



## Article Original

# Activité Antibactérienne des Extraits d'Écorces du Tronc de *Mangifera Indica* sur Lactobacilles, Actinomyces et Streptocoques en Vue de la Prévention de la Carie Dentaire

*Antibacterial activity of extracts from the bark of the trunk of *Mangifera indica* on Lactobacilli, Actinomyces and Streptococci, with a view to prevent dental caries*

Ekobena JM<sup>1,2</sup>, Nibeye YB<sup>1,3</sup>, Kaptue B<sup>1,4</sup>, Nalova Ikome H<sup>5</sup>, Tchinda Tiabou A<sup>5</sup>, Nnanga Nga E<sup>5,6</sup>, Bengondo Messanga C<sup>7</sup>

## RÉSUMÉ

**Introduction.** La mangiférine est une substance au potentiel thérapeutique inexploité, abondante dans la décoction du tronc de *Mangifera indica*. Cette étude avait pour but d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits d'écorces du tronc de *Mangifera indica* sur Lactobacilles, Actinomyces et Streptocoques. **Matériel et méthodes.** Nous avons mené une étude expérimentale de phase I, multicentrique. L'extraction alcoolique, la décoction, la collecte de la salive et l'analyse antibactérienne ont été faites selon les méthodes décrites dans la littérature. Le test statistique de Mann-Whitney a été utilisé pour les comparaisons entre les CMI et CMB des différents extraits. **Résultats.** Tous les extraits possédaient un diamètre d'inhibition supérieur à 12 mm. Le plus grand diamètre d'inhibition a été celui de la décoction sur Lactobacilles, à savoir 16,5mm. La CMI des trois germes était 80mg/ml pour la décoction et 120mg/ml pour l'extrait méthanoïque. La CMB qui permettrait de tuer les trois souches avec la décoction a été de 100mg/ml et 520mg/ml pour l'extrait méthanoïque. **Conclusion.** La décoction est plus active que l'extrait méthanoïque sur les trois souches bactériennes, avec une CMI de 80 mg/ml, une CMB de 100 mg/ml et une activité bactéricide, CMB/CMI<4.

## ABSTRACT

**Introduction.** Mangiferin is a substance with untapped therapeutic potential, abundant in the decoction of *Mangifera indica* trunk. The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of *Mangifera indica* trunk bark extracts on Lactobacilli, Actinomyces and Streptococci. **Material and methods.** We conducted an experimental phase I, multicenter study. Alcoholic extraction, decoction, saliva collection and antibacterial analysis were performed according to methods described in the literature. The Mann-Whitney statistical test was used to make comparisons between the MICs and BMCs of the different extracts. **Results.** All extracts had an inhibition diameter greater than 12 mm. The largest inhibition diameter was that of the Lactobacillus decoction, namely 16.5 mm. The MIC for all three germs was 80mg/ml for the decoction and 120mg/ml for the methanoic extract. The BMC that would kill all three strains with the decoction was 100mg/ml and 520mg/ml for the methanoic extract. **Conclusion.** The decoction is more active than the methanoic extract on the three bacterial strains, with a MIC of 80mg/ml, a BMC of 100mg/ml and a bactericidal activity, BMC/MIC<4.

<sup>1</sup> Centre de Recherche et de Formation Doctorale en Sciences de la Vie, Santé et Environnement de l'Université de Yaoundé I.

<sup>2</sup> Centre Hospitalier d'Essos /Caisse Nationale de Prévoyance Sociale, Cameroun

<sup>3</sup> Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I

<sup>4</sup> Faculté de Médecine de l'Université des Montagnes à Bagangté

<sup>5</sup> Institut de recherches Médicales et d'études des Plantes Médicinales

<sup>6</sup> Département de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I

<sup>7</sup> Département de Chirurgie Buccale, Maxillo-faciale et Parodontologie de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de L'Université Yaoundé I

## Auteur correspondant :

Ekobena Jean Martial

Mail : [bouquetjm@yahoo.fr](mailto:bouquetjm@yahoo.fr)

Tél : 00237 679539579.

BP 5777 Nlongkack- Yaoundé/ Cameroun

**Mots-clés :** *Mangifera indica* ;

Lactobacilles ; Streptocoque ;

Actinomyces ; Mangiférine

**Keywords:** *Mangifera indica* ; Lactobacilli; Streptococcus; Actinomyces; mangiferin

## INTRODUCTION

Toutes les parties du manguier, feuilles, tiges, écorces, racines, fruits, noyaux, disposeraient des propriétés médicales qui sont utilisées par la médecine traditionnelle [1-5]. L'écorce de *Mangifera indica* renferme des composés phénoliques dont, des tanins végétaux hydrosolubles [4]. Parmi les dérivés phénoliques que l'on trouve dans cette écorce, on note l'abondance de la

Mangiférine [3]. La Mangiférine est une xanthone, substance au potentiel thérapeutique antibactérien non exploité [1-7]. Les populations de la localité d'Ekabita Esselé, dans l'arrondissement d'Obala, département de la Lékoué, au Cameroun, utilisent la décoction des écorces du tronc de *Mangifera indica* pour la prise en charge des stomatites et bien d'autres pathologies [8]. C'est d'ailleurs pour cette raison que dans une étude antérieure, nous

avons comparé l'efficacité de la décoction des écorces du tronc de *Mangifera indica* à la Chlorhexidine dans la prise en charge des stomatites. Suite à un résultat magnifiant une équivalence d'efficacité entre les deux solutions et considérant la proximité des écorces de *Mangifera indica* avec nos populations locales, la présente étude se propose d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits d'écorces du tronc de *Mangifera indica* sur les bactéries cariogènes, telles que les Lactobacilles, les Actinomyces et les Streptocoques, en vue d'une indication pour la prévention de la carie dentaire.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

Il s'est agi d'une étude expérimentale de phase 1, multicentrique, qui s'est déroulée de Mai 2019 à Août 2020. Elle a été menée au laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé 1 pour la culture des souches bactériennes et l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits d'écorces du tronc de *Mangifera indica*, ainsi qu'au service de Stomatologie du Centre Hospitalier d'Essos, pour le prélèvement de la salive afin d'obtenir les isolats cliniques de *Streptococcus mutans*, d'espèces *Lactobacillus (fermentum* ou *casei)* et d'*Actinomyces viscosus* isolés des patients avec une carie dentaire.

Les critères d'inclusion étaient principalement la présence des lésions carieuses chez les patients de tout âge, après information et signature volontaire du consentement éclairé. Nous avons obtenu un accord des parents pour les mineurs.

Les critères d'exclusion concernaient les patients ayant pris des antibiotiques ou des corticoïdes au cours des 20 derniers jours ; les fumeurs, ceux présentant des infections de la muqueuse buccale, ainsi que ceux qui utilisaient des bains de bouche antibactériens.

Les écorces du tronc de *Mangifera indica* ont été pulvérisées, après avoir été lavées, séchées et pesées en vue d'obtenir l'extrait brut. L'extraction s'est faite selon la méthode décrite par J. Ribereau-gayon [10]. Pour l'extraction alcoolique, une masse de 100g d'extrait brut a été trempée dans 250ml de méthanol pendant 72h et le mélange a été filtré à l'aide du papier filtre Whatman. Le filtrat a ensuite été concentré dans un bain-marie à 40°C et séché dans un four à 40°C. L'extraction par décoction s'est faite en portant à ébullition 100g d'extrait brut dans 250ml d'eau jusqu'à 100°C pendant 30 minutes. Après avoir refroidi et filtré cette décoction, le décocté obtenu a été concentré dans un bain-marie à 40°C et séché dans un four à 40°C. Pour la préparation des concentrations de chaque type d'extrait, il a été versé successivement 1g, 5g, 10g et 15g dans 10 ml d'eau distillée pour obtenir respectivement 100mg/ml, 500mg/ml, 1000mg/ml et 1500mg/ml.

Pour la collecte de la salive, c'est la méthode standard décrite dans la littérature [8] qui a été utilisée. Les participants se sont abstenus de manger, ni boire, une heure avant le prélèvement. Ils ont fait les bains de bouche plusieurs fois avec de l'eau distillée, puis se sont relaxés pendant 5 minutes. Ensuite ils ont avalé pour vider la salive de leur bouche, puis ont penché la tête en avant au-

dessus du tube à essai, ont ouvert légèrement la bouche pour laisser couler la salive. Après cela, ils ont collecté la salive de rappel dans leur bouche pour la déverser dans le tube à essai. Enfin ils ont brossé les dents avec l'écouvillon stérile et l'ont déposé dans le tube à essai contenant la salive.

La salive a été mélangée au vortex et une dilution au dixième a été faite avec de l'eau stérile avant l'étalement. La gélose Mitis Salivarius (MS) a été utilisée comme milieu de culture pour l'isolement des Streptocoques salivaires, la gélose au tellurite de potassium, Deman, Rogosa et Sharpe (MRS) pour l'isolement des *Lactobacilles* et de la gélose pour infusion Brain Heart (BH) pour l'isolement des Actinomyces. Des quantités appropriées de chaque milieu semi-solide ont été préparées et mises sous tension sur des plaques de Petri et solidifiées à température ambiante. Sur chaque plaque, 100 mL de l'échantillon de salive diluée a été réparti uniformément. Les plaques ont ensuite été collectées et scellées dans un bocal anaérobie. Une atmosphère anaérobie dans le pot a été créée par la lumière des bougies. Ensuite, les plaques dans le bocal anaérobie ont été incubées à 37°C pendant 48 heures pour les Streptocoques et Lactobacilles, et 10-14 jours d'incubation pour les Actinomyces spp.

Pour identifier les Streptocoques salivaires en particulier les Streptocoques mutans, deux disques de 5µl de bacitracine ont été placés à 2 cm d'intervalle sur la gélose ensemencée. Les colonies bactériennes ont été observées au microscope à dissection et déduites en fonction de leur morphologie, forme et couleur.

L'activité antibactérienne quant à elle a été évaluée grâce à la méthode de diffusion sur gélose et la méthode de macro-dilution décrite par Barry et ses collaborateurs en 1985. Le taux d'efficacité ou le test de sensibilité des extraits bruts vis-à-vis de chacune des souches bactériennes, a été mesuré par le diamètre d'inhibition selon la méthode de diffusion sur gélose. La deuxième méthode était la macro-dilution qui permet de déterminer les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI et CMB) nécessaires pour inhiber 50% des bactéries et tuer 99,99% des germes testés et la détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique des extraits d'écorces du tronc de *Mangifera indica*. L'activité antibactérienne des différents extraits végétaux qui présentent un diamètre d'inhibition supérieure ou égale à 12mm par rapport à certaines souches testées par la méthode de diffusion, a été évaluée une seconde fois par la méthode de double dilution en milieu liquide. Le but étant de déterminer les paramètres d'inhibitions telles que la concentration minimale inhibitrice (CMI), la concentration minimale bactéricide (CMB) et le rapport CMB/CMI.

Pour la détermination du taux de sensibilité, Les disques ont été incubés à 37°C pendant 24 heures et la zone d'inhibition a été mesurée. Concernant la CMI, les plaques ont été incubées à 37°C dans des bocal anaérobies pendant 48h. La valeur la plus faible des extraits ayant complètement inhibé la croissance visible a été jugée à l'œil nu. La CMB est la concentration donc le repiquage a montré une croissance des germes inférieure ou égale à

0,01% de survivants. Le calcul du rapport CMB/CMI a permis de déterminer l'effet bactéricide (CMB/CMI<4) ou bactériostatique (CMB/CMI>4) des essais testés. Le test de Mann-Whitney a été utilisé pour comparer les CMB et CMI des différents extraits. Le logiciel d'analyse des données utilisé était « Epi info ».

**RÉSULTATS**

Les résultats du taux d'efficacité sont consignés dans le tableau I.

**Tableau I : Diamètre d'inhibition des extraits alcooliques (EAET) et de la décoction (EDET) des écorces du tronc de *Mangifera indica* en fonctions des trois souches bactériennes étudiées**

Souches bactériennes	EAET Diamètre 1 (mm)	EDET Diamètre 2 (mm)
Streptocoques	14	16,5
Lactobacilles	13	15
Actinomyces	12	15

EAET : Extrait alcoolique des écorces du tronc de *Mangifera indica*  
 EDET : Extrait par décoction d'écorces du tronc de *Mangifera indica*

Il a été constaté que les trois souches bactériennes ont un diamètre d'inhibition supérieure ou égale à 12 pour les deux extraits EAET et EDET. C'est pour cette raison que nous avons ensuite procédé à la méthode de dilution en milieu liquide. Les résultats de cette double dilution sont mentionnés dans les tableaux II, III et IV.

**Tableau II : Concentrations minimales inhibitrices des différents extraits sur les trois souches bactériennes étudiées**

Souches bactériennes	EAET CMI 1(mg/ml)	EDET CMI 2 (mg/ml)
Streptocoques	100±0 <sup>b#</sup>	30±0 <sup>a#</sup>
Lactobacilles	120±0 <sup>b#</sup>	40±0 <sup>a#</sup>
Actinomyces	80±0 <sup>b#</sup>	80±0 <sup>b#</sup>

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice  
 a, b, # sont des symboles quelconque/ are any symbols

**Tableau III : Concentrations minimales bactéricide des différents extraits sur les trois souches bactériennes étudiées**

Souches bactériennes	EAET CMB 1(mg/ml)	EDET CMB 2 (mg/ml)
Streptocoques	500±0 <sup>b#</sup>	50±0 <sup>a#</sup>
Lactobacilles	520±0 <sup>b#</sup>	100±0 <sup>a#</sup>
Actinomyces	5 80±0 <sup>b#</sup>	80±0 <sup>b#</sup>

EAET : Extrait Alcoolique des Écorces du Tronc de *Mangifera indica*  
 EDET : Extrait par Décoction de Écorces du Tronc de *Mangifera indica*  
 CMB : Concentration Minimale Bactéricide

**Tableau IV: Détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique des EDET et EAET par le rapport CMB/CMI**

Souches bactériennes	EAET	EDET
Streptocoques	5	1,66
Lactobacilles	4,33	2,5
Actinomyces	7,25	1

EAET : Extrait Alcoolique des Écorces du Tronc de *Mangifera indica*

EDET : Extrait par Décoction d'Écorces du Tronc de *Mangifera indica*  
 CMB : Concentration Minimale Bactéricide  
 CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne ± déviation standard (ds). Pour une même ligne, les valeurs présentant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. Pour une même colonne, les valeurs présentant le même symbole ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. La CMI de la décoction capable d'inhiber simultanément les trois souches bactériennes est 80mg/ml. La CMI de l'extrait alcoolique capable d'inhiber les trois souches est 120mg/ml.

La CMB de la décoction capable d'agir sur les trois souches simultanément est 100mg/ml. La CMB de l'extrait alcoolique capable de neutraliser les trois souches bactériennes est 580mg/ml.

Le rapport CMB/CMI de la décoction le plus élevé est 2,5. Le même rapport des extraits alcooliques le plus petit est 4,33.

**DISCUSSION**

L'analyse des données expérimentales montre qu'il y a une diminution du trouble provoqué par la croissance des germes dans les tubes expérimentaux au fur et à mesure que la concentration en extrait augmente. Les résultats montrent que les deux extraits ont une activité antibactérienne, en inhibant la croissance des germes bactériens selon une relation dose-réponse. C'est pourquoi il a été déterminé les différents paramètres antibactériens que sont le diamètre d'inhibition, la concentration minimale inhibitrice, la concentration minimale bactéricide et de déterminer l'activité bactéricide ou bactériostatique.

D'après la méthode de diffusion sur gélose [11, 12], le diamètre d'inhibition de la décoction sur les Lactobacilles est 16,5mm et 15mm sur les Actinomyces et les Streptocoques. Ces diamètres sont supérieurs aux diamètres d'inhibition des extraits alcooliques sur les mêmes souches.

Pour la méthode de dilution en milieu liquide [11, 12], la CMI de la décoction capable d'inhiber les trois souches bactériennes simultanément est 80mg/ml, alors que la CMI de l'extrait alcoolique pour le même résultat est 120mg/ml. Dans ce sens, la décoction a une activité inhibitrice plus élevée que l'extrait alcoolique.

La CMB de la décoction, capable d'agir simultanément sur les trois souches bactériennes est 100mg/ml, tandis que la CMB nécessaire pour l'extrait alcoolique est 580mg/ml, ainsi la décoction a une activité bactéricide plus élevée que les extraits alcooliques.

Le rapport CMB/CMI de la décoction le plus élevé étant inférieur à 4, la décoction a une activité bactéricide, alors que le même rapport, le plus petit pour les extraits alcoolique est supérieur à 4, impliquant une activité bactériostatique.

L'effet bactéricide des extraits alcoolique est obtenu pour des concentrations très élevées. Il pourrait y avoir des risques d'intoxication. En attendant la mise sur pied d'une étude de la toxicité des extraits d'écorces du tronc de *Mangifera indica*, il serait mieux d'encourager nos

populations à maintenir leur mode d'extraction par décoction qui semble avoir une activité antibactérienne plus élevée que l'extrait alcoolique.

Ces travaux sont similaires à ceux de Nikhal S et Mahajan S.D. qui ont travaillé en 2010 sur l'évaluation des activités antibactériennes et anti-oxydantes des feuilles de *Mangifera indica*. Cette étude qui a démontré l'activité antibactérienne des extraits hydro-alcooliques et aqueux sur une souche de *Staphylococcus aureus*, ceci avec un diamètre d'inhibition de 15mm et des CMI de l'ordre 5, 48 et 18, 75 mg/ml [11, 12].

## CONCLUSION

Les trois souches bactériennes, Streptocoques, Lactobacilles et Actinomyces sont sensibles aux deux extraits méthanoïques et décoction avec le plus petit diamètre d'inhibition de 12mm. Ces souches bactériennes sont plus sensibles à la décoction avec une CMI de 30mg/ml et une CMB de 50mg/ml pour les Streptocoques. La CMI permettant d'inhiber les trois souches bactériennes par la décoction était 80mg/ml. La CMB permettant de tuer toutes les souches bactériennes par la décoction était 100mg/ml. La décoction a un effet bactéricide sur les trois souches avec la plus grande valeur du rapport CMB/CMI égale à 2,5 alors que l'extrait méthanoïque a un effet bactériostatique avec la plus petite valeur du rapport CMB/CMI égale à 4, 33.

## RÉFÉRENCES

1. Penmetta RKR, Sri Rekha A, Poppuri KC, Sai Prashanth P, Garapati S. An in vitro evaluation of antibacterial properties of self-etching dental adhesive systems. *J Clin Diagn Res*; 2014; 8(7): ZC01. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9010.4467> PMID: 25177626
2. Phankongsap A, Chailertvanitkul P, Juntavee A, Peerapattana J, Puasiri S. Effectiveness of root canal irrigant from mangosteen pericarp extract with papain and propolis extracts with papain on the mixture of *Streptococcus gordonii* and *Enterococcus faecalis*. *J dent Assoc Thai*, 2014; 64:234-42.
3. McGhie D, Hutchison J, Nye F, Ball A. Infective endocarditis caused by *Streptococcus mutans*. *Heart*, 1977; 39(4):456-8.
4. Bokhout B, Van Loveren C, Hofman FXW, Buijs JF, Van Limbeek J, Prahl-Andersen B. Prevalence of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* in 18-month-old children with cleft lip and/or palate. *The Cleft palate-craniofacial journal*. 1996; 33(5):424-8. <https://doi.org/10.1597/1545-1569.1996.033.0424>.
5. Oyewole, O I, Owoseni, A A and Faboro, E O : "Studies on medicinal and toxicological properties of *Cajanus cajan*, *Ricinus communis* and *Thymus vulgaris* leaf extracts." *J Med Plants Res*, 2010 Vol. 4(19): Pp 2004 – 2008.
6. Kaneria M, Kanani B, Chanda S. Évaluation de l'effet des méthodes hydroalcooliques et de décoction sur l'extraction d'antioxydants à partir de plantes médicinales indiennes sélectionnées. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2012;2(3):195-202. doi:10.1016/S2221-1691(12)60041-0).
7. Elliott, T, Worthinton T, Osman, H and Gill, M "Medical Microbiology and infection. Fourth Edition, Massachusetts Blackwell Publishing, U.S.A." 2007 pp 153 – 166.
8. Darveau R P. Periodontitis: A polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature reviews [abstract]*, *Microbiology*, 2010 ; 8(7): p. 481-90.
9. El-Kamali, H H and Mahjoub, S A "Antibacterial activity of *Francoeuria cripisa*, *Pulicaria undulate*, *Zizphus spina-Christ* and *Cucurbita pepo* against seven standard pathogenic bacteria." *Ethnobotanical Leaflets*, 2009 vol. 13: pp 722-723.
10. Ribereau-gayon J, Peynaud E. Les composés phénoliques des végétaux, traités d'œnologie. Paris, Dunod éd. 1968 :254.
11. Gregorio Martinez, Rene Delgado, Gema Perez, Gabino Garrido, Alberto J : Evaluation of the in vitro antioxidant activity of *Mangifera indica*. *Phytotherapy research*, 2000 (14) : 424-7.
12. Nikhal S et Mahajan SD. Evaluation antibacterial and antioxidant activity of *Mangifera indica* leaves. *J Pharmaceut Scien Re*, 2010,(2) : 45-7.

