

Activités Biologiques De Gaertnera Phanerophlebia Baker Et Formulation D'une Crème Cicatrisante Traitant Les Plaies Infectées

¹RAKOTOARISOA Mbolatiana Abigaila, ²JEANNODA Victor Louis, ³RANDRIANASOLO Rivoarison

¹Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques
Antananarivo-Madagascar

²Mention Biochimie Fondamentale et Appliquée, Faculté des Sciences
Université d'Antananarivo-Madagascar

³Laboratoire de Chimie Analytique et Formulation, Faculté des Sciences
Université d'Antananarivo-Madagascar

Auteur correspondant : RAKOTOARISOA Mbolatiana Abigaila. E-mail : abiartiana@yahoo.fr



Resumé— Les plantes ont toujours été une source importante de remèdes pour l'humanité. Dans la médecine traditionnelle Sihanaka, la décoction de feuilles de *Gaertnera phanerophlebia* Baker (RUBIACEAE endémique de Madagascar), a été utilisée pour panser les blessures. Les objectifs de cette étude sont la vérification scientifique sur son efficacité et par l'innovation de cette pratique, la formulation d'une crème cicatrisante standardisée pour traiter les plaies. Pour ce faire, des tests *in vitro* et *in vivo* ont été entrepris pour les investigations des propriétés cicatrisante, antibactérienne et antioxydante de l'extrait aqueux. Puis, selon les normes de la Pharmacopée Européenne, une crème dermique a été formulée et évaluée. Ainsi, par la méthode de l'antibiogramme, des bactéries infectant les plaies ont été révélées sensibles à l'extrait de plante avec une propriété bactéricide. Le test antioxydant a mis en évidence une forte propriété antiradicalaire vis-à-vis du DPPH. Et sur des modèles animaux, les plaies traitées avec l'extrait de plante ont présenté une évolution de la cicatrisation comparable à celle du produit de référence. La crème élaborée a présenté une potentialité de guérison des plaies infectées avec un taux de contraction maximale par rapport à un témoin. A l'issue de cette étude, une crème cicatrisante, antibactérienne, stable, non toxique et conforme aux normes des produits à usage cutané a été obtenue. Ces investigations pharmacologiques constituent des preuves expérimentales sur l'utilisation et l'efficacité de la plante. Cette étude est une contribution à la valorisation de la médecine traditionnelle malagasy étant un enjeu au développement socio-économique du pays.

Mots clés : *Gaertnera phanerophlebia*, Rubiaceae, endémique, crème, cicatrisation, plaies, antibactérienne, formulation

Abstract— Plants have always been an important source of remedies for humanity. In the traditional medicine Sihanaka, a decoction with the leaves of *Gaertnera phanerophlebia* Baker (RUBIACEAE endemic to Madagascar), has been used to heal wounds. The goal of this study is to scientifically prove the efficacy and safety of this species in order to formulate a cream standardized remedy improved and effective to treat wounds. To this end, *in vitro* and *in vivo* tests were undertaken to investigate the healing, antibacterial, and antioxidant properties of the aqueous extract. Then, according to the standards of the European Pharmacopoeia, a dermal cream was formulated and evaluated. Thus, using the antibiogram method, wound-infecting bacteria were found to be sensitive to the plant extract with bactericidal properties. The antioxidant test revealed a strong antiradical property against DPPH. And in animal models, wounds treated with the plant extract showed a healing progression very close to the reference product. The developed cream showed potential for healing infected wounds with a maximum contraction rate compared to a control. At the end of this study, a healing cream, antibacterial, stable, non-toxic and compliant with the standards of products for cutaneous use was obtained. These pharmacological investigations constitute experimental evidence on the use and effectiveness of the plant. This study is a contribution to the promotion of traditional Malagasy medicine, which is a key to the socio-economic development of the country.

Key words: *Gaertnera phanerophlebia*, Rubiaceae, endemic, cream, healing, wounds, antibacterial, formulation

I. INTRODUCTION

Madagascar est reconnu pour sa richesse en biodiversité floristique et faunistique avec plus de 80 % d'espèces endémiques [1],[2]. En effet, sa flore est l'une des plus riches et des plus diversifiées au Monde avec plus de 14 000 espèces végétales [3],[4]. L'utilisation des plantes pour le traitement des maladies est très ancienne, mais connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il a été estimé que plus de 25 % des médicaments actuels sont préparés à base de plantes initialement utilisées dans la médecine traditionnelle [5],[6]. De plus, les industries pharmaceutiques modernes s'appuient largement sur la recherche des métabolites secondaires des plantes ayant une propriété biologique intéressante.

A Madagascar, la population a toujours vécu en symbiose avec la nature. De nombreuses enquêtes ethnobotaniques effectuées dans tout le pays révèlent l'importance que représentent les thérapies traditionnelles et l'usage des plantes médicinales pour la population particulièrement pour les communautés des villages reculés [7]. En effet, selon plusieurs sources, plus de 60 % de malagasy continuent de recourir à ces plantes médicinales pour traiter les maladies courantes notamment les infections respiratoires, la diarrhée, le paludisme et les plaies [4]. Beaucoup de facteurs expliquent cette forte prévalence dont l'accessibilité et le coût ; la tradition et la culture ; l'efficacité perçue ainsi que le manque d'accès aux soins modernes. En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a souligné l'importance de l'intégration de manière sûre et efficace des pratiques de la médecine traditionnelle dans les systèmes de santé officiel [5].

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude. Le potentiel pharmacologique de ladite plante utilisées en médecine traditionnelle malagasy n'a pas encore été scientifiquement exploré. L'objectif principal est de justifier à travers des expérimentations scientifiques son effet dans le traitement des plaies. Dénommée *Gaertnera phanerophlebia* et connue sous l'appellation « Tsitsirontafika », c'est une plante endémique de la partie Nord-est de Madagascar [8]. Elle appartient à la famille végétale des RUBIACEAE qui comprend environ 600 genres dont beaucoup d'espèces sont médicinales mais peu étudiées [9]. Autrefois, dans la région Sihanaka, la population utilisait la décoction de ses feuilles pour panser les blessures des guerres, selon les enquêtes menées auprès de la population locale [10]. Ainsi, l'objectif secondaire est la valorisation et l'innovation de cette pratique ancestrale par la formulation d'un Remède Traditionnel Amélioré et standardisé à partir de l'extrait de la plante. Le but est d'offrir un produit sûr, efficace et accessible à tous pour le traitement des plaies, mais aussi pour l'amélioration de l'accès à la santé grâce aux plantes médicinales. Les résultats de cette étude contribueraient également à l'élargissement des données scientifiques sur l'espèce.

II. MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériel végétal

L'étude a été réalisée avec les feuilles de Tsitsirontafika (*Gaertnera phanerophlebia*) récoltées en Décembre 2018 dans la commune d'Ambohivary, Fokontany Ampitambe Ambatomainty situé dans la région Alaotra Mangoro. L'identification botanique a été effectuée au sein du Département de Botanique du Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques (CNARP) où un herbier a été déposé au sous la référence ST 380.

2.2. Matériel animal

Des souris de race « Swiss » et des rats de race « Wistar », mâles et femelles ont servi de modèles animaux pour les tests *in vivo*. Ils proviennent de l'animalerie de l'IMVAVET (Institut Malgache des Vaccins Vétérinaires). Les tests sur les animaux ont été réalisés selon les directives de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) en appliquant les principes des 3R (Remplacement, Réduction et Raffinement) [11].

2.3. Methode d'extraction du principe actif

En s'inspirant de la méthode traditionnelle, l'extrait qui servira de principe actif a été obtenue par décoction aqueuse des feuilles fraîches selon la méthode décrite par Grandidier [8], [12]. Le matériel végétal a été coupé et écrasé, puis placé dans un ballon à reflux avec de l'eau distillée (1/10 : M/V), puis le tout a été chauffé à 100° C pendant 10 à 20 minutes. Après refroidissement, la décoction a été filtré puis évaporé à sec. Le résidu obtenu constitue l'extrait végétal.

2.4. Test antibactérien

L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode d'antibiogramme en milieu solide à la concentration de 1 mg/ml et la méthode de microdilution en milieu liquide [13], [14], [15], [16]. Trois souches référencées de bactéries GRAM positif responsables d'infections des plaies cutanées (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogènes* et *Streptococcus pneumoniae*) ont été testées.

2.5. Formulation galénique

La préparation galénique est une étape très importante car elle a pour unique but d'optimiser l'efficacité de la thérapeutique en tenant compte de la pathologie ainsi que de la substance active. Afin de formuler une préparation plus respectueuse de l'environnement, une crème à usage externe, à base de l'extrait aqueux et d'ingrédients naturels a été choisie dans cette étude. Le procédé global pour la formulation a été réalisé suivant les recommandations de la Pharmacopée Européenne concernant les préparations semi-solides pour application cutanée [17]. Le choix des excipients et leurs proportions respectives ont été basés sur des considérations théoriques et de disponibilité.

2.6. Contrôles qualités de la crème

2.6.1 Analyse des paramètres physico-chimiques et organoleptiques

Toutes les observations ont été réalisées dans les conditions climatiques normales. Les observations macroscopiques examinées à l'œil nu ont été la couleur, l'aspect, la consistance et l'odeur. Puis, des paramètres physico-chimiques tels que le pH, la densité, l'homogénéité, la stabilité ont été évalués [18], [19].

2.6.2 Contrôle de l'homogénéité

L'homogénéité de la préparation a été déterminée en étalant en couche mince, sur une surface plane à l'aide d'une spatule, une quantité environ 0.2 g. La répartition régulière ou non du mélange ainsi que l'absence de grumeaux ont été vérifiées à l'œil nu puis notée [18].

2.6.3 Test de stabilité

Par la méthode de la dégradation accélérée, il consistait à suivre l'évolution des préparations en temps réelle selon différentes températures de stockage pour déterminer la stabilité et le mode de conservation. Pour ce faire, cinq lots de trois pots ont été laissés au repos à des températures différentes allant de -80°C , -20°C , 4°C , 20°C , 40°C et 60°C . Ils ont été examinés après 1 jour, 1 semaine, 2 semaines, 1 mois, 2 mois, jusqu'à 6 mois de conservation. Les différents lots ont été répartis en, lot ouvert en permanence, lot fermé en permanence jusqu'à la fin de l'expérience et lot ouvert et tâté à chaque contrôle [20].

2.6.4 Test de stérilité

C'est une étape obligatoire pour les préparations destinées à être appliquées sur des plaies ouvertes ou sur une peau gravement atteinte [17]. L'objectif est de confirmer si la pureté du produit élaboré répond aux exigences microbiologiques spécifiées dans les monographies de la Pharmacopée Européenne. Ce test permet aussi l'estimation de la durée de conservation du produit fini. Ainsi, la méthode consistait à la recherche et à la numération des germes bactériens et fongiques éventuellement présents dans la préparation.

Pour ce faire, un ensemencement en surface a été réalisé pour chacun des milieux de culture. Une quantité égale à 0.1 ml de la crème a été prélevé puis déposé aseptiquement à la surface de la gélose contenue dans des boîtes de Pétri. Ensuite, à l'aide d'un râtelier stérile, un étalement de l'inoculum à la surface de la gélose a été réalisé. Les boîtes ont été incubées à l'étuve puis la recherche de bactéries viables et de levure sur milieux spécifiques (Mueller Hinton Agar, Sabouraud solide) a été effectuée après 24 heures et 48 heures. Le nombre de germes par ml ou g d'échantillon a été calculé pour chaque microorganisme recherché puis comparé à la référence normative des critères microbiologiques des médicaments à base de plantes [21].

La préparation est déclarée acceptable si le nombre de germes viables entrent dans les limites de contamination microbienne données en règle générale, soit en tant que recommandation, soit en tant que limites prescrites dans les monographies de la Pharmacopée Européenne [22].

Les critères d'acceptation des formes pharmaceutiques stériles sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1: Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles

Voie d'administration	DGAT (UFC/g ou UFC/ml)	DMLT (UFC/g ou UFC/ml)	Microorganismes spécifiés
Voie cutanée	10 ²	10 ¹	Absence de <i>S. aureus</i> (1 g ou 1 ml) ; Absence de <i>P. aeruginosa</i> (1g ou 1 ml)

DGAT : Dénombrement des germes aérobies totaux ; DMLT : Dénombrement des moisissures /levures totales. (Pharmacopée Européenne, 2008)

2.7. Contrôle d'innocuité et efficacité

2.7.1 Test d'innocuité

L'évaluation de la tolérabilité cutanée des préparations a été réalisée selon le test d'Irritabilité Primaire Aiguë de Draize *et al.* (1944) avec quelques modifications [23]. Pour ce cela, 24 h avant l'application du produit, le dos de chaque souris (mâles de race Swiss) a été rasé sur environ 4 cm². Puis, une quantité de crème (5 mg) a été appliquée sur le flanc droit et le flanc gauche a servi de témoin. Les observations ont été faites 24 h et 72 h après l'application. Les résultats sur l'évaluation de la réaction cutanée a été obtenue par la détermination des scores selon l'échelle de Draize, en fonction de la valeur de l'Indice de l'Irritabilité Primaire (IIP) [24].

2.7.2 Test d'efficacité

Toute préparation qui résulte d'une opération de mélange doit être vérifiée pour son efficacité. Comme il s'agit d'une crème cicatrisante prévue pour le traitement des plaies cutanées infectées, la vérification des activités biologiques sur des modèles animaux a été primordiale. L'objectif a été de voir l'efficacité de la crème formulée avec l'extrait de plante sur la guérison des plaies d'excisions ouvertes et infectées par le germe microbien *Staphylococcus aureus*.

L'opération a été réalisée *in vivo* sur des rats mâles albinos pesant entre 200 g à 250 g. Les animaux ont été préalablement anesthésiés par inhalation au Diéthyl éther dans une cloche en verre avant chaque opération. Des plaies ouvertes par excision au niveau de la peau rasée ont été induites [25]. Puis, pour provoquer des plaies infectées, 100 µl d'une suspension bactérienne du germe *Staphylococcus aureus* (10⁷ UFC/ml) ont été déposés directement sur chaque plaie ouverte [26] ; [27].

Les traitements des plaies infectées ont commencé 24 h après l'inoculation et la fréquence d'application de la crème a été fixée à deux fois par jour, matin et soir avec un intervalle de 8 h, jusqu'à la fermeture totale des plaies [28], [29]. La comparaison a été faite avec des groupes témoins : un témoin positif traité avec des crèmes antibiotiques (Néomycine, Gentamicine), et un témoin non traité. Une étude planimétrique a été mise en œuvre pour déterminer le pourcentage de réduction de la surface des plaies [30], [31], [32]. En parallèle, des observations macroscopiques des plaies, une biopsie et un comptage des germes bactériens dans les plaies ont été conduites jusqu'à leurs fermetures totales [33].

2.8. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle a été réalisée pour déduire les caractéristiques organoleptiques du produit élaboré en utilisant un être humain comme instrument de mesure [34]. Pour cette étude, les épreuves choisies ont été la méthode descriptive et la méthode hédonique. Il s'agissait de tester la crème formulée avec des volontaires humains qui utilisaient ses cinq organes de sens (le touché, l'odorat, la vue, l'ouïe) pour donner leurs avis sur le profil sensoriel du produit.

Les observations de chaque volontaire ont été analysées par des logiciels statistiques afin d'être regroupées en différentes variables interprétables. Les remarques des sujets à l'issue de l'analyse ont été prises en compte pour apporter une amélioration la

formulation du nouveau produit. Pour l'analyse descriptive, les individus enquêtés manifestaient leurs points de vue en attribuant des notes allant de 0 à 5.

2.9. Analyse statistique

L'analyse statistique de toutes les données brutes et l'expression des résultats a été réalisée à partir du test d'analyse de variance (Anova). Ainsi, la différence est considérée significative lorsque $p < 0.05$. La statistique permet l'interprétation, l'évaluation de façon scientifique et la validation des résultats expérimentaux.

III. RESULTATS

3.1 Rendement de l'extraction

Un rendement de 2.99 % d'extrait aqueux sec a été obtenu avec les feuilles fraîches après évaporation. L'extrait a été récupéré sous forme de poudre marron-foncée, légèrement parfumée rappelant l'odeur caractéristique des feuilles de *Gaertnera phanerophlebia*.

3.2 Activité antibactérienne

Le Tableau 2 résume les résultats des tests antibactériens de l'extrait aqueux des feuilles.

Tableau 2: Activité antibactérienne de l'extrait aqueux (ST380F_{Dec}) des feuilles de *G. phanerophlebia* vis-à-vis des germes responsables d'infections cutanées

Code extrait	Souches sensibles	DHI (mm)	CMI (µg/ml)		CMB (µg/ml)	Rapport CMB/CMI	Catégorie
ST 380 F _{Dec} (<i>G. phanerophlebia</i>)	<i>S. aureus</i> ATCC 11632	10 ± 0	62.5	E	1000	16	Bactériostatique
	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	12 ± 0	250	M	1000	4	Bactéricide
	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 6305	10 ± 0	250	M	1000	4	Bactéricide

M : Modérée ; E : Excellente

Au vu de ces résultats, l'extrait aqueux des feuilles de *G. phanerophlebia* (ST380F_{Dec}) est actif spécifiquement sur 3 souches de bactéries responsables des infections cutanées, notamment *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus pneumoniae*. Les Diamètres d'Halo d'Inhibition (DHI) varient entre 10 mm à 12 mm. *Staphylococcus aureus* étant la souche la plus sensible. D'après la classification de Dalmarco *et al.* (2010), l'extrait aqueux a une activité très élevée (CMI = 62.5 µg/ml) contre *S. aureus* [16]. Selon la valeur du rapport CMB/CMI, cette activité antibactérienne est considérée comme bactéricide vis-à-vis de *S. pyogenes* et *S. pneumoniae* mais bactériostatique pour *S. aureus*.

3.3 Résultat de la formulation galénique

La Fig.1 montre les étapes permettant l'obtention de la crème cicatrisante à 3 % en extrait aqueux, il s'agissait d'une émulsion simple Huile dans l'Eau (H/E). Chaque ingrédient a été minutieusement choisi en fonction de leurs bienfaits. Le beurre, riche en nutriments essentiels offre une hydratation profonde toute en rétablissant la barrière cutanée. L'ajout d'huiles végétales confrère à cette crème des propriétés apaisante et anti-inflammatoire, réduisant efficacement les irritations et les rougeurs.

Le produit final a été conditionné dans des pots en PET.

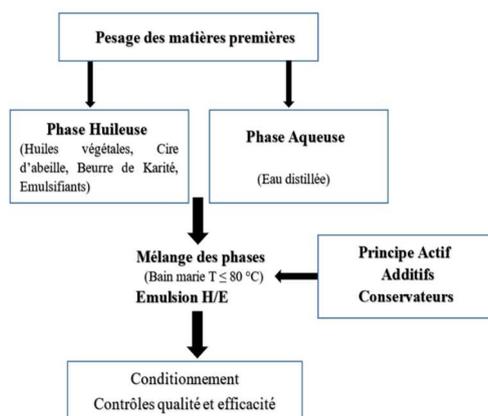


Fig. 1: Etapes de formulation de la crème (ST380F_{Dec})

3.4 Caractères physico-chimiques de la crème

3.4.1 Paramètres physico-chimiques et organoleptiques

La caractérisation de la crème a révélé plusieurs aspects notables. La crème élaborée a une couleur marron clair. En termes d'odeur, elle dégage une fragrance douce et agréable. La texture est lisse et uniforme. Au toucher, elle est douce et onctueuse, s'étalant facilement sur la peau sans laisser de résidu gras, grâce à l'équilibre entre les huiles et le beurre de karité. De plus, elle est rapidement absorbée par la peau, laissant une sensation de douceur et d'hydratation.

Les paramètres caractéristiques de la crème sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3: Caractéristiques physico-chimiques de la crème cicatrisante

Crème cicatrisante 3 % à base d'extrait aqueux (ST380F _{Dec}) de <i>G. phanerophlebia</i>						
Couleur	Odeur	Consistance	Stabilité	Homogénéité	Texture	pH
Marron claire	Légèrement parfumée et agréable	Molle	Fond à une température ≥ 45° C	Bonne homogénéité	Lisse et uniforme	pH proche de celui de la peau (pH = 5.01)

3.4.2 Homogénéité

La crème préparée présente aucun déphasage et restent stable (Fig.2). Physiquement, ses composants restent uniformément répartis. Aucun grumeau ni goutte d'eau n'ont été observés dans la préparation. La répartition est régulière avec une couleur bien uniforme. Le principe actif (ST380F_{Dec}) forme un mélange bien homogène avec les excipients.



Fig. 2: Texture de la crème cicatrisante (ST380F_{Dec})

3.4.3 Stabilité

Conservées à des températures entre + 4° C et 25° C, quel que soit le conditionnement (ouvert, fermé en permanence, manipulé), la crème est demeurée inchangée, stable et homogène jusqu'à 6 mois de conservation. Mais à une température égale à 45° C, elle commence à fondre. A partir de 60° C, elle devient huileuse et se sépare en deux phases. Soumise à des températures négatives de – 20° C et – 80° C, la crème devient dure et congelée mais conservent toutes leurs caractéristiques organoleptiques. Dans tous ces cas, la préparation ne présentait aucun signe de contamination, ni de modifications d'odeur ou de couleur, sachant que l'apparition des moisissures témoigne de la dégradation des préparations.

3.4.4 Stérilité

Aucune colonie de bactéries, ni de champignons, ni de levures n'a été détectée dans la préparation, avec un compte de 0 UFC/g pour chaque type de micro-organisme. Ces résultats indiquent que la crème est stérile et sans contamination détectable.

3.5 Innocuité et Efficacité de la crème

3.5.1 Innocuité

L'échantillon de la crème ne provoquent aucune réaction cutanée avec un IIP (Indice d'Irritabilité Primaire de Draize) nul après 24 h et 72 h de son application sur le dos des animaux testés. Cette préparation est donc non irritante et dépourvue d'effets secondaires pour la peau.

3.5.2 Activité cicatrisante de la crème

L'application quotidienne de 0.5 mg de la crème 3 % sur les plaies ulcéreuses (lots traités) a montré une cicatrisation complète des plaies en 11 jours (Fig.3). Par contre chez les animaux non traités, un développement de suppuration et un retard de cicatrisation ont été observés (Fig.4). La cicatrisation totale des plaies traitées avec l'extrait seul et celle avec la Néomycine a une durée égale à 12 jours. Ces dernières sont devenues propres et sèches, marquant une absence d'un quelconque germe bactérien *in situ*. En parallèle, le nombre de germes infectant les plaies a diminué (Fig.3).

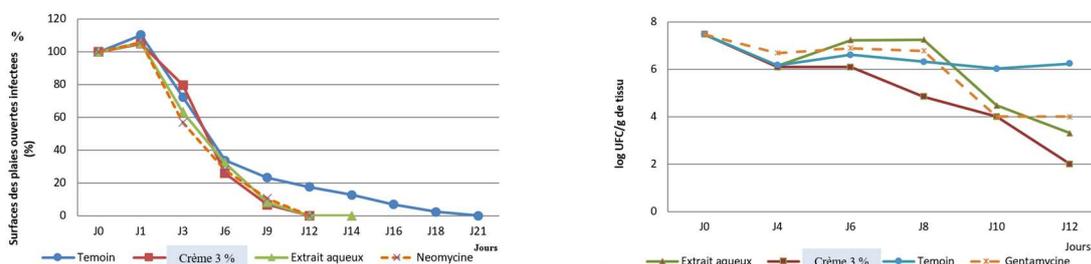


Fig. 3 : Figures montrant la diminution de la surface des plaies (à gauche) et du nombre de bactéries infectantes en fonction du temps (à droite)

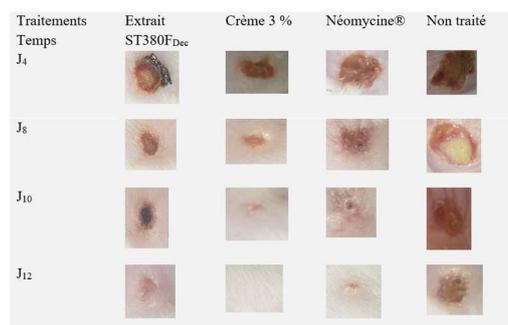


Fig.4 : Effet de la crème cicatrisante 3 % en extrait aqueux de *G. phanerophlebia* sur les plaies infectées au *Staphylococcus aureus*

3.6 Résultat de l'analyse sensorielle

Les résultats de l'analyse sensorielle concernant la qualité de l'odeur, de la couleur ainsi que la texture et l'homogénéité de la crème 3 % sont mentionnés sur les Fig.5.

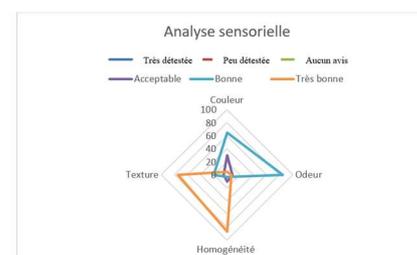
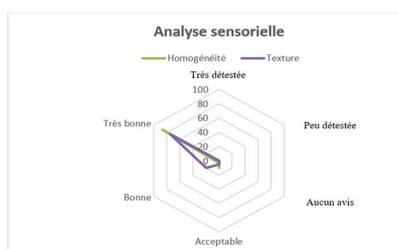
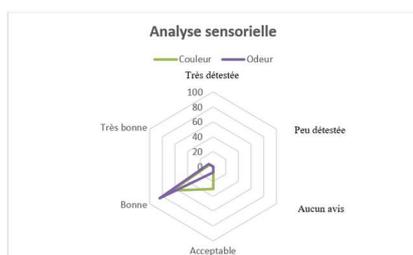


Fig.5: Résultats relatifs à l'appréciation de la crème cicatrisante 3 % par les volontaires

Selon ces résultats, 65 % des volontaires ayant testé le produit apprécient sa couleur et 85 % jugent que son odeur est bonne. La pommade est très homogène selon 87 % des réponses et 75 % donnent le même avis sur sa texture.

IV. DISCUSSIONS

La recherche continue sur de nouvelles substances cicatrisantes dans l'industrie pharmaceutique. Par conséquent, cette étude a été réalisée pour innover l'utilisation traditionnelle de *G. phanerophlebia* dans le traitement des plaies. Il s'agissait de justifier à travers des expérimentations sur modèle animal la potentialité cicatrisante des feuilles de la plante puis de formuler une crème cicatrisante standardisée. Les résultats obtenus de cette étude ont prouvé son effet cicatrisant, assurant une meilleure guérison, comparable à celle de la Néomycine® sur des plaies infectées induites chez le rat. L'application continue de la crème 3 % sur les plaies a inhibé profondément la colonisation par *S. aureus* sous forme d'abcès cutané et a accéléré sa réparation. Les contrôles qualité et efficacité du produit fini ont montré que le principe actif agit en parfaite synergie avec les excipients. Les excipients choisis ont amélioré une bonne pénétration du principe actif et sa libération. Le pH légèrement acide de la crème lui confère une action bactériostatique inhibant le développement des germes pathogènes qui déclenchent une infection et retardent la cicatrisation. Le produit élaboré est dépourvu de toxicité cutané et d'effets indésirables pour la peau. Cette innocuité de la crème, pourrait être expliquée par le fait que tous les ingrédients n'ont pas été agressifs pour la peau, de même que le principe actif.

La stérilité de la préparation est probablement due aux constituants chimiques présents dans le principe actif dotés de propriétés antiseptiques qui assurent une bonne conservation du produit. La crème à base de l'extrait aqueux (ST380F_{Dec}) est donc déclarée cicatrisante, conforme, stable, stérile et propre à l'utilisation. Néanmoins, des tests sur des souches cliniques, extraites d'une suppuration, seraient nécessaires pour de plus amples confirmations.

V. CONCLUSION

L'innovation dans les soins dermatologiques ne cessent d'évoluer. Cette étude est une nouvelle découverte d'une formule cicatrisante. Le pouvoir cicatrisant de *Gaertnera phanerophlebia*, une RUBIACEAE endémique de Madagascar, a été scientifiquement prouvées sur des modèles animaux. Une crème standardisée à base d'extrait des feuilles de la plante a été formulée et testée sur la cicatrisation des plaies infectées. Ce produit innovant résulte d'une combinaison minutieuse d'ingrédients naturels, chacun apportant des bienfaits spécifiques pour la peau. La crème nouvellement formulée est désinfectante, régénérante et stimulante de la guérison des plaies. Elle combine efficacité, sécurité et agrément d'utilisation, offrant une solution pour les soins cutanés, notamment les plaies infectées. Des études plus approfondies seront encore nécessaires pour l'élucidation de son mécanisme d'action. Les résultats de cette étude pourraient avoir des implications importantes dans le domaine de la médecine traditionnelle et complémentaire, mais aussi devenir une nouvelle perspective pour le développement des thérapies alternatives pour les soins primaires. Il est alors jugé primordial de sauvegarder cette espèce végétale pour sa survie mais aussi pour la continuité des recherches sur la plante.

REMERCIEMENT

Nous tenons à remercier toute l'équipe du Centre National d'Application des Recherches Pharmaceutiques (CNARP) pour leur collaboration.

REFERENCES

- [1] Callmander, M.W., Phillipson, P.B., Schatz, G.E., Andriambololonera, S., Rabarimanarivo, M., Rakotonirina, N. (2011). The endemic and non-endemic vascular flora of Madagascar updated. *Plant Ecology and Evolution* 144, pp 121-125.
- [2] Ministère de l'Environnement et des Forêts. (2014). Cinquième Rapport National de la Convention sur la Diversité Biologique-Madagascar.
- [3] Direction des Eaux et Forêts. (1996). Inventaire écologique forestier national: recueil botanique de 200 espèces forestières. Antananarivo: EEDR Mamokatra FTM, 53p.
- [4] Rafidison, V., Ratsimandresy, F., Rakotondrajaona, R., Rasamison, V., Rakotoarisoa, M., Rakotondrafara, A. (2019). Synthèse et analyse de données sur les inventaires de plantes médicinales de Madagascar. *Ethnobotany Research & Applications* 18 :40, pp 1- 19.
- [5] Organisation Mondiale de la Santé. (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005.
- [6] Sofowora, A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Paris, France, Karthala, 378 p.
- [7] Rasoanaivo, H., Ravaoarisoa, E., Andrianaranjaka, V., Razafiarimanga, Z., Randriamampianina, L., Jeannoda, V., & Rakoto, D. (2021). Evaluation de l'activité antipaludique de l'écorce de tige d'*Albizia arenicola* contre *Plasmodium yoelii*. *Recherche pour le DEVELOPPEMENT, CIDST*, n°30, ISSN1025-3467, pp 107-117.
- [8] Boiteau Marthe. (1997). Dictionnaire des noms malgaches de végétaux. Editions Alzieu, 494 p.
- [9] Davis, A., Bridson, D., Goodman, S., Jonathan, P., Benstead, J. (2003). The Rubiaceae, - Introduction. In the *Natural History of Madagascar*. University of Chicago Press, Chicago: 431-434.
- [10] Rakotoarisoa, M.A., Rakotoarivelo, H., Rakotonandrasana, S., Rasolofomanana, J.R., Randriamialinoro, F., Ranarivelo, L., Vahinalahaja Razafintsalama E., Ralambonirina, S. T., Jeannoda V. (2016). Etudes chimique et biologique de sept plantes médicinales de Madagascar de la famille Rubiaceae. *Mada-Hary*, ISSN 2410-0315, Vol.5.

- [11] OCDE. (2008). Toxicité orale aiguë -Méthode de l'ajustement des doses. In: Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, OCDE. Paris, 1(1), pp 129.
- [12] Rakotonandrasana, S. R. (2013). Les plantes médicinales de l'aire protégée de Zahamena (Madagascar) et de ses environs: richesse floristique et endémicité. *Scripta Botanica Belgica*. 50, pp 356-362.
- [13] Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), pp 679-684.
- [14] Rakotoarisoa, M. A., Ralambonirina, S. T., Randriamialinoro, F., Rakotoarisoa, M., Vahinalahaja Razafintsalama, E. and Jeannoda V. (2021). Fractionation and bioassay-guided isolation of Loganin from the bark of *Breonia perrieri* Homolle, an endemic RUBIACEAE from Madagascar. *Journal of Pharmacognosie and Phytochemistry*. 10(4): pp 38-46.
- [15] Kuete, V., Nana, F., Ngameni, B., Mbaveng, AT, Keumedjio, F. et Ngadjui, B.T. (2009). Activité antimicrobienne de l'extrait brut, des fractions et des composés de l'écorce de tige de *Ficus ovata* (Moraceae). *Journal d'ethnopharmacologie*, 124 (3), pp 556-561.
- [16] Dalmarco, J.B., Dalmarco, E.M., Koelzer, J., Pizzolatti, M.G, & Fröde, T.S. (2010). Isolement et identification de composés bioactifs responsables de l'efficacité antibactérienne de *Lotus corniculatus* var. São Gabriel. *Revue internationale de pharmacie verte*, 4 (2).
- [17] Le Hir, A., Cohen, Y., Jannot, M. M. (2001). Pharmacie galénique – Bonnes pratiques de fabrication de médicaments. pp 382.
- [18] Bene, K., Camara, D., Soumahoro, I.A., Kanga, Y., Zirihi, G.N. (2017). Formulation galénique d'une pommade antimicrobienne à base d'extrait hydroalcoolique de *Bersama abyssinica* Fresen. *Ethnopharmacologia*, n°58.
- [19] Lukić, M., Pantelić, I., & Savić, S. (2021). Towards optimal pH of the skin and topical formulations: from the current state of the art to tailored products. *Cosmetics*, 8(3), p 69.
- [20] Rajvanshi, A., Sharma, S., Khokra, S.L., Sahu, R.K., Jangde, R. (2011). Formulation and evaluation of *Cyperus rotundus* and *Cucumis sativus* based herbal face cream. *Pharmacologyonline*, 2, pp 1238-1244.
- [21] Bakary, C., Clément, K. K., Ehoulé, K., Ibrahim, K., Elisée, K. K., & Joseph, D. A. (2018). Evaluation de la qualité microbiologique des médicaments traditionnels améliorés (MTA) vendus dans six communes d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *European Scientific Journal*, 14(15), p. 307.
- [22] Guessennnd, K. N. (2005). Détermination de l'activité antibactérienne des substances naturelles issues des plantes de la pharmacopée de Côte d'ivoire. *Fiche technique*, (2).
- [23] Draize, J., Woodward, G., Calvery, H. (1944). Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 82, pp 377-390.
- [24] Rakotoarisoa, M.A. (2025). New anti-inflammatory balm based on a POACEAE weed: *Eleusine indica* (L) Gaertn. *International Journal of Multidisciplinary Research and Publications*, Vol. 8, Issue 2, pp 54-57.
- [25] Shailajan, S., Menon, S., Pednekar, S., & Singh, A. (2011). Wound healing efficacy of *Jatyadi taila*: in vivo evaluation in rat using excision wound model. *Journal of ethnopharmacology*, 138(1), 99-104.
- [26] Kugelberg, E., Norström, T., Petersen, TK, Duvold, T., Andersson, DI, & Hughes, D. (2005). Établissement d'un modèle d'infection cutanée superficielle chez la souris par *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*. *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*, 49 (8), pp 3435-3441.
- [27] Tatiya-Aphiradee, N., Chatuphonprasert, W., & Jarukamjorn, K. (2016). *In vivo* antibacterial activity of *Garcinia mangostana* pericarp extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a mouse superficial skin infection model. *Pharmaceutical Biology*, 54(11), pp 2606-2615.

- [28] Shailajan S., Menon S., Pednekar S., Singh A. (2011). Wound healing efficacy of *Jatyadi taila*: *In vivo* evaluation in rat using excision wound model. *Journal Ethnopharmacol.* 138 (1), pp 99-104.
- [29] Bhaskar, A., Nithya, V. (2012). Evaluation of the wound-healing activity of *Hibiscus rosa sinensis* L. (MALVACEAE) in Wistar albinos rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 44, pp 694-698.
- [30] Mukherjee, H., Ojha, D., Bharitkar, Y.P., Ghosh, S., Mondal, S., Kaity, S. (2013). Evaluation of the wound healing activity of *Shorea robusta*, an Indian ethnomedicine, and its isolated constituent(s) in topical formulation. *Journal of Ethnopharmacol.*, 149 (1), pp 335-345.
- [31] Malachowa, N., Kobayashi, S. D., Braughton, K. R., & DeLeo, F. R. (2013). Mouse model of *Staphylococcus aureus* skin infection. In *Mouse Models of Innate Immunity: Methods and Protocols* (pp. 109-116). Totowa, NJ: Humana Press.
- [32] Cheraghali, Z., Mohammadi, R., & Jalilzadeh-Amin, G. (2017). Planimetric and biomechanical study of local effect of pulegone on full thickness wound healing in rat. *The Malaysian Journal of Medical Sciences*, 24(5), p 52.
- [33] Kwiecinski, J., Jin, T. et Josefsson, E. (2014). Les protéines de surface de *Staphylococcus aureus* jouent un rôle important dans les infections cutanées expérimentales. *Apmis*, 122 (12), pp 1240-1250.
- [34] Mishra, A. P. Saklani, S. Milella, L. & Tiwari, P. (2014). Formulation and evaluation of herbal antioxidant face cream of *Nardostachys jatamansi* collected from Indian Himalayan region. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(Suppl 2), S679-S682. G.