V. Effets des bains de bouche à base d'extraits aqueux de la tige de *Salvadora persica* sur l'hygiène buccale chez les patientes accusant une carie dentaire.

1. Résultats :

1.1. Variations du nombre de germes dans les solutions d'extraction de rinçage de *Salvadora persica* (bains de bouche) au 30ème jour de traitement buccal.

Dans l'ensemble des solutions des bains de bouche à base d'extraits de tige de *Salvadora persica* récupérées après rinçage buccal au 30ème jour de traitement, le nombre de *germes totaux* ne varie guère d'une manière significative ($p>0.05$); 98 10^6 UFC/ml, en moyenne. Néanmoins, le nombre le plus élevé en ces germes est signalé dans l'échantillon de bain de bouche témoin à base seulement d'eau distillée (189 10^6 UFC/ml). Par ailleurs, l'accroissement des germes est nettement affaibli dans lesextraits de bain de bouche préparés à partir des taux sévères de broyat de tige de *Salvadora persica.* L'analyse de variance ne montre, toutefois, aucune variation en nombre de *germes totaux* dans les différentes solutions de rinçage appliquées par les patientes atteintes de carie dentaire en vue d'assurer une bonne hygiène buccodentaire.

Apparemment, la solution de bain de bouche à base d'eau distillée ayant été utilisées après rinçage buccale par les sujets placebos présentent la plus forte concentration en germes *Lactobacillus* par comparaison aux autres solutions de bains de bouche à base d'extrait de *Salvadora persica* ($p<0.05$)*;* 286 10^3 contre 390 10^3 UFC/ml en moyen. Egalement, il a été noté, après rinçage buccal que les solutions de bains de bouche préparées à partir de 15 et 17.5% de broyat de tige accusent de médiocres taux ($p<0.05$) en ces germes par comparaison au témoin ; 122 10^3 et 100 10^3 UFC/ml vs 286 10^3 UFC/ml, en moyenne, successivement. Toutefois, les résultats enregistrés dans les autres solutions de rinçageexpérimentales à base d'extrait aqueux de *Salvadora persica* s'avèrent statistiquement ($p>0.05$) identiques (200 UFC/ml, en moyen) mais restent inférieurs ($p<0.05$) à ceux du témoin. L'analyse statistique montre l'effet significatifaprès rinçage buccal desdifférentes solutions à base d'extraits de

Salvadora persica sur les variations du nombre de *Lactobacillus* après un traitement thérapeutique de 30 jours chez les patientes atteintes de caries dentaires.

Les germes *Stapylococcus aureus et Streptocoques fécaux* s'avèrent très sensibles aux extraits de *Salvadora persica* qui les ont inhibé en totalité. Au contraire, une légère prolifération en ces germes est remarquée dans la solution témoin sans composés bioactifs de Miswak à base seulement d'eau distillée ; 118 10^3 et 78 10^4UFC/ml, en moyenne, respectivement **(Tableau 19)**.

Tableau19. Evaluation du nombre de germes dans les solutions de rinçage à base d'extraits de *Salvadora persica* après 30 jours de traitement buccal chez les patientes atteintes de carie dentaire.

Germes	**Extraits aqueux préparés à différents taux de broyats de tige de *Salvadora persica***								**Effets des extraits de *Salvadora persica* (F1)**
	0 %	**2,5%**	**5 %**	**7,5%**	**10 %**	**12,5 %**	**15 %**	**17,5 %**	
Germe totaux **(X 10 ^{6}UFC/ml)**	189	130	181	63	68	57	52	48	**NS**
Lactobacillus **(X 10^{3}UFC/ml)**	286 ^{a}	247^{ab}	218^{ab}	187^{ab}	178^{ab}	170 ^{ab}	122 ^{b}	100 ^{b}	*****
Staphylococcus aureus **(X 10^{3}UFC/ml)**	118	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	-
Streptocoquesfécaux **(X 10^{4}UFC/ml)**	78	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	-

Chaque groupe est représenté avec un nombre de répétitions de 06 sujets (n=06) ; les résultats sont exprimés en valeur moyenne ; Abs. : absence de croissance du germe ; F1 : facteur étudié extraits de *Salvadora persica* ; NS : effet non significatif du facteur étudié F1 ; * : effet significatif du facteur étudié F1 ; a,b : comparaison statistique des moyenne deux à deux selon le test de Newman Keuls.

1.2. Variation du nombre de germes sur les surfaces des dents après 30 jours de traitement buccale aux différents extraits aqueux de *Salvadora persica*.

Les sujets ayant subi un simple rinçage buccale à l'eau distillée, à raison de trois fois par jour, pendant une période de 30 jours présentent le nombre le plus élevé de germes totaux sur les surfaces des dents cariées (280 10^5 UFC/US en moyenne) ($p<0.05$). En revanche, le nettoyage buccal avec les extraits prépares à partir de 15 et 17.5% de matière végétale de tige de *Salvadora persica* à engendré chez les patientes une recrudescence remarquable et significative en nombre de ces germes ($P<0.05$) ; par comparaison aux placebos les baisses sont estimés à 98.64 et 99.07%, successivement. Par ailleurs, de faibles diminutions microbiennes sont décelées sur les surface des dents traitées avec les autres solutions de bain de bouche prépares à partir de (2.5, 5, 7.5, 10 et 12.5%) de broyat de tige de l'espèce végétale étudiée ; les différences des résultats notées sont négligeables par comparaison à ceux du témoin. L'analyse de variance dévoile l'effet marquant des différentes solutions de bains de bouche à base d'extraits de *Salvadora persica* sur les variations du nombre des *germes totaux* enregistrés au niveau des surfaces des dents cariées chez les patientes incluses dans l'étude en conséquence d'une thérapie de rinçage buccale quotidienne pendant une durée de 30 jours.

D'une manière générale, le nombre de *Lactobacillus* enregistré chez les sujets au niveau des surfaces des dents cariées n'a pas changé significativement ($p>0.05$) après un rinçage buccal aux différentes solutions d'extractions expérimentales. Mais, le taux en ces germes demeure plus important (36 10^3 UFC/US) chez les personnes traitées à l'eau distillée (témoin) par comparaison à ceux sous traitement aux bains de bouche à base d'extraits de *Salvadora persica* (225 10^2 UFC/US, en moyenne). Par ailleurs, un rinçage rigoureux avec les solutions d'extractions préparées à de forts taux de broyat de tige en particulier de 15 et de 17.5% s'avère réduire plus le nombre des microorganismes par comparaison aux autres extraits

expérimentaux. Toute fois, l'analyse de variance montre l'effet non significatif du facteur étudié (extraits de *Salvadora persica*) sur la prolifération du nombre des germes *Lactobacillus* à la surface des dents chez l'ensemble des individus de sexe féminin impliqués dans l'étude.

Il apparaît, enfin, clairement, que le rinçage rigoureux de la bouche avec les différentes solutions de bains de bouche à base d'extraits aqueux de *Salvadora persica a* éradiqué complètement la prolifération des germes *Stapylococcus aureus et Streptocoques fécaux* sur la surface des dents des patientes. Cependant, chez les sujets placebos ayant subit une simple thérapie à l'eau distillée le nombre de ces germes décelé à la surface des dents cariés été très redoutable et fortement incrusté; 202 10^1 UFC/US et 104 10^2 UFC/US, respectivement **(Tableau 20)**.

Tableau 20. Evaluation du nombre de germes sur les surfaces des dents chez les patientes atteintes de carie dentaire après 30 jours de traitement buccal aux bains de bouche à base d'extraits aqueux de *Salvadora persica.*

Germes	**Extraits à l'eau préparés à différents taux de broyats de tige de *Salvadora persica***								**Effets des extraits de *S. persica***
	0 % (Témoin)	**2,5%**	**5 %**	**7,5%**	**10 %**	**12,5 %**	**15 %**	**17,5 %**	
Germe totaux **(UFC/US)**	280 $10^{5\ a}$	240 10^{4ab}	160 $10^{4\ ab}$	180 10^{4ab}	120 10^{4ab}	120 10^{4ab}	38 $10^{4\ b}$	260 $10^{3\ b}$	*
Lactobacillus **(X 10^2 UFC/US)**	36	280	274	242	364	140	100	178	**NS**
Staphylococcus aureus **(UFC/US)**	202 10^1	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	-
Streptocoquesfécaux **(UFC/US)**	104 10^2	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	Abs.	-

Chaque groupe est représenté avec un nombre de répétitions de 06 sujets (n=06) ; les résultats sont exprimés en valeur moyenne ; Abs. : absence de croissance du germe ; F1 : facteur étudié extraits de *Salvadora persica* ; NS : effet non significatif du facteur étudié F1 ; * : effet significatif du facteur étudié F1 *; S. persica* : *Salvadora persica* ; a,b : comparaison statistique des moyenne deux à deux selon le test de Newman Keuls.

2. Discussion :

D'une manière générale, le nombre de germes totaux recensé dans les différentes solutions d'extraits à l'eau de la tige de *Salvadora persica* après rinçage buccal au 30ème jour de traitement chez les patientes touchées par la carie dentaire est considérable et reste inchangé par comparaison à la solution témoin à base seulement d'eau appliquée par les sujets placebos. Le milieu buccal est naturellement une niche écologique ou peut s'établir plus de 300 espèces bactériennes **(De Soet et De Graaff, 1998 ; Van Houte, 1994)** dont une vingtaine d'entre eux seulement possèdent des propriétés spécifiques qui leur confèrent des caractères cariogènes **(Farge. 1998).** Ceci peut expliquer en partie les fortes concentrations microbiennes retrouvées dans les différentes solutions de rinçage.

Apparemment, le nettoyage buccale appliqué au quotidien, au moins à raison de trois fois par jour pendant une période minimum de 30 jours en particulier par usage d'extraits de bains de bouche préparés à partir des taux sévères de broyat de tige de Miswak semble réduire efficacement ($P<0.05$) le nombre de ces germes sur les surfaces des dents cariées.

Les informations approfondies sur les principaux composés biologiquement actifs de l'espèce végétale étudiée *Salvadora persica* contribuants à la prévention des maladies buccales sont relativement limitées et les connaissances de leurs répartitions détaillées dans les différentes parties de la plante autochtone collectée au sud d'Algérie peut conduire sans doute à une meilleure compréhension des variations d'action inhibitrices observées par les divers solutions d'extractions.

Plusieurs études ont prouvé à ce sujet l'existence dans les extraits queux de Miswak de nombreux substances ayant un effet inhibiteur sur la croissance de nombreux bactéries aérobies et anaérobies impliquées dans la carie dentaire et dans les multiples maladies infectieuses pouvant affecter la cavité buccale (gingivite, parodontite, candidoses…etc.) **(Al**

bagieh, 1994 et Alafi et Ababnech, 1995 ; Puupponen-pimia *et al.*, 2001; Taguri *et al.*, 2004; Ezekiel et *al.*, 2009; Todkar et *al.*, 2010; El-Tatari *et al.*, 2011; Padma *et al.*, 2012;Naseem et *al.*, 2014; Zaid *et al.*, 2015; Abhary and Al-Hazmi, 2016]; Kumar *et al.*, 2016).

En effet, plusieurs auteurs ont signalé la présence dans les extraits bruts à l'eau de la tige de Miswak d'une part de fortes teneurs de Benzyisothiocyanate ayant une activité multiple : antiviral, antimycotique et antimicrobien **(Al bagieh, 1992 et 1994)** et en d'autre part des constituants telles les sulfocyanates et les sulfates pouvant même renforcer l'action antimicrobien des composés natifs salivaires comme : (l'hydrogène peroxyde, la pyroxydase et le sulfocyanate). **(Tenovuo et al 1981 et Thomas, 1994).**

Ainsi, les composés anioniques potentiels (Nitrates, Sulfates, Ions chlore) ayants un effet antimicrobien **(Darout et al., 2003)** retrouvés dans nos extraits expérimentaux et préparés en particulier à de fort taux de substrat de tige sont à l'origine probable de ces réponses.

En outre, d'après la nature des composées phénoliques analysées au niveau de la tige chez l'espèce étudiée *Salvadora persica*, il est bien connu que certains acides chlorogéniques et alcaloïdes comme la trigonelline retrouvés à de fortes concentrations dans la plante, ainsi que d'autres composés bioactifs constitutifs présents à de faibles taux dont le kaempherol, la quercitine, la catechine et le narengénine exercent un effet antimicrobien considérable contre de nombreuses bactéries **(Bhatti et al., 1996)**. Ces principes actifs peuvent affecter la croissance des germes d'une part en inhibant surtout l'activité de certains enzymes telles la glucosyltransferase (GTFs) tout en réduisant le phénomène d'adsorption de la GTFs à la cellule bactérienne **(Jagtap et Karkera, 2000)** et en d'autre part en endommageant la structure membranaire des bactéries **(Ikigai, 1993)**. Bien d'autres composés bioactifs non identifiés à ce jour peuvent certainement être retrouvés chez particulièrement l'espèce

autochtone étudiée *Salvadora persica* récoltée en Algérie dans la wilaya de Ain Salah au sud du pays et qui nécessitent impérativement d'autres investigations de recherche développement qu'il faut entreprendre en perspective.

Concernant, les *Lactobacillus* et par comparaison aux autres germes analysés, le nombre décelé dans l'ensemble des échantillons expérimentaux testés (Solutions des bains de bouche après rinçage et les prélèvements de surface des dents après nettoyage buccale) est très appréciable ; 152 10^3 UFC/ml et 209 10^2 UFC/US, en moyenne, respectivement. Ces constatations corroborent ceux de **(Almas et Alzeid, 2001)** qui viennent confirmer l'inefficacité des extraits de *Salvadora persica* à inhiber tous les germes du genre *Lactobacillus* dont l'espèce cariogène la plus dominante *Lactobacillus casei* ; ce qui les rends sans doute très redoutables dans le phénomène d'apparition des plaques dentaires chez nos patientes. D'après **(Ryberg et al., 1991)** la part en ces germes que compte la plaque carieuse mature est souvent moins abondante chez les personnes touchées par la carie dentaire. Il est, toutefois, bien établi, qu'à coté des *Streptocoques les Lactobacilles* sont considérés comme étant les bactéries les plus productrices d'acides au niveau buccal à l'origine probable de l'accélération du procès de dégradation des dents constaté chez certaines patientes incluses dans l'étude **(Van loveren, 2000).**

En revanche, les extraits de bains de bouche de *Salvadora persica* ont exercé un effet bactéricide certain et très marquant sur la prolifération des *Staphylococcus aureus* et des *Streptocoques fécaux* durant l'expérimentation ou aucun de ces germes n'a été enregistré ni dans les solutions d'extraction de Miswak après nettoyage buccal et ni sur les surfaces des dents après une thérapie de rinçage répétée au quotidien à raison d'une fréquence de trois fois par jour sur une période totale de traitement de 30 jours.

Ces résultats, ne concordent pas à ceux avancés par **(Almas, 2001)** qui na pas remarqué d'inhibition de la croissance des germes *Staphylococcus aureus* par les extraits aqueux de

Miswak ; alors qu'ils sont entièrement en accord avec ceux de **(Yarbrough *et al.*, 1980; Naseem et *al.*, 2014; El-Desoukey, 2015; Abhary and Al-Hazmi, 2016)** qui suggèrent l'existence chez l'espèce *Salvadora persica* de nombreux constituants antimicrobiens (comme les nitrates et les sulfates) capables d'empêcher l'activité du transport phosphooxydatif ainsi que la consommation d'oxygène chez notamment *Staphylococcus aureus.*

Nos constatations confirment éventuellement les propos de nombreux auteurs **(Darout et al., 2002 ; Al-Bayati et Sulaiman, 2008 ;Saeed Zayed *et al.*,2016 et Muhindi *et al.*,2016)** qui ont rapporté un effet antimicrobien avéré des extraits à l'eau de *Miswak* sur l' activité des entérobactéries dont l'espèce *Enterococcus faecalis.*

Par ailleurs, d'après **Albagieh (1992), Albagieh (1994), Almas et Albagieh (1999) et Darout et al. (2003)** certaines substances bioactifs contenues dans notamment la tige de *Salvadora persica* dont (benzyisothiocyanate, chlorures, sulfocynates, nitrates …) exercent des effets inhibiteurs remarquables sur de nombreux germes responsables des multiples infections buccales (gingivite, parodontite, candidoses et carie dentaire) et dont l'efficacité antimicrobien a été particulièrement remarquée à l'égard des deux espèces bactériennes étudiées en l'occurrence *Streptocoques fécaux* et *Staphylococcus aureus***.** Il a été aussi démontré que ces principaux constituants bioactifs agissent en affectant surtout le transport actif de la proline et des aldoses chez les *Streptococcus faecalis* tout en empêchant l'activité du transport phosphooxydatif ainsi que la consommation d'O_2 chez les *Staphylococcus aureus* et *les Pseudomonas aerogénasa* **(Yarbroughet al., 1980).**

Ainsi le nettoyage buccal, par usage des bains de bouche confectionnés à partir d'extraits aqueux du bâtonnet de tige de*Salvadora persica,* connu dans notre région sous le nom familier de bâtonnet d'arbre de brosse à dent, ou d'arbre de (Miwak) et/ou d'arbre d'Arak s'avère un moyen très efficace pouvant prévoir l'installation des caries et assurer une bonne hygiène buccale. Le (Consensus Statement on Oral Hygiène) conseille, d'ailleurs, de

l’employer au moins 5 fois par jour, ce qui peut diminuer remarquablement l’accumulation des plaques dentaires.

Conclusion:

D'une manière générale, il s'avère que les solutions de bain de bouche préparées en particulier à des taux sévères de broyat de tige de *Salvadora persica* de 15 et 17.5 % constituent un moyen thérapeutique très efficace capabled'assurer l'hygiène buccale.

Ils ont occasionné des diminutions notables en nombre de germes totaux sur les surfaces des dents carieuses ($P<0.05$) ; avec des baisses de l'ordre de 98 % par comparaison aux sujets placebos ayant subit un traitement à l'eau sans extrait de Miswak.

De plus, ces solutions de rinçage ont assuré une totale irradiation des germes *Staphylococcus aureus* et *Streptocoques fécaux* impliqués souvent dans certaines infections buccales telles la gingivite et la parodontite.

Néanmoins, les *Lactobacillus* semblent très résistantes aux différents extraits aqueux expérimentaux. Même après un rinçage rigoureux aux bains de bouche préparés à des taux élevés de broyat de tige, ces germes sont restés fortement incruster sur les surfaces des dents malades.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le sol de la zone de l'étude (Arak à Ain Salah au Sud de l'Algérie) de type sable pure, caractérisé de faiblement riche en matière organique, en azote totale et en calcaire assimilable semble très approprié, malgré ces conditions sévères, au développement de la plante végétale autochtone *Salvadora persica* qui, toutefois, pousse d'une manière éparse dans la région.

La composition chimique révèle aussi une forte présence de la fraction minérale chez l'espèce végétale testée (*Salvadora persica*) notamment au niveau de l'écorce ou les teneurs enregistrées sont plus importantes que ceux de la tige et de la racine. Par ailleurs, les teneurs en matière organique sont très élevées à la fois au niveau de la racine (90.22 %MS), de la tige (87.76 %MS) et de l'écorce (86.94%MS). Quant aux composés phénoliques, les proportions recensées dans la tige sont deux fois plus élevées que dans l'écorce et la racine.

Les acides 5 O caffeoylquinique, 4-OCaffeoylquinique, 3-5 O caffeoylquinique, catéchine et epicatéchine comptent parmi les principaux poly phénols constitutifs de la tige de *Salvadora persica*. La racine est très riche en acide 5O caffeoylquinique et en acide 4-5 O caffeoylquinique. L'écorce, enfin, accuse une forte teneur en acide 3-OCaffeoylquinique, acide 5-OCaffeoylquinique, acide 5-OFeruloylquinique , acide 4,5-ODcaffeoylquinique, catéchine**,** narengenine ainsi qu'en certains alcaloïdes dont caféine, trigonelline et théobromine.

Les extraits aqueux d'écorce sont plus chargés en ions potentiels (nitrates et sulfates) que les extraits de la tige et ceux de la racine. En revanche, les ions chlore dans les extraits de la tige sont beaucoup plus importants que ceux des autres parties de la plante testées. Enfin, les solutions d'extraction à l'eau soit de broyat de tige, de racine et/ou d'écorce ne semblent contenir guère d'ions fluorures même à l'état de trace.

Les extraits alcoolique de la tige montrent à leurs tour des proportions plus élevées en composés phénoliques que ceux de la racine et de l'écorce. De plus, il apparaît nettement que ces constituants dans les solutions d'extraction sont proportionnels à la quantité de matière végétale (tige, racine et/ou écorce) utilisée durant l'extraction.

Les extraits hydro éthanolique de *Salvadora persica* riches en composés phénoliques, n'ont pas exercé d'effet bactériostatique ou bactéricide sur l'espèce bactérienne considérée comme étant la plus cariogène: *Streptococcus mutans.*

Toute fois, les autres germes étudiés responsables de caries dentaires et de maladies parodontales dont (***Streptococcus mitis***, ***Streptocoque fécaux***, ***Lactobacillus casei***, ***Staphylococcus aureus*** et ***Staphylococcus epidermidis***) ont été inhibé avec les extraits préparés respectivement à 02.5 g de broyat de racine et renfermant un taux de poly phénols

d'environ (07.21 mg EGA / 100 ml), à 5 g de matière végétale brut de tige contenant (31.36 mg EGA / 100 ml EHA) et à 7.5 g d'écorce (24.17 mg EGA / 100 ml EHA).

Au terme des essais réalisés, il apparait qu' une quantité moyenne de 8 g de matière végétale de *Salvadora persica* récoltée dans la région d'Arak au Sud d'Algérie contient l'essentiel des composés phénoliques susceptibles d'inhiber entièrement les principaux germes responsables d'infections buccales.

Les huiles essentielles de la tige de *Salvadora persica* obtenus par hydro-distillation ont montré également des effets antimicrobiens très intéressants chez *Candida albicans* responsable de candidose buccale ainsi que chez certains germes communément responsables des infections buccales dont *Streptococcus mutans, Streptococcus mitis, Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus.* Ces huiles essentielles semblent exercer des effets antimicrobiens de type d'une part fongicide vis-à-vis de *Candida albicans* et en d'autre part de type bactéricide vis-à-vis des autres germes étudiés. Le germe *Streptococcus faecalis* a été par ailleurs inhibé totalement avec la solution d'extrait de *Salvadora persica* concentrée à 80% d'HE ; alors que *Candida albicans, Streptococcus mutans, Streptococcus mitis* et *Staphylococcus aureus* ont été entièrement détruits à 60% d'huiles essentielles de Miswak.

Les solutions de bain de bouche préparées en particulier à des taux sévères de broyat de tige de *Salvadora persica* de 15 et 17.5 % constituent un moyen thérapeutique très efficace capable d'assurer l'hygiène buccodentaire. Durant la durée de traitement en seulement 30 jours, les solutions de rinçage buccal préparés ont occasionné des diminutions notables en nombre de germes totaux sur les surfaces des dents carieuses ($P<0.05$) ; avec des baisses de l'ordre de 98 et 99% par comparaison aux sujets placebos ayant subit un traitement à l'eau sans extrait de Miswak. De plus, l'application de ces solutions de bain de bouche ont manifesté chez les malades en terme de traitement une totale irradiation des germes *Staphylococcus aureus* et *Streptocoques fécaux* impliqués souvent dans certaines infections buccales telles la gingivite et la parodontite. Néanmoins, les *Lactobacillus* semblent très résistantes aux différents extraits aqueux expérimentaux. Considérés comme étant les bactéries les plus productrices d'acides au niveau buccal, ils sont certainement à l'origine de l'accélération du processus de déminéralisation des dents et de la formation des multiples cavités carieuses constatées chez certaines patientes étudiées.

Economiquement, cette espèce végétale peut être très rentable pour le pays puisque à côté de ses bienfaits thérapeutiques avérées elle s'avère capable de s'adapter aisément aux conditions édaphiques les plus rustiques ce qui peut constituer non seulement une source fourragère potentielle pour les éleveurs de bétail notamment durant les périodes de disettes mais aussi un moyen de lutte très efficace contre l'érosion et la désertification particulièrement dans les zones arides.

En perspective, il serait fort intéressant d'étudier d'une manière plus approfondie les principaux composés biologiquement actifs contenus dans les extraits de *Salvadora persica* prélevée non seulement dans la région d'Arak ; mais aussi dans d'autres régions d'Algérie. Une culture en pépinière, suivie d'une implantation sous serre peut être suggérée pour une meilleure exploitation de cette espèce végétale. L'action antimicrobienne des extraits de la plante *Salvadora persica* en comparaison avec certains autres plantes médicinales récoltées en Algérie (Thym -*Thymus vulgaris*, le romarin -*Rosmarinus officinlis*, le fenouil commun- *Foenicum vulgare ou Foenicum officinale*, le basilic- *Opium basilicum* et le laurier- *Laurus nobilis*) peut être menée sur les germes cariogènes ainsi que sur certains microorganismes à l'origine d'autres maladies telles (infections dermiques, infections nosocomiales, infections urogénitales, mycoses buccales, gingivite, parodontite…etc.). Les principaux composés biologiquement actifs des extraits de Miswak peuvent être aussi testés sur rats en vue de suivre leur effets diététiques et thérapeutiques contre certains maladies du siècle : (anti-cancérigène, hypocholestérolémiant, hypoglycémiant…etc.).

Enfin, une étude technico-économique de faisabilité doit être envisagée en vue de suivre les possibilités de mettre sur le marché national et international des bains de bouche et des dentifrices à base d'extraits de *Salvadora persica* autochtone riches en composés bioactifs ayant des vertus approuvés par les organismes mondiaux de la santé.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abdallaoui F. Nutrition-Organe dentaire- Salive: Triade de l'écosystème buccal. Mémoire pour Certificat d' Etudes Approfondies. Faculté des Sciences de Rabat 1992; 6:290.

Abdelrahim M, Jurner J.E. In vitro evaluation of Saudi Arabian tooth tree (Salvadora persica). Odontostomatologicacal Trop. Senegal 1983; 613:145-148.

Abdel-Wahab SM, Selim MA, El-Fiki NM. Investigation of the flavonoid content of *Salvadora persica L*. Bull Fac Pharm Cairo Univ 1990; 28:67-70.

Abdullah A Y, Al-Beitawi N, Arjoup M M S, Qudsieh R I.. Growth performance, carcass and meat quality characteristics of different commercial crosses of broiler strains of chicken. Jpn. Poult. Sci. 2010;47:13–21

Abhary M, Al-Hazmi AA. Antibacterial activity of Miswak (*Salvadora persica L*.) extracts on oral hygiene. Journal of Taibah. University for Science. 2016; 10: 513–520.

Addo-Yobo C, Williams SA, Curzon ME. Oral hygiene practices, oral cleanliness and periodontal treatment needs in 12-year-old urban and rural school children in Ghana. Community Dent Health 1991; 8:155-162.

Adlercreutz H. Phyto-oestrogens and cancer. Lancet Oncol. 2002; 3: 32–40.

Afes. Référentiel pédologique français. 2e proposition. Paris, Afes-Inra 1988 **;** 25 1 p.

Afifi FU, Shervington A, Darwish R. Phytochemical and biological evaluation of Arum palaestinum. Part 1: flavones C-glycosides. Act. Tec. Leg. Med 1997; 8 (2): 105-111.

Agbo-Godeau S, Guedj A. Département de pathologie de la muqueuse buccale, service de stomatologie et chirurgie maxillofaciale :Oral mycosis :EMC-Stomatologie 2005 ; (1) :30–41.

Ahmadiani AM, Javan S, Semnanian E, Barat M, Kamalinejad J. 2001; 75: 283. In: Shruti Chopra , Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Sanjay K. Motwani Saiqa Mahdi, Zeenat Iqbal, Sushma Talegaonkar. Analytica Chimica Acta 2006; 577: 46–51.

Ajabnoor MA and Tilmisany AK. Effect of *Trigonella foenum graecum* on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic mice. *J. Ethnopharm.*1988; 22: 45-49.

Akhtar J, Siddique KM, Bi S, Mujeeb M. A review on photochemical and pharmacological investigations of miswak (*Salvadora persica Linn*). J. Pharm. Bioallied Sci. 2011; 3:113-117.

Akhtar MS, Ajmal M. Significance of chewing sticks (miswaks) in oral hygiene from a pharmacological view point. J Pak Med Assoc. 1981; 4: 89–95.

Akinyanju P, Yudkin J. Effect of coffee and tea on serum lipids in the rat. Nature 1967: 214; 426–427.

Al Sadhan RI, Almas K. Miswak (chewing stick): a cultural and scientific heritage. Saudi Dent. J. 1999; 11(2):80-87.

Alali F, Hudaib M, Aburjai T, Khairallah K, Al-Hadidi N. GC-MS analysis and antimicrobial activity of the essential oil from the stem of the Jordanian toothbrush tree Salvadora persica. Pharm Biol. 2005; 42(8):577-580.

Al-Bagieh NH, Almas K. In vitro antibacterial effects of aqueous and alcohol extracts of miswak (chewing sticks). Cairo Dent J 1997; 13:221-224.

Al-Bagieh NH, Idowu A, Salako NO. Effect of aqueous extract of miswak on the in vitro growth of Candida albicans. Microbios 1994; 80:107-113.

Al-Bagieh NH, Weinberg, ED. Benzylisothiocyanate: Apossible agent for controlling dental caries. Microbios. Lett 1988 ; 39 : 143-151.

Al-Bagieh NH. Antiherpes simplex virus type 1 activity of enzylisothiocyanate. Biomed Letters 1992; 47:67-70.

Al-Bayati FA, Sulaiman KD. In vitro Antimbial activity of *Salvadora persica L*. extracts against some isolated oral pathogens in Iraq. Turk. J. Biol., 2008;32:57–62.

Al-Bayaty FH, Al-Koubaisi A.H, Ali NA, Abdulla MA. Effect of mouth wash extracted from ***Salvadora persica*** (Miswak) on dental plaque formation: a clinical trail J. Med. Plant Res., 2010;4 (14):1446-1454.

AL-Ghonaiem MI, ASS. Ibrahim; Al-Bayaty FA, Sulaiman KD. In vitro Antimbial activity of *Salvadora persica L*. extracts against some isolated oral pathogens in Iraq. Turk. J. Al-Salamah AA**,** Swimming Motility in Agrobacterium tumefaciens is Controlled by Quorum Sensing and Inhibited by Garlic Bulb Extract. Research Journal of Microbiology 2009; 4: 345-354.

Al-Habori MAM, Al-Aghbari M, Al-Mamary PR. 1998; 12: 572. In: Shruti Chopra , Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Sanjay K. Motwani Saiqa Mahdi, Zeenat Iqbal, Sushma Talegaonkar. 2006. Analytica Chimica Acta 2006; 577 : 46–51.

Alili N, T¨urp JC, Kulik EM et Waltimo T. Volatile compounds of *Salvadora persica* inhibit the growth of oral Candida species. Archives of Oral Biology. 2014; 59: 441– 447.

Al-lafi T, Ababneh H. The effect of the extract of the Miswak (chewing sticks) used in Jordan and the Middle East on oral bacteria. Int Dent J 1995; 45:218-222.

Almas K, Al-Bagieh N, Akpata ES. In vitro antibacterial effect of freshly cut and 1-month old Miswak extracts. Biomed Letters 1997; 56:145 -149.

Almas K, Al-Bagieh NH. The antimicrobial effects of bark and pulp extracts of miswak. Salvadora persica. Biomed Letters 1999; 60:71-75.

Almas K, Al-lafi T. The natural toothbrush. World Health Forum 1995; 16:206-210.

Almas K, Al-Zeid Z. The immediate antimicrobial effect of a toothbrush and miswak on cariogenic bacteria: A clinical study. contemporary dental practice J 2004; 5: 105-114.

Almas K, Skaug N, Ahmad I. *An in vitro antimicrobial comparison of miswak extract with commercially available non-alcohol mouthrinses.* Int J Dent Hyg. Retrieved on *2006*; 3 (1): 18-24.

Almas K. The antimicrobial effects of extracts of Azadirachta indica (neem) and Salvadora persica (arak) chewing sticks. Indian Journal of Dental Research 1999 ; 10 :23–26.

Almas K. The antimicrobial effects of seven different types of asian chewing sticks. Odonto Stomatologie Tropicale 2001; 96: 17-20.

Almas K. The effect of *Salvadora persica* (Miswak) and chlorahexidine gluconate on Human Dentin. J. Contemporary Dental Practice. 2002; 3(3): 27-35.

Al-Mohaya MA, Darwazeh A, Al- Khudair W. Oral fungal colonization and oral candidiasis in renal transplant patients: The relationship to Miswak use. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.2002;93: 455-460.

Al-Otaibi M, AlHarthy M, **Söder A**, **Gustafsson A, Johansson A , Angmar-Mansson B.** Comparative effect of chewing sticks and toothbrushing on plaque removal and gingival health. Oral Health Prev Dent. 2003;1:301-307.

Al-Sabawi NA, Al Sheikh Abdal AK , Taha MY. The antimicrobial activity of salvadora persica solutions (Miswak-Siwak) as root canal irrigant (A comparative study). J. Pure Appl. Sci. 2007;4: 69-91.

Al-Sieni AI. The antibacterial activity of traditionally used *Salvadora persica* L (Miswak) and *Commiphora gileadensis* (Palsam) in Saudi Arabia. *African Journal of Traditional, Alternative and Complementary Medicines.*2014;11: 23–27.

Al-Sohaibani S, Murugan K. Anti-biofilm activity of ***Salvadora persica*** on cariogenic isolates of Streptococcus mutans: in vitro and molecular docking studies. Biofouling, 2012;28 (1) : 29-38

Andersen OM et Jordheim M. The Anthocyanins**.** In Andersen OM et Markham KR .2006. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. Taylor and Francis Group, LLC. CRC Press 2006. 472-537.

Andersen OM, Markham KR. Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and *Applications*. Taylor and Francis Group. LLC. CRC Press 2006: 1197.

Aneja R, Hake PW, Burroughs TJ, Denenberg AG, Wong HR, Zingarelli B. Epigallocatechin, a green tea polyphenol, attenuates myocardial ischemia reperfusion injury in rats. Molecular Medicine 2004; 10: 55–62.

Annales de dermatologie et vénérologie. supplément, february 2008, volume 136, issue 2, :f58-f199 .

Anton R, Lobstein A, Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huilesessentielles. Tec & Doc, Paris. 2005: 522p.

Arshad MA, Coen GM. Characterization of soil quality. Physical and chemical criteria. American Journal of Alternative Agriculture 1992; 7:12-16.

Attar AZ. The misswak. Nature's toothbrush. Bulletin of the History of Dentistry 1979; 271, I: 39-40.

Aubert G. Méthode d'analyse des sols. Marseille.CRDP.1978 :143-148.

Bahorun T, Gressier B, Trotine F, Brunet C, Dine T, Luyckx M , Vasseur J, Cazin M , Cazin JC et Pinkas M. Oxygen species scavenging activity of phénolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical préparations . Arzneiminittelforshung, Nov 1996; 46(11): 1086-1089. PMID: 8955870 [Pub Med-indexed for Medline].

Bahorun T, Trotin F, Pommery J, Vasseur J et Pinkas M. Antioxidant activities of crataegus monogyna extracts. Planta Med. 1994 **;** 60 : 323 -328.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils-A review. Food Chem Toxicol. 2008; 46: 446-475.

Bakker J and Timberlake C F. Isolation, identification and characterization of new colourstable anthocyanins occurring in some red wines. J. Agric. Food Chem., 1997;45: 35.

Balto H , Al-Manei K, Bin-Mohareb T, Shakoor Z, Al-Hadlaq S. Cytotoxic effect of ***Salvadora persica*** extracts on human gingival fibroblast **cells** Saudi Med. J. 2014;35 (8) :810-815

Balto H, Al-Sanie I, Al-Beshri S, Aldrees A. Effectiveness of *Salvadora persica* extracts against common oral pathogens. The Saudi Dental Journal, January 2017; 29:1-6.

Balto H, Al-Howiriny T , Al-Somaily A, Siddiqui Y, Al-Sowygh Z. Screening for the antimicrobial activity of *Salvadora persica* extracts against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* Int. J.Phytomed. 2013; 5 (4) :486-492

Barz W. Metabolism and degradation of nicotinic acid in plant cell cultures 1985 In: Neumann KH, Barz W, Reinhard E (eds) Primary and Secondary Metabolism of Plant Cell Cultures. Springer-Verlag, Berlin, 1985; 186–195.

Basil HAE. The miswak (*Salvadora persica L.*) chewing stick: Cultural implications in oral health promotion. The Saudi Journal for Dental Research. 2014; (5) 1: 9-13.

Batanouny K H, Ezzat N H. Eco-physiological studies on desert plants. I Autecology of Zygophyllum species growing in Egypt. Decologia (Berl.), 1971; **7:** 170-183.

Batra A, Mathur S, Shekhawat GS, Paliwal A. *Salvadora persica* – A rare drug plant of arid zone, In Role of biotechnology in medicinal and aromatic plants. Eds Khan IA, Khanum A (Hyderabad, Ukaaz Publication). 2001; 4: 81-86.

Batwa M , Bergstrom J , Batwa S , Al-Otaibi M . The effectiveness of chewing stick Meswak on plaque removal Saudi Dent. J. 2006; 18 (3) :125-133.

Belaiche P. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. L'aromatogramme Tome I, Edition Maloine 1979.

Berche P. Les staphylocoques. In **: Berche P, Gaillard L, Simonet M,** eds. Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Paris : Flammarion, 1988 ; 267-77.

Bhatti MA, Khan MTJ, Ahmed B, Jamshaid M, Ahmad W. Fitoterapia 1996; 67: 372. In: Shruti Chopra , Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Sanjay K. Motwani Saiqa Mahdi, Zeenat Iqbal, Sushma Talegaonkar. 2006. Analytica Chimica Acta 2006 ; 577 : 46–51.

Bisno AL, Van De Rijn I. Classification of streptococci. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. New York: Churchill Livingstone; 1995; 51: 784.

Bland J. Hidden diseases caused by candida :Preventive medecine1984;3:12.

Bohm B A. Flavanones and dihydroflavonols, in The Flavonoids, Harbonne, J.B., Mabry, T.J.,and Mabry, H., Eds, Chapman & Hall, London 1975, Chap. 11.

Bohm B A. The minor flavonoids, in The Flavonoids: Advances in Research Since 1986. Harbonne J.B., Chapman Ed & Hall, London 1993; 9:122.

Bouchikhi T. Activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles. Thèse. Doct. Universit. Balaise Pascal. Clermont-Ferrand 1994.

Bourgeois CM, Leveau JM. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. Le contrôle microbiologique. Technique et documentation. Apria 1980 ; 3 : 331.

Bousfiha B, Ouazzani W, Msefer S. Rôle des lipides dans la carie. R.M.0, 1993 ; 14:11-15.

Bowden GH. Which bacteria are cariogenic in humans? In: Johnson NW, editor. Risk markers for oral diseases: Dental caries. Cambridge: University Press 1991; Vol 1: 266–286.

Brouillard R, Figueiredo P, Elhabiri M, Dangles M. Molecular interactions of phenolic compounds in relation to the colour of fruit andvegetables. In: Tomas-Barberan. F.A; Robins, R.J. (Eds.), phytochemical Society of Europe, Vol 41. Clarendon Press, oxford .1997: 29-49.

Buffo J, Herman, M A. and Soll DR. A characterization of pHregulated dimorphism in *Candida albicans*.*Mycopathologia* 1984. 85: 21-30.

Campa C. Acides chlorogéniques pour ou contre *?*. Sciences au Sud . Le journal de l'IRD 2006; 35.

Cao Y, Cao R. Angiogenesis inhibited by drinking tea. Nature 1999;10: 398 : 381.

Carl W, Zambon J. Dental health of the Rendille and Samburu of the Northern Frontier District of Kenya. N Y State Dent J 1993; 59:35-39.

Carlen A, Col L. Composition of pellicles formed in vivo on tooth surfaces in different parts of the dentition, and in vitro on hydroxyapatite . Caries Res 1998; 32: 447-455.

Chang CC, Chang TC, Kao SC, Kuo YF, Chien CF. Pentoxyfylline inhibits the proliferation and glycosaminoglycan synthesis of cultured fibroblasts derived from patients with Grave's ophthalmopathy and pretibial myoedema, Acta Endocrinol. Copehn. 1993 ; 129: 322-327.

Chaovanalikit A, Wrolstad RE. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. J. Food Sci., 2014; 69:67-72.

Chardin H, Barsotti O, Bonnaure-Mallet M. Microbiologie en odontostomatologie. France .Maloine, 2006: 141-312.

Cheftel J C, Introduction à la Biochimie et à la technologie alimentaire. Technologie et documentation. 1980 ; Vol 1: 329P.

Chen JH, Ho CT. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. J. Agric. Food Chem. 1997 ; 45: 2374–2378.

Cirad. Catalogue des analyses courantes. Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le dévlopment. pH codes catalogue 108 ET109 Code interne : procedure N°ps0196. 2004 ; 28 p.

Clark E, Rice GC, Weeks RS, Jenkins N, Nelson R, Bianco JA, Singer JW. Lisofylline inhibits transforming growth factor beta release and enhances trilineage hematopoietic recovery after 5- fluorouracil. Cancer Res. J. 1996; 56(1): 105-112.

Clifford MN. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: Clifford MN, Willson KC (eds) Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage. Croom-Helm, London 1985; pp 305–374.

Clifford MN. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. J. Sci. Food Agric 1999; 79: 362–372.

Clifford MN. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. J. Sci. Food Agric. 2000; 80 : 1033–1043.

Combe J, Simonnet F, Simonnet G. Action du xibornol sur la division cellulaire et les **syntheses** macromoléculaires des bactéries à gram poisti f. Ann pharm fr. 1988; 46(1): 19-26.

Consensus Statement on Oral Hygiene. The significance of removing dental plaque mechanically every day. International Dental J 2000; 52: 139.

Couic-Marinier F, Lobstein A. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités pharmaceutiques. 2013; 52 (525) : 18-21.

Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 564-82.

Cox S D, Gustafson J E, Mann C U, Warmington J. Tea tree oil causes K+ leakage and inhibits respiration in Escherichia coli. Lett. Appl. Microbiol. 1998; 26: 355.

Darmani HT, Nusayr AM, ALHiyasat AS. Effects of extracts of miswak and derum on proliferation of Balb/C 3T3 fibroblasts and viability of carcinogenic bacteria. Int. Dent. Hygiene. 2006; 4: 62-66.

Darout I A, Albandar JM, Skaug N, Ali RW. Salivary microbiota levels in relation to periodontal status. experience of caries and miswak use in Sudanese adults. Journal of Clinical Periodontology 2002 ; 29 :411– 420.

Darout I.A, Skaug N, Ali R.W, Albandar J.M. Subgingival microbiota levels and their associations with periodontal status at the sampled sites in an adults Sudanese population using miswak or toothbrush regularly. Acta dontologica Scandinavica 2003; 61: 115–122.

Darout IA, Albandar JM, Skaug N. Periodontal status of adult Sudanese habitual users of miswak chewing sticks or toothbrushes. Acta Odontol Scand 2000; 58: 25-30.

Darout IA, Christy AA, Skaug N, Egeberg PK. Idntification and quantification of some potentially antimicrobial anionic components in miswak extract. Indian J Pharmacol 2000; 32: 11–14.

Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis.Periodontol 2000. 1997 ;14:12–32.

De Jong E, Ballantyne AK, Cameron DR, Read DWL. Measurement of apparent electrical conductivity of soils by an electromagnetic induction probe to aid salinity surveys. *Soil Sci. Soc. Am. J* 1979; 43: 810-812.

De Soet JJ, De Graaff J. Microbiology of carious lesions. *Dent Update* 1998; **25**: 319–324.

Dean F M. Naturally occurring oxygen ring compounds. Butterworths, LONDRE, UK 1963: 176-219.

Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E, Quentin R. Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles. Editions Masson, Paris. 2011: 640.

Desjobert JM, Bianchini A, Tommy P, Costa J, Bernardini AF. Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. Analysis 1997; 25 (6): 13 -16.

Didry N, Dubreuil L, Pinkas M. Activité antibactérienne du thymol, du carvacrol et de l'aldehyde cinnamique seuls ou associés. Pharmacize 1993; 48: 301-4.

Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ. Candida. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. Clinical Mycology. Churchill Livingstone; Philadelphia: 2003:195–239.

Dixon RA. Phytoestrogens. Annu. Rev. Plant Biol. 2004; 55: 225–261.

Dorman D, Deans SG. Antimicrobial agents from plants :antibactérialactivity of plant volatile oils. Journal of appliedmicrobiology 2000; 88 :308-316.

Dorner WG. Active substances from African and Asian natural tooth brushes. Chem Rundschau 1981; 34:50.

Dubois. G.E., Crosby G.A Saffron P . Nonnutritive sweeteners: taste-structure relationships for some new simple dihydrochalcones. Science 1977; Vol 195, Issue 4276, 397-399.

Duke JA. CRC Handbook of Medicinal Spices, CRC Press, New York, 2003:297. In: Shruti Chopra , Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Sanjay K. Motwani Saiqa Mahdi, Zeenat Iqbal, Sushma Talegaonkar. 2006. Analytica Chimica Acta 2006; 577 : 46–51.

Dupont B. L'écobiologie des *Candida.*Laboratoire Squibb.1985.

Dutta S, Shaikh A. The active chemical constituent and bio-logical activity of *Salvadora persica* (Miswak), Int. J. Curr.Pharmaceut. Rev. Res. 2012; 3 (1): 01-14.

Duval C, Duval R. Dictionnaire de la chimie et ses applications. Technique et documentation. paris France[INIST-CNRS, cote INIST: L22845] 1978: 1100.

Edi MA, Selim HA. Retrospecitve study on the relationship between Miswak chewing stick and periodontal health. Egyptian Dent. J. 1994; 40: 589-592.

Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology de Candida species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. Lancet Infect Dis 2003; 3: 685-702**.**

Eid M, Sellim HA, al-Shammery AR. The relationship between chewing sticks (*Miswak*) and periodontal health. Part I. Review of the literature and profile of the subjects. Quintessence Int 1990; 21: 913-917.

Ekstrand K R, Bjorndal L. Structural analyses of plaque and caries in relation to the morphology of the groove-fossa system on erupting mandibular third molars. Caries Res., 1997; 31:336-348.

El-Desoukey RMA. Comparative Microbiological Study Between the Miswak (*Salvadora persica*) and the Toothpaste. International Journal of Microbiological Research. 2015 ;6(1): 47-53.

El-Sokkary AM, Ghoneim MA, Dairy Sci J. 1951; 4: 123. In: Shruti Chopra , Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Sanjay K. Motwani Saiqa Mahdi, Zeenat Iqbal, Sushma Talegaonkar. 2006. Analytica Chimica Acta 2006; 577: 46–51.

El-Tatari A, Soet JJ, Gee AJ, Abou Shelib M, Amerongen WE. Influence of *Salvadora persica* (miswak) extract on physical and Antimbial properties of glass ionomer cement. Eur. Arch. Paediatr. Dent. 2011;12(1):22-5.

Elvin-Lewis M. Plants used for teeth cleaning throughout the World. J Prev Dent 1980; 6: 61-70.

Elvin-Lewis M. The therapeutical potential of plants used in dental folk medicine. Odontostomatol Trop 1982; 3:107-117.

Encyclopédie Médicale-Medix of healthcare. Clinique des candidoses des muqueuses. Cours dermato 16 décembre 2014.

Eteng MU, Eyong EU, Akpanyung EO, Agiang MA, Aremu CY. Recent advances in caffeine and theobromine toxicities: a review. Plant Fds. Hum. Nutr. 1997; 1:231-243.

Evenari M, GuttermanY. Some notes on ***Salvadora persica,*** in Sinai and its use as a toothbrush. Flora German Democratic Republic 1973; 162, 112: 118-125.

Ezekiel CN, Anokwuru CP, Nsofor E, Odusanya OA, Adebanjo O. Antimbial Activity of the Methanolic and Crude Alkaloid Extracts of Acalypha wilkesiana cv. macafeeana Copper Leaf. Research Journal of Microbiology.2009;4: 269-277.

Ezmirly ST, Cheng JC, Wilson SR. Saudi Arabian medicinal plants: Salvadora persica. Planta Med 1979; 35:191-192.

Ezmirly ST, Cheny JC, Wilson SR. Saudi Arabian medical plants *Salvadora persica*. Planta Medica 1978 ; 35: 191–192.

Ezmirly ST, El-Nasr MMS. Isolation of glucotropaeolin from Salvadora persica L. J Chem Soc Pak. 1981; 3: 9-12.

FAO. (Booth, F.E.M. and G.E. Wickens.) Non-Timber Uses of Selected Arid Zone Trees and Shrubs in Africa. Conservation Guide 19. FAO, Rome. 1988.

FAO. (Falconer, J.) The Major Significance of Minor Forest Products. Community Forestry Note 6. FAO, Rome. 1990.

Farge P. Donnbes rbcentes sur Wtiopathog6nie de Ua carie. Arch Pédiatr 1998; 5 : I 140-4.

Farooqui MIH, Srivastava JG. The toothbrush tree (Salvadora persica). J Crude Drug Res 1968; 8: 1297-1299.

Fatin-Majdina N, Haji ARZ, Abd Razak MM, Mohd BM. Effects of *Salvadora persica* Extract on the Bacterial Population in Single-species Biofilm (Kesan Ekstrak *Salvadora persica* terhadap Populasi Bakteria dalam Biofilem Spesies-tunggal). Sains Malaysiana., 2014;43(12): 1889–1893.

Fellah S. Romadhane M. Abderraba M-Exraction et étude des huiles essentielle de a SalvaofficinalisL. Cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie- Journal de la société Algérienne de Chimie J. Soc.Alger .Chin . 2006 (16), 2 :193-202.

Franchomme P, Jollois R, Penoel D. L'aromathérapie exactement : Encyclopédie del'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Editions Jollois. 2001.

Friedman M, Henika PR, Mandrell RE. Antibacterial activities of phenolic benzaldehydes and benzoic acids against Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Salmonella enterica. J. Food Prot 2003; 66: 1811–1821.

Friedman M. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry 1997; 45: 1523–1540.

Galati EM, Monforte MT, Forestieri AM, Miceli N, Bader A, Trovato A. *Salvadora persica* hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. Phytomed. 1999; 6: 181-185.

Galletti GC, Chiavari G, Kahie YD. Pyrolysis/gas chromatography/ion-trap mass spectrometry of the ``tooth brush'' tree (Salvadora persica L.). Rap Com Mass Spectrometry 1993; 7:651-655.

Gazi M, Saini T, Ashri N, Lambourne A. Miswak chewing sticks versus conventional toothbrush as an oral hygiene aid. Clin Prev Dent 1990; 42:19-23.

Gee JM, Johnson ITP. Polyphenolic compounds. Interactions with the gut and implications for human health (01-182). Current Medicinal Chemistry. 2001; 8 : 11.

Ghosal S, Srivastava RS, Chatterjee DC, Dutta SK. Phytochemistry 1974; 13 : 2247. In: Shruti Chopra , Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Sanjay K. Motwani Saiqa Mahdi, Zeenat Iqbal, Sushma Talegaonkar. 2006. Analytica Chimica Acta 2006; 577: 46–51.

Gordon AM. Seasonal patterns of nitrogen mineralization and nitrification following harvesting in the white spruce forests of interior Alaska, Ph.D. Thesis, University of Alaska, Fairbanks. 1986; 250.

Gouny P, Cornillon P. La salinité, aspects théoriques, modes de contrôle. PHM-RevueHorticole, 1973 ; 142 : 3-7.

Goutier M P, Remesy C, Scalbert A, Chegnier V, Souquet J M, Poutanen K and Aura M. Microbial metabolism of caffeic acid an dits esters chlorogenic and caffaric acids by human faecal microbiota in vitro. Biomédcine and pharmacotherapy, Volume 6, Issue 9, Novembre 2006: 536-540.

Grenier D, Mayrand D. Periodontitis as an ecological imbalance. In: Kuramitsu HK, Ellen RP, eds. Oral Bacterial Ecology Norfolk, England: Horrizon Scientific Press, 2000:275-310.

Grossi S G, Zambon J J, Ho A W. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. J Periodontol 1994;65:260-267.

Guenter . The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van Nostrand Ed .New York USA. 1975.

Guignard J L, Cosson L, Henry M. Abrégé de phytochimie. Masson, Paris. 1985; 121- 203.

Guiraud JP. Microbiologie alimentaire. Ed Dunod.Parie.1998; 54 -571.

Guo Q, Zhao B, Shen S, Hou J, Hu J, Xin W. ESR study on the structure-antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. Biochimica et Biophysica Acta 1999; 1427: 13–23.

Gururaja G, Rao A K. Nayak and Anil Chinchmalatpure. Salvadora persica: A life support species for salt affected black soils. Technical Bulletin., published by Central Soil Salinity Research Institute (ICAR), Regional Research Station, Bharuch, Gujarat No.1/2003.

Halawany HS. A review on miswak (***Salvadora persica***) and its effect on various aspects of oral health **S**audi Dent. J.2012;24 (2): 63-69.

Haque MM, Alsareii AS, A review of the therapeutic effects of using miswak (*Salvadora Persica*) on oral health. Saudi Med. J. 2015 ; 36 (5) : 530-543.

Harbonne J B. Do natural plant phenols play a role in ecology? Acta horticultura. 1994; 381: 36-43.

Harbonne JB and Baxter H. The Handbook of Natural Flavonoids, Vol. 2. John Wiley and Sons Chichester. 1999; 36-54.

Hardie J, Ahmed K. The miswak as an aid in oral hygiene. J Phillip Dent Assoc 1995; 47: 33-38.

Harfi HA, Lundberg M. Meswak, a novel allergen. Allergy 1997; 52: 474 - 479.

Hattab FN. Meswak: the natural toothbrush. J Clin Dent 1997; 8:125-129.

Haynes RJ. (Ed.), Mineral Nitrogen in the Plant-Soil System. Academic Press 1986,

Heller R, Nault R et Lance C. Physiologie végétale. Tome 1: Nutrition. 6^{éme} édition de l'abrége Dunod. 1998: 322.

Herrmann K. Flavonols and flavones in food plants. A review. J. food Technol. 1976**;**11:433.

Hertog MGL, Kroumhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A and Nedeljhovic S. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study, Arch. Intern. Med 1995; 155: 381–386.

Hescot P, ChinaE, Bourgeois D, Maina S, Da Silva OM, Eiselé J L, Simpson C, Horn V. The FDI African Strategy for Oral Health: addressing the specific needs of the continent. International Dental Journal. 2013; 63: 113–120.

Higgins VJ. The effect of some pterocarpanoid phytoalexins on germ tube elongation of Stemphylium botryosum, Phytopathology.1978; 78: 339.

Hilal A et Rajagopal K. *Salvadora persica* L. (Meswak) in dental hygiene. The Saudi Journal for Dental Research. 2014;(5)2: 130-134.

Hillis WE. Cité par Bouderoua K (1994). In: caractéristiques biochimiques et aptitudes nutritionnelles des farines de glands du chêne vert et du chêne liège en alimentation du poulet de chair. Thèse de Magister, INA, ALGER. 1987 ; 107.

Holzbeierlein JM, McIntosh, Thrasher JB. The role of soy phytoestrogens in prostate cancer. Curr. Opin. Urol. 2005;15 : 17–22.

Homer KA, Manji F, Beighton D. Inhibition of protease activities of periodontopathic bacteria by extracts of plants used in Kenya as chewing sticks (miswak). Arch Oral Biol 1990; 35: 421-424.

Hu FB, Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Spiegelman D, Willet WC. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in man. American Journal of ClinicalNutrition.2000;72:912-921.

Ikeda I, Tsuda K, Suzuki Y, Kobayashi M, Unno T, Tomoyori H, Goto H, Kawata Y, Imaizumi K, Nozawa A, Kakuda T. Tea catechins with a galloyl moiety suppress postprandial hypertriacylglycerolemia by delaying lymphatic transport of dietary fat in rats. Journal of Nutrition 2005; 135: 155–159.

Ikeda T, Sandham HJ, Bradley J. Changes in *Streptococcus mutans* and *lactobacilli* in plaque in relation to the initiation of dental caries in negro chidren. *Archs Oral Biol* 1973; 18: 555–566.

Ikigai H, Nakae T, Hara Y, Shimamura T. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochimica et Biophysica Acta 1993 ; 1147:132–136.

Intertex Belletti N, Lanciotti R, Patrignani F, Gardini F. Antimicrobial efficacy of citron essential oil on spoilage and pathogenic microorganisms in fruit-based salads. J Food Sci 2008; 73: 331-8. ta. Pharmacogn Mag 2010; 6:172-5**.**

ISO 112 65. Qualité du sol. Determination de la conductivité éléctrique spécifique orme Homologuée, Norme francaise. X31-113. 1995 ; 7p.

ISO 5984. Aliments des animaux- Détermination des cendres brutes. Edition. ISO.. 1978 :1-2.

Jagtap AG, Karkera SG. Extract of Juglandaceae regia inhibits growth, in vitro adherence, acid production and aggregation of Streptococcus mutans. J Pharm Pharmacol 2000; 52:235-242.

James J E . Caffeine and health. San Diego, CA, USA: Academic Press Inc., 1991; 24–58.

Jerez M, Pinelo M, Sineiro J, Nunez M J. Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis. Food Chemistry 2006 ;94 : 406–414.

Job J.O. Les sols salés de l'oasis d'El Guettar (Sud tunisien). Thèse de Doctorat, Univ. Sci. Tech.Languedoc, Montpellier, multigr., 1992 : 151.

Johns E. Ueber die Alkaloide des Bockshornsamens. Ber Deut Chem Ges 1985; 18: 2518–2523.

Johnson R K. The 2000 Dietary Guidelines for Americans: foundation of US nutrition policy. British Nutrition Foundation Bulletin. 2000;25:241-248.

Joubert-Noirit L. Alimentation et santé dentaire. C.D.F, 1996; 813: 45-47.

Kamel MS, Ohtani K, Assaf MH. Lignan glycosides from stems of Salvadora persica. Phytochemistry. 1992; 31: 2469-2471.

Kamprath EJ. The role of soil chemistry in the diagnosis of nutrient disorders in tropical situations. In: *Mineral Nutrition of Legumes in Tropical and Subtropical Soils*. Andrew, C.S. and Kamprath, E.J Commonwealth Scientific and Industrial Organisation (CSIRO), Melbourne, Australia 1978; 313-327.

Kanoute A, Faye D, Bourgeois D. Current status of oral health research in Africa: an overview. Int. Dent. J. 2012;62: 301–7.

Kawakib IAZ. In vitro comparison of the antibacterial effect between miswak and some tooth pastes on oral biofilm forming bacteria. World Journal of Pharmaceutical Research.. 2016;5:01-13.

Kefford JB and Chandler BV. The chemical constituents of citrus fruits. Academic press. New York. 1970: 246.

Keli SO, Hertog MGL, Feskens EJM and Kromhout D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke, Arch. Intern. Med 1996; 156: 637–642.

Keyes PH. Recent advances in dental caries research. Bacteriology. Bacteriological findings and biological implications. Int Dent J. 1962; 12 : 443-464.

Khalessi AM , Pack AR, Thomson WM, Tompkins GR. An in vivo study of the plaque control efficacy of Persica: a commercially available herbal mouthwash containing extracts **of** *Salvadora persica* **.** Int. Dent. J. 2004;54 (5) : 279-283.

Khalil AT. Benzylamides from *Salvadora persica*. Arch. Pharm. Res. 2006;29(11): 952-6.

Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, Tanigushi H. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. J. Agric. Food Chem. 2002; 50: 2161–2168.

Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Hellovaara M, Teppo L., Pukkala E and Aromaa A. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. Am. J. Epidemiol. 1997; 146: 223.

Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A , Maatela J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland. A cohort study, Br. Med. J. 1996; 312: 478.

Knobloch K., Pauli A., Iberi B., Wegand H., and Weis N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. J. Essent. Oil Res. 1989; 1. 128.

Konig KG. Diet and oral health. Inter.dental J 2000; 50: 162-174.

Kono S, Shinchi K, Wakabayashi K, Honjyo S, Todoroki I, Sakurai Y, Imanishi K, Nishikawa H, Ogawa S, Katsurada M. Relation of green tea consumption to serum lipids and lipoproteins in Japanese men. Journal of Epidemiology 1996; 6: 128–133.

Korejo F, Ali SA, Syeda S, Tahir MT, Rajput M, Akhter MT. Comparative morphology and biochemical studies of *Salvadora* species found in Sindh, Pakistan. Pak. J. Bot. 2010; 42(1): 1451-1463.

Kra AKM. Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de misca contre Aspergillus fumigatus. *Thèse de doctorat* 3ème cycle UFR Biosciences.Univ. Abidjan. 2001: 126.

Kumar BM, Singh A.K, Dhyani SK. Advances in Agroforestry-South Asian Agroforestry: Traditions,Transformations, and Prospects. Springer Science and Business Media Dordrecht., 2012:34.

Kumar S, Gautam NS, Kumar V. Preliminary Phytochemical Screening and Antimbial Activity of *Salvadora persica Linn*. Extracts against Oral Pathogens. Fungal Genom Biol. 2016; 6: 1-4.

Kunle O, Okogun J, Egamana E, Emojevwe E, Shok M. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from Lippia multiflora leaf extract. Phytomedicine **2003 ;** 10 (1): 59–61.

Lahlou M. Methods to studyphotochemistry and bioactivity of essential oils **2004**.

Lakhdar L, Hmamouchi M, Rida S, Ennibi O. Antibacterial activity of essential oils against periodontal pathogens: A qualitative systematic review. Trop Dent J 2012; 35:140.

Lamont R J, Jenkinson H F. Subgingival colonization by *Porphyromonas gingivalis*. Oral Microbiol Immunol, 2000,15**,** 341-9.

Lamont RJ, Jenkinson HF. Oral Microbiology at a Glance, Wiley–Blackwell. 2010 ;87p.

Lamy S, Gingras D, Béliveau R. Green tea catechins inhibit vascular endothelial growth factor receptor phosphorylation. Cancer Research 2002; 62 (2): 381–385.

Lardry JM, Haberkorn V. L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinesither Rev. 2007; 61: 14-7.

Lattanzio V, De Cicco V, Di Venere D, Lima G and Salerno M. Antifungal activity of phenolics against fungi commonly encountered during storage. Ital. J. Food Sci. 1994; 6: 23-30.

Lasfagues JJ, Colon p. Odontologie conservatrice et restauratrice. une approche médicale globale. France .Wolters Kluwer. Cdp, 2010;1: 13-14.

Le Houérou HN. Browse In Africa: The current state of knowledge. Papers presented at the International Symposium on Browse in Africa. Addis Ababa, April 1980: 8–12.

Leloup V, Louvrier A, Liardon R. Degradation mechanisms of chlorogenic acids during roasting. Proceedings of the International Congress of ASIC 1995 ; 16: 192–198.

Lendander lumikari M, soderlinge Loimaranta V, Ampula L. Effect of inhaled coricosteriods on plaque pH. Caries Res 2000: 34-348.

Liebana J, Castillo A. Physiopathology of primary periodontitis associated with plaque. Microbial and host factors. A review. Part 2. Austr Dent J 1994; 39: 310-315.

Luck E, Jager M. Antimicrobial food additives: characteristics, uses, effects.2nd ed. Berlin. Springer-Verlag. 1997: 260.

Macheix JJ, Fleuriet A and Billot J. Fruit phenolics.CRC press. Boca Raton, Fl. 1989.

Macheïx JJ, Fleuriet A, Billot J. Fruits phenolic acids. CRC Press Doca Ratov Florida 1990. 3:105-110.

Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux - Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes. 2005: 192.

Macrae R, Robinson R K, Sadler M J. Phenolic compounds. In: Encyclopedia of food science, food technology and nutrition. London, Academic press, 1993; 3548-3553.

Madani Ka. Low birth weight in the taif region. Saudi Arabia, Eastem mediternean health journal 1995;1: 47,57.

Magee PJ, Rowland IR. Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. Br. J. Nutr. 2004; .91:513–531.

Mahar AQ, Malik AR, A study on the medicinal plants of Kotdiji, District Khairpur Sindh, Pakistan. Scient. Sindh. J. Res. 2001;8: 31-38.

Malik S, Ahmad SS, Haider SI, Muzaffar A. Salvadoricine: A new indole alkaloid from the leaves of *Salvadora persica*. Tetrahedron Lett., 1987;28: 163-164.

Mariod AA, Ahmed YM, Matthaus B, Khaleel G, Siddig A, Gabra AM, Abdel-. Wahab SM. A comparative study of the properties of six sudanese cucurbit seeds and seed oils. Journal of American Oil Chemists Society. 2009;86: 1181-1188.

Marmonier AA, Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. In : Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles. Doin, Paris, France. 1990: 227–236.

Masood Y, Masood M, Abu Hassan MI , Al-bayaty FH. Biological effects of miswak **(***Salvadora persica***)** Curr. Top. Nutraceutical. Res. 2010 ; 8 (4) : 161-168.

Massassati A, Frank RM, Arends J, Klein JP. Étude ultra structurales, cristallographiques et microbiologiques de bâtonnets frotte-dents (Miswak) utilisés pour l'hygiène dentaire dans les pays islamiques. J Biol Buccale 1981; 9:53-60.

Mazza G and Miniati E. Anthocyonins in fruits, Vegetables and grains. CRC press, Boca Raton, Fl. 1994.

Mehlich A. 1981 Charge properties in relation to sorption and desorption of selected cations and anions. In: *Chemistry in the Soil Environment*. Mathias, S., Dowdy, R.H., Ryan, J.A., Volk, V.V. and Baker, D.E. (Eds.), 1981; 47-75. ASA/SSSA, Madison, Wisconsin.

Mennen L I., Sapinho D, de Bree A. Arnault N, Bertrais S, Galan P and Hercberg S. Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently healthy French women, J. Nutr. 2004; 134: 923.

Metche M, et Girardin M. Cité par Monties B. 1980. In: Les poly mers végétaux et alimentaires non azotés. Ed Gauthier-Villars. 1980 : 340.

Middleton E J, Kandaswami C and Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation. heart disease and cancer. Pharmacol Rev. 2000;52: 673.

Millon L, Piarroux R, Monod M, Meillet D. Physiopathology of oropharyngeal candidosis in HIV-infected patients: Médecine et Maladies Infectieuses . 2002; (12)32: 696–703.

Miyaichi Y and Tomimori T. Constituents of Scutellaria species XVI. On the phenol glycosides of the root of Scutellaria baicalensis Georgi, Nat. Med. 1994; 48: 215.

Monties B. Les poly mers végétaux et alimentaires non azotés. Ed Gauthier-Villars. 1980: 340.

Morishita H, Iwahashi H, Kido R. 3-O-caffeoyl-4-Oferuloylquinic acid from green Robusta coffee beans. Phytochemistry, 1989; 25: 2679–2680.

Moroh J, Bahi AC, Dje K, Loukou YG, Guede-guina F. Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de Morinda morindoides (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'Escherichia coli. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. 2008 ;77: 44 – 61

Mouton C, Robert JC . Bactériologie bucco-dentaire . Ed. Masson , Paris . 1994 ; 1 :15-28

Moynihan P, Petersen PE. Diet, nutrition and the prevention of dental diseases. Public Health Nutrition., 2014;7(1A): 201–226.

Mughogho SK. The distribution and properties of major soils in bean-growing area of Africa. In: Proceedings of a Workshop on Soil Fertility Research for Bean Cropping-Sytems in Africa

held in Addis Ababa, Ethiopia. C.S.Wortmann (Ed.), CIAT African Workshop Series, 1988;3: 35-52.

Muhindi SW, Chrispus Ngule M, Ramesh F. Phytochemical and Antibacterial Potential of Vernonia Adoensis Stem Bark to Curb Cariogenic Microorganisms. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics. 2016;4: 19-27.

Muller M, Lupi L , Jasmin Jr, Bolla M. Etiologie de la carie . Encycl.Méd.Chir.(Paris, France) 1998 ; 30 :2301.

Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catekins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. Journal of Nutritional Science and Vitaminology 1986; 32:613–622.

Murray R D H, Mendez J and Brown SA. The natural coumarins: Occurrence, chemestry and Biochemestry. Wiley –Inter Science, Chichester. 1982.

Nadkarni A K. Indian Materia Medica. Popular Prakashan,Bombay. vol. 1. 1976 ;1092.

Nakagawa T, Yokozawa T. Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. Food and Chemical Toxicology 2002; 40: 1745–1750.

Naseem S, Hashmi K, Fasih F, Sharafat S, Khanani R. In vitro evaluation of Antimbial effect of miswak against common oral pathogens. Pak. J. Med Sci. 2014; 30(2):398-403.

Nehlig A, Daval J, Debry G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms for action, biochemical, metabolic, and psychostimulant effects. Brain Research Brain Research Reviews 1992; 17: 139–170.

Newbrun E. Cariology Baltimore. The Williams & Wilkins company. 1978: 289.

NF ISO 10693. Qualité du sol. Détermination de la teneur en carbonate. Méthode volumétrique. Norme homologuée. Norme française. 1995: X31-105; 11p.

NF ISO 11261. Qualité du sol. Dosage de l'azote total. Méthode de Kjeldahl modifiée. Norme homologuée. Norme française. 1995:X31-111; 8p.

NF T 90.004. Essais des eaux. Dosage de l'ion fluorure. Methode potentiométrique. Afnor 85348 Parie Septembre 1985 ; 457-462.

NF T 90-014. Essais des eaux. Dosage des Ions Chlores. AFNOR 85348 Parie Février 1952 ; 125-128.

NF T 90-040. Essais des eaux. Dosage des ions Sulfates. AFNOR 85348 Parie Septembre 1986 ; 218-221.

NF V 18-109. Aliments des animaux. Détermination de la teneur en eau. Ed. AFNOR. 1982 1-5.

NF V03-402. Épices et aromates - Détermination de la teneur en eau - Méthode par entraînement. **Mai 1985.**

NF X31-161. Qualité du sol. Détermination du phosphore soluble dans une solution d'oxalate d'ammonium à 0.1 mol l^{-1} Méthode de Joret-Hébert. Norme homologuée. Norme française. 1999: X31-161; 11p.

Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H , Valentin E, Bakhrouf A . Antifungal properties of ***Salvadora persica*** and ***Juglans regia*** L. extracts against oral Candida strains Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2010; 29 (1) : 81-88.

Offenbacher S, Barros S P, Singer R E, Moss K, Williams R C et Beck J D. Periodontal disease at the biofilm-gingival interface. J Periodontol, 2007;78**:**1911-25.

Olsson B. Efficiency of traditional chewing sticks in oral hygiene programs among Ethiopian schoolchildren. Community Dent Oral Epidemiology 1978; 6:105-109.

Onawunmi GO, Buggl V, Ming LC, Furtado EL. Antibacterial constituents in the oil of Cymbopogon citrates Stapf J Ethnopharmacol. 1984, 12 (3) :276-86.

Orlando FL, Hennessy JT, Kies B. Soil sorting by forty-five years of wind erosion on a Southern New Mexico Range. Soil Sci. Soc. Am. J. 1986; 56: 391–394.

Ozawa T, Lilley TH and Hasiam E. Poly phenol interactions: astringency and the loss of astringency in ripening fruit. Phyto chemistry.1987 ; 26: 2937.

Padma KB, Kumar A, Sarkar S. Assessment of immediate Antimbial effect of miswak extract and toothbrush on cariogenic bacteria – A clinical study. Journal of Advanced Oral Research. 2012; (3): 13-18.

Pappas P. Invasive candidiasis. Infect. Dis. Clin. North. Am., 2006, 20*:* 485–506.

Park Kh, Choi Sm, Kwon Su,Yoon Sw, Kim Su. Otolaryngol Head Neck Surg.Diagnostic of laryngopharyngeal reflux 2016:81-85.

Pattnaik S. Effect of essential oils in the variability and morphology of Escherichia coli. Microbios. 1995; 48: 195-9.

Pellat B. Nutrition et parodonte. A.O.S. 1985 ;149: 197-202.

Pellerin C, Pellat B. Biochimie odonto-stomatologique. Ed. Masson, Paris. 1986; 2 :150-155.

Petit P Y, **Sauvaire G, Ponsin M, Manteghetti A, Fave G.** Ribes, Pharmacol. Biochem. Beh. 1993; 45 :369. In: Shruti Chopra , Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Sanjay K. Motwani Saiqa Mahdi, Zeenat Iqbal, Sushma Talegaonkar. 2006. Analytica Chimica Acta 2006; 577: 46–51

Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. Clinical Microbiology Reviews.2007,20: 1133–163.

Pibiri MC . Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilationau moyen d'huiles essentielles Thèse de Doctorat n° 3311, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne. 2006.

Porteres R. Un curieux élément culturel arabo-islamique et Néo Africain: les baguettes vegetables mâchées servant de fotte-dents. J Agric Trop Bot 1974; 21:1-36.

Poulton JE. Transmethylation and demethylation reactions in the metabolism of secondary plant products 1981. In: Conn EE (ed.) The Biochemistry of Plants. Academic Press, New York 1981;7: 667–723.

Prashant GM, Chandu GN, Murulikrishna KS , Shafiulla M.D, The effect of mango and neem extract on four organisms causing dental caries: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivavius*, *Streptococcus mitis*, and *Streptococcus sanguis*: an *in vitro* study. Indian Journal Dental Research., 2007; 18(4):148 51.

Prescott LM, Harley JP Klein DA. Microbiologie. De Boeck-Supérieur. 2003 : 1137.

Puupponen-Pimia R, Nohynek L, Meier C, Ka¨hko nen, M, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey KM. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. J. Appl. Microbiol 2001; 90 : 494–507.

Quesel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie régions désertiques meridionales. Cnrs Paris 1962; I et II: 1170.

R&D. Project report Management of salt affected black soils using Salvadora – forage grass based land use system. submitted to NABARD by CSSRI. Regional Research Station. Bharuch in 2002.

Ramade F, Eléments d'écologie.écologie fondamentale.McGraw-Hill.Parie.1984 :391.

Rafi A, Tasneem U S, Achfaq A, Muchtaq A. Médicinal importance of essential oils. Hamdard Medicus. 1994 ; XXXVI (3): 101-105.

Rajesh Verma, Purohit S, Bhandari A, Kumar B, Priyanka P. Salvadora Persica L (Tooth Brush Tree): A Review. J Pharma Res. 2009; 2: 1809-1812.

Rasmussen PE, Collins HP. Long-term impacts of tillage fertilizer and crop residues on soil organic matter in temperate semi- arid regions. *Advances in Agronomy* 1991;45:93-134.

Rasouli GAA, Rezaei A, Mohseni SSH, Yaghoobee S, Khorsand A, Kadkhoda Z, Moosavi JM, Rokn A R. Inhibitory activity of *Salvadora persica* extracts against oral bacterial strains associated with periodontitis: An in-vitro study. journal of oral biology and craniofacial research. 2014;4: 19-23.

Ray AB, Chand L, Dutta SC. Salvadourea, New urea derivative from Salvadora persica. Chem Ind (London) 1975; 12:517-518.

Rees S, Harbonne JB. The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. Phytochemistry.1985; 24 :2225-2231.

Regnault JP. Microbiologie générale. Microorganisme commensaux . dcarie moritréal. Vigot paris. 2000.chapitre 13: 620-646.

Ren H, Bao H, Endo H, Hayashi T. Antioxidative and antimicrobial activities and flavonoid contents of organically cultivated vegetables. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi. 2001; 48(4): 246-252.

Reynolds PE, Simpson JA, Lautenschlager RA, Bell FW, Gordon AM, Gresch DA, Robert C. Le brunissement enzymatique chez le palmiste rouge des bas(Acanthophonix rubra): Purification et caractérisation du système polyphénoloxydasique. Thèse de Doctorat, Université de la réunion. INIST-CNRS, cote INIST: T 101483. 1995:115.

Ribereau-gayon P. Les composes phénoliques des végétaux. Ed Dunod. Paris. 1968: 250 .

Ribes G, Sauvaire Y, Baccou JC, Valette G, Chenon D, Trimble ER, Loubatiers-Mariani M.M. Ann. Nutr. Metab. 1984; 8: 37. In: Shruti Chopra , Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Sanjay K. Motwani Saiqa Mahdi, Zeenat Iqbal, Sushma Talegaonkar. 2006. Analytica Chimica Acta 2006 ; 577 : 46–51.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biol. Med 1996; 20: 933–956.

Richter G. Métabolismes des végétaux, physiologie et biochimie. Presse polytechniques Universitaires. Romandes PUF.1993:526.

Riggs E, Van Gemert C, Gussy M, Waters E, Kil-patrick N. Reflections on cultural diversity of oral health promotionand prevention, Global Health Promot.2012:19(1): 60–63.

Rimm EB, Katan M.B, Ascherio A, Stampfer MJ and Willett WC. Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals, Ann. Intern. Med. 1996;125:384.

Rodier J. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. L'analyse de l'eau. Dunod 1984 ; 7: 200-201.

Runyoro DKB, Ngassapa OD, Matee MIN, Joseph CC and Moshi MJ. Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of *Candida* infections. Journal of Ethnopharmacology. 2006; 106: 158–165.

Rutunga V, Mutwewingabo G. Normes d'interprétation des résultats d'analyse du sol. Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda (ISAR) 1987.

Ryberg M, Moller C, ErrisconT. Saliva composition and caries development in asthamatic patients treated with B2 adrenoceptor, agonist, a four-year flow.up study. J. dent Res 1991;99:212-8.

Saeed Zayed Al-Ayed, M., Asaad A.. Ansar M , Qureshi M, Goda Attia H.. Hadi AlMarrani A . Antibacterial Activity of *Salvadora persica* L. (Miswak) Extracts against Multidrug Resistant Bacterial Clinical Isolates. Hindawi Publishing Corporation, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine., 2016: 1-5.

Safaei-Ghomi J, Ahd AA. Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of Eucalyptus largiflorens and Eucalyptus intertexta. Pharmacogn Mag. 2010; 6:172-5.

Saleh AM, Jalaluddin AK. Antioxidant capacity of chewing stick miswak *Salvadora persica*. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2013;13:40-46.

Sanogo R, Monforte MT, Daquino A. Rossitto A, Maur D.D et. Galati EM, Antiulcer activity of *Salvadora persica* L : structural modifications. Phytomedicine., 6(5): 1999363-366.

Savithramma N, Sulochana CH, Rao KN. Ethnobotanical survey of plants used to treat asthma in Andhra Pradesh. India J. Ethnopharmacol. 2007;113: 54-61.

Scalbert A, Monties B, Faure JM. Poly phenols of Quercus Robur: Adult tree in vitro grow call and shoots. Phyto chemestry. 1988; 27 : 3483-3488.

Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 1991; 30: 3875–3883.

Scheiber MD, Liu JH, Subbiah MTR, Rebar RW, Setchell KDR. Dietary inclusion of whole soy foods results in significant reductions in clinical risk factors for osteoporosis and cardiovascular disease in normal postmenopausal women. Menopause.2001; 8: 384–392.

Schuster B et Herrman K. Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatetives in soft fruits. Phytochemistry . 1985; 24: 2761.

Sesso HD, Gaziano JM, Liu S and Buring JE. Flavonoid intake and the risk of cardiovascular disease in women, Am. J. Clin. Nutr. 2003;77: 1400.

Shahidi F, Naczk M. Food phenolics; sources, chemistry, effects applications. Technomic publishing Co, Lancaster Basel. 1995; 5: 128.

Sharma A, Tewari G M, Shrikhande A J, Padwal-Desai SR and Bandyopadhyay C. Inhibition aflatoxin producing fungi by onion extracts. J. Food Sci. 1979 ; 44:1545-1547.

Siewek F, Galenza R and Herrmann K. Isolation and identification of branched quercitin triglycerides from ruibes rubrum (Saxifragaceae). J. Agric. Food Chem. 1984; 32: 1291.

Simonson L G, Robinson P J, Pranger R J, Cohen M E, and Morton H E. *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment. J Periodontol. 1992;63:270-273.

Skipp RA and Bailey JA. The fungitoxicity of isoflavonoid phytoalexins measured using different types of bioassay Physiol. Plant Pathol.1977;11:101.

Socransky S S, Haffajee A D, and Dzink J L. Relationship of subgingival microbial complexes to clinical features at the sampled sites. J Clin Periodontol. 1998;18:440-444.

Sofrata A, Santangelo EM, Azeem M, Borg-Karlson AK, Gustafsson A, Pütsep K. Benzyl isothiocyanate, a major component from the roots of *Salvadora persica* is highly active against Gram-Negative bacteria, PLoS ONE.2011;16(8):23045.

Sofrata AH, Claesson RL, Lingstrom PK, Gustafsson AK. Strong antibacterial effect of miswak against oral microorganisms associated with periodontitis and caries**.** J. Periodontol., 2008;79 (8): 1474-1479.

Sote EO, Wilson M. In vitro antibacterial effects of extracts of Nigerian tooth-cleaning sticks on periodontopathic bacteria. Afr Dent . 1995; 9:15 -19.

Stamler J, Neaton J D, Wentworth D N. (Blood pressure systolic and diastolic) and risk of fatal coronary heart disease. Hypertension 2000; 2: 12.

Starosvetskii BV. Chronic pharyngitis of mycotic etiology. Vestn Otorinolaringol 1988;(5): 27–31.

Stephanou A. Role of STAT-1 and STAT-3 in ischaemia/reperfusion injury. Journal of Cellular and Molecular Medicine 2004; 8: 519–525.

Stevenson FJ. Nitrogen in Agricultural Soils. American Society of Agronomy, Madison, WI. 1982.

Suarez DL. Sodic soil reclamation: modelling and field study. Aust. J. Soil Res 2001; 39 : 1225-1246.

Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules. 2009;14: 2167-2180.

Sun CL, Yuan JM, Lee MJ, Yang CS, Gao YT, Ross RK and Yu MC. Urinary tea polyphenols in relation to gastric and esophageal cancers: a prospective study of men in Shanghai, China, Carcinogenesis. 2002;23:1497.

Taguri T, Tanaka T, Kouno I. Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing foodborne disease. Biol Pharm Bull 2004; 27: 1965-9.

Tanner A, Maiden MF, Paster BJ, Dewhirst FE. The impact of 16S ribosomal RNA-based phylogeny on the taxonomy of oral bacteria. In: Socransky SS, Haffajee AD, editors. *Periodontology 2000: vol 5.* Microbiology and immunology of periodontal diseases. Copenhagen: Munksgaard; 1994: 26–51.

Tekalign T, Haque I, Aduayi EA. Soil, plant, water, fertilizer, animal manure and compost analysis manual. Plant Science 1991.

Tenovuo J, MaÊ nsson-Rahemtulla B, Pruitt K, Arnold R. Inhibition of dental plaque by the salivary lactoperoxidase antimicrobial system. Infect Immun 1981; 34:208-214.

Theilade E, Wright W H, Jcnscn S B, and Loe H. Expérimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. J Periodontal Res. 1966 ;1:1-13.

Thevathasan NV. Complementary interactions and N dynamics in tree-based intercropping systems in southern Ontario, Ph.D. Thesis, University of Guelph, Guelph, Canada. 1998.

Thomas EL, Milligan TW, Joyner RE, Jefferson MM. Antibacterial activity of hydrogen peroxide and the lactoperoxidase-hydrogen peroxide thiocyanate system against oral streptococci. Infect Immun 1994; 62:529-535.

Thung M. Bean agronomy in monoculture. In: Common beans: Research for Improvement. Schoonhoven, van, A. and Voysest, O.(Eds.). CAB International, Wallingford. 1991: 737-834.

Tian Y, HE X, Torralba M, Yooseph S, Nelson K E, Lux R, Mclean J S, Yu G et Shi W. Using DGGE profiling to develop a novel culture medium suitable for oral microbial communities. Mol Oral Microbiol, 2010**;**25**:** 357-67.

Tibi J. Influence d'un bain de bouche sur la présence des bactéries cariogènes au sein du biofilm. Thèse de docteur en chirurgie dentaire, faculté d'odontologie : Université Henri Poincaré-Nancy, 2010 : 12-20.

Todkar SS, Chavan VV, Kulkarni AS. Screening of Secondary Metabolites and Antibacterial Activity of Acacia concinna.Research Journal of Microbiology. 2010;5: 974-979.

Townsend PA, Scarabelli, TM, Pasini E, Gitti G, Menegazzi M, Suzuki H, Knight RA, Latchman DS, Stephanou A. Epigallocatechin-3- gallate inhibits STAT-1 activation and protects cardiac myocytes from ischemia/reperfusion-induced apoptosis. FASEB Journal 2004; 18: 1621–1623.

Trovato A, Galati EM, Rossitto A, Monforte MT, d'Aquino A, Forestieri AM. Hypoglycemic effects of Salvadora persaica L. in the rat. Phytomedicine 1998; 5:129-132.

Tsubono Y, Tsugane S. Green tea intake in relation to serum lipid levels in Middle-aged Japanese men and women. Annals of Epidemiology 1997; 7: 280–284.

Uesugi T, Fukui Y, Yamori Y. Beneficial effects of soybean isoflavone supplementation on bone metabolism and serum lipids in postmenopausal Japanese women: a four-week study. J. Am. Coll. Nutr. 2002; 21: 97–102.

United States Department of Agriculture (USDA). Diagramme triangulaire in Ramade, Ecologie des ressources naturelle. Masson, parie.1881; 211.

Van Buren J. Fruit phenolics 1970. In: The biochemistry of fruits and their products: Hulme A. C. (ed.). New York, Academic Press1970; Vol. 1: 269-304.

Van Etten HD and Bateman DF. Studies on the mode of action of the phytoalexin phaseollin, Phytopathology. 1971; 62: 1363.

Van Houte J. Bacterial specificity in the etiology of dental caries. Int Dent J 1980;30:305–326.

Van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. J Dent Res 1994;73:672–681.

Van Houte. J et Jansen. H. M. Role of glycogen in survival of *Streptococcus mitis.* Journal of bacteriology, Mar. 1970. Vol 101, No 3:1083-1085.

Van Loveren C. Diet and dental caries: cariogenicity may depend more on oral hygiene using fluorides that on diet or type of carbohydrates. Eur J. Pead dentistry 2000; 17:82.

Veitch NC and Grayer RJ. Dihydrochalcones, and Aurones. In: Andersen OM et Markham KR . *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. Taylor and Francis Group, LLC. CRC Press. 2006: 1003-1070.

Véronique AG, Pierre M, Laurent D. Les proprietes antimicrobienne des huiles essentielle et composes aromatique. Scinces des alimesnt . Paris. 1998 ;18(6) :565-577.

Viguié-Vallanet C,Serre M,Masliah L,Tourte-Schaefer C. Épidémie de teignes à *Trichophyton tonsurans* dans une école maternelle de la région parisienneEpidemic

of *Trichophyton tonsurans* tinea capitis in a nursery school in the Southern suburbs of Paris. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie May 2005 ; (132) 5: 432-438

Wagner H. Pharmazeutse she biologie. Drogen inhaltesstoffe. Gustave fisher verfag Sturtaag New yorc. 1993:522.

Walsh S. E, Maillard JY, Russell AD, Catrenich CE Charbonneau DL, Bartolo RG. Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. J Appl Microbiol 2003; 94(2): 240-7.

Walters C. Aromathérapie. Editions Végat ; Paris . 2006.

Wang J et Mazza M. Inhibitory effects of Anthocyanines and other phenolic Compound on Nitric oxide Production in LPS/ INF-γ Ativated RAW 264.7 Macrophages. J. Agric. Food chem. 2002 ; 50:850-857.

Watt J M. and Breyer-Brandwijk, M. G. The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa, E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh and London 1962.

Wegrzyn R, Lamendinh H. Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. Chir. Dent. Fr 2005; 1225 :62-66.

Weidenborner M, Hindorf H, Chandra JH and Tsotsonos P. Antifungal activity of flavonoids against storage fungi of the genus Aspergillus. Phytochemistry, Volume 29. 1990; 4: 1103-1105.

Williams BG, Hoey D. An electromagnetic induction technique for reconnaissance surveys of soil salinity hazards. Austr. J. Soil Res., 1982; 20 : 107-118.

Wolinsky LE, Sote EO. Isolation of natural plaque-inhibiting substances from 'Nigerian chewing sticks'. Caries Research 1984; 18: 216– 225.

World Health Organisation. Hypertension control. WHO Technical Report 1996; Series 853, Geneva.

World Health Organisation. Prevention methods and programmes for oral health Report of a WHO Expert Committee. Technical Report. 2000; Series713, Geneva.

World Health Organization (**WHO**). Prevention Methods and Programmes for Oral Health. Report of a WHO Expert Committee Technical Report, Geneva. 1984;713: 1-46.

World Health Organization. Prevention of diseases. Geneva: WHO, 1987.

Wu T, Samaranayake LP, Cao BY, Wang J. In-vitro proteinase production by oral Candida albicans isolates from individuals with and without HIV infection and its attenuation by antimycotic agents. J Med Microbiol. 1996 Apr;44(4):311–316.

Xiong X, Buekens P, Fraser WD, Beck J. et Offenbacher S. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review. B J O G. 2006**;**113(2): 135–143.

Xu JZ, Yeung SY, Chang Q, Huang Y, Chen ZY,. Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea epicatechins with their epimers. British Journal of Nutrition 2004 ; 91: 873–881.

Yang CS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. Annual Review of Nutrition 2001; 21: 381–406.

Yarbrough JM, Rake JB, Eagon RG. Bacterial inhibition of nitrate, inhibition of active transport, but not of group translocation and of intercellular enzymes. Appl Environ Microbiol 1980; 39: 831- 834.

Young W, Hotovec RL, Romero AG. Tea and atherosclerosis. Nature 1967; 216: 1015–1016.

Zafar MS, Ahmed N. Therapeutic roles of fluoride released from restorative dental materials. Fluoride.2015;48:184-194.

Zaid A, Elbandy M et Nadir A. Miswak (*Salvadora persica*) roots as antibacterial agent and a potential food bio preservative. J. Endod.2015;4:2288-2293.

Zambon J J, Haraszthy V I, Hariharan G, Lally E T, and Demuth D R. The microbiology of early-onset periodontitis: Association of highly toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains with localized juvenile periodontitis. J Periodontol. 1996;67:282-290.

Zayed A M S, Asaad A M, Ansar Qureshi M, Goda Attia H, Hadi AlMarrani A. Antibacterial Activity of Salvadora persica L. (Miswak) Extracts against Multidrug Resistant Bacterial Clinical Isolates. Hindawi Publishing Corporation, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine., Volume 2016: 1-5.

Zhang A, Zhu QY, Luk YS, Ho K.Y, Fung KP, Chen ZY. Inhibitory effects of jasmine green tea epicatechin isomers on free radicalinduced lysis of red blood cells. Life Sciences 1997; 61: 383–394.

Zhao HL, Zhang TH, Zhou RL. Soil environment and productivity formation process of corn in five types of farmland of Horqin Sandy Land. Acta Pedologica Sinica 2003 ; 40 (2): 194–199.

Zhiri A. Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. Ed. Nutra News. 2006 : p16.

Zhuo X-G, Melby MK, Wantanabe S. Soy isoflavone intake lowers serum LDL cholesterol. A meta-analysis of 8 randomized controlled trials in humans. J. Nutr. 2004; 134: 2395–2400.

Zrihi GN, Kra AKM, Etien DT. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. Revue Méd. Pharm. Afr. 2007;20: 9-17.

Annexes

Analyses microbiologiques
(Bourgeois et Leveau., 1980 et Petransxienne et Lapied., 1981)

Annexe I. Techniques de cultures

Staphylococcus

1-Inoculation.

Le contenu d'un flacon de Chapman est tout d'abord fondu a au bain marie, puis refroidi à 45°C et coulé dans des boites de Petri. A l'aide de pipettes pasteurs stériles 0.1ml des prises de dilutions sont étalés respectivement sur la surface de chaque milieu de culture solidifié.

1- Incubation.

Placer les boites de Petri à l'étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures.

3-Dénombrement.

Il s'agit de compter les colonies jaunes.

Remarque: ***Les Staphylococcus aureus*** sont dénombrés sur le milieu de **Baird parker.**

- **Milieu Chapman.**

Extrait de viande……....1g
Chlorure de sodium……..10g
Mannitol……...10g
Rouge de phénol……....25ml
Gélose……..…..15ml
} **pH**=7.4

- **Milieu de Baird parker.**

Tryptophane (Difco ou Oxoid)……10g
Extrait de viande de bœuf
(Difco ou Oxoid)……5g
Extrait de levures
(Difco ou Oxoid)……1g
Chlorire de lithium……5g
Agar Difco……20g
Solution à 0.2% de sulfamezathine……..25ml

(0.5 g de sulfamezathine dans 25ml de NaOH 0.1 M; étendre ce volume à 250 ml dans de l'eau distillée).

- Dissoudre en portant à l'ébullition.
- Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7.2.
- Répartir en fioles de 125 ml à raison de 90 ml .
- Stériliser à l'autoclave à 121±1^{o}C pendant 20 minutes.
- Au moment de l'emploi à 90 ml de milieu de base fondu et refroidi à 45-50^{o}C ajouter les solutions suivantes portées à la même température :

Solution aqueuse à 20% de glycine……..6 ml
Solution aqueuse à 1% de tellurite de Potassium (B.D.H)……..1 ml
Solution aqueuse à 20% de Pyruvate de sodium……..5 ml
Emulsion de jaune d'œuf……..5 ml

- Stériliser par filtration sur membrane cellulosique les trois premières solutions.
- L'émulsion de jaune d'œuf est obtenue en diluant 5 ml de jaune d'œuf prélevé aseptiquement dans 95 ml d'eau salée à 8.5 $^{o}/_{00}$.
- La stérilisation de l'émulsion est vérifiée en inoculant 1 ml dans un bouillon nutritif incubé pendant 3 jours à 30 ^{o}C.

Le milieu de Baird parker ainsi préparé est coulé à raison de 8 ml dans des boites de Petri de 100 ml ou de 28 ml dans des bites de 140 ml. Ces boites sont utilisées le jour même de leur préparation à défaut jusqu'au lendemain. Le milieu de base est conservé au réfrigérateur pendant 2 mois ainsi que les solutions de glycine et de tellurite de potassium.

La solution de pyruvate est conservée pendant un mois au réfrigérateur.
Note- Il existe, dans le commerce, des concentrés de jaune d'œuf.

Streptocoques fécaux

1-Inoculation.

Couler le milieu de Slanetz fondu au préalable au bain marie et refroidi à 45°C dans des boites de Petri. Ensuite, inoculer 1ml de dilution 10^{-1},10^{-2},10^{-3}, à l'aide d'une pipette pasteur stérile sur la surface des boites après solidification du milieu de culture.

Le milieu Slanetz contient comme agents sélectifs de l'azothydrate de sodium et le chlorure de 2-3-5 triphényl-tétrazolium (T.T.C), ce dernier étant ajouté à la base gélosée juste avant l'emploi.

2-Incubation.

Placer les boites de Petri à l'étuve réglée à 37°C pendant 24 à 48 heures.

3-Dénombrement.

Il s'agit de compter les colonies rouges violacées avec ou sans auréoles blanches.

- **Milieu Slanetz.**

Peptone…….….20g
Extrait de levure……05g
Glucose……...2g
Phosphate bipotassique……..…..4g
Azothydrate…….….0.4g
Agar…….…..10g

pH=7.2

Lactobacillus

Le dénombrement est réalisé après ensemencement d'une prise de dilution sur un milieu spécifique (MRS).

1- Inoculation et incubation.

Les boites de Petri renfermant le milieu de culture solidifié sont ensemencés avec une prise de dilution d'échantillon expérimental, puis retournées couvercle en bas et placées dans l'incubateur à 37°C pendant 24 à 48 heures.

3-Dénombrement.

Il s'agit de compter toutes les colonies qui se trouvent sur la surface du milieu de culture.

- **Milieu de Man, Rogosa et Sharpe (M.R.S)**

Peptone……..10g
Extrait de viande ……8g
Extrait de levure ……4g
Acétate de sodium……...5g
Phosphate de bipotassique……..2g
Citrate d'ammonium……...2g
Sulfate de magnésium ,7 H_2O …….0.2g
Sulfate de manganèse ,4 H_2O……..0.05g
Glucose…….20g
Tween 80……..1ml
Agar……..10g

pH= 6.2

Streptocoques dits Lactocoques

Leur recherche fait appel à des milieux contenant les éléments nutritifs du lait, comme la gélose M17.

Mode opératoire

- Préparer et inoculer autant de boites de Petri qu'il y a de dilutions à examiner.
- Faire fondre au préalable puis refroidir en maintenant dans un bain d'eau à 45-46^{o}C la gélose M17.
- Couler les boites avec la gélose M17
- Mélanger le milieu à l'inoculum.
- Laisser refroidir.

Inoculation

Placer les boites de Petri à l'étuve à 37^{o}C durant 24 à 48 heures.

- **Milieu M17**
- **Milieu de base**

- Peptone trypsique de caséine (Tryptone Difco)…….2.50g
- Peptone pepsique de viande (Peptone Difco)……2.50g
- Peptone papaique de soja (Biosoyase Mérieux)……5g
- Extrait de levures deshydraté……2.50g
- Extrait de leviandes……...5g
- Glycérophosphate de sodium……19g
- Sulfate de magnésium, 7H_2O……0.25G
- Acide ascorbique…….0.50g
- Agar selon les propriétés Gélifiantes……9 à 18 g
- Eau distillée……..950 ml

Dissoudre les ingrédients dans l'eau en portant à l'ébullition. Laisser refroidir à 50 ^{o}C. Ajuster éventuellement le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7.1-7.2. Répartir à raison de 95ml par fiole de 125 ml. Stériliser à 121 ± 1 ^{o}C pendant 20 minutes.

- **Solution de lactose**

- Lactose…….10g
- Eau……...100 ml

Dissoudre le lactose dans l'eau. Stériliser à 121± 1 °C pendant 20 minutes.

- **Milieu complet**

- Milieu de base (1) préalablement fondu dans un bain d'eau bouillante et refroidi à 48-50 °C…….95 ml
- Solution de lactose (2)……..5 ml

Mélanger par agitation

Solution de Ringer

- Chlorure de sodium ……9g
- Chlorure de potassium……0.42g
- Chlorure de calcium anhydre……..0.24g
- Bicarbonate de sodium……0.2g
- Eau distillée…….4000ml

Faire par léger chauffage. Répartir en flacons à raison de 90 ml. Boucher. Stériliser à l'autoclave à 121 ± 1 °C pendant 20 minutes.

Au moment de l'emploi, répartir dans des tubes de 20X200 mm stérile, 9 ml de la solution de Ringer.

Techniques d'analyses des sols

Annexe II. Mesure de pH (Code interne; procédure n° ps0905, CIRAD., 2004)

Cette méthode instrumentale de mesure en routine du pH est appliquée à tous les types de sols séchés à l'air. La mesure s'effectue à l'aide d'une électrode de verre combinée trempant dans une suspension de sol dans un rapport (M/V) de 1/2.5 :

-dans l'eau : pH **H2O**
-dans le KCl 1 mol/L : pH **KCl**

Mode opératoire

- Peser 20g de terre fine (séchée à l'air) dans un flacon de 500ml.
- Ajouter 50ml d'eau distillée (pour mesurer le pH eau) ou 50ml de KCl (1 mol/L) (pour mesurer le pH KCl).
- Agiter le contenu du flacon durant 1heure à l'aide d'un agitateur électrique et laisser reposer la solution pendant 1/2heure.
- Calibrer le pH mètre, et introduire l'électrode dans la suspension.
- Lire le chiffre affiché sur le Ph mètre.
- Laver l'électrode avec de l'eau distillée.

Annexe III. Granulométrie
(Aubert., 1978)

Mode opératoire

- Mettre 10g de sol séché à l'aire dans un flacon de 500ml.
- Ajouter 50ml d'H_2O_2 20%.
- Agiter le flacon pendant 2 heures, à l'aide d'un agitateur.
- Prélever dans des tares de poids connus 10ml de la suspension à l'aide d'une pipette:
  - après 45 secondes (pour les sables grossiers),
  - après 1 minute et 6 secondes (pour les sables fins).
  - après 4 minutes (pour les limons grossiers).
  - après 40 minutes (pour les limons fins).
  - et après 6 à 8 heures (pour l'Argile).
- Mettre les tares sur une plaque chauffante.
- Peser les tares après évaporation.

$$X\ \% = 100.\ P\ /\ 10$$

X%: Pourcentage de (sables grossiers ou fins, limons grossiers ou fins et argile)
P: Poids d'échantillon.

Annexe IV. Conductivité électrique
(ISO 11265., 1995)

Mode opératoire

- Peser 10g de terre fine (séchée à l'air) dans un flacon de 500ml.
- Ajouter 50ml d'eau distillée.
- Agiter le contenu du flacon durant 2 heures à l'aide d'un agitateur et laisser reposer la solution 1/2heure.
- Calibrer le conductimètre et introduire la cellule de conductivité au centre du récipient de la suspension; les deux électrodes doivent bien immerger dans la solution de sol.
- Lire le chiffre de la conductivité affichée sur le conductivémètre.
- Laver la cellule avec de l'eau distillée.

Annexe V. Dosage de l'azote total
(NF ISO 11261., 1995)

1- Mode opératoire
1-1Minéralisation

- Introduire dans un matras 1 g de terre fine (séchée à l'air).
- Ajouter 3g du sulfate de potassium K_2Cu et 20ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré.
- Porter le matras sur la rampe d'attaque placé dans un chauffe ballon.
- Chauffer d'abord doucement, puis augmenter progressivement l'intensité du chauffage jusqu'à ce que le contenu du matras soit porté à ébullition.

- Lorsque le mélange de la solution se décolore et prend une teinte légèrement verdâtre poursuivre encore l'attaque à l'ébullition durant une heure.
- En suite, laisser refroidir progressivement le matras.
- Lorsque la température du mélange est voisine à celle du laboratoire, verser par petites quantités 50ml d'eau déminéralisé pour diluer la suspension contenue dans le matras.
- Verser le contenu du matras dans une fiole de 100ml et compléter la solution à 100ml par l'eau déminéralisé.

1-2 Destillation

- Prélever dans un matras à l'aide d'une pipette 20ml de la solution préalable contenue dans la fiole, ajouter quelques goûtes phénophtaléine et verser 50ml de soude 33% jusqu'au virage de la couleur.
- Raccorder immédiatement le matras à l'appareil de distillation.
- Adopter un chauffage du matras; les vapeurs d'ammoniac et d'eau sont entraînées dans une colonne réfrigérante ou elles se condensent.
- L'ammoniac est recueilli dans un bécher de 40ml contenant 20ml de l'acide borique H_3BO_3 de quelques goûtes de rouge de méthyle.
- Arrêter la distillation quand le volume de l'ammoniac et d'eau évaporé atteindre 20ml.

1-3 Titration

- Titrer le contenu du bêcher en fin de la distillation avec une solution d'acide sulfurique (0,05N) jusqu'à coloration rouge persistance de l'indicateur coloré.

1-4 Expression des résultats

La teneur d'azote dans la prise d'essai (v*) :*

$$N = V0.\ 7/20.10\text{-}4g\ d'N$$

V0 : volume H_2SO_4 (N/20) utilisé pour la neutralisation.
v : volume d'échantillon correspondant (20ml).
V : Volume d'extraction de fiole (100ml).
P : prise d'essai (1g).

Teneur d'azote dans le volume d'extraction (V) :

$$N = V0.\ 7/20.10^{-4}.V/v$$

V : volume d'échantillon correspondant (20ml).

Annexe VI Calcaire total (NF ISO: 10693., 1995)

Mode opératoire

- Déposer 1g de terre fine (séchée à l'air) dans un flacon.
- Remplir l'appendice latéral du flacon avec 5ml d' HCl 0,5N.
- Relier le flacon au calcimètre de Bernard.
- Amener au zéro les niveaux de l'eau dans la colonne et dans l'ampoule.

- Répondre l'acide sur la terre.
- A l'aide de l'ampoule, rétablir le niveau et lire le volume de CO_2 dégagé (en cm^2).
- Une fois le dégagement de CO_2 est terminé, enlever l'ampoule du calcimètre jusqu'à ce que le niveau de l'eau de cette dernière soit dans un même plan horizontal que celui dans la colonne.
- Déposer un poids de $CaCO_3$ pur, pour l'étalonnage de l'appareil, tel qu'il provoque un dégagement gazeux et recommencé les même étapes précédemment décrites.

Expression des résultats

$$\mathbf{CaCO_3\% = (p \times V) / (P \times v) \times 100}$$

p : Poids de $CaCO_3$, pur utilisé pour l'étalonnage.
V : Volume du gaz carbonique dégagé par l'échantillon du sol.
P : Poids de l'échantillon du sol.
v : Volume du gaz carbonique dégagé par le $CaCO_3$.

Annexe VII. Dosage du phosphore assimilable (NF X31-161., 1999)

1-Réactifs

- ***Solution d'acide*** **oxalique 0.1mole.l^{-1}**
- **Solution molybdique**

-Dissoudre 25g de molybdate d'ammonium dans 200ml d'eau déminéralisée chaude.
- Diluer 280ml d' H_2SO_4 concentré avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume de 660ml.
-Verser dans une fiole de un litre la solution molybdique puis l'acide sulfurique dilué et compléter le mélange à à 1 litre avec de l'eau déminéralisée.

- **Solution de chlorure stanneux**

-Dissoudre 25g de $SnCl_2$ $2H_2O$ dans 1000 ml d'acide chlorhydrique dilué à 10%.
-La solution filtrée est préparée qu'au moment de l'emploi, sinon elle doit être conservée à l'abri de la lumière.

- **Solution étalon de P_2O_5 (1g/l)**

-Peser exactement 1.917g de phosphate mono potassique (KH_2PO_4).
-Introduire dans une fiole jugée de 1000ml et compléter à 1 litre avec de l'eau déminéralisée.
-A la fin, nous ajouter une goutte de chloroforme.

- **Solution étalon de P_2O_5 (10mg/l)**

-Verser 10ml de la solution (1g/litre) dans une fiole de 1000ml et compléter la solution jusqu'à 1000ml avec de l'eau déminéralisée.

2- Mode *opératoire*

2-1 Extraction à l'acide

- Mettre 1g de sol, séchée à l'aire et broyé, homogénéisé et passé au tamis de 0,2mm dans un flacon de 500ml.
- Ajouter 50mlde solution d'acide oxalique.
- Agiter la solution durant 2 heures à l'aide d'un agitateur.
- Filtrer sur un filtre blanc n° 111Ø 110ml; le filtrat recueilli constituera la solution d'extraction et sera récupérée dans une fiole de 100ml.
- Versons de nouveau 50ml de solution d'acide oxalique et compléter à 100ml.

2-2 Dosage colorimétries du phosphore

Dans un Erlenmeyer de 100ml, verser :

- 20ml de la solution d'extraction.
- 25ml d'eau déminéralisée.
- 5ml de solution molybdique.
- Laisser reposer pendant 10minutes.
- Ajouter 2 gouttes de $SnCl_2$ dans la fiole, pour réduire le complexe phospho-molybdique.
- Au bout de 5 minutes effectuer un dosage colorimétrique à 630nm.

3- Expression des résultats

$$P_2O_5 \text{ ‰} = 25.Q / P$$

P = poids de terre à la prise d'essai.

Q = teneur de phosphore en mg/l (à partir de la courbe).

Analyses sur les extraits bruts à l'eau de *Salvadora persica*

Annexe VIII. Dosage des Nitrates :(Rodiev, 1984)

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosonylate de sodium coloré en jaune et susceptible d'être dosé par colorimétrie à 415 nm.

a- Réactifs.

- Solution de salicylate de sodium à 0.5%.
- Solution d'hydroxyde de sodium à 30% (NaOH).
- Acide sulfurique (H_2SO_4) concentré.
- Tartrate double de sodium et de potassium.

b- Mode opératoire.

Prélever de chaque échantillon à analyser 10ml de solution à laquelle il faut additionné 1 ml de salicylate de sodium à 0.5%. Les mélanges sont mis dans un bain de sable, à la température d'environ 80°C, jusqu'à évaporation. Le résidu est, par la suite, traité par 2 ml d'acide sulfurique concentré. Après un repos de 15 minutes, ajouter 15 ml d'eau distillée et 15 ml d'une solution composée de soude et de tartrate double de sodium et de potassium(40g NaOH + 60g $NaKC_4H_4O_6,H_2O$ + qsp 1000 ml H_2O). Une coloration jaune se développe immédiatement. La lecture est effectuée à une logeur d'onde de 415 nm caractéristique des nitrates.

La courbe d'étalonnage relative à la concentration des solutions étalons de nitrates en fonction de l'absorbance a été établie. Elle est représentée par la figure suivante **(Figure 22):**

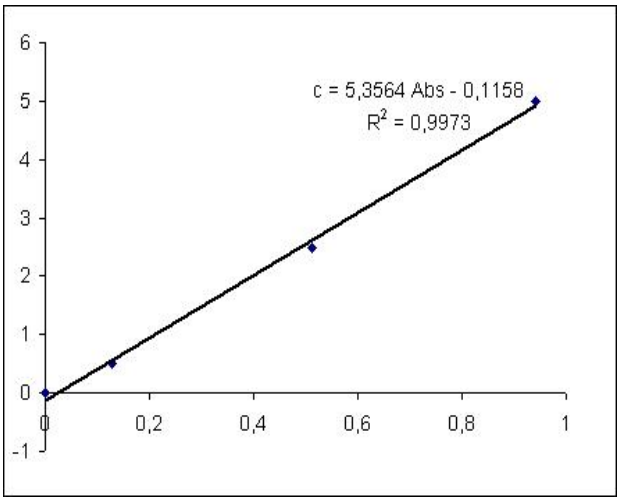


Figure 22. Courbe d'étalonage des nitrates.

Annexe IX. Dosage des ions Sulfates (NF T 90-040, Septembre 1986)

Le principe est basé sur la précipitation des ions sulfates en présence de chlorure de baryum en milieu chlorhydrique à l'état de sulfate de baryum, puis d'une stabilisation du précipité à l'aide d'un agent stabilisant.

La mesure néphélométrie de la solution d'essai s'effectue à une longueur d'onde de 650 nm et la détermination de la concentration en sulfates contenus dans l'échantillon est réalisée par comparaison à une courbe étalon**.**

a) **Réactifs.**

Les produits chimiques utilisés doivent être de qualité analytique reconnue.

- Solution d'acide chlorhydrique à 10%(V/V).
- Agent stabilisant.
- Solution de polyvinylpyrrolidone à 25%(m/m) ou dérive polyéthoxyle du monolaurate de sorbitol.
- Solution de chlorure de baryum stabilisée.

Dans une fiole jaugée de 100ml, dissoudre dans de l'eau distillée, 10g de chlorure de baryum ($BaCl_2\,2H_2O$).

Ajouter 5ml de la solution de polyvinylpyrrolidone ou 20ml du dérivé polyéthoxylé du monoclaurate de sorbitol. Compléter au volume avec de l'eau distillée.

b) Solution mère étalon d'ions sulfates C(SO_4^{--})=150 mg/l.

Dans une fiole jaugée de 1 litre, dissoudre dans l'eau distillée 0.2219g de sulfate de sodium anhydre(Na_2SO_4) et compléter au volume avec de l'eau distillée.

c) Appareillage.

Matériel courant de laboratoire, et notamment spectromètre, pouvant être utilisé à la longueur d'onde de 650nm, et équipé de cuves de longueur de parcours optique de 10mm.

d) Echantillonnage.

Les échantillons doivent être analysés le plus tôt possible après leur prélèvement. En présence de matière en suspension, les échantillons doivent être centrifuges ou filtrés.

e) Mode opératoire.

1- Etalonnage.

Dans une série de fioles jaugées ou de tubes de Nessier gradués de 50ml, préparer un essai témoins et 6 solutions d'étalonnage dont les concentrations encadrent la gamme des concentrations à dosés, en opérant à titre d'exemple, selon les indications du tableau ci-dessous :

Fioles	**Solution étalon (ml) 3.4**	**Eau distillée (ml)**	**Acide chlorhydrique 3.1 (ml)**	**Chlorure de baryum (ml) 3.3**	**SO_4^{-2} dans la prise d'essai (µg)**	**Concentration en SO_4^{-2} (mg/l)**
Témoin	0	50	1	5	0	0
1	1	49	1	5	150	3
2	3	47	1	5	450	9
3	5	45	1	5	750	15
4	7	43	1	5	1050	21
5	9	41	1	5	1350	27
6	10	40	1	5	1500	30

Agiter 2 ou 3 fois et laisser reposer les solutions 15min au moins. Agiter a nouveau et faire la mesure au spectromètre à la langueur d'onde de 650nm, dans des cuves de langueur de parcours optique de 10 mm, en utilisant comme référence la solution témoin dans le cas de l'utilisation d'un spectromètre équipé d'un double faisceau.

Tracer la courbe d'étalonnage en déduisant la valeur lue pour le témoin dans le cas de l'utilisation d'un spectromètre mono faisceau. Cette courbe doit être linéaire dans la zone de concentration de 5 à 40mg/l et doit être vérifiée régulièrement en effectuant des mesure des solutions d'étalonnage.

2- Mesure.

Dans une fiole jaugée de 50 ml ou dans un tube de Nessier gradué à ce volume, introduire successivement.

- 50ml d'eau analyser (ou moins suivant la concentration en ions sulfates ; dans ce cas compléter à 50ml avec de l'eau distillée).
- 01ml d'acide chlorhydrique.
- 05ml de la solution de chlorure de baryum stabilisée.

Agiter énergiquement et laisser reposer au moins 15min.Agiter à nouveau et faire la mesure comme lors de l'étalonnage.

f) Expression des résultats.

Déduire de la valeur lue lors de la mesure à partir de la courbe d'étalonnage, la concentration en ions sulfates de la prise d'essai, après avoir retranché la valeur lue pour le témoin dans le cas de l'utilisation d'un spectromètre mono faisceau.

Exprimer le concentration en ions sulfates dans l'échantillon en milligrammes par litre, en tenant compte de toute dilution éventuelle lors de la mesure. **(Figure 23)**

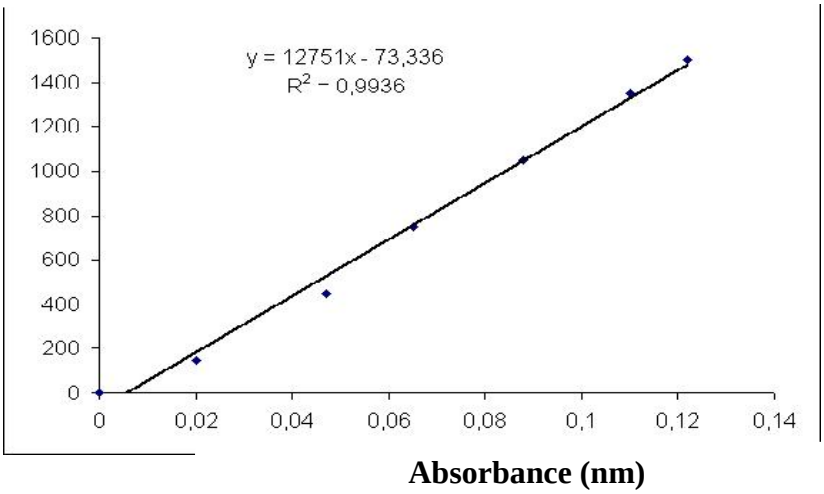


Figure 23. Courbe d'étalonnage des sulfates

Annexe X. Dosage des Ions Chlores:(NF T 90-014, Février1952)

Le principe consiste à doser le chlore combiné à l'état de chlorure par le nitrate d'argent, en présence de chromate de potassium comme indicateur**.**

2- Réactifs.

- Carbonate neutre de calcium en poudre.
- Acide nitrique (p_{20}= 1.33 g/ml) dilué au 1/10.
- Chromate neutre de potassium : solution à 50g au litre.
- Permanganate de potassium : solution environ 0.1N.
- Eau oxygénée à 3%.

- Solution titrée de nitrate d'argent : Solution obtenue par dissolution de 4.791g de nitrate d'argent cristallisé dans un litre d'eau.1 ml de cette solution correspond à 1 ml de chlore.
- Phénophtaléine : solution à 10g au litre dans l'alcool éthylique à 96°.

2- Mode opératoire.

2-1 Préparation de la prise d'essai.

Le volume de la prise d'essai est fixé à 100ml et la teneur en chlore doit être comprise entre 0.5 et 15 mg (soit 5 à 150 mg au litre).

Si la teneur de l'eau à analyser est inférieure à 5 mg de chlore au litre, l'échantillon est concentré de façon à amener sa teneur entre 5 et 150 mg au litre.

Si cette teneur est supérieure à 150 mg de chlore au litre, l'échantillon est dilué par addition d'eau distillée de façon à ramener sa teneur entre les limites précédemment indiquées.

3- Essai à blanc.

Le volume de nitrate d'argent nécessaire pour produire la teinte des virages est déterminé au préalable par un essai à blanc.

4- Dosage.

a) Eaux naturelles neutres à la phénophtaléine.

Ajouter, à la prise d'essai 1 ml de solution de chromate de potassium. Doser avec le nitrate d'argent jusqu'à virage de la coloration jaune à une très faible teinte brunâtre.

b) Eaux acides, de pH inférieur à 4:

Neutraliser avec le moins possible de carbonate de calcium (environ 0.1g) jusqu'à neutralité (pH = 7 environ). Attendre quelques minutes après l'addition du carbonate de calcium car la réaction n'est pas immédiate. Continuer le dosage comme en a).

c) Eaux alcalines à la phénophtaléine:

Ajouter de l'acide nitrique dilué jusqu'à décoloration de la phénophtaléine. Eviter d'ajouter un excès d'acide et continuer le dosage comme en a).

d) Eaux contenant des sulfures ou des sulfites :

Ces composés doivent être détruits par addition, goutte à goutte, d'une solution de permanganate de potassium jusqu'à coloration rose persistante. Rendre incolore par une goutte d'eau oxygénée et continuer le dosage comme en a).

5- Expression des résultas.

- Soient:

v le nombre de millilitres de solution de nitrate d'argent utilisé.

b le nombre de millilitres de solution de nitrate d'argent consommé par essai à blanc.

V le nombre de millilitres de la prise d'essai (100ml).

K Un facteur dépendant de la concentration (eaux contenant moins de 5 mg de chlore au litre) ou de la dilution (eaux contenant plus de 150 mg de chlore ou litre) subie par l'échantillon lors de la préparation de la prise d'essai.

La teneur de l'eau en chlore sera donnée, en milliéquivalents d'ions Cl^- au litre par l'expression :

(v - b) x (1000/V x K) x 0.0282
Soit : pour V = 100 ml :
(v – b) x (0.282/K) méqu

Il est rappelé que :

1méqu au litre = 35.5 mg au litre d'ions Cl^-

Annexe XI. Dosage de l'ion Fluorure (NF T 90-004, Septembre 1985).

Le principe de la méthode utilisée est basé sur la mesure, dans l'échantillon à analysé, ou dans une dilution de cet échantillon, de la différence de potentiel entre une électrode sélective de l'ion fluorure et une électrode de référence, à un pH compris entre 5 et 8 et à température et force ionique totale du milieu constant. La détermination de la concentration en ion fluorure s'effectue par lecture directe sur une courbe d'étalonnage.

1-Réactifs.

Tous les réactifs utilisés doivent être de qualité analytique reconnue. Pour la préparation de solution, utiliser de l'eau bi distillée.

- Acide ascitique cristallisable (CH_3COOH p=1.05 g/ml).
- Chlorure de sodium (Na Cl).
- Hydroxyde de sodium, solution à environ 5 mol/l.
- Acide diamino-1.2 cyclohexane N,N,N,N tétracétique (CDTA) ($C_{14}H_{22}Na_2O_8$, M_r=346.34 ou $C_{14}H_{22}N_2O_8 . H_2O$, M_r=364.36).
- Solution tampon (TISAB(1) II ou CDTA).

Dans un bicher d'1l, ajouter à 500 ml d'eau, 75 ml d'acide ascitique, 58g de chlorure de sodium et environ 4 g de CDTA. Mélanger pour dissoudre le tout. Refroidir dans la glace et ajouter lentement la solution d'hydroxydes de sodium jusqu'à pH 5.5 (environ 150 ml de solution de NaOH sont nécessaires).

Transférer dans une fiole jaugée de 1000 ml et compléter au volume avec de l'eau. Stocker dans un flacon en polyéthylène.

2- Appareillage.

- Electrode à membrane sélective de l'ion fluorure, à cristal de lanthane.
- Electrode de référence externe ou interne au calomel ou argent chlorure d'argent.
- Millivoltmètre permettant de mesurer la différence de potentiel à 0.1 mV prés, dans la gamme -1000 à + 1000 mV.
- Agitateur magnétique équipé d'un barreau aimanté, recouvert de téflon et d'un dispositif évitant tout échauffement des solutions pendant l'agitation.

3- Echantillon pour essai

Les échantillons doivent être prélevés dans des flacons en polyéthylène.

4-Mode opératoire.

4-1 Etalonnage.

4-1-1 Solution d'étalonnage.

Selon la gamme des concentrations des échantillons à analyser, préparer extemporanément, par dilution de la solution mère d'ion fluorure, au moins 3 solutions d'étalonnage.

Dans un bécher de 150 ml, contenant le barreau magnétique introduire V ml (V compris entre 20 et 50ml) de solution d'étalonnage et V ml de solution tampon.

Placer le bécher sur l'agitateur, immerger les électrodes et la solution.

Après au moins 3 min d'agitation et jusqu'à stabilisation de l'électrode, procéder à la lecture du potentiel en millivolts.

4-1-2 Courbe d'étalonnage.

Sur papier en coordonnées semi logarithmiques, porter en abscisse les potentiels en millivolts et en ordonnée les concentrations, en milligrammes par litre, en ion fluorure. Tracer la droite d'étalonnages à partir des points obtenus.

4-2 Dosage.

Dans un bécher de 150 ml contenant le barreau magnétique, introduire V ml de solution tampon, V étant égal au volume utilisé lors de l'étalonnage.

Vérifier que le pH est compris entre 5 et 8.

5- Expressions des résultats.

Déduire à partir de la courbe d'étalonnage, la concentration en ion fluorure de la solution d'essai.

Autres Techniques analytiques

Annexe XII. Produits phénoliques (Méthode spectrophotométrie au Folin ciocalteu).

Après extraction à froid avec une solution éthanolique soluble, les phénols de tige de ***salvara persica*** sont dosés par spectrophotomètre à 730 nm en présence de Folin Ciocalte, en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec une solution d'acide gallique.

- **Mode opératoire.**

L'extraction des composés phénoliques totaux a été faite selon la méthode décrite par **Machïx, (1990)** : 1g de matériel végétal frai broyé est placé dans un flacon en présence de 2.5 ml de méta bisulfite de sodium saturé et (3 x 10ml v/v) de méthanol aqueux a 80%, le mélange est ensuite homogénéisé à froid pendant 15 mn, puis complété à 100 ml avec de l'eau distillée et enfin filtré sous vide.

Les composés phénoliques contenus dans le filtrent Hydro alcoolique ainsi obtenu sont dosés par spectrophotométrie en présence de Folin Ciocalteu(A.O.A.C, 1985) ; la méthode est basée sur la réduction de l'acide phosphomolypdique en milieu alcalin en présence des composés phénoliques : 5ml du réactif Follin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) et 5ml d'une solution aqueuse de Carbonate de sodium saturée, sont additionnées à 5ml de l'extrait hydro alcoolique préalablement préparé.

Après 30 mn d'incubation à 50°c, la densité optique de la solution est lue à 730 nm. La teneur en poly phénol de l'échantillon est enfin déterminée en fonction de l'acide gallique (**Figure 21).**

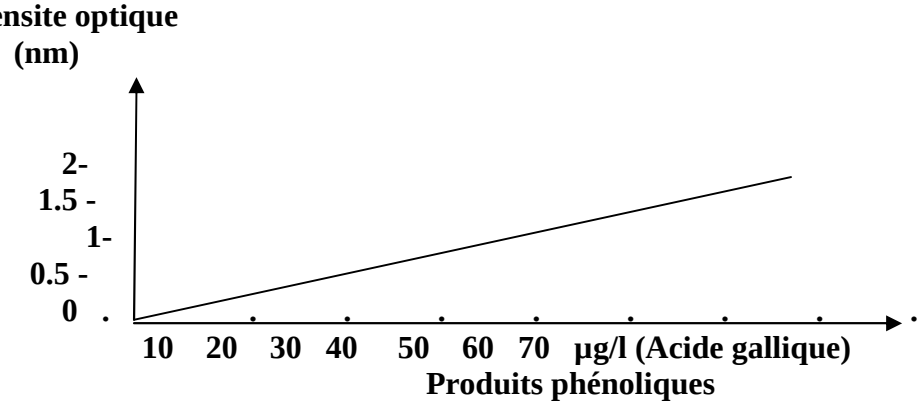


Figure 21. Courbe d'étalonage des Produits phénoliques

Annexe XIII. Api 50 *Lacobacillus casei*

Lactobacillus casei							
	Hydrolyse De l'esculine	**N-Acetyl glucosamine**	**Adonitol**	**Amidon**	**Amygdaline**	**Arabinose**	**D-Arabinose**
	+		-	-	+	-	
	L-Arabitol	**Arbutine**	**Cellobiose**	**2Céto-gluconate**	**5Céto-gluconate**	**Dextrines**	**Dulcitol**
		+	+			**V**	-
	Erythritol	**D- Fructose**	**L- fructose**	**Fructose**	**Galactose**	**Gentibiose**	**Gluconate**
		-	**V**	+	+	-	+
	Glucose	**Glycérol**	**Glycogène**	**Inositol**	**Inuline**	**Lactose**	**D-Lyscose**
	+	-		-	-	-	-
	Maltose	**Mannitol**	**Mannose**	**Mélézitose**	**Mélibiose**	**α-Méthyl-D-Glucoside**	**α-Méthyl-D-Mannoside**
	V	+		+		-	
	β-Méthyl xyloside	**Raffinose**	**Rhamnose**	**Ribose**	**Saccharose**	**Salicine**	**Sorbitol**
			-	-	-	+	-
	L-Sorbose	**D-Tagatose**	**Thréalose**	**D-Turanose**	**Xylitol**	**Xylose**	
	-		+	-			

Annexe XIV. Api 20 *Stréptocoques*

Streptococcus mutans						
Sodium pyruvate	**Acide hippurique**	**Esculine citrate de fer**	**Acide pyroglutamique-β-naphtylamide**	**6-bromo-2naphtyl-αD-galactopy-anoside**	**Acide naphtol-ASBI-glucuronique**
+	-	+	-	±	-
2-naphtyl-Bd-galactopyrano-side	**2-naphtyl phosphate**	**L-leucine-β-naphthyla mide**	**L-arginine**	**D-ribose**	**L-arabinose**
+	+	+	-	-	-
D-mannitol	**D-sorbitol**	**D-lactose**	**D-tréhalose**	**Inuline**	**Draffinose**
+	+	+	+	+	+
Amidon	**Glycogène**				
+					

Streptococcus mitis					
Sodium pyruvate	**Acide hippurique**	**Esculine citrate de fer**	**Acide pyroglutamique-β-naphtylamide**	**6-bromo-2naphtyl-αD-galactopy-anoside**	**Acide naphtol-ASBI-glucuronique**
+	-	+	+	+	-
2-naphtyl-Bd-galactopyrano-side	**2-naphtyl phosphate**	**L-leucine-β-naphthyla mide**	**L-arginine**	**D-ribose**	**L-arabinose**
+	±	+	+	+	+
D-mannitol	**D-sorbitol**	**D-lactose**	**D-tréhalose**	**Inuline**	**Draffinose**
-	+	+	+	+	±
Amidon	**Glycogène**				
±	+				

Annexe XV. Api Staph

Staphylococcus aureus					
D-glucose	**D-fructose**	**D-mannose**	**D-maltose**	**D-lactose**	**D-tréhalose**
+	+	+	+	+	+
D-mannitol	**Xylitol**	**D-mélibiose**	**Nitrate de potassium**	**B-naphtyl phosphate**	**Sodium pyruvate**
+	-	-	+	+	+
D-raffinose	**D-xylose**	**D-saccharose**	**Méthyl-Ad-glucopyranoside**	**N-acetyl-glucosamine**	**L-arginine**
+	-	+	+	+	+
Urée					
+					

Staphylococcus epidermidis					
D-glucose	**D-fructose**	**D-mannose**	**D-maltose**	**D-lactose**	**D-tréhalose**
+	+	±	+	+	+
D-mannitol	**Xylitol**	**D-mélibiose**	**Nitrate de potassium**	**B-naphtyl phosphate**	**Sodium pyruvate**
-	-	+	+	+	±
D-raffinose	**D-xylose**	**D-saccharose**	**Méthyl-Ad-glucopyranoside**	**N-acetyl-glucosamine**	**L-arginine**
+	-	+	+	+	±
Urée					
+					