



Revue Africaine des Sciences Sociales et de la Santé Publique, Volume 6 (3)
ISSN:1987-071X e-ISSN 1987-1023
Received, 14 October 2024
Accepted, 12 December 2024
Published, 30 December 2024
<https://www.revue-rasp.org>

*To cite: Bokossa et al. (2024). Réversion de la résistance bactérienne de *Crateva adansonii* (Capparidaceae) sur les souches de bactéries isolées des plaies chroniques diagnostiquées dans la commune de Ouinhi au Bénin. Revue Africaine des Sciences Sociales et de la Santé Publique. 6(3), 105-120. <https://doi.org/10.4314/rasp.v6i3.8>*

Research

Réversion de la résistance bactérienne de *Crateva adansonii* (Capparidaceae) sur les souches de bactéries isolées des plaies chroniques diagnostiquées dans la commune de Ouinhi au Bénin

*Bacterial resistance reversion of *Crateva adansonii* (Capparidaceae) on bacterial strains isolated from chronic wounds diagnosed in the district of Ouinhi, Benin*

Hervé Kouèssivi Janvier BOKOSSA^{1*}, Parfait DJOSSOU¹, Théodore SOUSSIA²

¹ Laboratoire d'Hygiène, d'Assainissement, d'Eco-Toxicologie et d'Environnement-Santé (HECOTES) / Centre Interfacultaire de Formation et de Recherche en Environnement pour le Développement Durable/Université d'Abomey-Calavi (CIFRED/UAC), Cotonou, Bénin

²Institut Médico-Social du Bénin (INMES), Université d'Abomey-Calavi (UAC), Bénin

*Correspondance : E-mail : riqbokossa@gmail.com ; Tél : 00229 97 79 90 29

Résumé

L'antibiorésistance est devenue un problème de santé publique majeur dans le monde entier, car elle rend le traitement des infections bactériennes plus difficile et augmente le risque de complications graves. Il urge donc de trouver de nouvelles molécules pour contrôler la flambée des résistances aux antibiotiques. C'est ainsi que la présente recherche s'est intéressée à étudier la réversion de la résistance bactérienne de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* en association avec les antibiotiques conventionnels sur les souches bactériennes isolées des plaies chroniques diagnostiquées chez les populations de Ouinhi au Bénin. Pour y parvenir, des tests de sensibilités des souches aux antibiotiques conventionnels par la méthode de l'antibiogramme en milieu solide ont été effectués suivie de la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices aussi bien des antibiotiques conventionnels que de l'extrait aqueux de *C. adansonii* par la méthode colorimétrique de microdilution en plaque. Enfin, la réversion de la résistance bactérienne a été recherchée en se basant sur la Concentration Fractionnaire Inhibitrice. Les résultats des différents tests montrent que la réversion de la résistance bactérienne s'est traduite par une synergie d'action du mélange binaire Extrait-antibiotique avec une Concentration Fractionnaire Inhibitrice (CFI) < 0,5 au contact des différentes souches bactériennes testées pour tous les antibiotiques conventionnels associés (amoxicilline, ciprofloxacine, triméthoprime-sulfaméthoxazole, gentamicine et ampicilline). Les valeurs de la Concentration Minimale Inhibitrice du mélange obtenu sont comprises dans l'intervalle : $3,0516 \cdot 10^{-5} \text{ mg.mL}^{-1} \leq \text{CMI (Extrait-ATB)} \leq 0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$. *C. adansonii* pourrait bien être l'une des solutions pour palier au problème de traitement des plaies chroniques au Bénin et dans le monde.

Mots clés : Résistance bactérienne, Plaie chronique, Antibiotique, *Crateva adansonii*, Bénin.

Abstract

Antibiotic resistance has become a significant public health problem worldwide, making treating bacterial infections more difficult and increasing the risk of serious complications. New molecules are, therefore, urgently needed to control the surge in antibiotic resistance. The present study aimed to investigate the reversion of bacterial resistance to the aqueous mixture of *Crateva adansonii* in combination with conventional antibiotics (ATB) in bacterial strains isolated from chronic wounds diagnosed in the Ouinhi population in Benin. To achieve this, strains were tested for susceptibility to conventional antibiotics using the solid-state antibiotic susceptibility test method, followed by the determination of the Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) of both conventional antibiotics and the aqueous mixture of *C. adansonii* using the colourimetric plate microdilution method. Finally, bacterial resistance reversion was investigated based on the fractional inhibitory concentration (FIC), defined by the ratio of FIC (Extract + ATB) to FIC ATB. The results of the various tests show that the reversion of bacterial resistance resulted in a synergistic action of the binary Extract-ATB mixture with Fractional Inhibitory Concentration (FIC) < 0.5 in contact with the various bacterial strains tested for all associated conventional antibiotics (amoxicillin, ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, gentamicin and ampicillin). The MIC values of the mixture obtained were in the range of $3.0516.10^{-5} \text{ mg.mL}^{-1} \leq \text{MIC (Extract-ATB)} \leq 0.5 \text{ mg.mL}^{-1}$. *C. adansonii* could well be one of the solutions to the problem of treating chronic wounds in Benin and worldwide.

Key words: Bacterial resistance, Chronic wound, Antibiotic, *Crateva adansonii*, Benin.

1. Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme remèdes pour le traitement de diverses maladies en raison de leurs composants riches en principes thérapeutiques (Khaldi, Meddah, Moussaoui, & Benmehdi, 2012). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80 % de la population des pays en développement ont recours à la médecine traditionnelle en première intention pour les soins de santé primaire (OMS, 2014). Malgré cette forte propension à la médecine populaire doublée des récents progrès de la médecine moderne, les maladies infectieuses constituent un sérieux problème de santé publique au vu de leurs fréquences et gravité (OCDE). Il sied de souligner que l'efficacité préalablement établie du profil de sensibilité aux antibiotiques en tant que stratégie principale contre cette expansion microbienne se trouve confrontée à une résistance émergente au niveau bactérien (N'tcha et al., 2017).

Cependant, plusieurs personnes souffrent de plaies chroniques ou complexes qui peuvent être très difficiles à guérir, causant ainsi de graves douleurs et épreuves. Les plaies chroniques représentent un véritable défi de santé publique dans les pays à ressources réduites. En présence d'une plaie chronique, le tissu sous-cutané exposé fournit un substrat favorable pour assurer la croissance d'un large éventail de microorganismes. Ces contaminants proviennent de l'environnement exogène, de la flore cutanée, de la flore colonisant le tube digestif ou la cavité buccale (Rahim et al., 2017 ; Esebelahie et al., 2013 ; MCPS, 2012).

Depuis 2008 au Bénin, le nombre d'ulcères chroniques non-ulcère de Buruli (UB) a augmenté parmi les cas traités dans les centres de traitement de l'ulcère de Buruli (CDTUB). Ces ulcères non-UB se retrouvent dans les mêmes zones géographiques et présentent parfois les mêmes caractéristiques épidémiologiques (Capela et al., 2015). Face à cette progression des ulcères chroniques, la médecine traditionnelle reste une option à grande potentialité thérapeutique.

Dans la Commune de Ouinhi, le traitement par les plantes est le recours le plus prisé aussi bien en autosoins que par les praticiens de la médecine traditionnelle. *Crateva adansonii* est une plante médicinale utilisée par les tradithérapeutes pour multiples vertus thérapeutiques notamment des propriétés antibactériennes. Elle est utilisée dans le traitement de nombreuses affections dont les abcès, les plaies, les infections bactériennes, l'hypertension artérielle, le diabète et le rhumatisme. Pourtant ces connaissances en ce qui concerne la prise en charge des plaies chroniques par les plantes ne sont pas assez documentées. Il y a peu de données microbiologiques récentes sur les infections de plaies chroniques et l'évolution des résistances aux antibiotiques des bactéries supposées responsables de telles infections (Bonnet, Galinier, Fontenel, & Léger, 2018). Il convient alors de s'interroger sur les germes responsables de cette résistance et aussi sur l'efficacité des recettes traditionnelles offertes aux malades par les tradithérapeutes.

Au regard des nombreux usages dont fait l'objet *Crateva adansonii* sans précaution particulière, doublés des préjudices que présente la mauvaise utilisation des plantes médicinales à effet antibiotique, il serait nécessaire d'évaluer l'activité biologique de la plante à travers la réversion de la résistance bactérienne de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* en association avec les antibiotiques conventionnels sur les souches isolées des plaies chroniques des populations de Ouinhi. C'est ainsi que cette recherche s'est intéressée à étudier la réversion de la résistance bactérienne de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* en association avec les antibiotiques conventionnels sur les souches des plaies chroniques des populations de Ouinhi.

2. Matériaux et Méthodes

2.1. Cadre d'étude

La présente étude a été réalisée dans la Commune de Ouinhi au Bénin. Elle est localisée au sud-est du département du Zou entre 06°57' et 07°11' de latitude nord et 02°23' et 02°33' de longitude est. D'une superficie de 483 km², Ouinhi est l'une des neuf (9) Communes du département et compte quatre (4) arrondissements que sont : Dasso, Sagon, Tohouè, Ouinhi. Elle est limitée au Nord-Ouest par la Commune de Zagnanado, au Sud-Ouest par la Commune de Zogbodomey, au Sud-Est par la Commune de Bonou et à l'Est par la Commune d'Adja-Ouèrè dans le département de l'Ouémé comme présenté sur la Figure 1 (Mairie de Ouinhi, 2006).

Les prélèvements de plaie ont été faits dans les arrondissements de Tohouè, Sagon et Dasso puis acheminés au laboratoire d'Hygiène-Assainissement, d'Eco-Toxicologie, d'Environnement et Santé (HECOTES) du Centre Interfacultaire de Formation et de Recherche en Environnement pour le Développement Durable (CIFRED) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) au Bénin pour les analyses microbiologiques. Ces échantillons sont accompagnés d'une fiche comportant les renseignements suivants : nom et prénoms du patient prélevé, âge et sexe, nature de plaie (aigue ou chronique), date et heure du prélèvement.

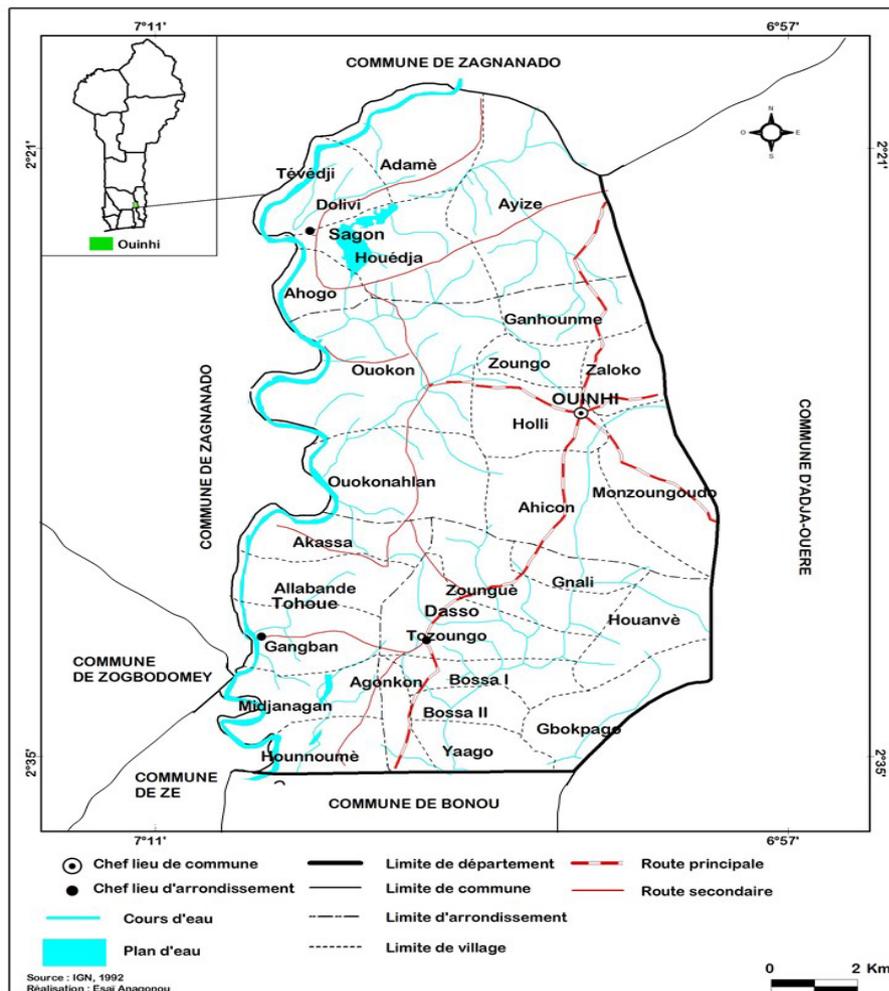


Figure 1 : Situation géographique de la Commune de Ouinhi

2.2. Matériel d'étude

2.2.1. Matériel de laboratoire et réactifs

- **Matériel de stérilisation** : four Pasteur, bec Bunsen, autoclave ;
- **Matériel de pesée** : balance de précision ;
- **Matériel d'incubation** : étuves, 37 °C et 44 °C ;
- **Matériel classique** : pipettes, micropipettes, béchers, portoirs, boîtes de Petri, flacons, réfrigérateur ; pince ;
- **Milieux de culture et réactifs** : gélose Plate Count Agar (PCA) ; bouillon et gélose Mueller Hinton ; eau peptonée ; eau distillée stérile, etc.

2.2.2. Matériel végétal

Il s'est agi de travailler sur les feuilles de *Crateva Adansonii*. Les critères qui ont servi pour la collecte des échantillons sont la fraîcheur et la verdoyance des feuilles puis le jeune âge. Les échantillons de plantes ont été récoltés « in situ » à Abomey-Calavi, placés dans des sachets en plastique, puis ramenés au laboratoire. Les feuilles récoltées ont été lavées abondamment puis séchées à température de laboratoire pendant quatre semaines avant d'être réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (MARLEX Electroline Excella) (Mignanwande, 2020a). La poudre a été conservée dans des bouteilles en verre, à la température du laboratoire avant l'extraction.

2.2.3. Matériel bactérien

Le matériel bactérien est constitué de vingt-neuf (29) sources cliniques et cinq (05) souches de référence (Tableaux 1 et 2). Les souches de référence nous proviennent de l'Unité de Recherche en Microbiologie Appliquée et Pharmacologie des substances naturelles (URMAPha). Les souches cliniques utilisées sont isolées au laboratoire HECOTES à partir des plaies chroniques dépistées chez des populations de Ouinhi au Bénin en 2021.

Tableau 1 : Souches cliniques

Souches cliniques (espèces isolées)	Effectif des souches testées
<i>Axin. Calcoaceticus</i>	1
<i>Bacillus cereus</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1
<i>E. coli</i>	1
<i>K. pneumonia</i>	1
<i>Lim. Richardii</i>	1
<i>Listéria sp</i>	1
<i>Pseudomonas proteus</i>	2
<i>Pseudomonas sp</i>	2
<i>S. aureus</i>	12
<i>S. epidermidis</i>	2
<i>Salmonella paratyphi A</i>	1
<i>Salmonella sp</i>	1
<i>Shigella sp</i>	1
<i>Steno. Maltophilia</i>	1
Total	29

Tableau 2 : Souches de référence

Souches de référence	Effectif des souches testées
<i>E. coli</i> ATCC	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1
<i>Salmonelle</i> ATCC 1428	1
<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la méticilline	1
Total	5

2.2.4. Antibiotiques

Les antibiotiques suivants ont été testés : Céfoxitine, Fosfomycine, Imipénème, Méropénème, Nitrofurane, Thiamphénicol, Amikacine, Ertapénème, Chloramphénicol, Acide nalidixique, Amoxicilline, Amoxicilline /Ampicilline, Aztréonam, Clindamycine, Céfépime, Ciprofloxacine, Céfotaxime, Erythromycine, Ceftazidime, Ceftriaxone, Céfuroxime, Cotrimoxazole, Céfixime, Pristinamycine, Lévofloxacine, Pénicilline G, Gentamicine, Lincomycine, Norfloxacine, Spiramycine, Ofloxacine, Oxacilline, Ticarcilline, Tobramycin, Pipéracilline /Tazobactam, Ticarcilline / Acide Clavulanique.

2.3. Type et techniques d'étude

2.3.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude expérimentale à visée évaluative ayant consisté à apprécier la réversion de la résistance bactérienne en contact de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii*.

2.3.2. Techniques d'étude

Deux techniques ont été utilisées à savoir la dilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieu solide puis la diffusion en milieu solide (Kone, & Zirihi, 2016; Lagnika et al., 2016).

Le but de ce test est de constater une éventuelle synergie d'action entre l'extrait aqueux et l'ATB conventionnel. Il a consisté donc à la recherche des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques conventionnels et celles de la combinaison de l'antibiotique et du extrait aqueux afin de calculer la Concentration Fractionnaire Inhibitrice Avec cette dernière, il a été possible de caractériser l'effet des deux produits en présence.

Au terme des tests de sensibilité des germes isolés des plaies chroniques aux antibiotiques conventionnels, cinq (05) antibiotiques ont été retenus sur les vingt-cinq par choix des habitudes des populations (Tableau 3).

Tableau 3 : Antibiotiques utilisés pour la réversion de la résistance

N°	Codes	Antibiotiques
1	AMC	Amoxicilline
2	AP	Ampicilline
3	CIP5	Ciprofloxacine
4	SXT25	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole
5	CN10	Gentamicine

2.3.2.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques

➤ Principe et réalisation

Pour ce test, les cinq antibiotiques retenus sont : amoxicilline, ciprofloxacine, cotrimoxazole, érythromycine et ampicilline. La détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques conventionnels courants a été réalisée par la technique de microdilution en plaques (Mamadou et al., 2014; Mnayer, 2014). Avant la réalisation des tests, les antibiotiques retenus ont été réduits en poudre puis dilués avec de l'eau distillée jusqu'à la concentration de 1 mg.mL^{-1} . Le mélange obtenu est passé à la sonification puis centrifugé et le surnageant est prélevé pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices. En ce qui concerne les bactéries, sept (07) souches cliniques isolées des plaies chroniques ont été testées. Pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques conventionnels, on a préparé l'inoculum bactérien avec des cultures jeunes de 24 heures ; ensuite distribué le bouillon MUELLER-HINTON stérile dans les 96 puits de la microplaque puis ajouté 50 μL d'antibiotiques dans les deux premiers puits de la microplaque. Une dilution d'ordre 2 allant du deuxième puits au dernier a été faite et 50 μL de l'inoculum a été distribué dans tous les puits. Les microplaques ont été incubé pendant 24 heures à 37 °C par la suite et 20 μL d'Iodo Nitro Tétrazolium à 0,01 % a été ajouté dans les 96 puits puis on a réincubé pendant 30 minutes à 37 °C. Pour finir, on a procédé à la lecture.

Le test a été réalisé en triplet. Un mélange acétone-eau et la gentamicine ont été utilisés comme contrôle négatif et positif. Le virage du milieu réactionnel de la couleur bleue au rouge indique la présence des germes vivants.

➤ *Détermination des concentrations minimales inhibitrices de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii**

Extraction

L'extrait aqueux utilisé dans ce travail a été obtenu par macération (Hind, 2017; Lehout & Maya, 2015). En effet cent grammes (100 g) de la poudre des feuilles de *Crateva adansonii* sont soumis à une agitation mécanique pendant 24 heures à la température du laboratoire en présence de 500 mL d'éthanol absolu (96°). Le mélange obtenu après macération a été filtré respectivement sur tissu, coton fibre et papier Whatman. Chaque niveau de filtration est répété au moins trois (03) fois. Le mac est ensuite soniqué puis filtré après ajout de 500 mL d'éthanol (96°). Le filtrat d'éthanol recueilli a été concentré sous rotavapor. L'extrait humide, est recueilli dans des boîtes de Petri et placé à l'étuve pour séchage. Les extraits secs sont raclés dans des piluliers en verre stérile en vue de la conservation au frais à une température de 4 °C pour les tests bactériologiques.

Préparation de la solution mère à 100 mg/mL

La solution mère a été préparée à partir de l'extrait sec obtenu précédemment. Pour obtenir la solution mère, il a fallu :

- peser 50 mg de l'extrait sec ;
- ajouter 50 µL de diméthylsulfoxyde;
- passer le mélange à la sonification ;
- ajouter 450 µL d'eau distillée stérile ;
- homogénéiser au sonificateur.

L'extrait aqueux ainsi obtenu constitue la solution mère ou l'extrait aqueux de *C. adansonii*.

Tests préliminaires de stérilité

Les tests antimicrobiens ont été précédés des essais préliminaires de stérilité. Le premier témoin a été constitué uniquement du milieu de culture pour attester sa stérilité. Le deuxième témoin a été composé du milieu de culture et l'extrait aqueux pour vérifier la stérilité du mélange. La viabilité des germes utilisés a été approuvée par la coloration au contact du diméthylsulfoxyde (DMSO) avec les inocula. La dernière référence a été assortie de la combinaison d'antibiotique standard avec le milieu de culture pour révéler le comportement d'une substance active dans le milieu. L'importance de cette phase est la validation du protocole des tests antimicrobiens.

Principe et réalisation

La CMI de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* a été déterminée par la méthode de microdilution (Jones, Fritsche, & Moet, 2008; Yehouenou et al., 2012; Mamadou et al., 2014). L'inoculum utilisé est une culture de 24 heures de chaque souche bactérienne diluée à la concentration finale de 1.10^6 UFC/mL dans le bouillon MUELLER-HINTON. Une gamme de concentrations de l'extrait aqueux suivant une progression géométrique d'ordre 2 a été utilisée. Ensuite, 50 µL d'inoculum ont été distribués dans chacun des 96 puits des plaques contenant au préalable 50 µL de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* à différentes concentrations. Le test a été réalisé en triplet et les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Un mélange acétone - eau et la gentamicine a été utilisé comme contrôle négatif et positif. L'activité antibactérienne a été révélée par la technique colorimétrique avec ajout de 20 µL de solution aqueuse d'iodo-nitro-tetra-zolium (0,01 %) dans chaque puits au terme de l'incubation. Les plaques ont été ensuite réincubées à 37 °C pendant 30 minutes. Le virage du milieu réactionnel de la coloration bleue au rouge indique la présence des bactéries vivantes.

Il faut noter que les essais biologiques de dilution ont un avantage majeur par rapport aux essais biologiques de diffusion. Ceci se justifie par le fait que la concentration du composé test dans le milieu est défini. En conséquence, les essais de dilution sont considérés comme la méthode

de choix pour comparer les valeurs de la CMI (Kamagate & Sixou, 2001). Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices sont renseignées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Concentration minimale inhibitrice de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* à 100 mg/mL sur quelques souches bactériennes isolées des plaies chroniques des populations de Ouinhi en 2021

Souches	CMI (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25
<i>Lim. Richardii</i>	12,5
<i>Pseudomonas proteus</i>	0,78
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12,5
<i>Salmonella sp</i>	25
<i>Salmonella</i>	0,78

Source : Afle, 2023

➤ *Détermination des concentrations minimales inhibitrices de la combinaison de l'antibiotique + de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii**

Principe et réalisation

Le principe de ce test repose sur la technique de microdilution en plaques. Ainsi, 50 µL des solutions d'antibiotique à 1 mg.mL⁻¹ ont été distribuées dans les premiers et deuxième puits. Ensuite, 50 µL de bouillon MH ont été déposés dans tous les puits suivis de la dilution d'ordre 2 en cascade du deuxième puits jusqu'à la fin. Chaque puit reçoit respectivement l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* aux concentrations minimales inhibitrices des différentes souches et 50 µL d'inoculum puis les plaques sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. La réversion de la résistance bactérienne a été évaluée par la technique colorimétrique avec ajout de 20 µL de solution aqueuse d'Iodo Nitro Tétrazolium à 0,01 % dans les 96 puits suivis de la ré incubation des plaques à 37 °C pendant 30 mn et de la lecture des valeurs. Le test a été réalisé en triplet. Un mélange acétone-eau et la gentamicine ont été utilisés comme contrôle négatif et positif. La présence des bactéries a été révélée par le passage du milieu réactionnel de la coloration bleu au rouge (Wamba et al., 2018).

2.3.2.2. Détermination de la Concentration Fractionnaire Inhibitrice

Le facteur de modulation est basé sur la Concentration Fractionnaire Inhibitrice (CFI) défini par le rapport $CMI_{(Extrait + ATB)}$ au CMI_{ATB} rapportés par certains auteurs (Bassolé & Juliani, 2012; Hay, 2015).

$$CFI = \frac{CMI(Extrait + ATB)}{CMI(ATB)}$$

Les CFI ont été appréciées en fonction de l'échelle de lecture du CASFM (2016, 2020, 2022) (CASFM, 2020; EUCAST, 2016, 2022) que voici :

- Effet synergique (CFI < 0,5) ;
- Effet additif (0,5 ≤ CFI ≤ 1) ;
- Effet indifférent (1 ≤ CFI ≤ 4) ;
- Effet antagoniste (CFI > 4).

2.4. Traitement et analyse des données

Les résultats obtenus à la suite des manipulations ont été saisis et traités avec le logiciel Excel 2013. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le même logiciel. Il s'agit de :

- additions et moyennes des données des DI ;
- divisions et moyennes des données des CMI ;
- divisions et moyennes des données de réversion.

3. Résultats

Les résultats obtenus à l'issue des différents tests effectués avec les mélanges se présentent comme suit.

3.1. Réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec de l'amoxicilline (AMC) + extrait aqueux de *Crateva adansonii* à 100 mg/mL

Les résultats de la réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* combiné à de l'amoxicilline permettent de constater d'une part que les CMI de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* varient de 0,78 à 25 mg/mL et d'autre part que celles de l'AMC varient de 0,0078125 à 1 mg/mL. Quant aux CMI de l'association AMC et extrait aqueux de *Crateva adansonii*, elles varient de $6,1035^E-05$ à 0,5 mg/mL. Les CFI correspondantes sont comprises entre 0,0078125 à 0,5 mg/mL ce qui a montré un effet synergique pour toutes les souches testées (Tableau 5).

Tableau 5 : Réversion de la résistance des souches bactériennes de AMC + Extrait *C. adansonii* à 100 mg/mL

Souches	C.	AMC	AMC + C.	CFI	Effets
	<i>adansonii</i>		<i>adansonii</i>		
	CMI (mg/mL)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	1	0,015625	0,015625	Synergique
<i>Lim. Richardii</i>	12,5	0,0078125	$6,1035^E-05$	0,0078125	Synergique
<i>Pseudomonas proteus</i>	0,78	0,125	0,00097656	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	0,5	0,00390625	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5	1	0,0078125	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12,5	1	0,5	0,5	Synergique
<i>Salmonella sp</i>	25	1	0,0078125	0,0078125	Synergique
<i>Salmonella</i>	0,78	0,0078125	0,00012207	0,015625	Synergique

3.2. Réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec de l'ampicilline (AP) + extrait aqueux de *Crateva adansonii* à 100 mg/mL

Les résultats de la réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* et de l'ampicilline prouvent que les CMI de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* et celles de l'AP varient respectivement de 0,78 à 12,5 mg/mL et de 0,0078125 à 1 mg/mL. Les CMI de la combinaison AP + extrait aqueux de *Crateva adansonii* varient de 0,00012207 à 0,03125 mg/mL et les CFI correspondantes sont comprises entre 0,0078125 et 0,03125 mg/mL. Par conséquent, en ce qui concerne la réversion bactérienne,

pour toutes les souches testées, nous avons obtenu 100 % d'effet synergique avec la combinaison AP + extrait aqueux (Tableau 6).

Tableau 6 : Réversion de la résistance des souches bactériennes de AP + Extrait *C. adansonii* à 100 mg/mL

Souches	<i>C. adansonii</i>	Ampicilline AP	Ampicilline + <i>C. adansonii</i>	CFI	Effets
	CMI (mg / mL)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	1	0,0078125	0,0078125	Synergique
<i>Lim. Richardii</i>	12,5	0,0078125	0,00012207	0,015625	Synergique
<i>Pseudomonas proteus</i>	0,78	0,015625	0,00048828	0,03125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	1	0,0078125	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5	1	0,0078125	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12,5	1	0,03125	0,03125	Synergique
<i>Salmonella sp</i>	25	1	0,0078125	0,0078125	Synergique
<i>Salmonella</i>	0,78	0,0625	0,00048828	0,0078125	Synergique

3.3. Réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec du ciprofloxacine (CIP5) + extrait aqueux de *Crateva adansonii* à 100 mg/mL

Les résultats de la réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* et du ciprofloxacine montrent que les CMI de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* varient de 0,78 à 25 mg/mL. Les CMI du ciprofloxacine varient de 0,003906 à 0,5 mg/mL et les CMI de l'association ciprofloxacine + extrait aqueux de *Crateva adansonii* varient de $3,0516^E-05$ à 0,00390625 mg/mL. Les CFI correspondantes sont toutes égales à 0,0078125 ; ce qui explique l'effet synergique obtenu pour toutes les souches testées (Tableau 7).

Tableau 7 : Réversion de la résistance des souches bactériennes de CIP5 + Extrait *C. adansonii* à 100 mg/mL

Souches	<i>C. adansonii</i>	CIP5	CIP5 + <i>C. adansonii</i>	CFI	Effets
	CMI (mg / mL)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	0,0625	0,00048828	0,0078125	Synergique
<i>Lim. Richardii</i>	12,5	0,003906	$3,0516^E-05$	0,0078125	Synergique
<i>Pseudomonas proteus</i>	0,78	0,125	0,00097656	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	0,0625	0,00048828	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5	0,5	0,00390625	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12,5	0,125	0,00097656	0,0078125	Synergique
<i>Salmonella sp</i>	25	0,5	0,00390625	0,0078125	Synergique
<i>Salmonella</i>	0,78	0,25	0,00195313	0,0078125	Synergique

3.4. Réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec du triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT25) + extrait aqueux de *Crateva adansonii* à 100 mg/mL

Les résultats de la réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* et du triméthoprime-sulfaméthoxazole révèlent que les CMI de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* et celles du SXT25 varient respectivement de 0,78 à 25 mg/mL et de 0,015625 à 1 mg/mL. Les CMI de la combinaison SXT25 + extrait aqueux de *Crateva adansonii* varient de 0,00012207 à 0,03125 mg/mL et les CFI correspondantes sont comprises entre 0,0078125 et 0,0625 mg/mL. Par conséquent, en ce qui concerne la réversion bactérienne, pour toutes les souches testées, nous avons obtenu 100 % d'effet synergique avec la combinaison SXT25 + extrait aqueux (Tableau 8).

Tableau 8 : Réversion de la résistance des souches bactériennes de SXT25 + Extrait *C. adansonii* à 100 mg/mL

Souches	C.	SXT25	SXT25 + C.	CFI	Effets
	<i>adansonii</i>		<i>adansonii</i>		
CMI (mg / mL)					
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	0,5	0,03125	0,0625	Synergique
<i>Lim. Richardii</i>	12,5	0,015625	0,00012207	0,0078125	Synergique
<i>Pseudomonas proteus</i>	0,78	0,5	0,00390625	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	1	0,0078125	0,0078125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5	1	0,015625	0,015625	Synergique
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12,5	1	0,0078125	0,0078125	Synergique
<i>Salmonella sp</i>	25	0,5	0,00390625	0,0078125	Synergique
<i>Salmonella</i>	0,78	0,5	0,0078125	0,015625	Synergique

3.5. Réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec de la gentamicine (CN10) + extrait aqueux de *Crateva adansonii* à 100 mg/mL

Les résultats de la réversion de la résistance des souches bactériennes isolées avec l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* et de la gentamicine montrent que les CMI de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* varient de 0,78 à 25 mg/mL. Les CMI de la gentamicine varient de 0,0078 à 1 mg/mL et les CMI de l'association de l'extrait aqueux de *C. adansonii* + CN10 varient de 0,0078 à 0,03125 mg/mL. Les CFI correspondantes varient entre 0,00125 à 0,4 mg/mL ce qui a montré un effet synergique pour toutes les souches testées (Tableau 9).

Somme toute, il est noté que tous les tests de réversion de la résistance bactérienne par la combinaison de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* additionné aux ATB conventionnels pris individuellement ont donné 100 % d'effet synergique.

Tableau 9 : Réversion de la résistance des souches bactériennes de CN10 + Extrait *C. adansonii* à 100 mg/mL

Souches	<i>Crateva adansonii</i>	CN10	CN10 + <i>C. adansonii</i>	CFI	Effets
	CMI (mg/mL)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	1	0,0078	0,00125	Synergique
<i>Lim. Richardii</i>	12,5	0,0078	0,0156	0,00125	Synergique
<i>Pseudomonas proteus</i>	0,78	0,0156	0,03125	0,04	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	1	0,0078	0,00125	Synergique
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5	1	0,0078	0,000624	Synergique
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12,5	1	0,03125	0,0025	Synergique
<i>Salmonella sp</i>	25	1	0,0078	0,000312	Synergique
<i>Salmonella</i>	0,78	0,0625	0,0078	0,01	Synergique

4. Discussion

Au cours des dernières années, plusieurs auteurs ont réalisé des travaux approfondis sur la modulation des antibiotiques des extraits de diverses espèces végétales, en conjonction avec certains antibiotiques conventionnels. Ces études ont notamment porté sur *Erythrina sigmoidea* (Djeussi et al., 2015), *Syzygium jambos* (Wamba et al., 2018), *Momordica charantia L.* (Houéto et al., 2019), *Ocimum gratissimum* (Kpètèhoto et al., 2017) et *Crateva adansonii* (Mignanwandé et al., 2020b).

Les tests de réversion de la résistance bactérienne effectués ont montré une réduction significative des CMI non seulement des sept (07) différents types de souches bactériennes isolées (*Staphylococcus aureus* ; *Lim. Richardii* ; *Staphylococcus epidermidis* ; *Pseudomonas proteus* ; *Salmonella sp*) testées mais également de l'unique souche de référence (*Salmonella ATCC*) testée.

De fait, au contact de la combinaison de l'extrait aqueux + ATB, les valeurs enregistrées sont comprises dans l'intervalle $[3,0516 \cdot 10^{-5} ; 0,5]$ mg/mL tandis qu'au contact singulier de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii* et des différents ATB conventionnels (Amoxicilline/AMC ; Ciprofloxacine/CIP5 ; Triméthoprime-Sulfaméthoxazole/SXT25; Gentamicine/CN10 et Ampicilline/AP), les valeurs enregistrées sont comprises respectivement dans les intervalles $[0,78 ; 25]$ mg/mL et $[3,906 \cdot 10^{-3} ; 1]$ mg/mL. De cette diminution importante des CMI enregistrées avec cette solution binaire mélange-ATB usuels est la preuve scientifique de la réversion de la résistance bactérienne. Aussi, l'effet combiné extrait aqueux-ATB sur tous les germes testés est-il de type synergique (CFI < 0,5). Ces résultats confirment donc l'utilisation thérapeutique faite de cette plante. Ainsi, prouver la capacité de *Crateva adansonii* à moduler l'activité des ATB vis-à-vis des bactéries résistantes, sera la preuve scientifique que cette plante pourrait être utilisée en association avec certains ATB conventionnels dans la lutte contre la résistance bactérienne.

Ces résultats se rapprochent de ceux de Djeussi et al., 2015 ; Wamba et al., 2018 ; Houéto et al., 2019 ; Kpètèhoto et al., 2017 ; Mignanwandé et al., 2020b ; Kova et al., 2014 ; Tankeo et al., 2015 qui ont montré des effets synergiques extrait-ATB sur plusieurs gammes de bactéries avec des extraits provenant de différentes espèces de plantes (Djeussi et al., 2015; Kova, Gavari, Bucar, & Moïna, 2014; Houéto et al., 2019; Kpètèhoto et al., 2017; Mignanwandé et al., 2020; Tankeo, Tane, & Kuete, 2015; Wamba et al., 2018b). Ceci explique le principe posologique extrait-ATB observé chez les populations. Par contre, en guise de comparaison, l'intervalle de CMI obtenu ($3,0516 \cdot 10^{-5} \text{ mg. mL}^{-1} \leq \text{CMI (Extrait-ATB)} \leq 0,5 \text{ mg. mL}^{-1}$) pour l'association binaire Extrait-ATB est supérieur à ceux rapportés par Houéto et al., 2019 ; Kpètèhoto et al., 2017 ; Mignanwandé et al., 2020 respectivement avec les extraits de *Momordica charantia* ($7,8 \mu\text{g. mL}^{-1} \leq \text{CMI} \leq 250 \mu\text{g. mL}^{-1}$), d'*Ocimum gratissimum* ($7,8 \mu\text{g. mL}^{-1} \leq \text{CMI} \leq 31,5 \mu\text{g. mL}^{-1}$), et de *Crateva adansonii* (1,25 – 2,5 mg/mL, 6,25 – 12,5 mg/mL and 1,5 - 5 mg/mL) (Houéto et al., 2019; Kpètèhoto et al., 2017; Mignanwandé et al., 2020b). Les disparités constatées dans les résultats peuvent être rationalisées par la diversité d'origine des échantillons, les différentes périodes de récolte, les variations de la phase de floraison, et surtout par les spécificités des germes soumis aux tests.

Malgré les résultats obtenus dans cette étude, elle présente quelques limites car elle n'est axée que sur l'activité de l'extrait aqueux brut de la plante. Une identification des éléments actifs de la plante s'avère nécessaire pour mieux comprendre les effets rapportés. Aussi, la toxicité de cette plante doit également être étudiée pour évaluer son innocuité car son usage par les populations laisse craindre des risques d'intoxications en absence de connaissances sur les dosages et les propriétés pharmacodynamiques du mélange.

5. Conclusion

La présente étude, la réversion de la résistance bactérienne a montré qu'en présence de l'extrait aqueux de *Crateva adansonii*, les sensibilités des différentes espèces de germes pour tous les antibiotiques utilisés dans cette étude ont diminué. La combinaison antibiotique et extrait aqueux de *Crateva adansonii* montre donc un effet synergique pour toutes les souches testées. Les résultats de la présente étude confirment donc l'efficacité thérapeutique de cette plante qui pourrait être utilisée en association avec certains antibiotiques usuels dans la lutte contre la résistance bactérienne.

Remerciements

Nous remercions tous les membres de l'équipe du Laboratoire d'Hygiène, d'Assainissement, d'Eco-Toxicologie et d'Environnement-Santé (HECOTES) du Centre Interfacultaire de Formation et de Recherche en Environnement pour le Développement Durable (CIFRED) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) pour leur forte contribution à la réalisation de l'étude.

Conflit of Intérêts

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

Références

- Aflé, B. J. (2023). Propriétés bactériennes de *Crateva adansonii* (Capparidaceae) sur les souches isolées dans les plaies chroniques diagnostiquées dans la Commune de Ouinhi en 2021. *Mémoire de Master*, CIFRED/UAC, Bénin. 77 pages.
- Bamb, O., Soro, S., Kone, D, Zirihi, G. N. (2016). Étude ethnobotanique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits de l'écorce de *Zanthoxylum gillettii* (de Wild Waterman) sur deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii*. *J Appl Biosci.*, 98, 9309–22.

- Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989-4006.
- Bonnet, E., Galinier, J. L., Fontenel, B., & Léger, P. (2018). Analyse de 9221 souches bactériennes issues de prélèvements de plaies chroniques infectées, évolution de la résistance sur 7 ans. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 48(4, Supplement), S39-S40. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2018.04.104>
- Capela, C., Sopoh, G. E., Houezo, J. G., Fiodessihoué, R., Dossou, A. D., Costa, P., ... Pedrosa, J. (2015). Clinical Epidemiology of Buruli Ulcer from Benin (2005-2013) : Effect of Time-Delay to Diagnosis on Clinical Forms and Severe Phenotypes. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(9), e0004005. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004005>
- CASFM (2020). Consulté à l'adresse https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/04/CASFM2020_Avril2020_V1.1.pdf
- Djeussi, D. E., Sandjo, L. P., Noumedem, J. A. K., Omosa, L. K., T Ngadjui, B., & Kuete, V. (2015). Antibacterial activities of the methanol extracts and compounds from *Erythrina sigmaidea* against Gram-negative multi-drug resistant phenotypes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 453. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0978-8>.
- Esebelahie, N. O., Newton-Esebelahie, F. O., & Omoregie, R. (2013). Aerobic bacterial isolates from infected wounds. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 14(3), 155-159.
- EUCAST. (2016). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- EUCAST. (2022). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (N° EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 12.0, valid from 2022-01-01).
- Hay, Y-OM. (2015). La complexité des simples- Caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phytothérapeutiques.
- Hind, E. A. (2017). Extraction et distillation d'une plante aromatique et médicinale : *Rosmarinus officinalis*. *Rapport de fin d'études en biotechnologie et valorisation des phytoressources*, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah de Fes, Maroc.
- Houéto, E. E. M., Johnson, R. C., Amoussa, A. M., Kpètèhoto, H. W., Mignanwande, F. Z., Loko, F., Lagnika, L. (2019). Antimicrobial potency and reversion of the bacterial resistance of ethanolic extract of *Momordica charantia* LINN. *International Journal of Biology and Biotechnology*, 16(1), 79-93.
- Jones, R. N., Fritsche, T. R., & Moet, G. J. (2008). In vitro potency evaluations of various piperacillin/tazobactam generic products compared with the contemporary branded (Zosyn®, Wyeth) formulation. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 61(1), 76-79.
- Kamagate, A., Koné, D., Coulibaly, N., Brou, E., & Sixou, M. (2001). Etude comparative de différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques anaérobies strictes de la flore sous-gingivale. *Tropical dental journal*, 9-12.

- Khaldi, A., Meddah, B., Moussaoui, A., Benmehdi, H. (2012). Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures. *European Journal of Scientific Research*, 80(3), 311-321.
- Kova, J., Gavari, N., Bucar, F., Moina, S. S. (2014). Antimicrobial and Resistance Modulatory Activity of *Alpinia katsumadai* Seed Phenolic Extract, Essential Oil and Post-Distillation Extract.
- Kpètèhoto, W. H., Hessou, S., Dougnon, V. T., Johnson, R. C., Boni, G., Houéto, E. E., ... Gbénou, J. (2017). Étude ethnobotanique, phytochimique et écotoxicologique de *Ocimum gratissimum* Linn (Lamiaceae) à Cotonou. *Journal of Applied Biosciences*, 109, 10609-10617. <https://doi.org/10.4314/jab.v109i1.5>
- Lagnika L., Amoussa A. M. O., Adjileye R. A., Laleye A., Sanni A. (2016). Antimicrobial, antioxidant, toxicity and phytochemical assessment of extracts from *Acmella uliginosa*, a leafy-vegetable consumed in Bénin, West Africa. *BMC Complement Altern Med.*, 16, 1-11.
- Lehout, R., Maya, L. (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. *Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie*, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie.
- Mairie de Ouinhi, Cabinet Afrique Conseil (2006). Monographie communale de Ouinhi. - PDF Free Download. Consulté 3 avril 2023, à l'adresse <https://docplayer.fr/74554582-Monographie-communale-de-ouinhi.html>
- Mamadou, R. S., Moussa, I., Sessou, P., Yehouenou, B., Agbangnan, P. D., Illagouma, A. T., Ikhiri, K. (2014). Etude phytochimique, activités antiradicalaire, antibactérienne et antifongique d'extraits de *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll. Arg. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 37, 10-17.
- MCPS, F. (2012). Bacterial profile of burn wound infections in burn patients. *Ann Pak Inst Med Sci*, 8(1), 54-7.
- Mignanwande, Z. F. M. (2020a). Etudes ethnomédecinale, phytochimique, activités antibactériennes et innocuité de *Crateva adansonii* (Capparidaceae) DC. (Capparidaceae) récoltée au Bénin. These. UAC, Bénin.
- Mignanwandé, Z. F., Hounkpatin, A. S. Y., Johnson, R. C., Anato, D., Kpètèhoto, W. H., Amoussa, M. O. (2020b). Etudes ethnomédecinale, phytochimie et activité antioxydante de *Crateva adansonii* DC (Capparidaceae) dans les communes de Cotonou et de Dassa-Zoumè au Bénin. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 46(1), 8071-8089. <https://doi.org/10.35759/JAnmPlSci.v46-1.2>
- Mnayer, D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. *PhD Thesis*, Université d'Avignon.
- N'tcha, C., Sina, H., Pierre, A., Kayodé, P., Gbenou, J. D., Baba Moussa, L. (2017). Antimicrobial Activity and Chemical Composition of (Kpètè-Kpètè): A Starter of Benin Traditional Beer Tchoukoutou. *BioMed Research International*, 1-10.

- OMS (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle. Genève : Organisation mondiale de la santé.
- Rahim, K., Saleha, S., Zhu, X., Huo, L., Basit, A., & Franco, O. L. (2017). *Bacterial contribution in chronicity of wounds. Microbial ecology*, 73, 710-721.
- Tankeo, S. B., Tane, P., & Kuete, V. (2015). In vitro antibacterial and antibiotic-potential activities of the methanol extracts from *Beilschmiedia acuta*, *Clausena anisata*, *Newbouldia laevis* and *Polyscias fulva* against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 412. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0944-5>
- Wamba, B. E. N., Nayim, P., Mbaveng, A. T., Voukeng, I. K., Dzutam, J. K., Ngalani, O. J. T., & Kuete, V. (2018). *Syzygium jambos* Displayed Antibacterial and Antibiotic-Modulating Activities against Resistant Phenotypes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2018/5124735>
- Yehouenou, B., Ahoussi, E., Sessou, P., Alitonou, G. A., Toukourou, F., & Sohounhloue, D. (2012). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils (EO) extracted from leaves of *Lippia rugosa* A. Chev against foods pathogenic and adulterated microorganisms. *African Journal of Microbiology Research*, 6(26), 5496-5505.

© 2024 BOKOSSA, Licensee *Bamako Institute for Research and Development Studies Press*. Ceci est un article en accès libre sous la licence the Créative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)

Note de l'éditeur

Bamako Institute for Research and Development Studies Press reste neutre en ce qui concerne les revendications juridiques dans les publications des cartes/maps et affiliations institutionnelles.