



Les huiles essentielles dans la prise en charge de l'herpès labial

Céline Coffre

► To cite this version:

Céline Coffre. Les huiles essentielles dans la prise en charge de l'herpès labial. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-02151187

HAL Id: dumas-02151187

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02151187>

Submitted on 7 Jun 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Soutenue publiquement le 26 juin 2018

par

Céline COFFRE

**LES HUILES ESSENTIELLES DANS
LA PRISE EN CHARGE DE
L'HERPÈS LABIAL**

JURY :

Président : Mme Théodora POPOVICI (Professeur)

Directeur : Mr Roland MOLINIE (Maître de Conférences)

Membre : Melle Malvina RICHARD (Pharmacien)

Remerciements

*Merci à Mr Molinié, directeur de thèse, pour
m'avoir accompagnée dans la réalisation de cette
thèse*

*Merci à Madame Popovici, pour m'avoir fait
l'honneur de diriger cette thèse*

*Merci à Mademoiselle Richard, pour avoir accepté
de participer à ce jury*

*Merci à ma famille, mes amis pour m'avoir
apporté soutien et réconfort dans les moments
difficiles...*

Sommaire

Sommaire.....	1
Introduction.....	5
Partie I : L'herpès labial.....	6
I. Le virus de l'herpès simplex.....	6
A. Classification.....	6
B. Structure du virus de l'herpès simplex (VHS).....	7
C. Réplication du VHS.....	8
1. Attachement et pénétration du virus.....	8
2. Réplication de l'ADN viral.....	8
3. Assemblage, encapsidation et bourgeonnement.....	9
II. L'herpès labial.....	10
A. Épidémiologie.....	10
B. Physiopathologie.....	10
1. La primo-infection.....	10
2. La période de latence	11
3. La réactivation.....	11
C. Manifestations cliniques.....	13
1. La primo-infection.....	13
2. La réactivation.....	14
D. Mode de transmission.....	14
E. Diagnostic.....	15
F. Traitement de l'herpès labial.....	16
1. Recommandations de prise en charge chez le patient immunocompétent.....	16
2. Les antiviraux oraux.....	18
3. Les antiviraux locaux.....	19
4. La résistance à l'aciclovir.....	19
Partie II : Généralités sur les huiles essentielles.....	21
I. Introduction.....	21
A. Définition	21
1. La Pharmacopée européenne.....	21
2. La norme ISO 9235.....	21
B. La réglementation française dans le milieu pharmaceutique.....	22
II. Les méthodes d'obtention des huiles essentielles pharmaceutiques.....	23
A. L'expression mécanique à froid.....	24
B. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	24
III. Les Critères de qualité des huiles essentielles.....	25
A. La matière première végétale.....	25
1. La dénomination botanique.....	25
2. Les conditions de culture et de récolte de la plante.....	26
3. La partie de la plante utilisée.....	27
4. Le chémotype.....	27
B. Les huiles essentielles.....	28
1. La méthode d'extraction utilisée.....	28
2. Les caractères physico-chimiques.....	29

III. Utilisation des huiles essentielles.....	29
A. Les principales voies d'administration.....	29
1. Les voies orale et sublinguale.....	30
2. La voie cutanée.....	31
3. La voie respiratoire.....	33
B. Les précautions d'emploi.....	34
IV. Les composants chimiques des huiles essentielles.....	36
A. Les terpènes.....	36
B. Les alcools.....	37
1. Les monoterpénols.....	37
2. Les sesquiterpénols.....	37
3. Les diterpénols.....	37
C. Les aldéhydes.....	38
1. Les aldéhydes aromatiques.....	38
2. Les aldéhydes terpéniques (ou terpénals).....	38
D. Les cétones.....	38
E. Les lactones.....	39
F. Les esters.....	39
G. Les phénols.....	40
H. Les phénols méthyl-éthers.....	40
I. Les oxydes.....	41
1. Les éthers oxydes.....	41
2. Les oxydes terpéniques.....	41
J. Les coumarines.....	41
K. Les phtalides.....	42
L. Les composés soufrés.....	42
M. Les composés azotés.....	42
V. Généralités sur quelques huiles essentielles aux propriétés antivirales.....	42
A. L'huile essentielle de Tea Tree.....	43
1. Description botanique.....	43
2. Composition biochimique.....	43
3. Propriétés thérapeutiques.....	43
4. Principales indications thérapeutiques.....	44
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	44
B. L'huile essentielle de Ravintsara.....	44
1. Description botanique	44
2. Composition biochimique.....	45
3. Propriétés thérapeutiques.....	45
4. Principales indications thérapeutiques.....	45
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	46
C. L'huile essentielle de Niaouli.....	46
1. Description botanique.....	46
2. Composition biochimique	46
3. Propriétés thérapeutiques.....	47
4. Principales indications thérapeutiques.....	47
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	47
D. L'huile essentielle de Menthe poivrée.....	48
1. Description botanique.....	48
2. Composition biochimique.....	48
3. Propriétés thérapeutiques.....	48

4. Principales indications thérapeutiques.....	49
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	49
E. L'huile essentielle d'Eucalyptus globuleux.....	49
1. Description botanique.....	50
2. Composition biochimique.....	50
3. Propriétés thérapeutiques.....	50
4. Principales indications thérapeutiques.....	50
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	51
F. L'huile essentielle de Mélisse officinale.....	51
1. Description botanique.....	51
2. Composition biochimique.....	52
3. Propriétés thérapeutiques.....	52
4. Principales indications thérapeutiques.....	52
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	52
G. L'huile essentielle de Thym à thymol.....	53
1. Description botanique.....	53
2. Composition biochimique.....	53
3. Propriétés thérapeutiques.....	54
4. Principales indications thérapeutiques.....	54
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	54
H. L'huile essentielle d'Armoise arborescente.....	54
1. Description botanique.....	54
2. Composition biochimique.....	55
3. Propriétés thérapeutiques.....	55
4. Principales indications thérapeutiques.....	55
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	55
I. L'huile essentielle d'Anis étoilé.....	56
1. Description botanique.....	56
2. Composition biochimique.....	56
3. Propriétés thérapeutiques.....	56
4. Principales indications thérapeutiques.....	56
5. Contre-indications et précautions d'emploi.....	57

Partie III : Mode d'action de quelques huiles essentielles contre le virus de l'herpès labial.....58

I. Action antivirale directe sur le virus.....	58
A. Étude scientifique sur l'HE de Menthe poivrée.....	58
1. Matériel et méthode.....	58
2. Résultats.....	59
3. Discussion.....	62
B. Étude scientifique sur l'HE de Mélisse officinale.....	63
1. Matériel et méthode.....	63
2. Résultats.....	64
3. Discussion.....	66
C. Étude scientifique sur l'HE d'Armoise arborescente.....	67
1. Matériel et méthode.....	67
2. Résultats.....	69
3. Discussion.....	72
D. Étude scientifique de 2 monoterpènes : β-pinène et limonène.....	73
1. Matériel et méthode.....	73

2. Résultats.....	75
3. Discussion.....	77
E. Étude scientifique sur les HE de Tea Tree, d'Eucalyptus globuleux et de thym à thymol.....	78
1. Matériel et méthode.....	78
2. Résultats.....	80
3. Discussion.....	84
F. Étude scientifique sur l'HE d'Anis étoilé.....	85
1. Matériel et méthode.....	85
2. Résultats.....	86
3. Discussion.....	89
II. Synergie d'action entre HE et aciclovir.....	90
1. Matériel et méthode.....	90
2. Résultats.....	92
3. Discussion.....	100
III. Discussion générale.....	101
Partie IV : Conseil à l'officine.....	104
I. « Diagnostic » et limites du pharmacien.....	104
II. Les traitements disponibles sans ordonnance.....	105
A. L'allopathie.....	105
B. L'homéopathie.....	106
C. La phytothérapie.....	107
D. L'aromathérapie.....	107
E. Les patchs cicatrisants.....	110
III. Les conseils de prévention.....	110
Conclusion.....	111
Bibliographie.....	113

Introduction

L'herpès est une des infections virales humaines les plus répandues dans le monde. Selon les dernières publications de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 67 % de la population mondiale âgée de moins de 50 ans est infectée par le virus de l'Herpès Simplex de type I (VHS-1)¹.

Avec des manifestations cliniques d'intensité et de localisation variables, ce virus, strictement humain et contagieux, est principalement responsable de l'herpès labial, encore appelé « bouton de fièvre ». Une fois installé, il se loge dans l'organisme en alternant des phases d'inactivité, dites de latence, et de réplication.

Cette affection récurrente est, la plupart du temps, jugée bénigne notamment chez les sujets immunocompétents. Elle peut toutefois, se révéler très sérieuse chez les patients immunodéprimés et les jeunes enfants.

Actuellement, sur le plan thérapeutique, les traitements agissent uniquement sur la phase de réplication. Ils ne permettent donc pas d'éradiquer le virus latent. La transmission et la progression dans la population ne sont donc pas limitées.

L'aciclovir est le traitement de choix tant en préventif qu'en curatif. Cependant, cet antiviral voit apparaître des souches virales résistantes à son mécanisme d'action. La ténacité de ce virus suscite donc la nécessité de découvrir de nouvelles alternatives thérapeutiques.

De plus en plus, les patients expriment un besoin grandissant vers une médecine naturelle, aux effets secondaires limités. Par conséquent, les antiviraux dérivés de plantes sont d'intérêt croissant pour le développement de nouveaux agents anti-herpétiques.

Les huiles essentielles font partie de cette thérapeutique naturelle utilisée, de nos jours, par un grand nombre d'individus. Elles s'appliquent dans différents domaines notamment celui de la virologie, dans la prise en charge du virus de l'herpès. Ces dernières décennies, elles ont fait l'objet de nombreuses publications analysant cette propriété antivirale.

Au sein de cette thèse, avant d'étudier la capacité de quelques huiles essentielles à agir contre le virus de l'herpès simplex de type I ainsi que leur mode d'action, nous évoquerons, dans une première partie, quelques rappels sur ce virus responsable de l'herpès labial. Des généralités sur les huiles essentielles feront l'objet d'une seconde partie. Avant de conclure, nous terminerons par une quatrième partie portant sur le conseil à l'officine.

PARTIE I: L'herpès labial

Connu sous le nom populaire de « bouton de fièvre », l'herpès labial est la forme d'herpès la plus courante. C'est une infection virale humaine, provoquée la plupart du temps par le virus de l'herpès simplex de type 1. Dans de rares cas et habituellement associé à l'herpès génital, le virus de l'herpès simplex de type 2 peut être en cause.

I. Le virus de l'herpès simplex

A. Classification

Le virus de l'herpès simplex (VHS) appartient à la famille des *Herpesviridae* qui est constituée de plus de 200 espèces partageant des propriétés communes notamment celles de la structure virale et de la capacité à établir un état de latence dans l'organisme infecté².

De nos jours, parmi ces espèces, neuf virus ont été identifiés chez l'Humain. On retrouve les virus de l'herpès simplex de type 1 et 2, le virus de la varicelle et du zona, le cytomégalovirus, le virus d'Epstein-Barr et les sixième, septième et huitième *herpesvirus* humains. Certaines de leurs propriétés biologiques ont mené à leur subdivision en trois sous-familles : les *α -herpesvirinae*, *β -herpesvirinae* et *γ -herpesvirinae*².

Dans le cadre de cette thèse, nous allons nous intéresser au genre *Simplexvirus* et plus particulièrement au virus de l'Herpès Simplex de type 1 (VHS-1), principal agent causal de l'herpès labial.

HSV-1, du genre *Simplexvirus*, appartient à la sous-famille des *α -herpesvirinae* qui regroupe les virus capables de se répliquer avec un cycle court et dans différents types cellulaires. Ils entraînent une importante lyse cellulaire et ont la capacité d'établir une infection latente dans les ganglions sensitifs. Ce virus peut être à l'origine des herpès cutanés ou génitaux, des conjonctivites, des kératites ou des eczémas herpétiques².

B. Structure du virus de l'herpès simplex (VHS)

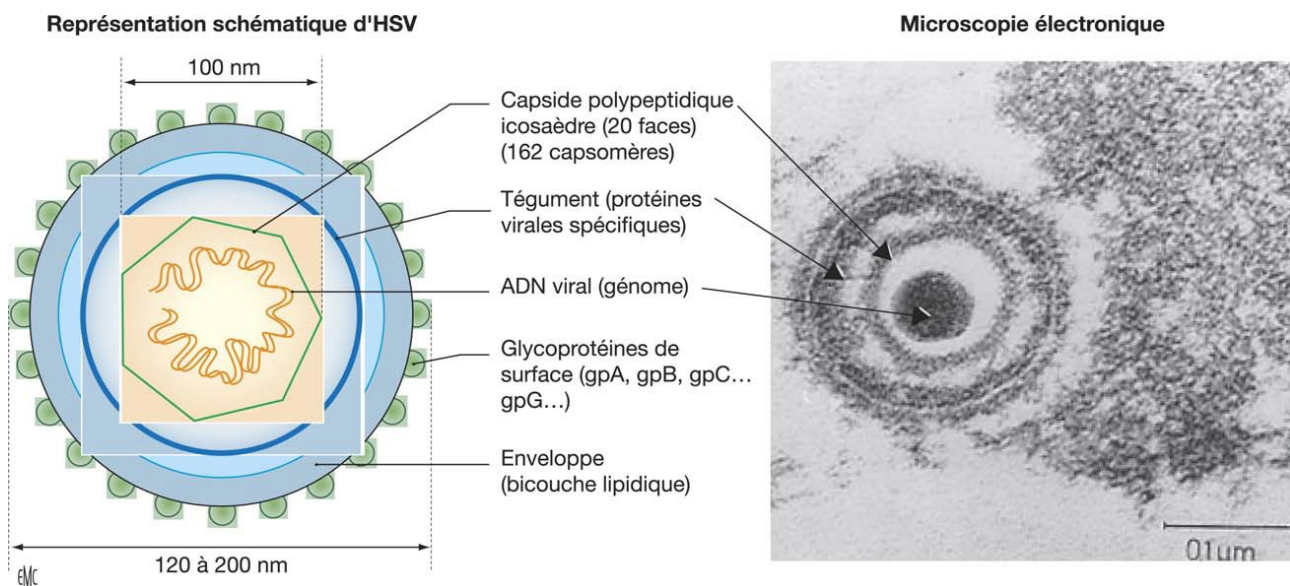


Figure 1 : Particule virale du virus de l'herpès Simplex⁴

La particule virale se compose^{2,3,4}:

- d'un Acide désoxyribonucléique (ADN) sous forme de double brin linéaire entouré
- d'une capside protéique icosaédrique de 162 capsomères
- le tégument situé entre la capside et l'enveloppe, est composé de protéines. Parmi elles, on peut citer la VP16 impliquée dans l'activation de la transcription précoce des gènes ou la protéine VHS qui supprime la biosynthèse des protéines cellulaires et dégrade l'ARN messager (ARNm)². Il est, lui-même, entouré
- d'une enveloppe externe se composant d'une bicouche lipidique dérivée de la membrane cellulaire et de glycoprotéines à sa surface². Parmi ces glycoprotéines, plusieurs sont impliquées dans l'attachement et la pénétration du virus dans la cellule hôte³. La glycoprotéine G est utilisée comme marqueur de différenciation pour le sérotypage du VHS (type 1 ou 2) de part les différences en acides aminés³.

Cette enveloppe virale rend le virus sensible aux solvants, aux détergents et à la dessiccation, ce qui explique que la transmission se fasse par contamination directe.

C. Réplication du VHS

La multiplication virale est un phénomène complexe. Dans l'incapacité de se multiplier par eux-mêmes, les virus détournent la machinerie cellulaire à leur profit. En effet, le génome viral est introduit dans une cellule hôte afin de fabriquer de nouveaux virus⁵.

Le cycle de réplication virale du Virus de l'Herpès Simplex d'une durée d'environ 18 heures², fait appel à plusieurs étapes clés et provoque la lyse cellulaire.

1. Attachement et pénétration du virus

Pour initier l'infection, le VHS doit entrer dans la cellule hôte. Pour cela, il s'attache et fusionne son enveloppe avec la membrane cellulaire. L'attachement à la cellule fait intervenir les glycoprotéines virales de type C (gC) et B (gB) qui vont interagir avec le sulfate d'héparane, glycosaminoglycane de surface cellulaire².

La fusion s'effectue suite à l'interaction spécifique de la glycoprotéine de type D (gD) avec des récepteurs cellulaires appartenant à la famille des immunoglobulines. Outre cette liaison, ce processus de fusion fait aussi intervenir, par un mécanisme encore inconnu, la glycoprotéine de type B (gB) et le complexe hétérodymérique, glycoprotéine de type H/glycoprotéine de type L^{2,3}.

Ainsi, la nucléocapside et les protéines du tégment sont alors libérées dans le cytoplasme de la cellule infectée.

La protéine tégmentaire VHS permet de dégrader les ARN messagers cellulaires, ce qui a pour conséquence de stopper les synthèses protéiques de la cellule infectée pendant que la protéine VP16 migre dans le noyau cellulaire où elle initiera la transcription des gènes très précoces^{2,3}.

La nucléocapside se dirige au niveau d'un pore nucléaire où la capsid se décompose et déverse son ADN dans le noyau cellulaire où aura lieu la réplication.

2. Réplication de l'ADN viral

À son entrée dans le noyau de la cellule infectée, l'ADN linéaire viral se circularise puis est transcrit par l'ARN polymérase II cellulaire. Les ARNm synthétisés migrent ensuite vers le cytoplasme où ils seront traduits pour ensuite rejoindre le noyau cellulaire.

Ces étapes de transcription et de traduction sont régulées en cascade et se déroulent en 3 phases successives⁵. On distingue donc 3 groupes de gènes selon leur apparition dans le temps :

- les **gènes très précoces** (gènes α) dont la transcription est initiée grâce à la protéine VP16 composant du tégment⁵. Ils sont transcrits immédiatement après l'infection. Les protéines virales synthétisées α ont des fonctions de contrôle sur la transcription des gènes précoces (gènes β) et tardifs (gènes γ) et inhibent par autorégulation la transcription des gènes α ⁵.
- les **gènes précoces** (gènes β) codent pour les protéines β qui sont majoritairement des enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN viral dans le noyau cellulaire. Les protéines précoces β activent également les transcriptions des gènes tardifs γ ^{3,5}.
- les **gènes tardifs** (gènes γ) codent pour des protéines γ principalement structurales⁵.

3. Assemblage, encapsidation et bourgeonnement

Une fois synthétisées, ces protéines de structure s'assemblent pour former la capside et le tégment du virion qui engloberont progressivement l'ADN viral néosynthétisé afin de composer la nucléocapside⁵.

Cette encapsidation est suivie d'une évacuation de la nucléocapside par bourgeonnement, à travers la membrane nucléaire, du noyau vers le cytoplasme où se produit la maturation du virion².

La libération cellulaire de ces virions matures est ensuite possible par exocytose². La production d'une nouvelle génération virale entraîne toujours la mort de la cellule hôte².

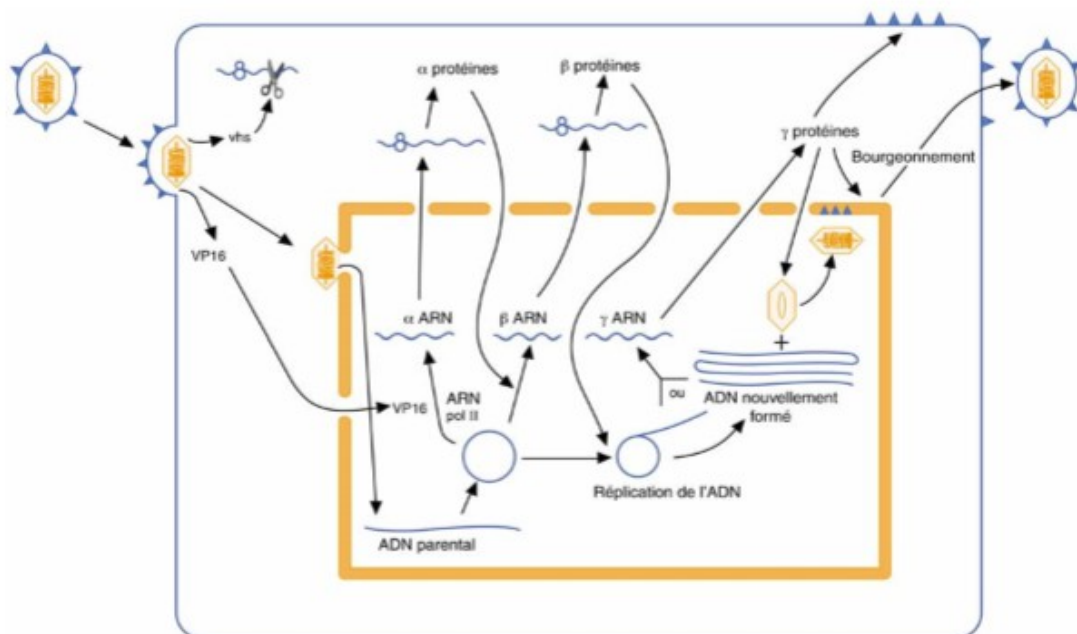


Figure 2 : Cycle de réplication virale³

II. L'herpès labial

L'herpès labial est une affection cutanée récidivante, très contagieuse, présente dans l'organisme depuis une primo-infection, qui perdure toute la vie dans l'organisme de l'individu contaminé. C'est une maladie généralement bénigne dont les symptômes disparaissent d'eux-mêmes.

A. Épidémiologie

L'herpès cutanéomuqueux est une des infections virales humaines les plus répandues dans le monde⁴. En effet, l'infection à VHS-1 est présente dans la plupart des populations mondiales et atteint toutes les catégories sociales. Sa prévalence mondiale varie avec l'âge, la localisation géographique et le statut socio-économique⁶.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2012, on estimait que dans le monde, 3,7 milliards des personnes de moins de 50 ans étaient infectées par ce virus. Ce qui représente 67% de la population mondiale¹.

Cette prévalence est encore plus élevée dans les pays pauvres en voie de développement. En effet, chez cette même catégorie d'individus, en 2012, elle était estimée à 207 millions de femmes (69%) et 187 millions d'hommes (61%) en Europe contre respectivement 350 millions (87%) et 355 millions (87%) sur le continent africain. Il en est de même pour l'incidence qui était de 5 millions de femmes pour 5 millions d'hommes en Europe contre respectivement 17 millions et 18 millions en Afrique¹. Le taux de sérologie positive est donc plus élevé dans les pays moins industrialisés.

B. Physiopathologie

1. La primo-infection

La primo-infection caractérise le premier contact avec le virus herpétique. Elle survient la plupart du temps pendant l'enfance, entre 6 mois et 5 ans, après la perte des anticorps maternels, lors d'un baiser donné par un adulte porteur^{4,6,7}.

Lors de ce premier contact, le virus pénètre la muqueuse buccale par une brèche cutanéomuqueuse, à la suite d'un contact direct avec des lésions ou sécrétions infectées⁴. Cette porte d'entrée cutanéomuqueuse devient le siège d'une multiplication virale.

La primo-infection est une période de réplication intense durant laquelle les particules virales se propagent le long des nerfs sensitifs pour rejoindre, par voie rétroaxonale, le ganglion sensitif innervant le territoire de la primo-infection, endroit où le virus entrera en phase de latence⁴.

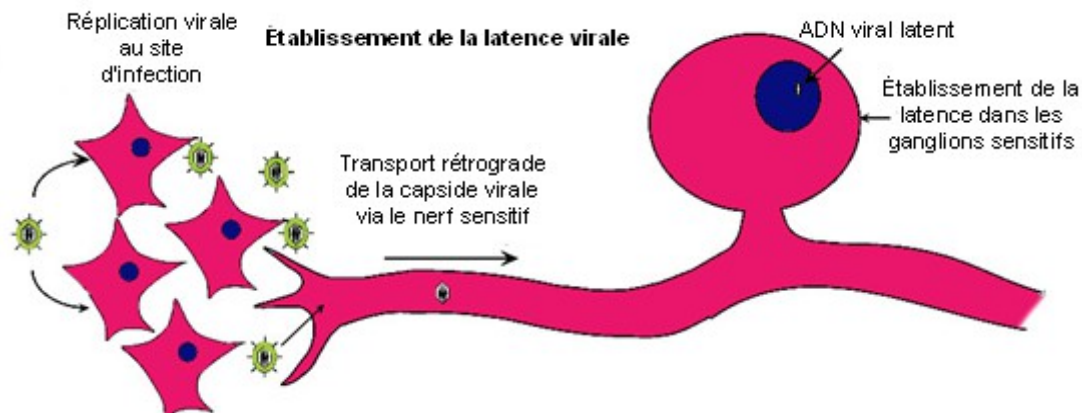


Figure 3 : Établissement de la latence virale³

2. La période de latence

Pour le virus de l'herpès labial, c'est au niveau du ganglion trigéminal (encore appelé ganglion de Gasser), rejoint grâce au nerf trijumeau qu' a lieu cette phase de latence⁴.

Durant cette période, le virus est latent. L'ADN viral ne s'intègre pas au génome de la cellule infectée. La réplication ainsi que l'expression des protéines virales n'ont pas lieu. Le génome n'est réduit qu'à quelques transcrits dits de latence⁴.

Cet état de latence qui commence dix jours après le début de l'infection perdure toute la vie dans l'organisme de l'individu porteur sans pour autant causer de symptômes permanents^{4,7}. En effet, le virus, logé sous forme inactive dans le ganglion de Gasser, peut y rester des années sans être détecté par le système immunitaire et échapper aux médicaments antiviraux qui n'agissent que sur la réplication⁴. Puis, alors que chez certains individus, il reste inactif, chez d'autres, des lésions d'herpès surviennent par poussées à des fréquences et des intensités variables selon chacun⁷. C'est la réactivation de l'infection ganglionnaire latente.

3. La réactivation

À tout moment, pour des raisons mal connues, le virus peut « se réveiller ». Il se réplique à nouveau, migre en sens inverse le long des fibres nerveuses et revient coloniser les cellules épithéliales du territoire cutanéomuqueux où a eu lieu la primo-infection⁴.

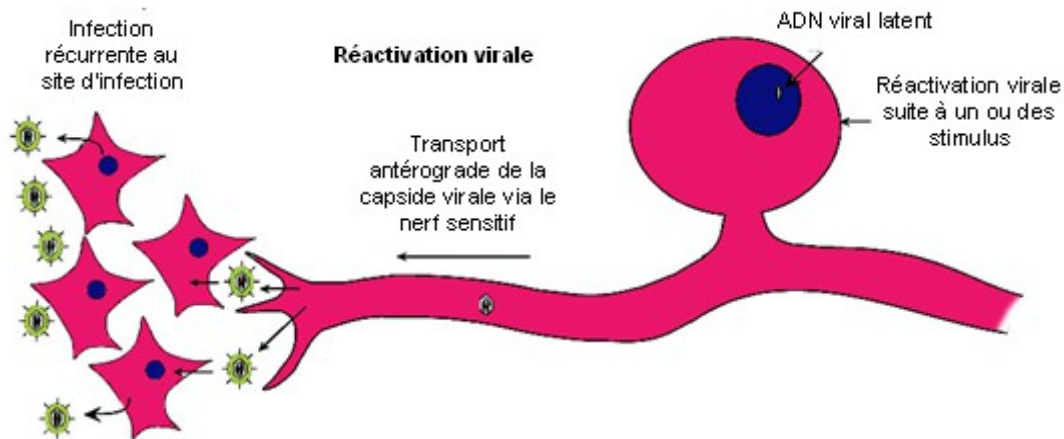


Figure 4 : réactivation virale³

Cette réactivation peut se manifester par une récurrence clinique mais également par une excrétion asymptomatique de virus présents dans les sécrétions buccales.

De nombreux facteurs sont évoqués dans la survenue de ces récurrences notamment^{6,7,9} :

- l'anxiété, le stress, la surcharge émotionnelle et la fatigue,
- le soleil et les rayons ultra-violets,
- la fièvre : la récurrence de l'herpès labial est 3 fois plus fréquente chez les patients fébriles⁶
- des lèvres sèches,
- une maladie infectieuse concomitante (grippe, rhume,...)
- un écart diététique, une mauvaise alimentation
- une perturbation hormonale (grossesse, menstruations)
- un affaiblissement du système immunitaire (VIH, cancer ou provoqué par des médicaments : corticoïdes, immunosuppresseurs)
- un traumatisme physique dans la zone atteinte lors de la primo-infection (soins dentaires, coupure, gerçure)

Déroulement des infections à herpesvirus
(herpein = romper, en grec)

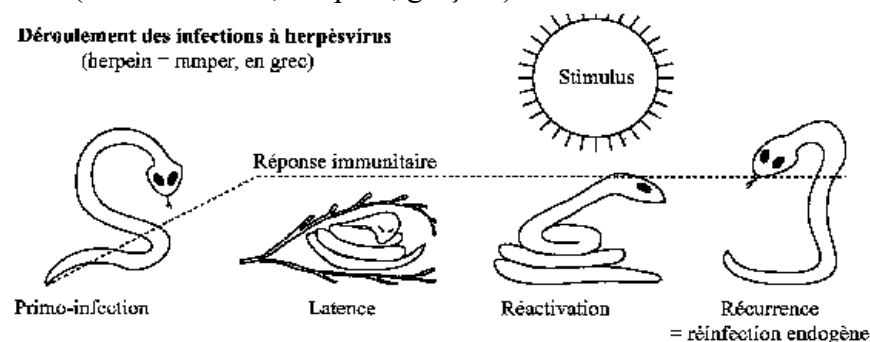


Figure 5 : Déroulement des infections à herpesvirus⁹

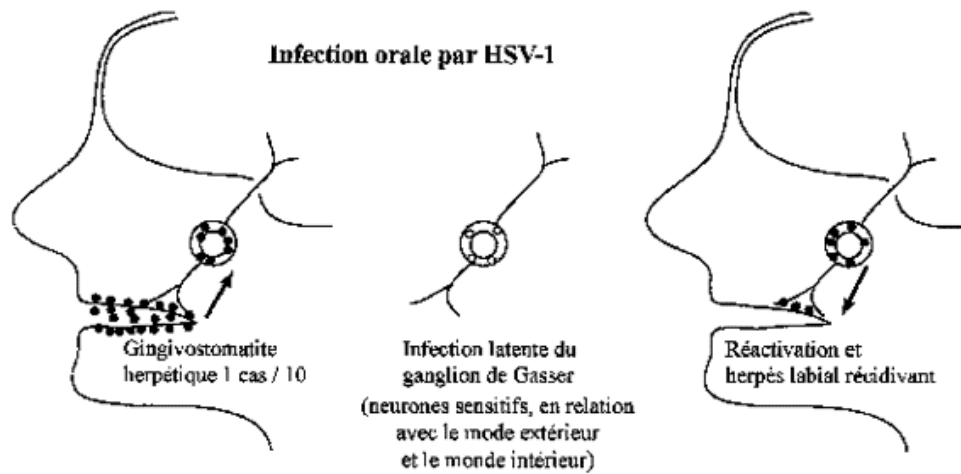


Figure 6 : Infection orale par VHS-1⁹

C. Manifestations cliniques

L'herpès orolabial est une infection fréquente, pouvant donner différentes manifestations, plus ou moins bénignes voire être asymptomatiques. Ces manifestations cliniques varient notamment selon l'âge, le fonctionnement du système immunitaire et l'histoire naturelle de la maladie (primo-infection ou récurrence).

1. La primo-infection

Asymptomatique dans 90% des cas⁴, la primo-infection passe généralement inaperçue. Mais dans certains cas, chez certaines personnes, le plus souvent des enfants, elle est symptomatique et donne une gingivostomatite herpétique avec de multiples ulcérations au niveau de la bouche et des lèvres¹¹.

Après une incubation d'environ 6 jours, elle se caractérise par une muqueuse buccale érythémateuse et œdémateuse parsemée, dans et autour de la cavité buccale sur un tableau de fièvre élevée et de malaise générale. De nombreuses vésicules vont ensuite se rompre pour causer des ulcérations qui formeront des croûtes qui tomberont sans laisser de traces. Ces lésions sont souvent accompagnées d'adénopathies cervicales et d'une dysphagie très douloureuse. Elles peuvent aussi siéger au niveau du pharynx, notamment chez les adolescents^{4,6}.

Le plus souvent, bénigne mais plus sévère et générale dans ses manifestations cliniques que l'herpès récurrent, l'évolution de cette infection primaire symptomatique est généralement spontanément favorable en moins de 15 jours⁴.

Après guérison de cette infection initiale, les lésions vésiculaires ou ulcéreuses peuvent apparaître de temps en temps. La fréquence de ces récurrences est variable d'une personne à l'autre¹⁰. Dans la population française, 80 % hébergent le virus de l'herpès latent mais seulement 20 % présenteront des manifestations cliniques récidivantes⁸.

2. La réactivation

Lorsqu'elle est symptomatique, la réactivation du VHS-1 des ganglions trigémiques se manifeste la plupart du temps par une infection plus restreinte que celle de la primo-infection. En effet, elle se limite, généralement, à un « bouton de fièvre » unilatéral qui se caractérise par un bouquet de vésicules localisé, généralement, sur le bord des lèvres. N'importe quel endroit du corps peut, mais plus rarement, être touché notamment le nez, le bord d'une oreille, le menton, la joue, l'intérieur de la bouche. Les infections du nez, du menton et des joues totalisent cependant moins de 10% de toutes les manifestations orofaciales¹¹.

Les récurrences de l'herpès labial, correspondant à la réactivation du virus, sont déclenchées par un facteur et précédées d'une hyperesthésie localisée au niveau de la récurrence. Ces signes précurseurs qui sont douleur, prurit, chaleur locale avec sensation de cuisson, picotements, peuvent parfois être accompagnés de fatigue et de fièvre. Ils surviennent quelques heures à quelques jours avant l'apparition d'une tâche érythémateuse puis d'un bouquet de vésicules remplies d'un liquide initialement clair puis trouble. La rupture de ces vésicules fait place à des ulcérations contagieuses. Les lésions sèchent ensuite en quelques jours avec l'apparition de croûtes^{4,6}.

Chez les personnes immunocompétentes, la guérison de la poussée d'herpès labial est en général spontanée en 8 à 10 jours⁴.

Comme nous venons de le voir, la réactivation peut-être à l'origine d'une récurrence clinique avec l'apparition d'un bouton de fièvre mais il peut également s'agir d'une récurrence infra-clinique passant inaperçue ou encore d'une excrétion virale asymptomatique salivaire. Dans tous les cas, le risque de transmission existe.

D. Mode de transmission

Le virus de l'herpès est un virus strictement humain. L'homme en est le seul réservoir. Ce dernier est constitué par des sujets infectés abritant les virus dans les ganglions sensitifs, les excréant par intermittence⁴. Le virus de l'herpès est transmis par contact direct avec une personne

infectée.

À cause de la présence de particules virales dans les plaies, la salive et les surfaces buccales, labiales ou péri-orales, la transmission interhumaine se fait principalement par contact étroit entre une brèche cutané-muqueuse et des lésions ou des sécrétions contaminées d'un individu atteint d'une infection primaire ou récidivante active⁶. Elle est possible dès l'apparition des symptômes précurseurs jusqu'au stade de croûtes⁷.

Dans l'herpès labial, les baisers ainsi que les contacts oraux/génitaux sont les voies de transmission les plus rencontrées. Plus rarement, le virus peut également être transmis par des gouttelettes respiratoires⁶.

L'auto-contamination est également un moyen de transmission. Le virus se propage des lèvres à d'autres parties du corps (muqueuses oculaire, buccale, nasale, génital) par l'intermédiaire de la main. Il arrive aussi que des lésions apparaissent sur les doigts⁷.

Même si le virus de l'herpès est un virus enveloppé donc fragile qui ne persiste que peu de temps dans le milieu extérieur, la contamination par l'intermédiaire d'objets souillés (serviettes,...) est possible mais s'avère très faible.

Comme évoqué précédemment, certaines phases de réactivation peuvent se produire sans provoquer de lésions sur les lèvres. L'excrétion virale du virus est donc asymptomatique. Dans cette situation, même en l'absence de lésions chez la personne infectée, la transmission est possible.

E. Diagnostic

Le diagnostic de l'herpès labial est essentiellement clinique. Il est basé sur l'aspect et la localisation des lésions ainsi que leur caractère récurrent¹³.

Les examens biologiques sont effectués uniquement lorsque les lésions sont inhabituelles, atypiques ou devant des complications. Ils sont destinés à isoler le virus sur un prélèvement. Pour le diagnostic biologique, différentes techniques peuvent être mises en œuvre notamment la culture, la recherche d'antigènes, la détection du génome par PCR pour un diagnostic direct ou les sérologies pour un diagnostic indirect¹³.

F. Traitement de l'herpès labial

De nos jours, aucun médicament ne peut éradiquer les virus latents de l'organisme. En effet, les médicaments antiviraux sont virostatiques, ils n'agissent que sur les virus en phase de réplication en inhibant l'ADN-polymérase virale qui assure la réplication des chaînes d'ADN.

Dans la prise en charge de l'herpès labial, instauré pendant les poussées, le traitement vise à limiter l'intensité des symptômes, réduire le délai de guérison ainsi que la durée de contagiosité. D'autre part, en prévention, il est mis en place dans le but de diminuer le nombre de récurrences et d'excrétion virale asymptomatique et, par conséquent, le risque de contagion¹⁴.

1. Recommandations de prise en charge chez le patient immunocompétent

Le traitement des infections à HSV orofaciales est multimodal¹¹. En plus du traitement virostatique, un antiseptique local (Chlorhexidine®, Daseptyl®, Septivon®,...) afin d'éviter le risque de surinfection et un antalgique (paracétamol® ou paracétamol/codéine®) permettant de soulager la douleur, peuvent être utilisés.

La prise en charge varie selon les particularités cliniques de l'infection : primo-infection ou récurrence.

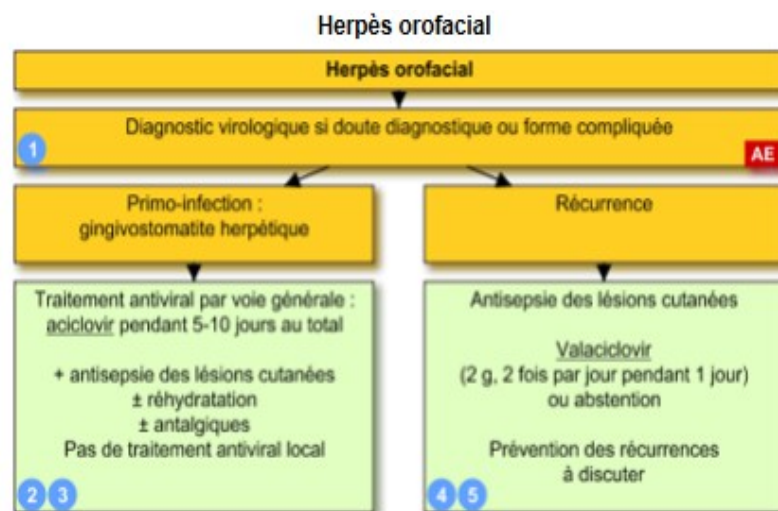


Figure 7 : Prise en charge de l'herpès orofacial (selon Vidal recos)¹⁵

Pour la primo-infection, l'objectif de la prise en charge médicamenteuse est de réduire la durée d'évolution de l'éruption, des signes généraux et de la douleur¹⁶.

Le traitement de la primo-infection herpétique repose sur l'administration per os d'aciclovir chez l'adulte et l'enfant de plus de 2 ans en utilisant la suspension buvable avant l'âge de 6 ans à raison de 200 mg 5 fois par jour pendant 5 à 10 jours^{13,15}. Chez l'enfant de moins de 2 ans, ou lorsque la voie orale est impossible, la voie intraveineuse est utilisée à la dose de 5mg/kg ou 250 mg/m² chez les enfants de 3 mois à 2 ans toutes les 8 heures¹⁵.

Ce traitement de premier choix, doit être entrepris le plus tôt possible, dès que le diagnostic clinique est posé.

Lors de ce premier contact avec le virus, la prescription de valaciclovir peut aussi être retrouvée à la posologie de 500 mg 2 fois par jour pendant 10 jours.

Selon la société française de dermatologie, l'utilisation concomitante d'un traitement local n'a pas d'intérêt démontré¹³. En revanche, face à une douleur importante, l'utilisation d'anesthésiques locaux peut être envisagée¹³.

Les traitements antiviraux locaux n'ont pas d'efficacité démontrée dans l'herpès cutanéomuqueux¹⁵.

Pour les récurrences, l'objectif du traitement intermittent est de raccourcir la durée des symptômes lorsqu'il est uniquement pris lors de la survenue de la récurrence ou de réduire la fréquence des récurrences et de l'excrétion virale lors de son administration au long cours¹⁶.

Le traitement des récurrences par voie générale repose sur la prise de valaciclovir à la dose de 2 grammes 2 fois par jour sur une seule journée avec un intervalle de 12 heures (mais jamais moins de 6 heures) entre les 2 prises¹⁵.

Ce traitement ne présente qu'un intérêt lorsqu'il est instauré dans les 24 premières heures d'évolution de la poussée et dans les formes peu sévères¹⁵.

Les traitements locaux passent par une antisepsie ainsi que l'utilisation d'anesthésiques locaux à base de lidocaïne dans les formes hyperalgiques. L'adjonction d'un traitement antiviral local est assez discuté... En effet, pour la société française de dermatologie, ce dernier ne présenterait pas d'intérêt car le bénéfice clinique sur la diminution de la durée, de la douleur ainsi que du délai de guérison n'est pas démontré¹³. D'autres sources^{4,15} stipulent que l'utilisation de topiques antiviraux accélérerait la guérison...

Quant au traitement prophylactique, le valaciclovir (500 mg 1 fois par jour) ou l'aciclovir (400 mg 2 fois par jour) par voie orale peut être instauré pendant 6 à 12 mois pour réduire le nombre de récurrences lorsque le patient présente plus de 6 récurrences par an, non induites par le soleil. Cette fenêtre thérapeutique tous les 6 à 12 mois permet d'évaluer un éventuel changement lié à l'évolution naturelle de la maladie¹⁵.

Pour l'herpès labial induit par le soleil, une photoprotection préventive est recommandée.

2. Les antiviraux oraux

À ce jour, 2 antiviraux oraux, l'aciclovir et le valaciclovir, disposent d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans l'affection de l'herpès labial.

L'aciclovir (Zovirax®, Aciclovir®) est un analogue nucléosidique de la guanosine. Dans la prise en charge de l'herpès labial, il est utilisé par voie locale, par voie orale ou par voie injectable notamment dans les gingivostomatites aiguës.

Dans cette affection, cet analogue nucléosidique est indiqué dans la prévention des infections chez les sujets immunodéprimés ou immunocompétents souffrant d'au moins 6 récurrences par an ainsi qu'en traitement des gingivostomatites aiguës¹⁷.

Pharmacodynamiquement inactif, il doit tout d'abord être phosphorylé en aciclovir triphosphate pour inhiber la synthèse de l'ADN viral^{6,17}.

Cette phosphorylation se fait en 3 étapes. La première est assurée par une enzyme virale spécifique, uniquement présente dans les cellules infectées. C'est la thymidine-kinase. Le composé obtenu, l'aciclovir monophosphate, est ensuite transformé en aciclovir di- et tri- phosphate grâce à des kinases cellulaires^{6,17}.

L'aciclovir tri-phosphate étant un inhibiteur compétitif sélectif de l'ADN polymérase virale, entre en compétition avec les nucléosides naturels. Par son incorporation dans l'ADN viral, il bloque l'action de l'ADN-polymérase, stoppe l'élongation de la chaîne d'ADN et, par conséquent, la synthèse de l'ADN viral^{6,17,19}.

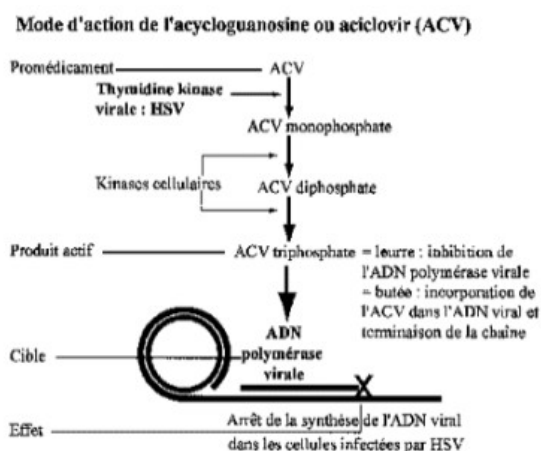


Figure 8 : Mécanisme d'action de l'Aciclovir⁵

La phosphorylation du « pro-médicament » n'étant amorcée que par la thymidine-kinase, n'est possible que dans les cellules infectées. L'aciclovir n'interfère donc pas avec le métabolisme des cellules saines¹⁷.

D'autre part, par voie orale, cet antiviral présente une biodisponibilité assez faible (20%) et une demi-vie plasmatique courte d'environ 3 heures qui nécessitent 5 prises par jour¹⁸.

Quant au valaciclovir (Zélitrex®, Valaciclovir®), c'est une prodrogue de l'aciclovir. Cet antiviral indiqué chez l'adulte et l'adolescent de plus de 12 ans est quasiment complètement métabolisé en aciclovir et en valine probablement sous l'effet de « l'hydrolase valaciclovir » retrouvée dans le foie humain²¹.

Grâce à sa meilleure disponibilité (3,3 à 5,5 fois supérieure à celle de l'aciclovir), la posologie est réduite à 2 prises quotidiennes pour une même efficacité^{4,14}.

3. Les antiviraux locaux

Dans la prise en charge de l'herpès labial, on retrouve principalement 2 antiviraux locaux : l'aciclovir ou l'Ibécitabine. Bien que fréquemment rencontrés, leur efficacité est souvent remise en cause^{4,14}.

L'aciclovir (Zovirax 5% crème dermique et génériques) agirait lors des récurrences, en diminuant le délai de guérison à condition que le traitement soit initié dans les 12 premières heures qui suivent les prodromes. La posologie est de 5 applications par jour (10 jours maximum)^{14,15}.

L'Ibécitabine (Cuterpès® 1% gel) est indiqué uniquement dans le traitement de l'herpès labial localisé. Son efficacité clinique n'est pas démontrée. Il est recommandé d'appliquer le plus précocement possible cet antiviral 3 à 10 fois par jour sans dépasser 10 jours¹⁴.

4. La résistance à l'aciclovir

Comme pour beaucoup d'anti-infectieux, la résistance des virus de l'herpès simplex aux antiviraux a été décrite. Cette dernière conduit à un échec thérapeutique qui se traduit notamment par la persistance, la dissémination ou l'ulcération des lésions mais aussi par des œsophagites, des pneumonies, des encéphalites,..., qui peuvent être fatales²².

La résistance des virus VHS à l'aciclovir et sa prodrogue, le valaciclovir, est une préoccupation qui concerne principalement les patients immunodéprimés. En effet, dans ce type de

population, la prévalence est largement supérieure et varie entre 3,5 et 10% alors qu'elle n'excède pas 0,5% chez les individus immunocompétents²².

Cette résistance est, dans 95% des cas, liée à une mutation localisée sur un gène codant la thymidine-kinase nécessaire à la première étape de phosphorylation de l'aciclovir. Dans les 5 % restant, c'est une mutation du gène codant pour l'ADN-polymérase qui en est la cause^{6,22}.

L'alternative thérapeutique à ces infections résistantes à l'aciclovir repose sur l'utilisation du Foscarnet® lorsque les souches virales résistantes sont dépourvues de thymidine-kinase. Cette spécialité à base de Foscavir, réservée à l'usage hospitalier, n'est disponible que par voie intraveineuse. Elle inhibe l'ADN-polymérase virale, sans activation préalable par la thymidine-kinase¹⁴.

Ce problème majeur de résistance notamment chez les patients immunodéprimés augmente le besoin de nouveaux composés anti-herpétiques efficaces contre les souches virales résistantes aux agents antiviraux actuels. Parmi ces agents alternatifs, les huiles essentielles ont fait l'objet de nombreuses études ces dernières années.

PARTIE II : Généralités sur les huiles essentielles

I. Introduction

A. Définition

Le terme « huile essentielle » (HE) est défini à la fois par la Pharmacopée Européenne pour l'usage pharmaceutique et l'organisation internationale de normalisation (ISO) pour les usages aromatiques et alimentaires.

1. La Pharmacopée Européenne

Selon la Pharmacopée, une « huile essentielle » est *« un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition »*²³.

De plus, l'HE définie par la Pharmacopée *« ne doit être ni partiellement, ni totalement déterpénée ou dé-sesquiterpénée. Elle ne doit pas être rectifiée par distillation fractionnée, ce qui serait susceptible de modifier sa composition ». « Elle ne doit pas être modifiée par suppression, ni partielle, ni totale, de l'un ou de plusieurs de ses constituants »*²³.

2. La norme ISO 9235

Selon la norme ISO 9235, l'huile essentielle *Matières premières aromatiques d'origine naturelle - vocabulaire*, une HE est définie comme un *« produit odorant obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de fruits de Citrus (agrumes), soit par distillation sèche »*²⁴.

L'HE *« peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (par exemple: filtration, décantation, centrifugation) »*²⁴.

B. La réglementation française dans le milieu pharmaceutique

En France, il n'existe pas une réglementation unique applicable à l'ensemble des huiles essentielles. En effet, selon leur utilisation, elles sont soumises à la réglementation des produits cosmétiques, alimentaires, des biocides ou des médicaments à base de plantes.

Dans le domaine pharmaceutique, il n'existe pas de réglementation particulière. En effet, les spécialités pharmaceutiques contenant des huiles essentielles répondent à la définition des médicaments à base de plantes : « *les médicaments à base de plantes sont des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue(s) végétale(s)* »²⁵.

Le Code de la santé publique stipule que ces HE utilisées à des fins thérapeutiques peuvent être uniquement soumises, au même titre que les autres médicaments à base de plantes, à un simple enregistrement auprès de l'Agence nationale du médicament et des produits de santé (ANSM) sans autorisation de mise sur le marché (AMM)²⁶.

Les HE n'appartenant pas au monopole pharmaceutique sont en vente libre et distribuées par différents circuits (pharmacie,...).

En raison de leur toxicité, certaines Huiles essentielles font l'objet de restrictions de délivrance et d'autorisation de vente mentionnées dans le Code de la Santé Publique (article L. 4211-1 6°) : « *la vente au détail et toute dispensation au public des huiles essentielles dont la liste est fixée par décret, ainsi que leurs dilutions et préparations ne constituant ni des produits cosmétiques, ni des produits à usage ménager, ni des denrées ou boissons alimentaires appartiennent au monopole pharmaceutique* »²⁵.

Dans le décret relatif (art.D. 4211-13 du Code de la Santé Publique) à cette liste d'HE soumises à ce monopole pharmaceutique, une quinzaine d'huiles essentielles sont énumérées. On retrouve^{25,29} :

- la grande absinthe : *Artemisia absinthum* L
- la petite absinthe : *Artemisia pontica* L
- armoise commune : *Artemisia vulgaris* L.
- armoise blanche : *Artemisia herba alba* Asso
- armoise arborescente : *Artemisia arborescens* L.
- chénopode vermifuge : *Chenopodium ambrosioides* L. et *Chenopodium*

anthelminthicum L.

- hysope officinale : *Hyssopus officinalis L*
- moutarde jonciforme : *Brassica juncea [L] Czernj. Et Cosson*
- rue : *Ruta graveolens L.*
- sabine : *Juniperus sabina L.*
- sassafras : *Sassafras albidum [Nutt] Nees*
- sauge officinale : *Salvia officinalis L.*
- tanaïsie : *Tanacetum vulgare L.*
- thuya : *Thuya plicata Donn ex D. Don*
- thuya du Canada ou cèdre blanc : *Thuya occidentalis L.* et cèdre de Corée : *Thuya Koraenensis Nakai*, dit « cèdre feuille ».

Les HE délivrées uniquement dans un circuit pharmaceutique doivent être conformes à la qualité décrite dans la Pharmacopée (Européenne ou française). La dénomination scientifique exacte, éventuellement le chémotype et sa composition chimique doivent être indiqués.

II. Les méthodes d'obtention des huiles essentielles pharmaceutiques

Une HE est issue d'une plante aromatique. Elle est rarement extraite de la plante entière mais plutôt d'un organe riche en essence odorante comme la fleur, la feuille, l'écorce, la racine, la graine. En fonction de l'organe producteur, le nom de l'HE diffère.

exemple : l'oranger amer : *Citrus aurantium var. Amara* :

feuille → HE de petit grain bigaradier

fleur → HE de néroli

zeste → HE d'orange amer

Il existe différents procédés d'extraction. Le choix de la technique dépend principalement de la matière première végétale et conditionne les caractéristiques de l'HE notamment de sa viscosité, sa couleur, sa solubilité, sa volatilité, sa composition et son mode d'utilisation²⁵.

Les huiles essentielles utilisées en aromathérapie ne peuvent être obtenues que par deux techniques. En effet, seules l'expression à froid et la distillation par entraînement à la vapeur d'eau sont autorisées par la Pharmacopée française²⁷.

A. L' expression mécanique à froid

Ce procédé mécanique d'extraction est réalisé à température ambiante. C'est la méthode la plus simple mais aussi la plus limitée puisqu'elle ne s'applique que dans le cas particulier des *Citrus* (citron, orange, bergamote, mandarine,...)^{25,27}.

Elle consiste à briser mécaniquement les « poches à essence » des zestes frais d'agrumes. Le produit obtenu appelé « essence » reste identique à celui produit par la plante. Aucune action, ni la chaleur, ni de modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur d'eau n'a eu lieu^{25,27}.

B. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Ce procédé de distillation est le plus courant et convient à la majorité des plantes. Son but est d'entraîner, grâce à la vapeur d'eau, les constituants volatils de la plante aromatique.

Cette plante aromatique, entière ou broyée totalement est traversée par de la vapeur d'eau produite par le chauffage de l'eau source jusqu'à frémissement. La vapeur d'eau brise les cellules à essence et entraîne les molécules aromatiques. L'eau et les molécules aromatiques à l'état de vapeur traversent le tube réfrigérant où avec le choc thermique, la vapeur chargée d'essence de plante redevient liquide. L'HE et l'eau de distillation aromatique sont recueillies dans un essencier où elles se séparent par différence de densité après décantation. L'HE ayant une densité inférieure à celle de l'eau, flotte à la surface de l'hydrolat^{25,27,28}.

L'hydrolat est moins riche en molécules aromatiques, beaucoup plus doux. Il est davantage utilisé pour la beauté, les zones très sensibles²⁸.

La durée de distillation est variable selon la plante. Il est important de respecter ce temps afin de recueillir le « *totum* » c'est à dire l'ensemble des fractions de « tête », de « cœur » ou de « queue » des molécules aromatiques pour obtenir une HE de bonne qualité²⁷.

Une distillation incomplète produit des HE « rectifiées » qui concentrent les composés les plus volatiles. Elles sont décolorées, avec une odeur moins fine mais aussi avec des propriétés thérapeutiques diminuées et un risque d'effets indésirables plus important, deux points primordiaux en thérapeutique²⁷.

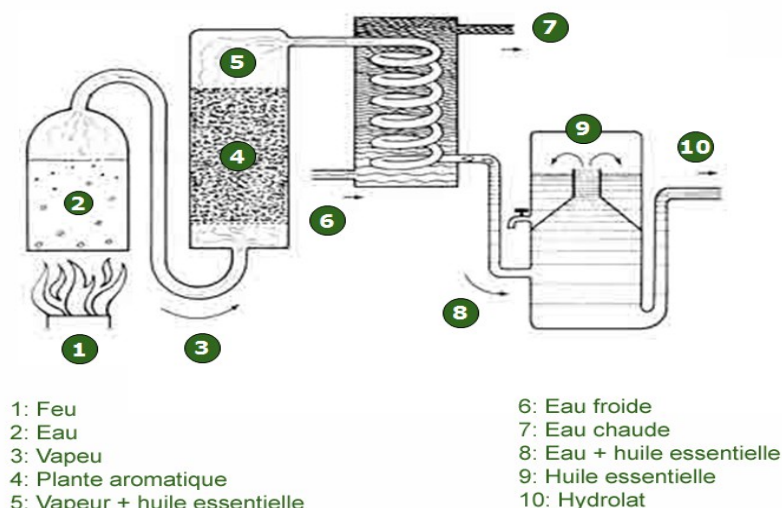


Figure 9 : distillation d'une huile essentielle²⁷

Pour l'assurance d'une bonne qualité, l' HE ne doit pas avoir subi de traitements ultérieurs ; elle doit être pure, naturelle et intégrale²⁷.

III. Les critères de qualité des huiles essentielles

D'après Dominique Baudoux, pharmacien aromatalogue, « seul le respect de l'ensemble des critères de qualité garantira l'authenticité des HE, leur relative innocuité et leur pleine efficacité thérapeutique »²⁷. Par conséquent, les critères de qualité doivent être établis en fonction de leur impact sur la composition biochimique idéale et intégrale des essences telles que la nature les a conçues²⁷.

A. La matière première végétale

1. La dénomination botanique

Les HE utilisées à des fins thérapeutiques doivent impérativement provenir de plantes aromatiques botaniquement certifiées. Elles sont identifiées par le genre et l'espèce. Pour une nomenclature encore plus précise, sous-espèce, variété et hybride peuvent venir compléter ces deux noms exprimés en latin, langue universelle en botanique²⁷. Cette appellation latine permet de définir précisément une espèce botanique sans confusion possible. La citer uniquement par son nom commun français, peut engendrer des ambiguïtés susceptibles d'entraîner l'inefficacité voire la toxicité des HE.

En effet, pour un même genre, deux espèces ou sous-espèces de plantes très voisines peuvent produire des HE de composition chimique différente²⁵.

exemples:

- espèce : lavande vraie : *Lavandula angustifolia* et lavande aspic : *Lavandula latifolia*
- sous-espèce : bergamote : *Citrus aurantium ssp bergamia* et orange amère : *Citrus aurantium ssp aurantium*

Dans la majorité des cas, chaque espèce présente un profil chimique particulier mais il arrive que deux espèces soient sources d'HE de compositions très proches. C'est le cas par exemple de l'anis vert (*Pimpinella anisum*) et de la badiane de chine (*Illicium verum*). À contrario, des HE d'espèces complètement différentes peuvent présenter des compositions chimiques proches²⁵.

De plus, il peut exister des variétés donnant des HE de compositions différentes. Ce cas de figure est retrouvé avec l'espèce basilic (*Ocimum basilicum*) qui se subdivise en de nombreuses variétés difficiles à différencier (*O. basilicum* var. *basilicum*, *O. basilicum* var. *difforme*, *O. basilicum* var. *Glabatrum*) qui ont une morphologie et une chimie très hétérogènes²⁵.

2. Les conditions de culture et de récolte de la plante

À cette certification botanique, pour une qualité d'HE irréprochable viennent s'ajouter les conditions de production et de récolte de la plante. En effet, une plante aromatique fournit des HE totalement différentes en fonction de son lieu de récolte ou d'origine. L'état sauvage ou les conditions de culture, ainsi que les facteurs environnementaux jouent un rôle non négligeable sur les aspects qualitatif et quantitatif de l'essence produite par la plante puisqu'il existe une relation intime entre la structure chimique et l'activité thérapeutique^{25,27}.

Parmi ces facteurs influençant la qualité de l'essence, on retrouve^{25,27} :

- le **mode de culture** avec le caractère sauvage ou cultivé de la plante,
- le **biotope** qui correspond au lieu où la plante s'est développée, en s'adaptant aux paramètres environnementaux afin de survivre.

La nature et le degré de fertilisation du sol, l'altitude, les conditions climatiques et les populations végétales avoisinantes qui caractérisent ce biotope sont des éléments qui influencent l'essence fabriquée par la plante.

Deux essences issues de deux biotopes différents n'ont pas la même

composition chimique car, selon le sol, le climat, l'environnement où elle se développe, une même plante peut fabriquer des essences différentes.

- le **moment de récolte** car au cours du temps (saisons, mois, journées), il y a une accumulation plus ou moins importante de certains métabolites dans la plante aromatique. Cette récolte doit avoir lieu au stade végétatif où la plante est la plus riche en essence. Ce moment est variable d'une plante à l'autre. On retrouve ici la notion de chronobiologie.

À ces conditions de culture et de récolte, viennent s'ajouter les conditions de séchage, de fragmentation et de stockage, également déterminantes pour la qualité des végétaux²⁵.

Pour assurer une bonne conservation, il est important d'éviter la dégradation de certains constituants et la prolifération microbienne. Pour cela, la distillation immédiate ou le séchage sont les deux procédés utilisés²⁵.

Ainsi, lors de l'utilisation d'une HE, il est important de connaître le maximum de renseignements concernant l'origine géographique ainsi que les conditions environnementales d'obtention et de production.

3. La partie de la plante utilisée

La précision de l'organe végétal producteur de l'essence rentre également dans les critères de qualité dans la mesure où tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une même HE. Cependant, la composition qualitative et quantitative de cette dernière peut varier selon sa localisation dans la plante. Les diverses parties d'une même plante : fleur, feuille et plus rarement, écorce, racine, bois, rhizome, fruits secs, graines... peuvent donc produire des essences différentes. C'est la sélection de la partie de la plante qui détient l'activité recherchée^{25,27}.

4. Le chémotype

Comme nous l'avons vu précédemment, une même plante aromatique, définie botaniquement, synthétise une essence biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développe. C'est un fait qui met en évidence la notion de chémotype qui permet de déterminer la (ou les) molécule(s) biochimiquement active(s) et majoritaire(s).

Cette notion permettant de connaître, avant tout, le niveau de qualité des HE, est très importante. En effet, deux chémotypes sont biochimiquement dissemblables. Ils présentent donc des activités thérapeutiques différentes et des toxicités variables pouvant entraîner des échecs thérapeutiques et la toxicité de certaines HE. Il est donc indispensable, pour certaines HE, de bien préciser le chémotype qui peut conditionner l'activité ainsi que la toxicité^{25,27}.

Cette notion de chémotype présente un grand bénéfice pour deux raisons par le fait que pour les HE chémotypées (HECT) il y a une augmentation de la reproductibilité de l'huile et une diminution des risques cytotoxiques grâce à la maîtrise biochimique²⁷.

C'est le cas par exemple pour le thym, *Thymus vulgaris* pour lequel on distingue au moins 7 chémotypes différents en fonction du constituant principal de l'HE avec l' α -terpinéol, le carvacrol, le cinéole, le géraniol, l'hydrate de sabinène, le linalol, le thymol...²⁵

Lors de la détermination du chémotype, la qualité de l'HE peut être vérifiée. Pour qu'elle soit optimale, une HE doit être²⁷ :

- 100% naturelle : elle n'est pas dénaturée par des molécules de synthèse chimique,
- 100% pure : elle n'est pas mélangée avec d'autres HE et,
- 100% intégrale : la totalité des molécules contenues dans la matière végétale distillée est recueillie

B. Les huiles essentielles

1. La méthode d'extraction utilisée

Comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, en thérapeutique, seulement deux méthodes d'extraction sont admises en aromathérapie : l'expression à froid limitée aux zestes d'agrumes et la distillation par entraînement à la vapeur d'eau²⁷.

Le choix de la technique est importante en terme de qualité car elle permet de préserver l'activité des composants et conditionne les caractéristiques physico-chimiques de l'HE notamment sa viscosité, sa couleur, sa solubilité, sa volatilité,...²⁵.

2. Les caractères physico-chimiques

Les HE sont composées de molécules à squelette carboné avec le plus souvent un nombre de carbone de 10 ou de 15. Il peut cependant osciller de 5 à 22²⁵.

Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée²⁹.

A l'exception de quelques HE comme celles de myrrhe, de Santal, de houblon,... qui sont plutôt visqueuses et celles de roses et de camphrier qui peuvent être cristallisées, la plupart d'entre elles sont liquides à température ambiante^{27,29}.

Par opposition aux huiles végétales, elles présentent une propriété volatile qui permet d'expliquer leur caractère odorant et un mode d'obtention par entraînement à la vapeur d'eau²⁹.

De caractère liposoluble et de densité presque toujours inférieure à 1 (sauf quelques exceptions comme l'HE de clou de girofle), elles sont très peu solubles dans l'eau mais solubles dans un corps gras, dans l'alcool ou dans les solvants organiques usuels^{27,29}.

Elles présentent également un caractère oxydable qui, pour une bonne conservation, entraîne un stockage à des températures comprises entre 5 et 40°C, à l'abri de la lumière dans des flacons en verre coloré ou en aluminium et une fermeture étanche afin d'éviter la volatilisation et l'appauvrissement en molécule active^{27,29}.

Avec des couleurs très variées, les HE représentent la totalité du spectre : le bleu de l'HE de tanaïsie, le rouge de quelques HE de sarriette, le vert pâle de la bergamote en passant par le jaune de la plupart des HE^{27,29}.

IV. Utilisation des huiles essentielles

Bien que d'origine naturelle, les HE peuvent engendrer des effets indésirables, potentiellement graves. Ces effets peuvent être évités par le respect de règles de bon usage et des précautions qui s'imposent.

A. Les principales voies d'administration

En aromathérapie, les trois principales voies d'administration des huiles essentielles sont : les voies orale, cutanée et respiratoire. Le choix dépend de la composition chimique de l'huile essentielle, du but thérapeutique et de la sensibilité de la personne à traiter³⁰.

1. Les voies orale et sublinguale

Contrairement aux idées reçues, l'utilisation des HE par voie orale est possible pour beaucoup d'entre elles.

Bien que facile, ce mode d'absorption présente toutefois un risque de toxicité plus important qu'avec les autres modes d'administration. Il est donc fortement recommandé d'être vigilant sur les doses administrées, les effets secondaires et la toxicité potentielle des HE²³.

En raison de leur goût prononcé et du risque d'irritation des muqueuses oro-pharyngées et gastro-intestinale, elles ne doivent jamais être administrées pures. N'étant pas miscibles à l'eau, elles seront déposées sur un support neutre sans activité thérapeutique tel qu'un morceau de sucre, une cuillère à café de miel, de la mie de pain, un comprimé neutre ou dans un liquide médicamenteux de titre alcoolique suffisant comme la teinture mère ou le macérat glyciné^{30,35}.

Malgré cette précaution d'emploi, les molécules aromatiques présentent dans les HE peuvent être responsables d'une irritation de la muqueuse digestive. Dans ce cas, le recours aux formes gélules ou capsules disponibles en pharmacie est conseillé.

À l'exception des essences de Citrus qui peuvent être administrées plus tôt, les HE seront prises au moment des repas à raison d'une à deux gouttes par jour pour les enfants de plus de 7 ans et d'une à deux gouttes trois fois par jour pour l'adulte^{31,33}. La durée du traitement sera limitée à 3 semaines maximum³¹.

Face à une forme aiguë, la posologie peut atteindre jusqu'à 12 gouttes pour l'adulte ou 6 gouttes pour l'enfant par 24 heures mais sur une période très courte de 8 à 10 jours³².

En traitement de fond, une fenêtre thérapeutique est conseillée, les HE seront administrées 5 jours sur 7 ou 3 semaines sur 4³².

La voie sublinguale permet une absorption rapide et une éviction du passage hépatique grâce à l'importante vascularisation sous la langue. Elle limite le risque d'irritation du tube digestif, est très efficace mais n'est utilisable que pour les HE non irritantes^{23,34}.

Cet endroit, richement vascularisé, permet aux molécules aromatiques d'atteindre directement la circulation générale en évitant l'effet de premier passage hépatique, ce qui leur confère une très bonne biodisponibilité²³.

Sous cette forme d'administration, le goût prononcé des HE peut provoquer des nausées. Afin de les éviter, il est conseillé de prendre l'HE de préférence avant ou au milieu d'un repas²³.

La face supérieure de la langue, sera quant à elle, efficace pour le traitement des infections sinusiennes et nasales³⁴.

2. La voie cutanée

La plupart des HE peuvent être utilisées par voie cutanée en massage, en frictions ou encore dans le bain.

Ce mode d'administration le plus fréquent est à privilégier. En effet, avec un risque moindre que par la voie orale, il permet aux molécules aromatiques de ne pas atteindre les voies digestives (elles ne sont pas altérées par la digestion) et de ne pas subir l'effet de premier passage hépatique³⁵. Elle est utilisée pour agir localement mais aussi de manière systémique. En effet, les HE étant lipophiles, pénètrent les couches épidermiques pour atteindre la circulation sanguine^{23,30}.

Cette voie d'action rapide et prolongée, est utilisée pour le traitement des affections cutanées localisées superficielles et semi-profondes (articulations, muscles,...) et permet d'agir sur les organes et les tissus adjacents³⁰.

L'application de l'HE dépend de l'organe à traiter car elle se fait en regard du symptôme. Ainsi, pour les dermatoses comme l'eczéma, acné, psoriasis, brûlures,..., elle s'applique directement sur le trouble cutané : sur les tempes pour une migraine, sur le thorax et le dos pour soigner une bronchite...²⁷.

En massage ou en friction, les HE peuvent être employées pures, en petite quantité, notamment pour des pathologies aiguës et à l'unique condition qu'elles présentent une innocuité absolue²³. La posologie est de 2 gouttes pour les nourrissons et les enfants de moins de 5 ans, 4 gouttes chez les enfants de 6 à 10 ans et 7 gouttes au-delà de 10 ans à la fréquence de 3 à 5 fois par jour pendant 10 à 15 jours³².

Lors de traitement de maladie chronique par les HE, les doses sont divisées par deux et des fenêtres thérapeutiques sont appliquées (5 jours sur 7 ou 3 semaines par mois)³².

Bien que les réactions cutanées restent rares, la dilution dans un support non aqueux (huile végétale, crème hydratante,...) reste la meilleure solution pour éviter les risques d'irritation notamment chez les nourrissons, enfants, patients à peau sensible et en traitement de fond. Il en est de même pour les HE dermocaustiques et irritantes (phénolées et à aldéhydes) qui, elles, nécessitent obligatoirement une dilution avant d'être utilisées³⁰.

Pour la dilution, son degré est variable, il dépend de l'action recherchée, du type de peau, du lieu d'application mais aussi du caractère irritant ou dermocaustique de l'HE.

Dilution des HE	Action
1 %	Dermocosmétique
3 %	Réparatrice tégumentaire
5 %	Sur le système nerveux, gestion du stress, bien-être
7 %	Circulatoire, sanguine et lymphatique
10 %	Musculaire, tendineuse et articulaire systémique pour les peaux sensibles solution pour les HE irritantes
15 %	Sport et compétition
20%	Systémique pour les peaux sensibles (bébés) solution pour les HE dermocaustiques (phénols et aldéhydes)
30 %	Locale très puissante, cellulolytique, antiparasitaire
Jusqu'à 99%	Si le thérapeute juge l'HE au dessus de tout soupçon

Tableau 1 : les taux de dilution des HE^{23,31}

L'excipient le plus utilisé est l'huile végétale. Extraites de graines, de noix ou encore de fleurs et nourrissantes pour la peau, les huiles végétales ont des propriétés qui leur sont propres et sont choisies en fonction de l'effet recherché.

Huile Végétale	Actions principales
Amande douce	Apaisante, adoucissante
Argan	protectrice cutanée (anti-ride)
Calendula	Anti-inflammatoire, cicatrisante et apaisante
Calophylle	Anti-inflammatoire, antalgique et tonique circulatoire
Jojoba	Équilibrante de la sécrétion de sébum (peaux sèches et grasses), nourrissante et protectrice
Macadamia	Tonique de la microcirculation sanguine, lymphatique et nourrissante
Noisette	Équilibrante de la sécrétion de sébum, astringente (peux grasses) et nourrissante
Rose musquée	Nourrissante, cicatrisante et régénérante

Figure : Exemples d'huiles végétales et leurs propriétés^{30,32}

En application cutanée, il faudra également rester vigilants avec les HE d'agrumes et riches en coumarines et apparentés, photosensibilisantes, qui ne doivent pas être appliquées avant une exposition au soleil.

Le bain aromatique est intéressant car la chaleur de l'eau provoque une accélération de la micro-circulation, ce qui permet une diffusion plus rapide et plus efficace des HE²³. Néanmoins, comme pour toute voie d'utilisation, des précautions sont à prendre. Les HE n'étant pas miscibles à l'eau, il est indispensable de les dissoudre dans 4 fois le dispersant qui peut être une base neutre pour le bain, de l'huile végétale, du lait, du savon liquide, du shampoing pour faciliter leur dispersion dans l'eau chaude du bain³⁷. Si les HE étaient utilisées pures dans le bain, elles flotteraient à la surface de l'eau et pourraient engendrer des irritations cutanées voire des brûlures³¹.

Chez l'adulte, on conseillera 30 gouttes d'HE dans le dispersant et verser le mélange sous le jet du robinet. Pour l'enfant de plus de 3 ans, on se limitera à 10 gouttes d'HE dans une base neutre³¹.

3. La voie respiratoire

De part le caractère très volatile des molécules aromatiques, les HE peuvent être administrées par voie respiratoire notamment en cas d'affections respiratoire, ORL ou broncho-pulmonaire et pour la détente. De cette manière, les HE peuvent être absorbées principalement par inhalation (sèche ou humide) et diffusion.

L'inhalation sèche consiste à respirer profondément quelques gouttes d'HE déposées sur un mouchoir, à même la peau (poignets par exemple), un stick inhalateur imbibé d'HE (prêt à l'emploi ou un stick vierge imprégné d'une HE choisie) ou simplement à partir d'un flacon²³.

L'inhalation humide se fait à l'aide d'un inhalateur (ou d'un bol, la tête recouverte d'une serviette) dans lequel sont mises en contact 5 gouttes d'HE mélangée avec de l'eau chaude, mais non bouillante. Les vapeurs dégagées sont inhalées pendant environ 10 minutes 3 fois par jour²³.

Certaines HE peuvent être diffusées dans l'atmosphère dans le but thérapeutique, d'assainir une pièce mais aussi pour créer une ambiance olfactive. Il existe principalement 4 techniques : le spray, le brûle-parfum, les diffusions électrique et ultrasonique³⁶.

Le spray est à vaporiser aux quatre coins de la pièce. Il présente l'inconvénient de contenir un gaz propulseur souvent composé d'alcool, irritant pour les voies respiratoires.

Le brûle-parfum se compose d'un bougeoir et d'une coupe dans laquelle sont déposées les HE. Cette technique est loin d'être la meilleure puisque, si la chaleur est faible, on obtient peu de diffusion et, si elle est plus élevée, les molécules aromatiques sont dénaturées³⁸.

La diffusion électrique permet une propagation de l'HE utilisée à l'état pur par nébulisation. Les HE ne sont pas chauffées et conservent ainsi toutes leurs vertus. Par cette technique, elles sont

projetées en microparticules qui se libèrent dans l'atmosphère³⁶.

Le diffuseur ultrasonique présente également l'avantage de fonctionner sans chauffage. Ce diffuseur est composé d'un réservoir à eau au fond duquel se trouve une pastille à ultra-sons qui émet des vibrations à très haute fréquence³⁹. Les HE déposées au dessus de l'eau sont dispersées en particules sous forme de brouillard aromatique³⁸. Ce mode de diffusion permet une bonne tolérance des HE inhalées en même temps qu'un air humidifié³⁷.

Dans tous les cas, les HE ne doivent pas être répandues en continu. La posologie conseillée est de quelques gouttes, 10 minutes par heure en ne dépassant pas le total d'une heure de diffusion par jour^{33,36}.

La voie respiratoire, permet une bonne tolérance des HE. Néanmoins, elle nécessite des précautions d'emploi car toutes les HE ne conviennent pas. En effet, elle n'est pas adaptée pour les HE agressives (phénols et aldéhydes) ou neurotoxiques (cétones et lactones). De plus, la diffusion est à éviter en présence de patients asthmatiques ou d'enfants de moins de 7 ans (diffusion en leur absence pendant 10 minutes au maximum et aération avant leur entrée dans la pièce)^{33,36}.

D'autres voies d'administration comme les voies rectale, vaginale, nasale et auriculaire (autour de l'oreille) peuvent également être utilisées en aromathérapie³⁵. En officine, elles sont particulièrement utilisées pour des spécialités pharmaceutiques prêtes à l'emploi.

Pour les affections de la muqueuse buccodentaire (plaies, aphtes, douleurs dentaires, gingivite), des bains de bouche huileux, des solutions ou gels aromatiques peuvent être employés à raison de 3 à 4 applications quotidiennes²⁷.

B. Les précautions d'emploi

L'aromathérapie non dénuée de risques, n'est pas une thérapeutique anodine. Pour une utilisation efficace et sans risque majeur, des précautions d'emploi s'imposent. Le Pharmacien doit s'assurer du respect des règles suivantes :

- Par principe de précaution, les HE sont contre-indiquées (sauf exception) aux femmes enceintes ou allaitantes, chez les nourrissons de moins de 30 mois et chez les patients allergiques ou asthmatiques. Elles sont également déconseillées chez les patients épileptiques et par voie interne chez les enfants de moins de 7 ans^{31,33}.
- Les HE ne doivent pas être injectées par voie intraveineuse ou intramusculaire^{33,40}.

- La voie oculaire est également contre-indiquée. Il est recommandé de bien se laver les mains après utilisation d'une HE afin d'éviter un éventuel contact avec l'œil. En cas d'accident, l'œil doit être rincé immédiatement avec de l'huile végétale (huile d'olive) puis avec de l'eau³¹.
- les HE ne sont jamais appliquées pures sur les muqueuses (nasales, vaginale, rectale) ou dans le conduit auditif^{31,33}.
- Ne pas diffuser les HE en continu ou en présence d'un enfant de moins de 7 ans ou une personne asthmatique³³
- Certaines HE photosensibilisantes (citrus notamment) ne doivent pas être utilisées avant une exposition solaire car la sensibilité aux UV est augmentée. Elles peuvent provoquer l'apparition de taches pigmentées sur la peau⁴⁰.
- Les HE dermocaustiques (riches en phénols) et irritantes (riches en aldéhydes) ne doivent pas être utilisées à l'état pur sur la peau⁴⁰
- Pour l'usage cutané, il est utile d'effectuer un test de tolérance cutanée en appliquant une goutte d'HE au niveau du pli du coude et attendre 24 heures afin de s'assurer qu'aucune réaction ne se produit³³.
- Respecter strictement les voies d'administration, les posologies et les contre-indications propres à chaque HE^{31,33}
- Pour une bonne conservation, les HE sont stockées dans un flacon coloré bien fermé (car elles sont volatiles) à une température comprise entre 5 et 40°C⁴⁰
- ne pas laisser les flacons à la portée des enfants³³
- sélectionner des HE chémotypées de qualité irréprochable afin de garantir efficacité et tolérance (100% pures, naturelles et intégrales voire biologiques)^{33,40}

V. Les composants chimiques des huiles essentielles

À l'inverse d'un médicament, qui renferme le plus souvent une seule molécule pour un seul usage, une HE est constituée de nombreuses molécules diverses qui peuvent se trouver en quantité variable, certaines en concentration importante, d'autres à l'état de traces.

Chaque constituant chimique et leur multiplicité rendent une même HE polyvalente avec des effets, des propriétés et des indications variées.

En aromathérapie, les propriétés de l'HE sont définies par les composés majoritaires qui la constituent. Ainsi, il existe une étroite relation entre la structure chimique et l'activité thérapeutique.

Il est primordial de connaître les constituants d'une HE afin de différencier ses propriétés et donc, ses principales vertus thérapeutiques mais aussi, pour vérifier sa qualité et prédire son éventuelle toxicité.

Parmi les composés retrouvés dans la composition d'une HE, on retrouve plusieurs familles chimiques

A. Les terpènes

Les terpènes et leurs dérivés sont les molécules, généralement odorantes, les plus répandues dans les HE³¹. Ils sont uniquement composés d'atomes de carbone et d'hydrogène. Ils sont formés par la réunion d'un nombre variable d'unités isopréniques reliées les unes à la suite des autres³¹.

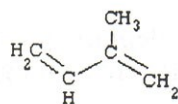


Figure 10 : une unité isoprénique

En aromathérapie, on distingue les monoterpènes, les sesquiterpènes et moins fréquemment les diterpènes et triterpènes composés respectivement de 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones³⁰.

Les monoterpènes sont formés de deux unités isopréniques et représentent la famille la plus courante parmi les HE. Ils sont stimulants, antiseptiques par diffusion, expectorants^{23,31}.

Les sesquiterpènes composés de trois unités isopréniques sont principalement anti-inflammatoires et calmants^{23,27,31}.

Les composés terpéniques sont très variés dans les HE. Lorsque des groupements fonctionnels viennent se greffer sur les molécules de base, on parle de terpénoïdes. Dans cette famille de terpénoïdes, on retrouve par exemple les terpénols, les terpénals, les terpénones,... avec respectivement la présence des fonctions alcool (-OH), aldéhydes (-CHO), cétones (C=O),...³¹.

B. Les alcools

Dans la famille biochimique des alcools, on retrouve les monoterpénols, les sesquiterpénols et les diterpénols. Ils sont formés par le rattachement d'un groupement hydroxyle (-OH) à des atomes de Carbone^{23,31}.

À l'exception du menthol, ces composés ne présentent généralement peu ou pas de toxicité à doses physiologiques²⁷.

1. Les monoterpénols

Résultant de l'attachement d'un groupement hydroxyle à un monoterpène, les monoterpénols sont des immunostimulants, des tonifiants mais surtout des anti-infectieux à large spectre d'action notamment sur virus, bactéries et champignons^{23,31}.

À la fois moins puissants et plus doux, leurs propriétés sont similaires à celles des phénols. Très bien tolérés chez les enfants, aux doses thérapeutiques, ils ne présentent pas de toxicité. Ils peuvent s'appliquer purs ou dilués dans une huile végétale pour les peaux très sensibles²³.

2. Les sesquiterpénols

Résultant de la fixation d'un groupement hydroxyle sur un sesquiterpène, les sesquiterpénols sont avant tout des toniques veineux et lymphatiques mais certains d'entre eux possèdent une activité œstrogénique (notamment le viridiflorol de l'HE de Niaouli)^{23,31}.

La toxicité générale de ces composés est faible mais il est important de tenir compte des activités oestrogène-like pour certaines HE, en cas d'hyperoestrogénie ou de cancers hormono-dépendants qui constituent les seules contre-indications^{23,31}.

3. Les diterpénols

Formés d'un hydroxyle fixé à un diterpène, tout comme ce dernier, les diterpénols sont souvent trop lourds pour être entraînés par la vapeur d'eau.

Avec une analogie structurelle de certaines hormones stéroïdiennes pouvant entraîner une action mimétique, il est important d'être très prudent, notamment chez les personnes présentant des facteurs de risque ou des antécédents de tumeur hormono-dépendante²³.

C. Les aldéhydes

Issus des alcools par oxydation, les aldéhydes sont des molécules comportant un radical aldéhyde (-CHO), très volatiles qui dégagent une odeur puissante.

Avec une dénomination se terminant en -al, il existe 2 types d'aldéhydes, les aldéhydes aromatiques et terpéniques.

1. Les aldéhydes aromatiques

Dérivés des phénols, les aldéhydes aromatiques sont des anti-infectieux majeurs à large spectre d'action contre les bactéries, les virus, les champignons et les parasites^{23,27}.

Présentant une dermocausticité et un effet irritant pour les muqueuses, il conviendra donc de les utiliser dilués dans une huile végétale avec une concentration maximale de 10%. ils ne seront pas utilisés par diffusion aérienne²⁷.

2. Les aldéhydes terpéniques (ou terpénals)

Avec des propriétés intermédiaires entre les alcools et les cétones, les aldéhydes non aromatiques sont de remarquables anti-inflammatoires. Ils sont également calmants et sédatifs du système nerveux central, hypotenseurs et hypothermisants, antiseptiques aériens, antibactériens, antifongiques et antiviraux mais moins puissants que les aromatiques et stimulants digestifs et hépatiques^{23,27,31}.

Moins dermocaustiques que ceux aromatiques, ils restent cependant irritants pour la peau. Ils seront donc utilisés dilués dans une huile végétale^{23,31}.

D. Les cétones

Les cétones sont des composés organiques possédant une double liaison entre un atome de carbone et un atome d'oxygène (groupement carbonyle). Elles ont un pouvoir cicatrisant et régénérant des tissus cutanés, des propriétés mucolytiques (respiratoires et gynécologiques) et fluidifiantes, lipolytiques, antiparasitaires et antivirales, desclérosantes, tonifiantes du système nerveux à faible dose et, à contrario, neurotoxiques et stupéfiantes à forte dose. Leur emploi, difficile à cause de l'effet d'inversion, ne doit donc se faire ni à trop forte dose ni à doses

répétées^{23,27,31}.

Avec leur double toxicité neurotoxique et abortive, les HE qui en contiennent sont formellement contre-indiquées chez la femme enceinte et allaitante, chez les enfants de moins de 10 ans et chez les personnes âgées dont le système nerveux est fragile^{23,31}.

Leur toxicité neurologique s'explique par le passage de la barrière hémato-encéphalique puis déstructuration de la gaine de myéline entraînant une perturbation électrique des neurones pouvant provoquer convulsion, coma puis mort. Cette toxicité est dose-dépendante et se manifeste lors d'accumulation de petites doses au cours du temps²³.

E. Les lactones

Caractérisées par la présence d'une fonction cétone dans un cycle, les lactones, bien que plus puissantes, ont des propriétés similaires à celles des cétones^{27,31}.

Ces molécules, relativement fragiles sont souvent retrouvées à l'état de traces dans les HE. Elles sont principalement mucolytiques et expectorantes, cholagogues, cholérétiques et hépatostimulantes et présentent des propriétés antibactériennes, antifongiques et antiparasitaires^{23,27}.

Elles présentent les mêmes contre-indications que les cétones et peuvent provoquer des allergies cutanées. En théorie, on limiterait l'usage per os pour écarter la toxicité neurologique. En pratique, leur faible concentration dans les HE utilisées aux doses préconisées, n'entraînerait pas cette toxicité^{23,27}.

F. Les esters

Les esters sont issus de la réaction d'un acide (R-COOH) avec un alcool (R'-OH). Ce sont d'excellents antispasmodiques et anti-inflammatoires. Ils permettent également un rééquilibrage nerveux (ils sont calmants, sédatifs, hypotenseurs)^{23,27,31}.

Aux doses thérapeutiques, ils sont bien tolérés. Toutes les voies d'administration peuvent être envisagées. Toutefois, pour un usage cutané au long court ou sur une peau très sensible, on conseillera la dilution dans une huile végétale²⁷.

G. Les phénols

Formés d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle carboné benzénique, les phénols sont des anti-infectieux puissants à large spectre d'action. En effet, se sont de puissants antibactériens et antiparasitaires ainsi que de bons virucides et fongicides. Ces composés sont également immunostimulants²⁷.

Les HE à base de phénols sont, en application externe, fortement irritantes pour la peau et les muqueuses. Elles seront donc diluées dans une huile végétale pour une application cutanée et ne seront pas utilisées en diffusion atmosphérique.

De plus, par voie orale, elles peuvent être à l'origine de douleurs gastriques et entraîner une toxicité hépatique à court terme. L'utilisation prolongée au delà de 7 jours est donc à éviter et un traitement hépatoprotecteur sera impérativement associé³¹.

L'utilisation chez la femme enceinte ou allaitante, chez le nourrisson ou le jeune enfant est à proscrire³¹.

H. Les phénols méthyl-éther

Les phénols méthyl-éther sont des molécules aromatiques apparentées aux phénols³¹. La structure phénolée a subi une méthylation leur faisant perdre la dermocausticité des phénols et acquérir de nouvelles propriétés²⁷. En effet, ce sont de remarquables antalgiques et antispasmodiques. Certains sont également antiallergiques comme le chavicol méthyl-éther ou estragole de l'estragon, anti-inflammatoires ou anti-infectieux (antibactériens, antiviraux, antifongiques). D'autres encore sont emménagogues (déclenchent les règles) et galactogènes (stimulent la montée de lait) ; c'est le cas du trans-anethole de l'anis étoilé ou du fenouil²³.

Pour leur propriété antibactérienne, ces composés répondent à la loi du tout ou rien et par conséquent ne doivent pas être employées sans aromatoگرامme.

Les HE riches en phénols méthyl-éther sont globalement bien tolérées quelque soit la voie d'administration (orale, cutanée, vaginale et rectale). Cependant, à fortes doses, ils sont neurotoxiques et hypnotiques^{26,31}.

Pour les HE à trans-anethole, il est recommandé de ne pas l'utiliser plus d'un an après son ouverture car ce composé se transforme peu à peu en cis-anéthole et devient toxique³¹.

I. Les oxydes

1. Les éthers oxydes

Ces molécules issues des phénols méthyl-éthers confèrent aux HE des effets antalgiques, antispasmodiques, anti-infectieux. Elles possèdent des propriétés stimulantes des glandes exocrines notamment au niveau digestif²³.

On retrouve le safrole dans les HE de ravintsara, de muscade ou de basilic qui est dopant et mutagène ; la myristine dans les HE de persil frisé et de muscade : hallucinogène et abortive, l'apiole, dans l'HE de persil, qui provoque des symptômes similaires à ceux de l'alcool^{23,31}.

2. Les oxydes terpéniques

Ces molécules, fréquemment rencontrées dans les HE, agissent sur la sphère respiratoire grâce à leurs propriétés décongestionnantes, expectorantes, mucolytiques, antiparasitaires et anti-infectieuses (bactérienne ou virale) particulièrement^{23,27,31}.

Remarquablement bien tolérées par voie cutanée, elles peuvent être utilisées pures. Il faut toutefois rester prudent avec les HE contenant le 1,8-cinéole, contre-indiquées en cas d'asthme, à cause de son caractère irritant pour les voies respiratoires³¹.

J. Les coumarines

Les coumarines (furo- et pyro- coumarines) sont des molécules aromatiques dérivés des phénols³¹. Toujours présentes en faible quantité dans les HE, elles sont cependant très efficaces quelque soit leur proportion²⁷.

Disposant des propriétés anticoagulantes puis sédatives, anticonvulsivantes et hypnotiques, ces molécules aromatiques sont photosensibilisantes quelque soit la voie d'administration. Sous le rayonnement solaire, elles excitent la mélanogénèse aboutissant à une rougeur cutanée voire une hyperpigmentation de la peau. La réaction soleil-coumarine favorise la carcinogénèse^{23,27}.

De plus, les furanocoumarines persistant plus longtemps dans l'organisme, la réaction cutanée peut se prolonger jusqu'à 24 à 48 heures après administration. Les pyranocoumarines sont également toxiques pour le foie³¹.

K. Les phtalides

Les phtalides sont des composés apparentés aux coumarines avec une odeur puissante et caractéristique²³. Ils possèdent principalement des propriétés détoxifiantes au niveau du foie, des reins, des intestins et de la peau. Ce sont aussi des stimulantes hépatopancréatiques et des antiparasitaires^{23,27,31}.

L. Les composés soufrés

Parfois retrouvés à l'état de traces dans les HE, les composés soufrés sont détoxifiants, antibactériens et antiparasitaires. Ils sont dermocaustiques et irritants pour les muqueuses. Leur emploi est donc délicat. Vu leur faible concentration, ils ne bénéficient pas de propriétés pharmacologiques^{23,27}.

M. Les composés azotés

Rarement présents et en très faible concentration, les composés azotés ne donnent pas d'activités mesurables aux HE²⁷. Ils sont calmants du système nerveux central²³.

VI. Généralités sur quelques huiles essentielles aux propriétés antivirales

Comme nous l'avons évoqué à la fin de la première partie, le virus responsable de l'herpès labial, dans la majorité des cas, développe de plus en plus de résistances aux agents antiviraux. Face à cette situation, les HE peuvent constituer une véritable alternative thérapeutique.

Pour terminer cette partie sur les généralités des HE, nous allons décrire quelques plantes dont sont extraites des HE actives contre le virus de l'herpès labial.

Majoritairement rapportées dans la littérature, nous retrouvons, les HE de Tea Tree, de Ravintsara et de Niaouli, déjà populaires par leur activité antivirale générale.

Outre ces 3 HE connues, au travers de diverses études que nous détaillerons dans la partie suivante, il s'avère que d'autres HE jouissent de propriétés antiherpétiques. On distingue notamment les HE de Menthe poivrée, d'Eucalyptus globuleux, de Mélisse officinale, de Thym à Thymol, désignées pour d'autres propriétés ainsi que les HE d'Anis étoilé et d'Armoise arborescence, beaucoup moins présentes.

A. L'huile essentielle de Tea Tree

Nom latin : *Melaleuca alternifolia*

1. Description botanique

Originaire d'Australie, l'arbre à thé, ou Tea tree, est un arbuste d'environ 5 mètres de haut de la famille des Myrtacées. Il porte des feuilles persistantes, vertes, étroites et lancéolées et des fleurs blanches^{27,31,41}.



Figure 11 : arbre⁴⁴, feuilles⁴⁵ et fleurs⁴⁶ de *Melaleuca alternifolia*

2. Composition biochimique

L'HE, extraite de feuilles fraîches par distillation à la vapeur d'eau, est principalement constituée par les composés biochimiques suivants^{41,42} :

- monoterpènes (40 – 45%) : γ -terpinène (20-25%) ; α -terpinène (5-13%) ; α -pinène et β -pinène, p - cymène, limonène
- Monoterpénols (45 – 50%) : terpinèn-4-ol (40-45%) ; α -terpinéol
- oxydes (3-5%) : 1,8-cinéole
- sesquiterpènes (environ 4%)

3. Propriétés thérapeutiques

Grâce à sa richesse en monoterpénols, l'HE d'arbre à thé est l'une des HE les plus polyvalentes contre les infections bactériennes, virales, fongiques et parasitaires^{27,31,41,42,43}. Elle possède également des propriétés immunostimulante, radioprotectrice, décongestionnante et

neurotonique^{31,41,42,43}.

4. Principales indications thérapeutiques

Elle est indiquée dans les infections bucco-dentaires (aphtes, gingivite, abcès, stomatite...), ORL (sinusite, rhinite, angine, otite, bronchite, pharyngite), gynécologique et urinaire (cystites, urétrites, leucorrhées, vaginites, salpingites) et intestinale (parasitoses)^{27,31,41,42}.

Elle peut aussi démontrer son efficacité dans l'état de fatigue générale, dans la prévention des brûlures radio-induites et de troubles circulatoires (œdème lymphatique, varices, jambes lourdes, hémorroïdes)^{27,31,41,42}.

Elle prouvera également une action sur le plan cutané, dans le traitement de l'eczéma, les mycoses (cutanées, interdigitales, génitales), la gale, la teigne mais aussi dans l'herpès pour lequel le mécanisme d'action sera détaillé dans le chapitre suivant^{31,42}.

5. Contre-indications et précautions d'emploi

Cette HE peu toxique, peut s'employer pure sur la peau mais, parfois, elle peut être irritante. Il est donc recommandé de l'utiliser diluée chez les nourrissons, les jeunes enfants et les patients à la peau sensible. Il est conseillé de réaliser le test de tolérance cutanée avant la première utilisation^{27,31}.

B. L'huile essentielle de Ravintsara

Nom latin : *Cinnamomum camphora* CT cinéole

1. Description botanique

Espèce de la famille des Lauracées, importé du Japon, le ravintsara est une variété malgache du camphrier. Cet arbre, à l'écorce rougeâtre³¹, dont la taille peut avoisiner les 20 mètres de haut pousse dans les forêts tropicales humides⁴¹. Ses feuilles alternes, larges, ovales, persistantes, à la surface supérieure brillante dégagent une forte odeur de camphre lorsqu'elles sont froissées^{31,47}.

À maturité, ses fruits sont des baies de couleur bleue sombre à noir⁴⁷.



Figure 12 : arbre⁴⁷, feuilles⁴⁷ et baies⁴⁹ de *Cinnamomun camphora*

2. Composition biochimique

L'HE de Ravintsara est obtenue par distillation des feuilles à la vapeur d'eau. Ses principaux composés actifs sont les⁴¹ :

- oxydes terpéniques : 1,8 cinéole (55-60%)
- monoterpènes (environ 18%) : α -pinène ; β -pinène ; sabinène
- alcools monoterpéniques (environ 5%) : α -terpinéol
- esters terpéniques (environ 8%)
- cétones : traces de camphre

3. Propriétés thérapeutiques

Notamment connue pour sa performance antivirale, apportée par la synergie d'action entre le 1,8-cinéole et les alcools terpéniques⁴⁸, cette HE de Ravintsara possède également des vertus anti-infectieuse, antibactérienne, antifongique, stimulante immunitaire mais aussi mucolytique et expectorante, neurotonique et stimulante. Elle favorise aussi le drainage lymphatique^{31,41,47,48}.

4. Principales indications thérapeutiques

Avec ses nombreuses qualités, cette HE se révèle efficace dans les infections virales comme la grippe, la mononucléose infectieuse, la varicelle, le zona, l'herpès, les hépatites et les entérites virales. Elle est également utilisée en cas de bronchite, de rhinopharyngite, de sinusite, mais aussi de fatigue nerveuse et physique, de dépression, d'angoisse, de difficulté d'endormissement^{27,31,41,48}.

5. Contre-indications et précautions d'emploi

Avec une tolérance cutanée exceptionnelle et sans toxicité, cette HE est utilisable par voies orale, respiratoire et cutanée à l'état pur, même chez le nourrisson^{27,31}. Néanmoins, avec une composition riche en 1,8-cinéole, il faut rester prudent chez les patients asthmatiques.

C. L'huile essentielle de Niaouli

Nom latin : *Melaleuca quinquenervia*

1. Description botanique

De la même famille que l'HE de Tea Tree, les Myrtacées, le Niaouli est un arbre sauvage originaire de Nouvelle-Calédonie, pouvant atteindre 15 mètres de haut et qui se développe à Madagascar et en Australie. Son écorce blanche ou grise se desquame par de larges lambeaux et ses feuilles persistantes, gris-vert, étroites, lancéolées sont très parfumées dès qu'elles sont froissées. Ses fleurs jaunes sont longues et pointues^{27,31,41,50}.



Figure 13 : arbre, écorce et feuilles de *Melaleuca quinquenervia*⁵²

2. Composition biochimique

Cette HE de qualité obtenue par distillation des feuilles à la vapeur d'eau contient des⁴⁰ :

- oxydes terpéniques : 1,8-cinéole (50-65%)
- Monoterpènes (environ 20%) : α -pinène, limonène , β -pinène, paracymène
- Alcools monoterpéniques (9-14%) : α -terpinéol
- Alcools sesquiterpéniques : viridiflorol (6-15%), nerolidol (1-7%)

3. Propriétés thérapeutiques

Avec une composition majoritaire en 1,8-cinéole, cette HE présente une action expectorante et mucolytique⁵⁰.

Les alcools monoterpéniques et les oxydes terpéniques en font une très bonne HE antibactérienne qui agit sur des bactéries résistantes comme le Staphylocoque doré, le streptocoque β -hémolytique et le Pseudomonas aeruginosa. Ces molécules chimiques lui confèrent également des propriétés antifongique et antivirale³¹.

L'HE de Niaouli possède également des vertus radioprotectrices mais aussi astringentes cutanées, antiprurigineuses et cicatrisantes. C'est également un excellent tonique veineux³¹.

4. Principales indications thérapeutiques

Grâce à ses particularités, l'HE de Niaouli qui fluidifie le mucus et montre un pouvoir expectorant, est indiquée dans les maladies des voies respiratoires qu'elles soient d'origines virale ou bactérienne (bronchite, rhume, rhinite, sinusite, laryngite ou grippe)^{27,31}.

Ces actions antibactérienne, antifongique et antivirale sont également mises à profit dans les infections gynécologiques telles que candidoses, herpès génital, infections à papillomavirus et dans de nombreux problèmes dermatologiques comme l'acné, l'eczéma, le furoncle, les mycoses, le zona mais aussi l'herpès labial^{27,31,41,50}.

Cette HE est aussi employée en prévention des lésions de radiothérapie (en association avec l'HE de Tea Tree)^{31,41}.

Avec son action veinotonique, elle est également utilisée dans le traitement des varices et des crises hémorroïdaires^{31,41,50}.

5. Contre-indications et précautions d'emploi

L'HE de Niaouli contient du viridiflorol qui est un sesquiterpène à activité oestrogénomimétique. Elle est donc déconseillée chez les femmes enceinte ou allaitante ainsi qu'en cas de maladies hormono-dépendantes^{27,50}. Avec une concentration élevée en 1,8-cinéole, il faut rester prudent chez les patients asthmatiques.

D. L'huile essentielle de Menthe poivrée

Nom latin : *Mentha x piperita*

1. Description botanique

La menthe poivrée, appartenant à la famille des Lamiacées, est une plante herbacée d'environ 80 cm. Issue de l'hybridation naturelle entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata*) et originaire du Moyen-Orient, elle est aujourd'hui retrouvée dans le monde entier. Sa tige quadrangulaire porte des feuilles opposées, ovales, aiguës, dentées, vert foncé qui se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre. Les fleurs roses violacées sont regroupées en épi au sommet de la plante^{27,31,41,53}.



Figure 14 : feuilles et fleurs de *Mentha x piperita*⁵³

2. Composition biochimique

L'huile essentielle de menthe poivrée, obtenue par distillation des feuilles à la vapeur d'eau, est principalement composée de^{41,53} :

- monoterpénols : menthol (35 - 55%),
- cétones monoterpéniques : menthone (20 - 30%) , isomenthone, pipéritone
- monoterpènes (2 - 18%) : α et β -pinènes, limonène
- oxydes terpéniques: 1,8-cinéole (5-6%) ; menthofurane (< 3%)
- ester terpénique : acétate de menthyle (2-10%)

3. Propriétés thérapeutiques

L'HE de menthe poivrée présente une action sur les systèmes cardiovasculaire (hypertensive et cardiotonique), nerveux (neurotonique, amélioration de la concentration) et digestifs (antispasmodique, stimulation hépatique, cholagogue et cholérétique)^{31,41,53}.

Elle possède également des propriétés antalgique, anti-inflammatoire, anti-infectieuse (antivirale, antibactérienne, antifongique et antiparasitaire) et décongestionnante des voies ORL³¹.

4. Principales indications thérapeutiques

Sur le plan digestif, l'HE de menthe poivrée agit en cas d'indigestion, de dyspepsie, d'aérophagie, de nausées et de vomissements, de mal de transports^{27,53}.

Elle est également indiquée lors de rhinites, d'otites, de sinusites, de rhinopharyngites et d'angines grâce à ses vertus décongestionnantes des voies ORL²⁷.

Avec ses propriétés antalgiques et anti-inflammatoires, cette HE trouve aussi une place dans le traitement des migraines, céphalées et maux de tête^{27,41,53}.

Avec son action tonique, elle peut également intervenir sur la fatigue physique et intellectuelle mais aussi lors d'hypotension⁵⁴.

Enfin, de part ses particularités anti-infectieuses, elle est désignée dans les hépatites virales, les gastro-entérites mais aussi dans les affections cutanées d'origine virale comme le zona, la varicelle ou encore l'herpès^{27,31,53,54} (mécanisme d'action développé dans la partie suivante).

5. Contre-indications et précautions d'emploi

Elle est déconseillée chez les femmes enceintes ou allaitantes ainsi que chez les enfants de moins de 7 ans. L'effet glacial provoqué par le menthol contraint son utilisation sur une petite surface^{27,31,54}.

De plus, l'importante concentration en cétone impose son emploi sur une courte période.

E. L'huile essentielle d'Eucalyptus Globuleux

Nom latin : *Eucalyptus Globulus*

1. Description botanique

L'Eucalyptus globuleux est un arbre de la famille des Myrtacées originaire d'Australie qui s'épanouit principalement dans les régions chaudes⁵⁶. Cet arbre, au tronc lisse, de couleur gris cendré⁵⁶, mesure en moyenne 30 à 60 mètres de haut. Son écorce se détache facilement en longues

bandes⁵⁵.

Il présente 2 types de feuilles : de jeunes feuilles cireuses, ovales et opposées puis des feuilles adultes lancéolées qui, elles seules, détiennent des poches à essence sur leur face inférieure. Sur les fleurs blanchâtres, apparaissent des étamines jaunes avec un cœur orange^{27,55,56}.



Figure15 : Arbre⁵⁸, feuilles⁵⁶ et fleurs⁵⁹ d'*Eucalyptus globulus*

2. Composition biochimique

Les principaux composés actifs de l'HE d'Eucalyptus globuleux obtenue par distillation à la vapeur d'eau, des feuilles adultes sont^{41,55} :

- oxydes : 1,8-cinéole (au minimum 70%)
- monoterpènes (environ 18%) : limonène ; α – pinène ; ρ -cymène ; β -pinène
- sesquiterpénols : globulol
- cétones (traces)

3. Propriétés et indications thérapeutiques

De part sa richesse en 1,8-cinéole, l'HE d'Eucalyptus globuleux présente des propriétés expectorante et mucolytique, anti-inflammatoire et anti-rhumatismale, antibactérienne et cicatrisante, antifongique mais aussi une activité antivirale^{41,55,56}.

3. Principales indications thérapeutiques

Cette HE est principalement connue pour son utilisation contre les maux hivernaux tels que bronchite, toux grasse, grippe, rhume, otite, sinusite,... Elle est également indiquée lors de douleurs rhumatismales et articulaires^{31,55,56,57}.

Ses propriétés anti-infectieuses lui confèrent une indication contre le colibacille des cystites,

le staphylocoque doré, le pneumocoque, le streptocoque, le Candida Albicans mais aussi en dermatologie, dans la prise en charge des dermites d'origine bactérienne (ampoules, plaies, brûlures, coupures,...) ou mycosique³¹.

Son activité antivirale est mise à profit dans le traitement de l'herpès labial dont le mécanisme d'action sera développé dans la partie suivante.

5. Contre-indications et Précautions d'emploi

Dermocaustique, l'HE d'Eucalyptus globuleux sera appliquée diluée sur la peau. De plus, de part la présence de traces de cétone, elle est à éviter chez les patients asthmatiques. Elle est également à proscrire chez les enfants de moins de 7 ans et chez les femmes enceintes ou allaitantes^{31,55,57}.

A. L'huile essentielle de Mélisse officinale

Nom latin : *Melissa officinalis*

1. Description botanique

De la famille des Lamiacées, la mélisse officinale est une plante pérenne qui peut vivre pendant des années. D'une hauteur d'environ 30 à 80 centimètres, elle dégage une forte odeur de citronnelle et possède des tiges dressées et divisées en plusieurs tiges secondaires. Caractéristiques de cette famille botanique, ces dernières sont quadrangulaires et velues. Ses feuilles sont petites, de couleur vert, opposées, ovales, gaufrées et dentelées et, ses fleurs, de couleur blanc-bleuté, sont regroupées en verticilles à l'aisselle des feuilles⁶⁰.

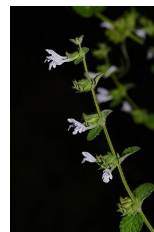


Figure 16 : Plante⁶², feuilles⁶⁰ et fleurs⁶² de *Melissa officinalis*

2. Composition biochimique

L'HE de mélisse, obtenue par distillation à la vapeur d'eau des parties aériennes, est constituée biochimiquement de⁶⁰ :

- monoterpénaldéhydes (30-60%) : géraniol (ou citral a) ; néral (ou citral b), citronellal
- sesquiterpènes (20-30%) : β -caryophyllène ; germacrène ; α -copaène
- monoterpènes
- monoterpénols
- sesquiterpénols
- traces de coumarines, esters, oxydes

3. Propriétés thérapeutiques

Cette HE possède principalement des propriétés antispasmodique, carminative digestive, stomachique, eupeptique ; stimulante, hypotensive, calmante et sédative ; antivirale^{27,60}.

4. Principales indications thérapeutiques

Elle est principalement utilisée dans les lithiases biliaires, insuffisances hépatobiliaires ainsi que dans les troubles digestifs : digestion difficile, flatulences, nausées, spasmes intestinaux, coliques, crampes d'estomac et reflux gastrique. On la préconise également dans les troubles du comportements (colère, hystérie, crise de larmes), dans les états de stress, d'angoisse, d'anxiété, dans les troubles cardiovasculaires (palpitations, arythmie, hypertension) et d'insomnie mais aussi dans l'herpès labial (mécanisme détaillé dans la partie suivante)^{27,31,60}.

5. Contre-indications, Précautions d'emploi

En raison de sa dermocausticité, elle n'est appliquée sur la peau qu'après dilution⁶⁰. Comme pour la plupart des HE, elle ne doit pas être délivrée chez la femme enceinte ou allaitante, ni chez les enfants de moins de 7 ans⁵⁸.

G. L'huile essentielle de Thym à thymol

Nom latin : *Thymus vulgaire CT thymoliferum*

1. Description botanique

Le thym est un arbrisseau de 40 centimètres de la famille des Lamiacées. Ses tiges dressées portent de petites feuilles très odorantes, persistantes, opposées, lancéolées à bords retournés, vert plus foncé sur la face supérieure. Les fleurs de petite taille, blanches à rose pâle, sont regroupées aux extrémités des tiges, à l'aisselle des feuilles^{41,63}.



Figure17 : plante⁶⁵, feuilles⁶⁶ et fleurs⁶⁷ de *Thymus vulgaris*

L'HE de thym vulgaire donne différents chémotypes. Les 3 principaux sont le thym à thymol remarquable antiseptique, le thym à thujanol qui protège le foie, et le thym à linalol, antifongique, antibactérien et neurotonique³¹. C'est le chémotype à thymol qui nous intéresse tout particulièrement dans cette thèse.

2. Composition biochimique

L'HE de Thym à thymol est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des sommités fleuries. Elle est composée majoritairement de⁴¹:

- phénols (environ 44%) : thymol (environ 42%) ; carvacrol (environ 2%)
- monoterpènes (environ 35%) : p -cymène (environ 27%) ; γ -terpinène (environ 5%)
- monoterpénols (environ 7%) : linalol (environ 3%), bornéol (environ 1%)
- sesquiterpènes (environ 5%)
- cétones (environ 1%)
- éther, esters (environ 1%)
- aldéhydes, oxydes

3. Propriétés thérapeutiques

L'HE de thym à thymol est un anti-infectieux exceptionnel à très large spectre d'action qui présente notamment des propriétés antibactérienne, antivirale, antiparasitaire et fongicide. Elle est aussi antiseptique, tonique et immunostimulante^{27,31,41,62}.

4. Principales indications thérapeutiques

Cette HE se révèle puissante, principalement contre les infections des voies respiratoires (bronchite, rhinopharyngite, angine, sinusite, grippe,...), intestinales (parasitose ou gastro-entérite), génito-urinaire (cystite,...) cutanées (abcès, plaies infectées, furoncles, escarre, parasite...) ou bucco-dentaires^{27,31}.

Des études scientifiques (citées dans la partie III) ont également exposé son action contre le virus de l'herpès simplex de type I.

5. Contre-indications, Précautions d'emploi

Dermocaustique à l'état pur, hépatotoxique, à doses élevées et sur une durée prolongée, cette HE est diluée pour une application cutanée de courte période et associée à des hépatoprotecteurs (Chardon Marie ; desmodium,...). Elle est également déconseillée chez les jeunes enfants, les femmes enceintes ou allaitantes³¹.

H. L'huile essentielle d'Armoise arborescente

Nom latin : *Artemisia arborescens*

1. Description botanique

L'armoise est une plante vivace, ligneuse, qui peut atteindre jusqu'à un mètre de haut. Ce petit arbuste de la famille des Astéracées s'apparente à l'absinthe.

Ses feuilles, très découpées, sont longues, plumeuses, soyeuses et de couleur blanc argenté.

Les inflorescences sont composées de capitules globuleux, jaunes, pédicellés et réunis en panicules. Ses capitules sont pendants pendant la saison automnale puis érigés à l'arrivée de l'été⁶⁸.

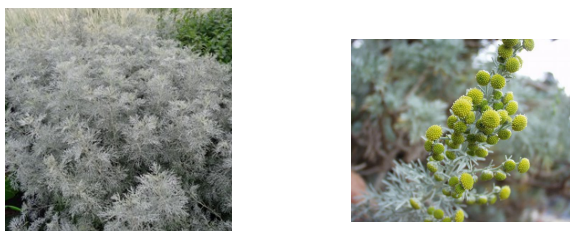


Figure 18 : feuillage⁶⁹ et inflorescences⁶⁸ d'*Artemisia arborecens*

2. Composition biochimique

Obtenue par distillation à la vapeur d'eau des parties aériennes fleuries, l'HE d'Armoise arborescente est composée d'Isothujone (30-45%) et de camphre (12-18%). Le chamazulène est également retrouvé ainsi que quelques monoterpènes comme le limonène⁶⁸.

3. Propriétés thérapeutiques

Cette HE, peu utilisée à cause de sa toxicité, présente des propriétés anticatarrhale et mucolytique, anti-inflammatoire, antispasmodique, antiallergique et cholérétique. C'est aussi un régulateur menstruel⁶⁸.

Des études scientifiques ont également démontré son pouvoir antiviral contre le virus de l'herpès simplex.

4. Principales indications thérapeutiques

Elle est principalement indiquée dans les bronchites catarrhale et asthmatiforme puis l'asthme, dans les dermatoses, l'insuffisance biliaire ainsi que pour les règles douloureuses et irrégulières⁶⁸.

5. Contre-indications, Précautions d'emploi

Cette HE ne s'emploie que par voie externe sur une courte période. En effet, majoritairement composée de thujone, elle est abortive et neurotoxique. Son utilisation, mal maîtrisée, la rend relativement dangereuses. Elle est également à proscrire pendant la grossesse, chez la femme allaitante et les enfants⁶⁸. Elle est soumise à réglementation et interdite à la vente en dehors des officines.

I. L'huile essentielle d'Anis étoilé

Nom latin : *Illicium verum*

1. Description botanique

L'anis étoilé, également appelé badiane de Chine, est le fruit du Badianier de Chine. Cet arbuste, de la famille des Illiacées, originaire de Chine arbore un tronc de couleur grisâtre. Il porte des feuilles vertes, persistantes et lancéolées ainsi que des grandes feuilles solitaires, jaunâtres ou rosées. Son fruit, d'abord vert puis brun rougeâtre, regroupe 8 follicules disposés en étoile⁷⁰.

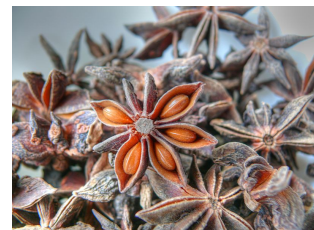


Figure 19 : arbuste⁷¹, feuilles⁷² et fruits⁷³ d'*Illicium verum*

2. Composition biochimique

L'HE d'anis étoilé est constitué de³¹ :

- phénols méthyl-éthers : trans-anéthole (environ 90%), chavicol méthyl-éther
- monoterpènes : limonène
- aldéhydes

On l'obtient par distillation du fruit, à la vapeur d'eau.

3. Propriétés thérapeutiques

L'HE d'anis étoilé a des propriétés oestro-génique, emménagogue et galactogène. C'est aussi un antispasmodique puissant et, à très faibles doses, un stimulant cardiaque, digestif et respiratoire³¹.

4. Principales indications thérapeutiques

Cette HE est principalement indiquée dans les troubles hormonaux légers chez la femme

(règles irrégulières, douleurs menstruelles) ainsi qu'en pré-ménopause. Elle favorise également la montée de lait. Grâce à ses propriétés antispasmodique, stomachique et carminative, elle soulage les troubles digestifs tels que les dyspepsies, l'aérophagie, les colites, les gastralgies et facilite la digestion³¹.

5. Contre-indications, Précautions d'emploi

Cette HE est contre-indiquée chez les nourrissons et jeunes enfants, chez les femmes enceintes ainsi qu'en cas d'hyper-oestrogénisme et d'antécédents de cancers hormono-dépendants³¹. Abortive et neurotoxique au-delà de 5 gouttes pures, cette HE, soumise à réglementation, est interdite à la vente en dehors des officines³¹.

Partie III : Mode d'action de quelques HE contre le virus de l'herpès labial

Ces dernières décennies, des études scientifiques ont rapporté l'activité antivirale, contre le VHS-1, de nombreuses HE de sources de plantes différentes ainsi que de divers constituants d'HE.

L'objectif de cette partie est d'analyser, au travers de différentes études, le mode d'action de quelques HE et composés ainsi que le mécanisme d'action de ces propriétés antivirales.

I. Action antivirale directe sur le virus

A. Étude scientifique sur l'HE de Menthe poivrée

L'étude « virucidal effect of peppermint oil on the envelopped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro » a été menée par A. Schumacher, J. Reichling et P. Schnitzler en 2003⁷⁴.

L'objectif de cette étude était de mettre en évidence l'activité virucide de l'HE de Menthe poivrée ainsi que son mécanisme d'action sur les virus de l'herpès simplex de type 1 et 2.

1. Matériel et méthode

Cette activité inhibitrice contre les virus de l'herpès simplex de type 1 et de type 2 a été évaluée in vitro sur des cellules de reins de singe, (cellules RC-37) en utilisant un dosage de plaque. Elle a été testée sur trois souches virales différentes : le VHS-1, le VHS-2 puis le VHS-1 résistant à l'aciclovir (HSV-1^{res}).

Dans un premier temps, la toxicité cellulaire de l'HE de menthe poivrée a été évaluée par détermination de la concentration cytotoxique nécessaire pour réduire la croissance cellulaire de 50% (CT₅₀). Pour cela, les cellules RC-37 ont été incubées avec différentes concentrations d'HE. Les cellules viables ont ensuite été quantifiées, après absorption du colorant rouge neutre, par densité optique.

Puis, l'activité inhibitrice contre VHS-1 et VHS-2 a été mesurée en incubant des unités

formant plaques (UFP) avec différentes concentrations d'HE (allant de 0,0001 à 0,06%) afin de déterminer la concentration nécessaire pour diminuer le nombre de plaques de 50% (CI₅₀).

Enfin, pour déterminer le mode d'action antiviral, l'HE a été ajoutée, à différents stades de l'infection, à la même concentration non cytotoxique de 0,01%. Pour cela, cellules puis virus ont été pré-traités avec l'HE avant l'infection. Cette HE a ensuite été introduite au moment de la phase d'adsorption (adsorption) et enfin, après la pénétration du virus dans les cellules hôtes (réplication).

Ces expériences ont été réalisées, en parallèle, avec l'aciclovir seul afin de tester leur adéquation.

2. Résultats

Tout d'abord, importante pour son activité, la composition chimique de l'HE de Menthe poivrée a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse. Les composants majoritaires identifiés sont : menthol (42,8%), menthone (14,6%), isomenthone (5,9%), acétate de menthyle (4,4%), cinéole (3,8%), limonène (1,2%) et carvone (0,6%).

Ensuite, la cytotoxicité cellulaire a été évaluée en étudiant la croissance des cellules. Pour cela, les cellules RC-37 ont été cultivées dans des milieux contenant une concentration en HE allant de 0,001% à 0,1%. Aucun changement dans la morphologie ou la densité cellulaire n'a été remarqué pour une concentration inférieure à 0,01% alors qu'une mort cellulaire complète a été observée pour une concentration en HE de Menthe poivrée de 0,03%. À partir de courbes dose-réponse tracées depuis ces essais, la concentration cytotoxique (CT₅₀) a été déterminée à 0,014%.

Quant à l'antiviral, l'aciclovir n'apparaissait pas toxique à une concentration de 22,5 µg/mL.

Pour l'activité virucide, les résultats ont montré une inhibition dose-dépendante de la formation de plaque. La concentration inhibitrice (CI₅₀) a été déterminée à 0,002% pour VHS-1 et 0,0008% pour VHS-2. À une concentration non cytotoxique de 0,01% d'HE, les titres viraux VHS-1 et VHS-2 ont été réduits, respectivement, de 82% et 92%.

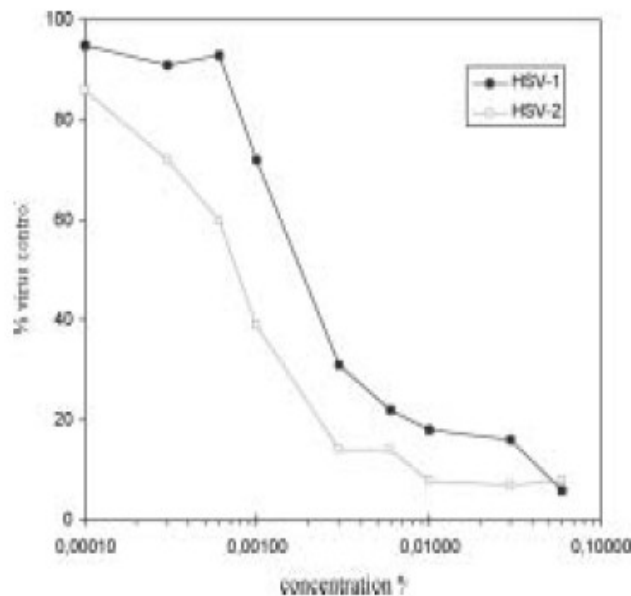


Figure 20 : Détermination de la CI_{50} de l'HE de Menthe poivrée contre VHS-1 et VHS-2

L'activité virucide de l'aciclovir, également testée en ajoutant des concentrations croissantes après adsorption du virus, est aussi dose-dépendante. En effet, à des concentrations de 0,0225 µg/mL et 22,5 µg/mL, la formation de plaque a été réduite respectivement de 37,9% et 90,2% (données non montrées dans l'étude).

Ensuite, la constante « temps » a été étudiée par incubation de VHS-1 avec l'HE durant des temps variables allant de 1 minute à 4 heures (1, 10, 20, 30, 60, 120, 180 et 240 minutes). Après 2 heures de contact, le nombre de PFU a été réduit de 98% et de plus de 99% après une période d'incubation de 3 heures. On en déduit donc une activité antivirale dépendante du temps.

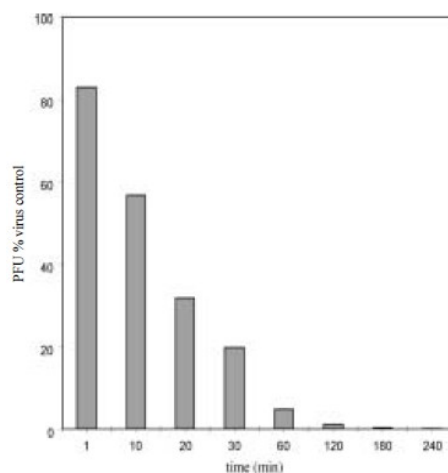


Figure 21 : activité temps-dépendante de l'HE de Menthe poivrée contre VHS-1

Comme nous l'avons évoqué dans la partie « matériel et méthode », afin d'identifier l'étape à laquelle la réplication pourrait être inhibée, l'HE a été introduite à des moments distincts du cycle viral. Dans toutes ces expériences, des cellules infectées par des virus non traitées ont été utilisés comme témoins. Le pourcentage de réduction a été calculé par rapport à la quantité de virus produite en l'absence du composé.

Le diagramme ci-dessous (figure 22) nous montre un effet inhibiteur différent à chacun de ces instants. En effet, le prétraitement des cellules n'a pas limité la production virale alors que le prétraitement de VHS-1 et VHS-2 a causé une réduction significative du nombre de virus. Cette baisse est de 82% pour HSV-1 et 92% pour HSV-2.

Lorsque l'HE de Menthe poivrée est ajoutée durant la phase d'adsorption, les titres viraux ont été réduits de 18% pour HSV-1 et de 25% pour HSV-2 tandis qu'aucun effet significatif n'a été observé sur la croissance virale lors de l'ajout de l'HE pendant la phase de réplication.

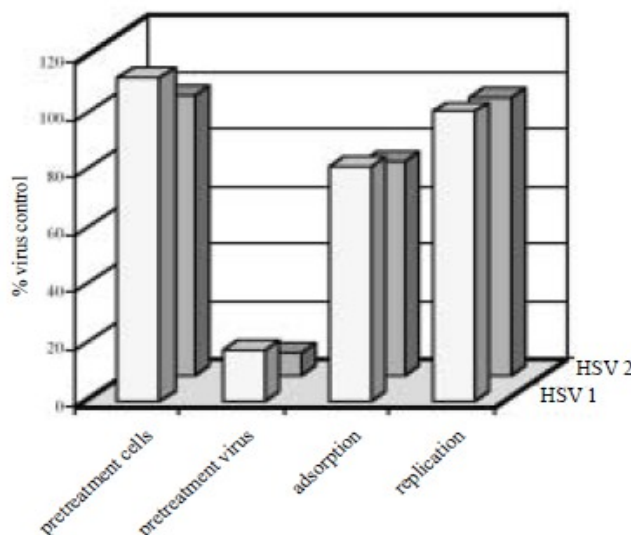


Figure 22 : Effet virucide de l'HE de Menthe poivrée contre VHS-1 et VHS-2 après incubation à différentes périodes du cycle viral

Ces résultats suggèrent donc que l'effet virucide de l'HE de Menthe poivrée est exercé sur le virus avant que les cellules hôtes ne soient infectées.

Les tests avec l'aciclovir (données non rapportées), identiques à ceux avec l'HE de Menthe poivrée, ont mis en valeur un effet antiviral plus élevé lorsqu'il est appliqué durant la période de réplication (réduction de plaque de 90,2%). Le prétraitement du virus avec cet antiviral ou son addition durant la phase d'adsorption ont atténué la formation de plaque avec un effet moindre. En effet, elle est respectivement de 79,8% et 72,9%. Aucun effet antiviral n'a été observé lorsque le

médicament a été additionné aux cellules avant l'infection.

L'activité virucide de l'HE de Menthe poivrée a également été testée sur une souche VHS-1 résistante à l'aciclovir (HSV-1-ACV^{res}). Pour cela, VHS-1, VHS-2 et VHS-1^{res} ont été incubés toujours à la même concentration non cytotoxique de l'HE de 0,01%. Comme précédemment, l'activité virucide a été mesurée par un test de réduction de plaque.

Cette expérience nous a montré que l'HE de Menthe poivrée a agi significativement sur cette souche virale avec un titre de HSV-1-ACV^{res} réduit de 99%.

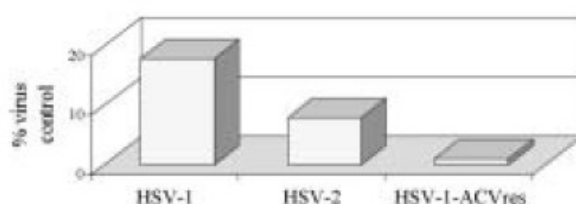


Figure 23: effet virucide de l'HE de Menthe poivrée sur les virus VHS-1, VHS-2 et VHS-1 résistant à l'aciclovir

3. Discussion

Dans cette étude, l'effet inhibiteur de l'HE de Menthe poivrée contre l'infection à herpes simplex a été montré.

Cette HE au comportement toxique modéré dans les cultures cellulaires, présente un effet virucide qui se manifeste principalement lors du prétraitement du virus. Cette activité a clairement été démontrée dépendante de la dose et du temps de contact avec le virus. Cela nous laisse donc suggérer que cette HE interfère avec les structures d'enveloppe du virion ou masque les composés viraux nécessaires à l'entrée du virus dans les cellules hôtes.

De plus, cet effet virucide, observé lorsque HE et virus sont mis en contact avant l'interaction avec la cellule hôte, diminue lorsque l'HE est ajoutée pendant la phase d'absorption pour quasiment disparaître pendant la période de répllication. Ces résultats nous permettent de constater que le virus « libre » est très sensible à l'action virucide de l'HE de Menthe poivrée et que l'inhibition du VHS semble se produire avant ou pendant mais certainement pas après l'adsorption.

Cette publication scientifique évoque également que l'activité de l'aciclovir est au plus fort lorsqu'il est ajouté pendant la période de répllication virale. Or, elle met aussi en évidence la capacité de l'huile essentielle de Menthe poivrée à inhiber une souche virale résistante à cet antiviral. Ceci

laisse supposer que le mécanisme d'interaction entre l'HE de Menthe poivrée et l'aciclovir avec le virus est différent. En effet, comme nous l'avons relaté précédemment, l'aciclovir a une action inhibitrice par interférence avec l'ADN-polymérase alors que l'HE de menthe poivrée possède un effet inhibiteur avant l'entrée du virus dans la cellule.

En conclusion, d'après les résultats de cette étude, nous pouvons affirmer que l'utilisation topique de cette HE dans le traitement de l'herpès labial serait une alternative thérapeutique à l'aciclovir, notamment chez les patients subissant des récurrences fréquentes.

B. Étude scientifique sur l'huile essentielle de Mélisse officinale

L'étude « *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses » a été réalisée en 2008 par P. Schnitzler, A. Schumacher, A. Astani et J. Reichling⁷⁵.

L'objet de cette étude est d'analyser, *in vitro*, les propriétés antivirales de l'HE de Mélisse officinale sur les virus de l'herpès simplex de type 1 et 2 ainsi que le mode d'action antivirale à différentes étapes du cycle d'infection virale.

1. Matériel et méthode

Comme pour l'HE de Menthe poivrée, l'activité inhibitrice contre VHS-1 et VHS-2 de l'HE de Mélisse officinale a été testée *in vitro* à l'aide d'un dosage de plaque sur des cellules rénales de singe (cellules RC-37). Deux virus ont été utilisés : VHS-1 souche KOS et VHS-2 souche HG52.

En premier lieu, afin de doser la toxicité cellulaire de l'HE de Mélisse officinale, la concentration toxique capable de réduire de 50% le nombre de cellules viables (CT₅₀) a été déterminée. Pour cela, les cellules RC-37 ont été incubées avec différentes concentrations en HE. Cette incubation a été suivie d'un test au rouge neutre qui a permis de quantifier les cellules viables par densité optique dans chacun des essais.

Puis, le potentiel effet antiviral de l'huile de Mélisse officinale a été examiné. Des tests de réduction de plaque ont été réalisés en mettant en contact différentes concentrations d'HE avec les souches virales avant qu'elles ne soient adsorbées par les cellules hôtes.

Enfin, pour identifier l'étape à laquelle le cycle viral est inhibé, les cellules ont été infectées avec les VHS-1 et 2 et traitées avec de l'HE de Mélisse officinale à différents moments de la réplication virale.

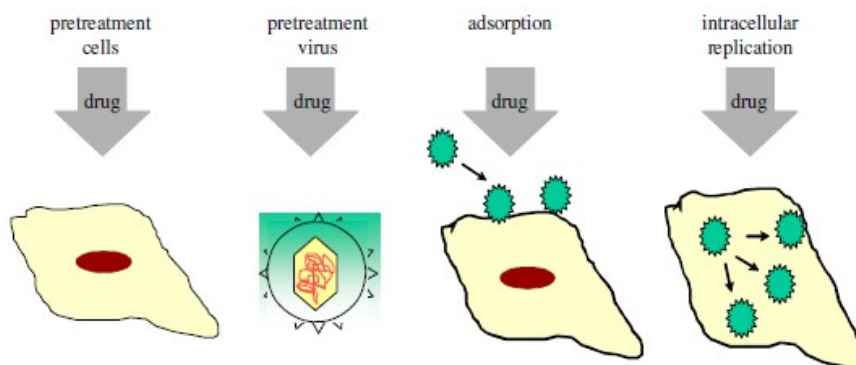


Figure 24 : Illustration des différents temps d'addition de l'HE de Mélisse officinale pendant la réplication du cycle viral

Comme nous le décrit le schéma ci-dessus (figure 24), les cellules ont été pré-traitées avec l'HE avant l'infection virale ; le virus a été incubé avec l'HE avant l'infection ; ensuite elle a été ajoutée pendant la phase d'adsorption puis durant la phase de réplication, après la pénétration du virus dans la cellule hôte.

Toutes ces expériences ont été effectuées en comparaison avec un contrôle négatif non traité pour calculer l'ampleur de la réduction de plaque et un contrôle positif avec l'application de l'aciclovir, à une concentration non cytotoxique de 1,25 mg/mL.

2. Résultats

Avant tout, la composition chimique de l'HE de Mélisse officinale a été évaluée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse. Cette HE est composée majoritairement de monoterpénaldéhydes (citral a, citral b et citronellal) et de sesquiterpènes (caryophyllène)

Table 1. Major compounds of *Melissa officinalis* essential oil

Compound	% (v/v)
Citral a	20.13
Caryophyllen	17.31
Citral b	13.58
Citronellal	3.86
β -Cubeben	3.75
Menthylheptenon	2.31
Caryophyllenoxid	1.13
Ocimen	0.73

Tableau 3 : composés majoritaires de l'HE de Mélisse officinale utilisée dans l'étude

L'effet de l'HE sur la croissance cellulaire a été étudiée. La concentration cytotoxique de l'huile essentielle de mélisse qui diminue la viabilité des cellules de 50% (CT₅₀) a été arrêtée à 0,003%. Une concentration maximale non cytotoxique a été mesurée à 0,002%. C'est à cette concentration que les essais suivants ont été réalisés.

Cette étude stipule également que l'aciclovir a montré une activité antivirale plus élevée lorsqu'il est ajouté pendant la période de réplication intracellulaire, inhibant ainsi la synthèse d'ADN (données non montrées).

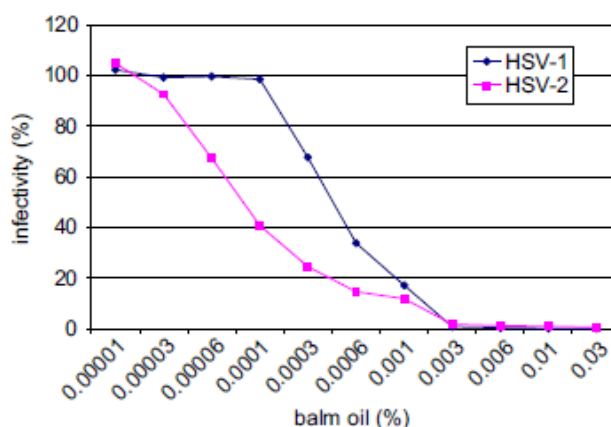


Figure 25 : Détermination de la CI₅₀ de l'HE de Mélisse officinale sur VHS-1 et VHS-2

Sur cette courbe dose-réponse (figure 25), nous pouvons constater que l'HE de Mélisse inhibe l'inféctiosité d'une manière dose-dépendante pour VHS-1 et VHS-2. La concentration inhibitrice (CI₅₀) a été déterminée respectivement à 0,0004% et 0,00008% pour VHS-1 et VHS-2 respectivement.

De plus, à une concentration non cytotoxique de 0,002%, les titres viraux ont été abaissés de 98,8% pour VHS-1 et de 97,2% pour VHS-2. Ce pourcentage de réduction a été calculé par rapport à la quantité de virus produit en l'absence de médicament. Des concentrations plus élevées donc toxiques ont aboli l'inféctiosité virale presque complètement.

Enfin, les photographies ci-dessous (Figure 26) nous permettent d'interpréter le mode d'action antiviral de l'HE de Mélisse officinale. Lorsqu'elle est additionnée, avant l'infection, aux cellules hôtes (Figure 26 B) ou durant la réplication intracellulaire, la formation de plaque n'est pas influencée.

Néanmoins, une réduction modérée de 64,8% et 39,9% est détectée quand VHS-1 et VHS-2 sont traités avec l'HE de Mélisse officinale durant la période d'adsorption (figure 26 D).

Toutefois, le prétraitement de VHS-1 et VHS-2 avec des concentrations maximales non cytotoxiques de l'HE de Mélisse officinale a causé un déclin significatif de l'infectiosité virale (Figure 26 C).

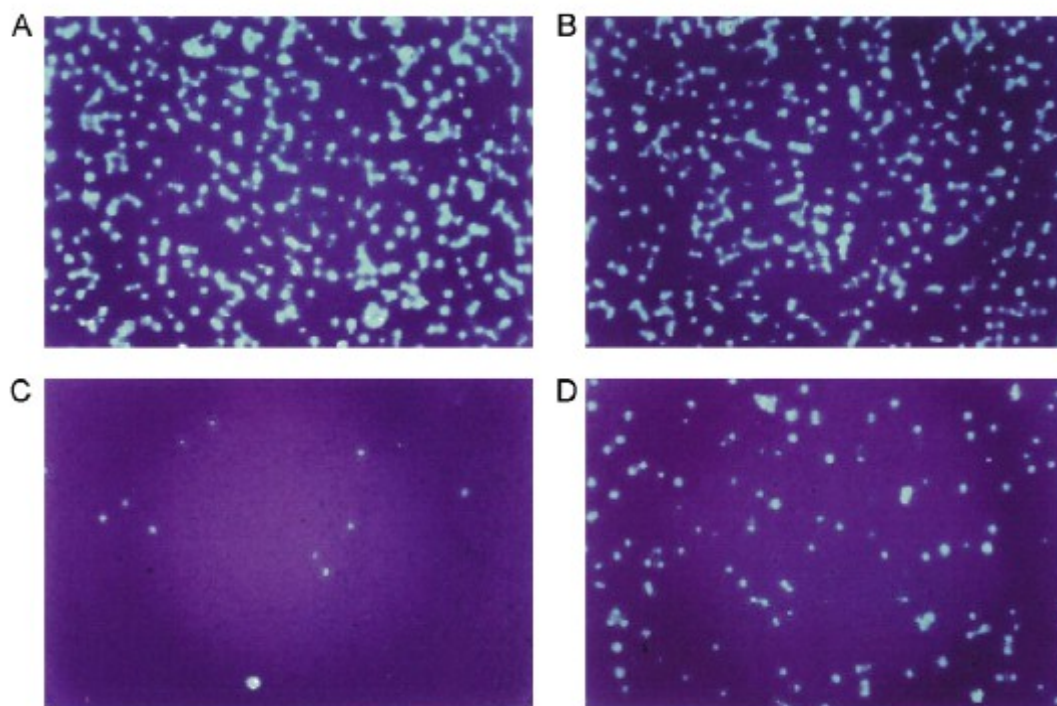


Figure 26 : Activité antivirale de l'HE de Mélisse officinale sur VHS-1 à différents moments du cycle de réplication. A : Témoin non traité ; B : HE additionnée aux cellules avant l'infection ; C : au virus avant l'infection ; et D : la période d'adsorption

3. Discussion

Dans cette étude de Mr Schnitzler et son équipe, l'effet inhibiteur de l'HE de Mélisse officinale sur VHS-1 et VHS-2 a été analysé *in vitro* en utilisant les tests de réduction de plaque.

À une concentration maximale non cytotoxique, cette HE présente un faible effet cytotoxique et un effet inhibiteur élevé. Elle atténue significativement la formation de plaque des 2 types d'herpesvirus.

Les expériences sur le mode d'action virale ont mis en évidence que le prétraitement des cellules avec l'HE étudiée, ainsi que son addition pendant la phase d'adsorption ou après la pénétration du virus dans les cellules hôtes, ont révélé un effet mineur voire nul sur la réplication virale.

Néanmoins, une diminution drastique de l'infectiosité virale a été détectée pour VHS-1 et VHS-2 lorsque ces derniers ont été traités avec l'HE avant l'infection des cellules hôtes. Cette activité antivirale élevée est donc probablement due à une interaction entre l'HE et le virus.

Nous pouvons donc dire que l'HE de Mélisse officinale affecte le virus avant l'adsorption et non après sa pénétration dans la cellule hôte. Par conséquent, cette HE exercerait un effet antiviral direct sur les 2 types de virus exposés. Nous pouvons aussi suggérer que l'effet inhibiteur de cette HE est provoqué soit par sa liaison aux protéines virales impliquées dans l'adsorption ou la pénétration, soit par des dommages causés aux virions qui pourraient nuire à leur capacité d'infecter les cellules hôtes.

Au cours de cette publication, il a également été rapporté que l'aciclovir exerce son action antivirale maximale au moment de la réplication. L'HE de mélisse agit donc autrement que cette molécule.

En conclusion, l'HE de Mélisse officinale possède une activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex *in vitro*. Elle pourrait ainsi convenir pour le traitement topique de l'infection de l'herpès labial, notamment chez les patients touchés par des récurrences fréquentes.

C. Étude sur l'HE d'Armoise arborescente

L'étude « Antiherpes activity of *Artemisia arborescens* essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero Cells » publiée en 2007 examine l'activité de l'HE d'Armoise arborescente contre le VHS-1 et le VHS-2⁷⁶.

1. Matériel et méthode

Dans cette étude, les expériences ont été réalisées sur des cellules Vero isolées à partir de cellules épithéliales de rein de singe et de souches virales : F (VHS-1) et G (VHS-2).

Dans un premier temps, la toxicité cellulaire a été appréciée en incubant les cellules Vero avec une concentration en HE allant de 15,6 à 1000 µg/mL. Ces cellules ont ensuite été mises en contact avec une solution de MTT pendant 3 heures à 37°C.

Le test MTT est une méthode de numération des cellules vivantes. Il consiste à réduire le réactif, le sel de tétrazolium MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium), en formazan grâce à une enzyme mitochondriale, la succinate déshydrogénase, de

cellules vivantes actives. Dans la mitochondrie, un précipité violet se forme et la quantité de ce précipité est proportionnelle au nombre de cellules vivantes.

Grâce à cette coloration, un dosage par densité optique a ensuite été effectué afin de connaître la quantité de cellules vivantes et actives.

La dose maximale non cytotoxique a été déterminée microscopiquement par observation des changements morphologiques des cellules à 24, 48 et 72 heures d'incubation.

Dans un second temps, l'activité antivirale de l'HE d'Armoise arborescente contre VHS-1 et VHS-2 a été évaluée par différents tests de réduction de plaque afin de mesurer l'influence de facteurs divers.

Tout d'abord, le facteur concentration a été examiné. Pour cela, les virus ont été pré-incubés avec une série de dilutions d'HE pour ensuite être adsorbés sur les cellules Vero.

Puis, pour tester l'inactivation directe de VHS-1 au cours du temps, le virus a aussi été mis en contact avec des dilutions variables d'HE à une température constante pendant des périodes de 15, 60 et 120 minutes.

Enfin, pour juger l'influence de la température, l'activité neutralisante de l'HE d'Armoise arborescente contre VHS-1 a également été étudiée par un test de réduction de plaque après pré-incubation du virus à 37°C ou 4°C.

Ces tests de réduction de plaque ont permis de déterminer des valeurs CI_{50} calculées à partir de courbes dose-réponse générées par les résultats expérimentaux.

Dans un troisième temps, dans le but de caractériser le mécanisme d'action de l'HE d'Armoise arborescente sur VHS-1 et VHS-2, des tests d'inhibition de développement de plaque, de réduction de rendement, de fixation, de pénétration et de neutralisation du virus post-attachement ont été exécutés.

Le test d'inhibition de développement de plaque a permis d'analyser la propagation de cellule en cellule. Pour cela, les cellules Vero infectées par les virus VHS-1 et VHS-2 ont été mises en contact avec des dilutions en HE variant de 100 à 6,25 $\mu\text{g/mL}$. Dans ce milieu d'incubation, deux anticorps neutralisant ont été ajoutés afin de s'assurer que le développement de la plaque évolue uniquement par la propagation du virus de cellule en cellule. La réduction du développement de la plaque a été observée à 48, 72 et 96 heures après l'infection. Par la suite, le diamètre des plaques fixées et colorées au violet de crystal a été mesuré. La réduction de taille de 50% a été considérée comme une inhibition positive. Un diamètre inférieur à 0,2 mm est considéré comme une plaque qui ne parvient pas à son développement.

Le test de réduction de rendement a permis de déterminer les titres viraux également par un dosage de plaque. Les cellules Vero ont été infectées par VHS-1 ou VHS-2 et ont ensuite été rapprochées avec des concentrations variables en HE comprises entre 100 à 3,12 µg/mL.

Enfin, le mode d'action antiviral, a été analysé par les tests de fixation, de pénétration et de neutralisation du virus après fixation.

Pour le test de fixation, les cellules Véro ont été pré-réfrigérées à 4°C avant d'être contaminées avec VHS-1 et VHS-2 pendant des périodes variables allant jusqu'à 3 heures. Ces cellules infectées ont ensuite été soumises à une série de dilutions d'HE (40, 20, 10,5 et 2,5 µg/mL) pendant 72 heures.

Pour le test de pénétration, VHS-1 et VHS-2 ont été adsorbés sur les cellules Vero cultivées et exposées dans un milieu contenant l'HE (aux mêmes dilutions que dans le test précédent) avec une augmentation brutale de la température à 37°C pour maximiser la pénétration du virus. Celle-ci a été poursuivie pendant des phases de 30 minutes ; 1 ; 1,5 et 2 heures. Les cellules ont ensuite été traitées avec un tampon phosphate salin à un pH acide de 3, afin de neutraliser tous les virus attachés restant. Après cela, les virus survivants ont été quantifiés par rapport au temps d'exposition à l'HE.

Pour le test de neutralisation après pénétration, les cellules infectées par les virus VHS-1 et VHS-2 ont été incubées avec l'HE diluée à différentes concentrations (100 – 12,5 µg/mL) à 4°C.

Tous ces résultats ont été comparés aux témoins dans les mêmes conditions expérimentales. Le nombre de plaques, obtenu lorsque les HE ont été additionnées après adsorption, a été comparé à celui obtenu avec les témoins (VHS-1 et VHS-2 pré-traités avec l'HE).

2. Résultats

Le dosage de réduction au MTT a permis de noter une concentration cytotoxique de 50% (CT₅₀) à 132 µg/mL. La dose maximale non cytotoxique a été évaluée à 100 mg/mL et sera définie comme la dose la plus élevée dans tous les essais antiviraux suivants.

L'activité de l'HE d' *A. arborescens* contre VHS-1 et VHS-2 a été vérifiée par différents tests de réduction de plaque.

Tout d'abord, lorsque ces 2 virus ont été exposés à différentes concentration en HE, elle a montré une inhibition de la formation de plaque concentration-dépendante. En effet, les valeurs d'inhibition à 50% et 80% ont été déterminées à des concentrations en HE respectives de 2,4µg/mL

et 5,6µg/mL pour VHS-1 (cercle noir) puis à 4,1 µg/mL et 7,3 µg/mL pour VHS-2 (carré noir).

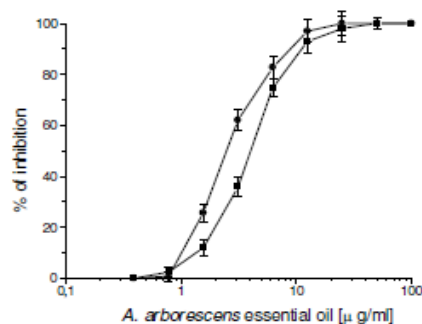


Figure 27 : Les effets de l'HE d'Armoise arborescente sur la formation de plaque par VHS-1 (cercle noir) et VHS-2 (carré noir)

Puis, avec une concentration inhibitrice à 50% de 6,9 µg/mL diminuée à 2,4µg/mL puis à 1,14µg/mL après respectivement, 15 minutes (cercle noir), 1 heure (carré noir) puis 2 heures (cercle blanc) d'incubation, nous pouvons dire que plus la durée d'exposition à l'HE est élevée, plus la concentration nécessaire pour atteindre une inhibition de 50% est faible. L'inactivation de VHS-1 est donc clairement dépendante de la durée d'exposition à l'HE.

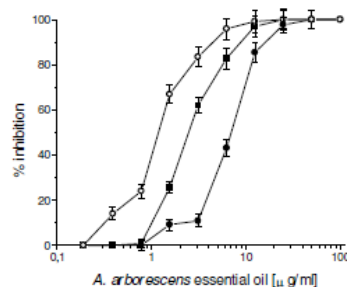


Figure 28 : inactivation directe à différentes concentrations en HE sur VHS-1 à des temps variables

Elle est aussi dépendante de la température. Effectivement, lorsque VHS-1 est pré-incubé à 4°C avant l'adsorption virale, les valeurs d'inhibition de 50% et 80% sont augmentées à 19,4µg/mL et 32,2µg/mL (contre 2,4µg/mL et 5,6µg/mL pour une même durée de pré-incubation à 37°C).

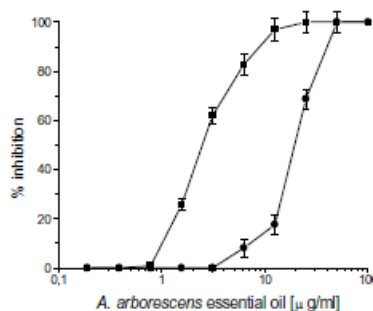


Figure 29 : Activité neutralisante de l'HE d'*A.arborescens* contre VHS-1 à 37°C (carré noir) et 4°C (cercle noir)

Par ailleurs, aucune inhibition n'a été révélée par le test de réduction de plaque lorsque les cellules ont été incubées avec les virus VHS-1 et VHS-2 avant d'être traitées par l'HE. Il en est de même lorsque les cellules ont été pré-incubées avec l'HE avant d'être infectées par les virus non traités.

Le test de réduction de rendement a affiché une activité antivirale dose-dépendante de l'HE contre VHS-2, même si l'inhibition s'est produite à des concentrations plus élevées que celles nécessaires pour le test de neutralisation. Une inhibition de 70,4% a été observée à une concentration de 100 µg/mL, et une inhibition de 38,2% était encore constatée à 50 µg/mL. Aucune activité antivirale contre VHS-1 n'a été obtenue par ce test.

Pour la propagation de cellule en cellule, le test d'inhibition de développement de plaque met en évidence une réduction de la taille de la plaque concentration-dépendante pour les 2 virus.

Une inhibition de 68,3% de diffusion latérale de HSV-1 a été détectée après 96 heures d'incubation en présence d'une concentration en HE de 100 µg/mL et une inhibition de 67,1% a été retrouvée après 48 heures d'incubation avec une concentration de 50 µg/mL.

Une réduction statistiquement significative du diamètre de plaque a été retenue pour HSV-2 et en particulier après 48 heures d'incubation, une réduction de 55,9% a été observée à 100 µg/mL et une autre de 21,7% par rapport aux contrôles non traités à 12,5 µg/mL.

Les diagrammes ci-dessous (figure 30) nous montrent une réduction concentration-dépendante du développement de la plaque : plus la concentration en HE est élevée, plus le développement de la plaque est réduit. On peut également constater que l'effet est maximal après 48 heures d'incubation avec l'HE, car c'est à ce moment que la taille de la plaque est la plus réduite pour une même concentration. Toutefois, elle s'est intensifiée à 72 heures puis à 96 heures après l'infection.

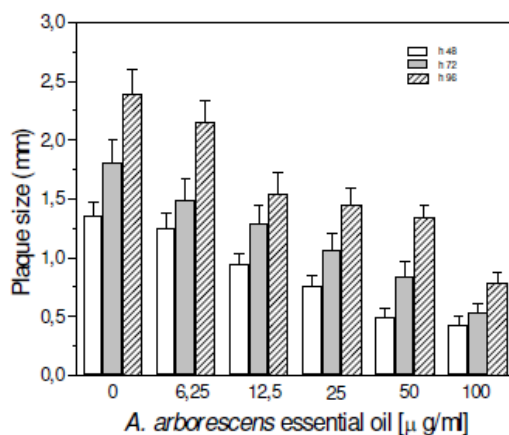


Figure 30 : test d'inhibition de développement de la plaque pour le VHS-1

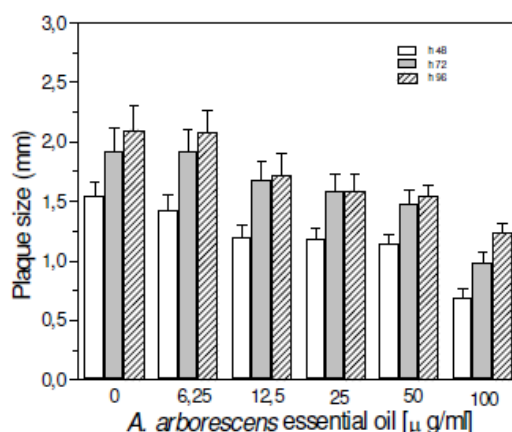


Figure 31 : test d'inhibition de développement de la plaque pour le VHS-2

D'autre part, l'étude nous rapporte que l'attachement du virus a été inhibé à des concentrations en HE supérieures à 50 μ g/mL, donc beaucoup plus élevées que les doses nécessaires pour inactiver les contrôles de VHS-1 et VHS-2 pré-incubés pendant 2 heures à 4°C en présence d' *A. arborescens*. Ceci indique que l'attachement n'a pas été affecté et que les résultats sont principalement dus à un effet direct sur le virion.

En outre, aucune inhibition n'a été, ni observée par le test de pénétration ni détectée en ce qui concerne les contrôles par le test de neutralisation post-attachement.

Le nombre de plaques obtenu, après adsorption de VHS-1 et VHS-2 dans les cellules Vero à 4°C avant l'incubation avec l'HE d'*A. Arborescens*, est comparable au nombre de plaques relevé lors de la pré-incubation des virus seuls à 4°C en présence d'HE avant l'adsorption virale.

3. Discussion

Cette étude laisse ressortir une activité antivirale de l'HE d'Armoise arborescente contre les virus de l'herpès simplex de type 1 et 2.

Les expériences du test de réduction de plaque affichent une inhibition de la formation de plaque dépendante de la concentration en HE lorsque les virus y sont exposés avant la phase d'adsorption avec une valeur de CI_{50} de 2,4 μ g/mL et 4,1 μ g/mL pour VHS-1 et VHS-2 respectivement.

Aucune réduction du nombre de plaques n'a été détectée lorsque l'HE a été additionnée aux cellules déjà infectées. Ceci indique que l'activité de cette HE d'*A. arborescens* est essentiellement due aux effets virucides directs. En outre, l'attachement et la pénétration du virus ne sont pas affectés et aucun effet n'est observé lors du test de neutralisation de virus après l'attachement.

Les expériences du test de réduction de rendement prouvent que des concentrations plus élevées d'HE d'Armoise arborescente ont aussi inhibé la réplication de VHS-2. Une réduction significative de la propagation de cellule en cellule, tel que démontrée par le test de l'inhibition de développement de plaque, se dégage pour les deux virus. Ces deux aspects particulièrement intéressants indiquent que l'activité antivirale de cette HE n'est pas seulement liée aux effets virucides directs, mais que d'autres mécanismes sont impliqués.

Dans cette étude, la nature et le mécanisme d'action des composants de l'HE restent inconnus. D'après sa composition biochimique détaillée dans la partie précédente, ainsi que les résultats obtenus sur les monoterpènes dans les études concernant ces composés, nous pouvons émettre l'hypothèse que ces composés monoterpéniques, certes présents en quantité minoritaire, peuvent, entre autre, participer à cette action virucide.

D. Étude scientifique de 2 monoterpènes : β -pinène et limonène

Dans cette étude de 2014, « Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro », Akram Astani et Paul Schnitler ont évalué, *in vitro*, l'activité antivirale de 2 monoterpènes : le β -pinène et le limonène contre VHS-1 ainsi que leur mode action antiviral durant le cycle de réplication virale⁷⁷.

1. Matériel et Méthode

Les monoterpènes utilisés, β -pinène et limonène, répondent à des normes de pureté élevées.

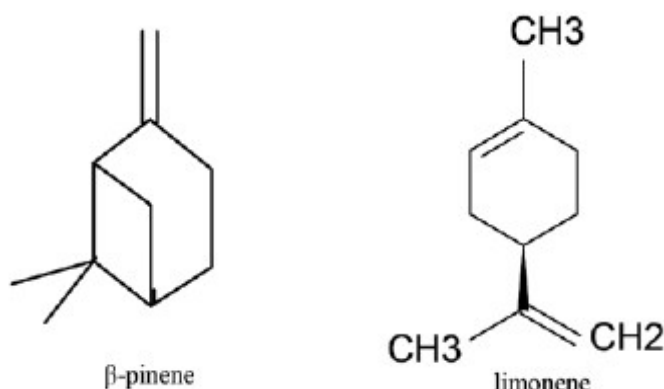


Figure 32 : formules structurales des 2 composés monoterpéniques

Identiques aux études précédentes, les cellules utilisées pour les tests antiviraux sont les cellules RC-37. L'herpès simplex virus de type 1 (VHS-1) souche KOS a été soumis à toutes les expériences.

Dans un premier temps, afin de réaliser des dosages de cytotoxicité, les cellules RC-37 ont été exposées à différentes dilutions en monoterpènes. Après 3 jours d'incubation, la viabilité de ces cellules a été dosée par densité optique, après absorption de colorant rouge neutre par les cellules vivantes. Cela a permis de déterminer, pour chacun des 2 composés, la concentration cytotoxique qui a réduit le nombre de cellules viables de 50% (CT_{50}), par des courbes dose-réponse ainsi que la concentration maximale non cytotoxique.

Ensuite, l'activité antivirale des 2 composés testés a été mesurée par un dosage de réduction de plaque. Pour cela, le virus a été incubé avec des concentrations variables de β -pinène ou de limonène avant d'être mis en contact avec les cellules RC-37.

Dans tous les essais, les cellules non traitées et non infectées par des virus ont servi de témoins. Par référence au nombre de plaques observé pour ces témoins, la concentration des composés qui inhibe le nombre de plaque de 50% (CI_{50}) a été déterminée par des courbes dose-réponse.

Enfin, dans le but de dévoiler le mode d'action antiviral des composés, les cellules ont été pré-traitées avec les composés monoterpéniques avant l'infection virale ; puis les virus ont été incubés avec ces derniers, également avant l'infection ; ensuite les cellules infectées ont été incubées avec ces molécules, immédiatement après la pénétration du virus dans les cellules. Pour ces essais, les composés monoterpéniques ont été utilisés à leur concentration maximale non cytotoxique.

Lors du prétraitement des cellules, elles ont été incubées avec les monoterpènes choisis avant l'infection, avant d'être mises en contact avec le VHS-1.

Pour le prétraitement de VHS-1, les virus ont été incubés avec les composés avant d'infecter les cellules RC-37.

L'effet des composants contre VHS-1 a également été testé pendant la période de réplication par addition des drogues après infection cellulaire.

Pour chacune de ces 3 expériences, le nombre de plaques virales a été comparé à des témoins non traités.

2. Résultats

La cytotoxicité des 2 composés monoterpéniques étudiés : β -pinène et limonène a été évaluée. Les concentrations maximales non cytotoxiques ont été déterminées respectivement à 60 $\mu\text{g/mL}$ et 40 $\mu\text{g/mL}$. Ils ont donc révélé une cytotoxicité faible.

concentration ($\mu\text{g/mL}$)	10	25	50	75	100
cell viability (%) $\pm$ SD					
β -pinene	100.0 $\pm$ 2.7	95.5 $\pm$ 8.4	99.8 $\pm$ 1.0	61.0 $\pm$ 9.9	5.4 $\pm$ 0.7
limonene	100.0 $\pm$ 3.5	98.4 $\pm$ 6.2	81.8 $\pm$ 6.6	18.1 $\pm$ 15.3	15.1 $\pm$ 6.5

Tableau 4 : Cytotoxicité des 2 monoterpènes étudiés sur les cellules RC-37

Puis, le potentiel effet antiviral des 2 composés sélectionnés a été déterminé contre le VHS-1 *in vitro*. Les résultats avancés comme une réduction virale, représentent la moyenne de 3 expériences indépendantes et sont exprimés en pourcentage par rapport aux témoins non traités.

Dans les essais de réduction de plaque, comme nous le montre le tableau ci-dessous (tableau 5), le β -pinène et le limonène présentent un effet antiviral dépendant de la concentration et suppriment totalement la multiplication virale de VHS-1.

concentration ($\mu\text{g/mL}$)	1	2.5	5	7.5	10	25	50
remaining infectivity (% of control) $\pm$ SD							
β -pinene	82.3 $\pm$ 18.0	67.5 $\pm$ 26.9	23.1 $\pm$ 6.2	6.1 $\pm$ 12.3	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Limonene	94.7 $\pm$ 8.5	99.0 $\pm$ 9.6	64.3 $\pm$ 16.1	27.8 $\pm$ 19.8	8.2 $\pm$ 13.8	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0

Tableau 5 : effet antiviral des différentes dilutions de monoterpènes étudiés contre VHS-1.

Grâce aux courbes dose-réponse (non représentées dans cette étude), les concentrations inhibitrices de 50% (CI_{50}) pour VHS-1 ont été déterminées à 3,5 $\mu\text{g/mL}$ pour le β -pinène et 5,9 $\mu\text{g/mL}$ pour le limonène. Afin d'évaluer la meilleure activité antivirale, les indices de sélectivité (IS) ont également été évalués dans cette étude (Tableau 6). Cet IS est calculé par le ratio de la concentration cytotoxique 50 (CT_{50}) sur la concentration inhibitrice 50 (CI_{50}). Un produit cytotoxique à des doses élevées, qui inhibe la multiplication virale à des concentrations faibles possédera donc un meilleur indice de sélectivité.

monoterpene	max. noncytotoxic concentration ($\mu\text{g/ml}$) $\pm$ SD	TC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) $\pm$ SD	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) $\pm$ SD	selectivity index (SI)
β -pinene	60 $\pm$ 6.9	85 $\pm$ 5.3	3.5 $\pm$ 4.0	24.3
limonene	40 $\pm$ 6.4	60 $\pm$ 11.0	5.9 $\pm$ 5.3	10.2

Tableau 6 : Indices de sélectivité des 2 monoterpènes étudiés contre VHS-1

Avec un IS de 24,3 contre 10,2 pour le limonène, le β -pinène présente une meilleure activité antivirale. En effet, avec une concentration maximale non cytotoxique et une CT₅₀ plus élevée (Tableau 6), une CI₅₀ plus faible (Tableau 6) et une suppression virale à une concentration plus faible (tableau 5), il apparaît moins toxique et plus efficace que le limonène.

Pour finir, afin d'étudier en détail les effets inhibiteurs sur le VHS-1, les composés ont été ajoutés à différentes étapes de l'infection virale.

Lorsque les cellules hôtes sont pré-traitées avant l'infection, ces 2 composés monoterpéniques montrent des effets mineurs sur l'infection virale (figure 33).

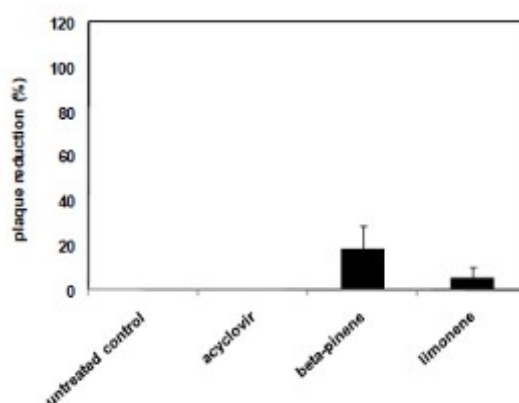


Figure 33 : prétraitement des cellules avec les 2 composés monoterpéniques étudiés avant l'infection virale

D'autre part, le prétraitement de VHS-1 avec les composés monoterpéniques avant l'infection virale a entraîné une réduction significative de la formation de plaque. En effet, à des concentrations maximales non cytotoxiques, les composés testés ont réduit le titre viral de 100%

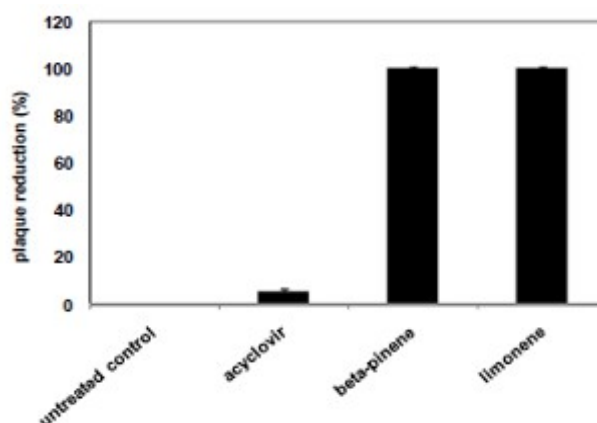


Figure 34 : prétraitement de VHS-1 avant l'infection virale avec les 2 composés monoterpéniques

En ce qui concerne le traitement pendant la période de réplication, c'est l'aciclovir qui a montré l'activité antivirale la plus élevée avec une inhibition de la réplication virale de 98,6%. Toutefois, des effets mineurs ont été détectés sur l'infectivité virale lorsque les cellules ou les virus ont été prétraités avec l'antiviral. En revanche, l'ajout des composés monoterpéniques après pénétration du virus dans la cellule hôte n'entraîne pas de changement significatif sur la formation de plaque.

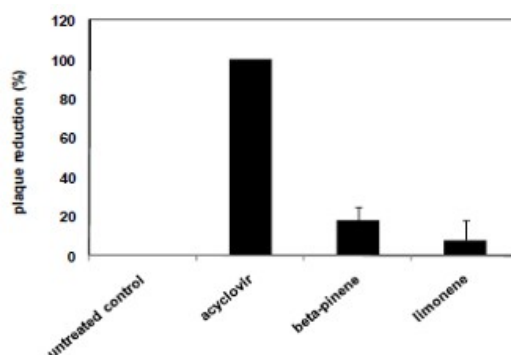


Figure 35 : activité antivirale des 2 composés monoterpéniques et de l'aciclovir lors de l'ajout pendant la période de réplication.

3. Discussion

Cette étude a permis de mettre en évidence l'activité virucide de 2 composés monoterpéniques : le β -pinène et le limonène, contre le VHS-1. Ces derniers ont présenté une activité antivirale importante contre le VHS-1 : à des concentrations maximales non cytotoxiques, la formation de plaque a été supprimée.

Le mode d'action antivirale a été déterminé lorsque l'addition des monoterpènes s'est faite à différents moments du cycle de réplication. Le traitement des cellules avant l'infection et pendant la période de réplication n'a affiché qu'un effet mineur sur l'inhibition de la plaque. Cependant, ces 2 composés ont manifesté un effet antiviral majeur lorsque le virus a été incubé après leur application avant l'infection.

Ces résultats suggèrent donc que le β -pinène et le limonène inhiberaient directement le VHS-1 et pourraient interférer avec les structures d'enveloppe du virion ou masquer les structures virales nécessaires à l'adsorption dans les cellules hôtes. Cette inhibition a lieu avant l'adsorption mais pas après la pénétration dans la cellule hôte.

Il a également été rapporté dans cette étude que l'aciclovir réduisait de manière importante la formation de plaque lorsqu'il est ajouté au cours de la réplication virale. Nous pouvons donc dire que les 2 composés monoterpéniques ont un mode d'action différent de celui de cet antiviral.

Pour conclure, nous pouvons objectiver que les monoterpènes présents dans les HE manifestent une activité anti-herpétique en phase précoce de la multiplication virale et pourraient être décrits comme agents antiviraux potentiels dans l'herpès labial récurrent.

E. Étude scientifique sur les HE d'Eucalyptus, de Tea Tree et de Thym à thymol

L'étude « Comparative Study on the Antiviral Activity of Selected Monoterpenes Derived from Essential Oils » a été menée en 2010 par Akram Astani, Jürgen Reichling et Paul Schnitzler⁷⁸.

L'objet de cette étude est l'évaluation de l'activité antivirale de monoterpènes (α -terpinène, γ -terpinène, α -pinène, p -cymène, terpinen-4-ol, α -terpinéol, thymol, citral et 1,8 cinéole), composés majoritaires des HE d'Eucalyptus globulus, de Tea tree et de Thym à thymol, contre VHS-1 et de leur mode d'action durant le cycle de multiplication virale.

1. Matériel et Méthode

Les HE d'Eucalyptus globuleux, de Tea Tree et de Thym à thymol approuvent les exigences des Pharmacopées actuelles.

L' α -terpinène, le γ -terpinène, l' α -pinène, le p -cymène, le terpinen-4-ol, l' α -terpinéol, le thymol, le citral ainsi que le 1,8 cinéole répondent à des normes élevées de pureté.

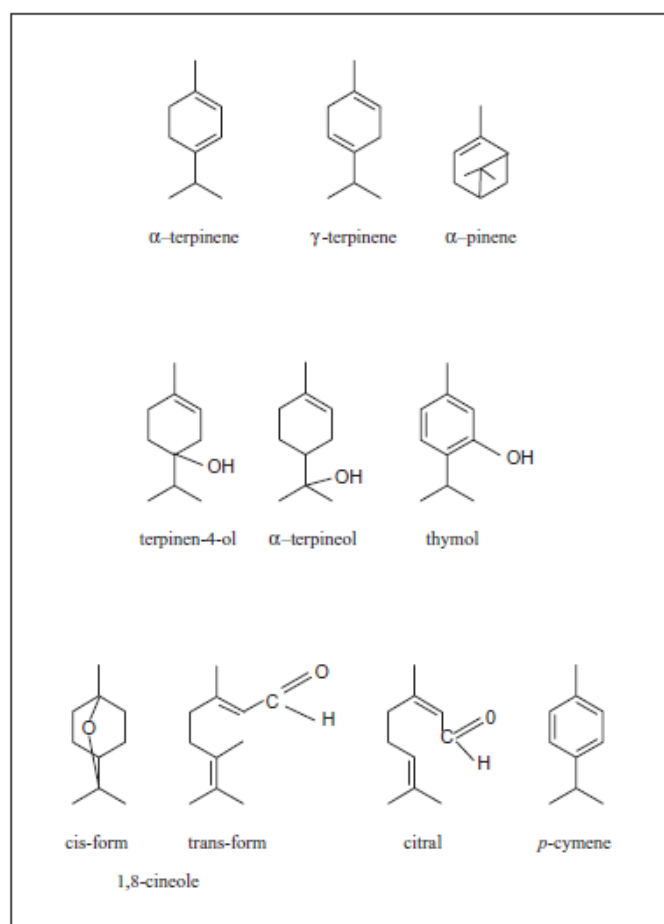


Figure 36 : Structures chimiques des monoterpènes étudiés

Les cellules utilisées sont, comme pour toutes les études présentées au sein de cette partie, des cellules de rein de singe (cellules RC-37). Le VHS-1 souche KOS est employé pour toutes les expériences.

La cytotoxicité des HE et des composés sélectionnés a été déterminée sur les cellules RC-37. Ces cellulesensemencées sur des plaques de culture ont été mises en contact avec chacune de ces drogues à différentes concentrations. Après 3 heures d'incubation, la viabilité des cellules RC-37 a été soulignée par une coloration au rouge neutre standard afin de doser par densité optique le nombre de cellules vivantes. Cela a permis d'identifier les concentrations cytotoxiques capables de réduire de 50% le nombre de cellules viables (CT_{50}), pour chacune des drogues testées à partir de courbes dose-réponse (non représentées dans l'étude). La concentration maximum non cytotoxique de chaque drogue a également été déterminée.

L'inhibition de la répllication de VHS-1 a été mesurée *in vitro*, par un test de réduction de plaque. Pour cela, ce virus a été incubé avec différentes concentrations d'HE d'Eucalyptus globuleux, de Tea Tree ou de Thym à thymol ainsi qu'avec chacun des monoterpènes étudiés. Ces

virus traités ont ensuite été mis en contact avec les cellules.

Dans tous les essais, des cellules infectées non traitées ont été sélectionnées comme témoins et chaque expérience a été réalisée 3 fois . Par référence au nombre de plaques observées avec les témoins, la concentration pour chaque HE ou composé testé qui inhibe le nombre de plaque de 50% a été calculée (CI₅₀) à partir de courbes dose-réponse.

Dans le but d'examiner le mode d'action antiviral, les cellules ont été pré-traitées avec les HE ou les composés avant l'infection virale ; les virus ont été incubés avec les drogues avant l'infection ou immédiatement après la pénétration du virus dans les cellules hôtes. Chaque essai a été réalisé 3 fois en utilisant des concentrations maximales non cytotoxiques et a été comparé à des témoins non traités.

2. Résultats

Comme décrit dans la partie précédente, la toxicité cellulaire a été évaluée. Les concentrations maximales non cytotoxiques pour chacune des HE et chacun des composés testés sont résumées dans le tableau ci-dessous (tableau 7).

Table 1. Cytotoxicity of essential oils and selected compounds on RC-37 cells. Viability of the drug-treated cells was determined in a standard neutral red assay. Results are given in % compared with untreated controls and represent the mean of three independent experiments

	10	25	50	75	100	250	500	750
Concentration (µg/mL)	Cell viability (%) ± SD							
Eucalyptus oil	102.5 ± 8.3	104.1 ± 6.5	104.8 ± 5.4	102.8 ± 3.4	94.6 ± 7.4	83.2 ± 7.4	4.9 ± 2.0	4.4 ± 2.0
Tea tree oil	98.1 ± 5.4	103.3 ± 3.5	103.3 ± 5.6	101.2 ± 8.3	72.2 ± 18.8	5.2 ± 0.9	5.0 ± 1.0	6.0 ± 1.0
Thyme oil	104.4 ± 10.0	102.0 ± 9.1	102.2 ± 16.2	18.5 ± 4.1	4.1 ± 2.5	n.d.	n.d.	n.d.
α-Terpinene	106.3 ± 10.2	101.0 ± 11.0	96.8 ± 11.2	75.7 ± 6.0	6.0 ± 0.8	5.8 ± 2.1	5.2 ± 0.9	5.5 ± 0.2
γ-Terpinene	116.4 ± 19.8	110.2 ± 16.9	9.6 ± 2.4	11.6 ± 4.0	7.9 ± 2.1	n.d.	n.d.	n.d.
α-Pinene	116.5 ± 4.4	112.8 ± 5.5	99.9 ± 3.2	65.4 ± 4.5	5.3 ± 0.4	n.d.	n.d.	n.d.
p-Cymene	95.5 ± 9.3	96.8 ± 10.5	79.0 ± 14.8	35.1 ± 11.2	20.1 ± 6.6	19.8 ± 4.5	15.9 ± 4.6	14.2 ± 3.3
Terpinen-4-ol	101.5 ± 6.9	93.0 ± 1.4	98.5 ± 0.7	91.3 ± 0.7	98.9 ± 17.1	95.3 ± 11.7	78.0 ± 14.0	31.1 ± 2.5
α-Terpineol	115.5 ± 8.7	103.8 ± 11.6	111.8 ± 5.9	109.3 ± 12.9	104.3 ± 15.3	73.5 ± 17.7	41.6 ± 12.4	5.7 ± 0.4
Thymol	98.7 ± 5.8	96.6 ± 12.1	85.3 ± 8.3	66.1 ± 13.5	30.9 ± 12.5	n.d.	n.d.	n.d.
Citral	93.2 ± 4.2	89.7 ± 2.6	36.3 ± 10.6	5.3 ± 0.8	6.2 ± 1.1	n.d.	n.d.	n.d.
1,8-Cineole	104.9 ± 4.2	99.6 ± 12.3	95.5 ± 4.9	96.1 ± 5.2	97.7 ± 2.8	101.4 ± 6.2	95.5 ± 8.4	98.5 ± 2.1

n.d., not determined.

Tableau 7 : cytotoxicité des HE et composés sélectionnés sur les cellules RC-37

Elles sont définies entre 20µg/mL pour le citral et 1250 µg/mL pour le composé le moins toxique, le 1,8-cinéole. Les 3 HE et les 9 composés monoterpéniques ont révélé une faible toxicité.

Le potentiel effet antiviral des différentes HE et des composants sélectionnés a été découvert, *in vitro*, contre le VHS-1. Les concentrations inhibitrices de 50% (CI₅₀) pour VHS-1 ont été distinguées dans un large éventail de 2,0µg/mL pour l'HE de Tea Tree et 1200µg/mL pour le 1,8 cinéole.

Dans le tableau ci-dessous (tableau 8), les résultats sont présentés comme une réduction virale et correspondent à la moyenne des 3 expériences. Ils sont affichés jusqu'à une concentration de 100 µg/mL, les résultats des quelques monoterpènes avec une concentration maximale supérieure n'y figurent donc pas.

Table 2. Antiviral effect of serial dilutions of essential oils and selected compounds against herpes simplex virus type 1. Results are given in % compared with untreated virus controls and represent the mean of three independent experiments

Concentration (µg/mL)	1	2.5	5	7.5	10	25	50	75	100
	Remaining infectivity (% of control) ± SD								
Eucalyptus oil	115.5 ± 0.7	120.0 ± 14.1	106.5 ± 2.1	109.0 ± 16.1	96.5 ± 2.1	86.0 ± 5.7	63.5 ± 16.3	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.4
Tea tree oil	103.0 ± 14.1	43.1 ± 4.2	15.0 ± 5.7	2.0 ± 1.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	n.d.
Thyme oil	81.6 ± 12.9	72.0 ± 20.4	60.6 ± 12.9	53.0 ± 15.6	51.6 ± 13.3	7.0 ± 2.7	1.0 ± 1.6	n.d.	n.d.
α-Terpinene	109.0 ± 4.2	91.5 ± 3.5	102.0 ± 11.3	58.5 ± 9.2	33.5 ± 3.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	n.d.	n.d.
γ-Terpinene	96.5 ± 7.8	100.2 ± 9.9	91.0 ± 8.5	42.0 ± 1.4	1.5 ± 2.1	0.0 ± 0.0	n.d.	n.d.	n.d.
α-Pinene	90.4 ± 10.9	73.2 ± 17.3	46.6 ± 3.5	4.7 ± 0.6	2.6 ± 2.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	n.d.	n.d.
p-Cymene	99.3 ± 0.6	97.0 ± 1.0	100.4 ± 9.0	93.7 ± 17.5	78.0 ± 11.8	31.0 ± 12.7	n.d.	n.d.	n.d.
Terpinene-4-ol	101.5 ± 6.9	93.0 ± 1.4	98.5 ± 0.7	91.3 ± 0.7	98.9 ± 17.1	95.3 ± 11.7	78.0 ± 14.0	31.1 ± 2.5	0.4 ± 0.1
α-Terpineol	97.5 ± 12.0	106.0 ± 7.8	95.0 ± 7.1	96.0 ± 8.5	92.5 ± 16.3	66.0 ± 16.2	52.5 ± 13.4	38.6 ± 7.1	33.4 ± 6.0
Thymol	99.2 ± 8.8	89.5 ± 12.1	83.3 ± 14.8	74.0 ± 5.7	72.7 ± 16.3	54.6 ± 6.5	n.d.	n.d.	n.d.
Citral	70.9 ± 20.3	55.9 ± 10.1	39.7 ± 9.3	25.2 ± 3.2	12.1 ± 1.2	14.2 ± 2.3	n.d.	n.d.	n.d.
1,8-Cineole	114.9 ± 4.2	11.6 ± 15.6	110.5 ± 10.6	103.0 ± 7.1	103.4 ± 6.4	105.2 ± 9.9	94.0 ± 5.7	89.1 ± 6.0	85.2 ± 7.1

n.d., not determined.

Tableau 8 : effet antiviral des différentes dilutions d'HE et des composés sélectionnés

Dans les essais de réduction de plaque, toutes les HE et tous les composés monoterpéniques exposent un effet antiviral concentration - dépendant. C'est pour l'HE de Tea Tree, la drogue apparaissant la plus efficace, que la suppression virale est atteinte à la concentration la plus faible. Une inhibition virale supérieure à 96% est observée pour toutes les HE et à 80% pour tous les monoterpènes à l'exception du moins actif, le 1,8 cinéole.

Les IS pour les HE et différents monoterpènes ont été calculés (Tableau 9)

Table 3. Selectivity indices (SI) of essential oils and selected monoterpenes for HSV-1. Experiments were repeated independently two times and data presented are the mean of three experiments ± SD (%)

Essential oil/monoterpene	Max. noncytotoxic concentration (µg/mL) ± SD (%)	TC ₅₀ (µg/mL) ± SD (%)	IC ₅₀ (µg/mL) ± SD (%)	Selectivity index
Eucalyptus oil	200 ± 3.5%	290 ± 5.8%	55 ± 8.2%	5.3
Tea tree oil	75 ± 8.3%	120 ± 9.6%	2 ± 4.2%	60.0
Thyme oil	50 ± 16.2%	70 ± 2.1%	11 ± 13.3%	6.4
α-Terpinene	50 ± 11.2%	55 ± 8.1%	8.5 ± 16.3%	6.5
γ-Terpinene	35 ± 8.1%	38 ± 12.7%	7 ± 2.8%	5.4
α-Pinene	50 ± 3.2%	80 ± 5.1%	4.5 ± 10.4%	17.8
p-Cymene	30 ± 12.7%	65 ± 13.0%	16 ± 16.2%	4.1
Terpinen-4-ol	250 ± 11.7%	650 ± 13.3%	60 ± 17.7%	10.8
α-Terpineol	150 ± 16.5%	400 ± 19.9%	22 ± 14.9%	18.2
Thymol	35 ± 8.1%	85 ± 12.8%	30 ± 6.5%	2.8
Citral	20 ± 1.7%	45 ± 8.9%	3.5 ± 10.1%	12.9
1,8-Cineole	1250 ± 9.6%	2000 ± 8.4%	1200 ± 8.9%	1.7

Tableau 9 : Indices de Sélectivité des HE et monoterpènes sélectionnés contre VHS-1

L'IS le plus élevé est en faveur de l'HE de Tea tree avec une valeur de 60. Pour les 2 autres HE (Eucalyptus globuleux et Thym à thymol) ainsi que la plupart des monoterpènes, ces IS sont assez faibles.

Lorsqu'on s'intéresse au tableau ci dessus (tableau 9), on peut par exemple, s'apercevoir que l'activité antivirale la plus élevée se dégage pour l'HE de Tea Tree. Cette HE possède un IS de 60 alors que les monoterpènes majoritaires seuls : α -terpinene, γ -terpinène et terpinen-4-ol révèlent des IS respectifs de 6,5; 5,4 et 10,8. Cette constatation s'applique également pour l'HE d'Eucalyptus globuleux qui a un IS faible de 5,3 qui reste cependant supérieur à celui de son composant majeur, le 1,8 cinéole avec un IS de 1,7. Il en est de même pour l'HE de Thym à thymol dont l'IS est de 6,4 alors que ces 2 composés principaux : p -cymène et thymol ont des SI respectifs de 4,1 et 2,8. L'activité antivirale des monoterpènes seuls ne contribuerait donc pas de manière équivalente à celle de l'HE.

On peut aussi remarquer que les valeurs de CT_{50} des monoterpènes seuls influencent celle de l'HE dont ils sont les composants majoritaires. En effet, le 1,8 cinéole bénéficie de la CT_{50} la plus élevée (2000 μ g/mL), l'HE d'Eucalyptus globuleux a la valeur de CT_{50} la plus forte (des HE) alors que le p -cymène et le thymol affichent des valeurs respectives plus faibles de 65 et 85 μ g/mL et l'HE de Thym présente la valeur la plus petite (70 μ g/mL) (des HE).

Pour confirmer leur mode d'action antiviral, les 3 HE et 9 monoterpènes analysés ont été ajoutés à différents stades de l'infection virale.

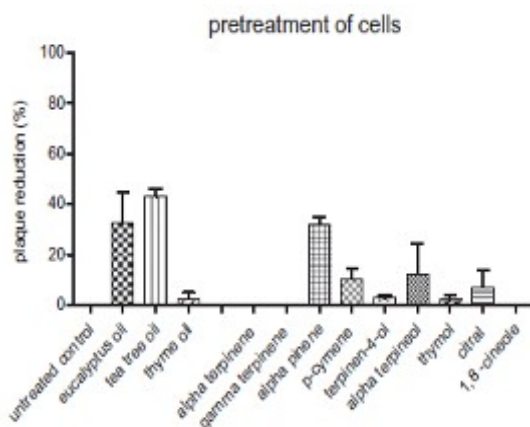


Figure 37 : activité antivirale des HE et monoterpènes sélectionnés contre le VHS-1 après prétraitement des cellules

Lorsque les cellules RC-37 sont pré-traitées avant l'infection, certaines drogues testées, notamment les HE d'Eucalyptus globuleux et de Tea Tree ainsi que l' α -pinène, montrent les effets les plus significatifs qui restent cependant mineurs sur l'activité antivirale.

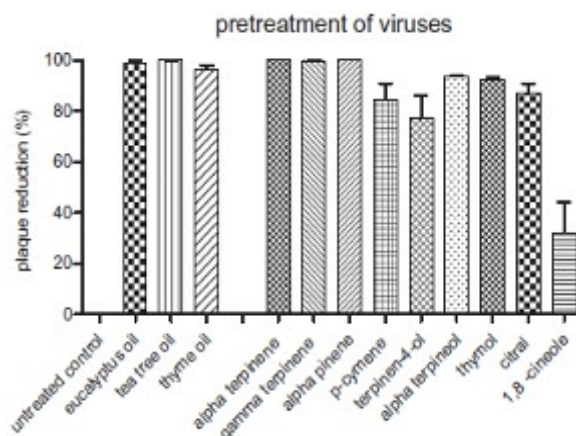


Figure 38 : activité antivirale des HE et monoterpènes sélectionnés contre VHS-1 après incubation du virus

D'autre part, le prétraitement de VHS-1 avec les HE et les composés monoterpéniques avant l'infection a causé une réduction significative de la formation de plaque. En effet, à des concentrations maximales non cytotoxiques, l'infectivité est inhibée de plus de 96% pour toutes les HE ainsi que pour 3 des monoterpènes : α -terpinène, γ -terpinène et α -pinène. À l'exception du 1,8-cinéole, tous les autres composés révèlent une réduction de plaque entre 80% et 90%.

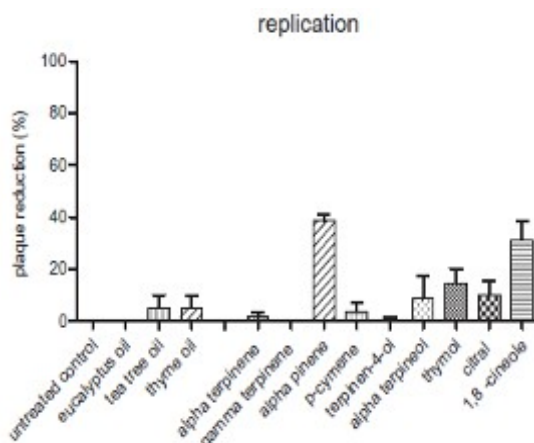


Figure 40 : activité antivirale des HE et composés sélectionnés contre le VHS-1 durant la réplication intracellulaire

Lorsque l'ajout des HE s'est produit après pénétration du virus dans les cellules hôtes, la formation de plaque n'a pas été significativement réduite sauf pour l' α -pinène et le 1,8-cinéole qui justifient une efficacité modérée.

En ce qui concerne l'aciclovir, les données ne sont pas dévoilées dans l'étude, mais les auteurs indiquent que cette drogue montre une activité antivirale la plus élevée pendant la période de réplication avec une inhibition de 98,6%. Toutefois, des effets mineurs sont observés lorsque cellules ou virus sont pré-traités avant l'infection. On peut remarquer que l'action du 1,8-cinéole à ce moment du cycle viral, est identique à celle déclarée dans l'expérience précédente (prétraitement du virus). Par contre, celle de l' α -pinène est diminuée.

3. Discussion

Dans cette présente étude, les effets inhibiteurs de 3 HE contre le VHS-1 ont été comparés avec le potentiel antiviral de leurs composés monoterpéniques majoritaires.

Toutes les HE analysées et la plupart des monoterpènes ont exposé des niveaux élevés d'activité antivirale contre VHS-1 dans les tests de suspension virale. Effectivement, à des concentrations maximales non cytotoxiques, la formation de plaque a été nettement abaissée de plus de 96% pour les HE d'Eucalyptus globuleux, de Tea Tree ou de Thym à thymol. La plupart des constituants ont supprimé l'infection virale à plus de 80%. L'activité antivirale est principalement observée pour les HE et les monoterpènes isolés lorsque le virus de l'herpès est incubé avec ces drogues avant l'infection de la cellule hôte.

Ces résultats suggèrent que les HE et composés monoterpéniques étudiés inactivent directement le VHS-1 et pourraient interférer avec des structures d'enveloppe du virion ou masquer les structures virales nécessaires pour l'adsorption ou l'entrée dans les cellules hôtes.

Le 1,8 cinéole est un peu différent des autres composés de cette étude car il apporte une activité antivirale modérée lors du traitement du virus avant son entrée dans la cellule mais cette activité se prolonge pendant la réplication intracellulaire.

De plus, grâce aux éléments issus de cette étude, il a été remarqué que, globalement, les composés monoterpéniques majoritaires des HE domineraient leur activité toxique et que celles-ci présenteraient des IS plus élevés que leurs composants principaux. Il semblerait donc que le mélange de différents composés aurait une action antivirale supérieure et préférable à celles des composés seuls. Ce rapport est aussi vrai pour l'HE d'Eucalyptus globuleux, principalement constituée de 1,8-cinéole associé à d'autres monoterpènes (limonène ; α - pinène ; ρ - cymène ; β - pinène) qui présente une activité antivirale similaire à celle de Tea Tree.

Les constats concernant l'activité antivirale contre VHS-1 des HE de Tea Tree, d'Eucalyptus globuleux et de Thym à thymol sont en accord avec d'autres publications. En 2001, Schnitzler et al. ont mis en évidence dans l'étude « antiviral activity of Australian Tea Tree oil and Eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture » un effet virucide concentration dépendant contre le VHS-1 notamment lorsque le virus est traité avec les HE avant l'infection⁷⁹.

En 2007, ce même auteur et son équipe, dans l'étude « Susceptibility of Drug-Resistant Clinical Herpes Simplex Virus Type 1 Strains to Essential Oils of Ginger, Thyme, Hyssop, and Sandalwood » décrivaient également une action antivirale de l'HE de Thym avant l'adsorption du virus dans la cellule hôte, contre les virus de l'herpès simplex de type 1 sensibles et résistants à l'aciclovir⁸⁰.

F. Étude scientifique sur l'HE d'Anis étoilé

L'étude « Screening for Antiviral Activities of Isolated Compounds from Essential Oils » a été menée en 2009 par Akram Astani, Jürgen Reichling and Paul Schnitzel⁸¹.

Le but de cette publication est d'étudier, *in vitro*, l'activité antivirale contre le VHS-1 de l'HE d'anis étoilé, ainsi que de quelques composés sesquiterpéniques et phénylpropanoïdes.

1. Matériel et méthode

L'HE d'anis étoilé répond aux exigences standards des Pharmacopées actuelles. Elle est principalement composée de trans-anethole (environ 80%), un phénylpropanoïde.

Les phénylpropanoïdes (trans-anethole, eugenol, β -eudesmol) et les sesquiterpènes (farnesol, β -caryophyllène et oxyde de β -caryophyllène) utilisés satisfont des normes de pureté élevées.

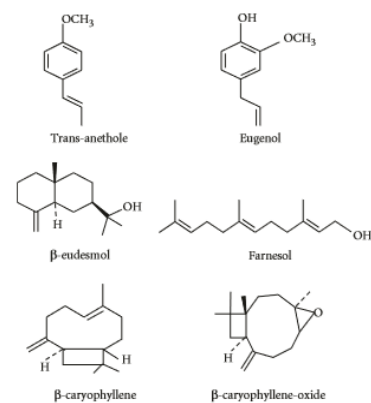


FIGURE 1: Structural formulas of phenylpropanoids and sesquiterpenes.

Figure 39 : Structures chimiques des sesquiterpènes et phénylpropanoïdes cités dans l'étude

Les cellules sélectionnées sont identiques à celles des études précédentes : ce sont les cellules RC-37. La souche virale VHS-1 KOS, également retrouvée précédemment, a été employée pour l'ensemble des essais.

L'effet de l'HE d'Anis étoilé, des phénylpropanoïdes et des sesquiterpènes sur la prolifération des cellules RC-37 a été évaluée. Disposées sur des plaques de culture, ces cellules ont été exposées à différentes concentrations en HE ou en autres composés. Après coloration au rouge neutre (uniquement fixé par les cellules viables), les cellules vivantes ont été dosées par densité optique. Cela a permis de déterminer les concentrations cytotoxiques capables de réduire le nombre de cellules viables de 50% (CT₅₀) pour l'HE et chacun des composés.

L'effet antiviral de l'HE et des composés a été examinée, *in vitro*, en incubant le virus avec des concentrations variables en HE et composés testés. Il a été analysé par des tests de réduction de plaque qui ont permis de définir la concentration capable d'inhiber le nombre de plaques de 50% (CI₅₀) à partir de courbes dose-réponse.

Dans ces essais, les cellules non traitées infectées par le virus ont été utilisées comme témoins.

Comme pour toutes les études, le mode d'action antivirale de ces produits expérimentés a été déterminé en les ajoutant aux cellules non infectées, aux virus avant l'infection, ainsi que pendant ou après l'infection virale. Pour chaque produit, l'essai a été répété trois fois en utilisant la concentration maximale non cytotoxique et comparé à un contrôle non traité. De la même manière que précédemment, des tests de réduction de plaque ont été pratiqués.

2. Résultats

La cytotoxicité de l'HE d'Anis étoilé et des 6 phénylpropanoïdes et sesquiterpènes sélectionnés a été analysée. Les concentrations maximales de ces « drogues » se situent entre 9 µg/mL pour l'oxyde de β-caryophyllène et le β-eudesmol et 100 µg/mL pour l'anis étoilé révélant ainsi la plus faible toxicité (Tableau 10).

Des résultats similaires ont été rapportés pour les valeurs de CT₅₀ qui sont, par exemple, de 18µg/mL pour l'oxyde de β-caryophyllène et de 160 µg/mL pour l'HE (Tableau 10).

L'activité antivirale de l'HE et des composés testés contre le VHS-1 a été soulevée par la détermination des concentrations inhibitrices de 50% (CI₅₀) pour chacun d'eux. Les résultats, exprimés sur la figure suivante, se situent dans une large gamme s'étalant de 0,25 µg/mL pour le β-

caryophyllène à 35 µg/mL pour l'eugénol (Tableau 10).

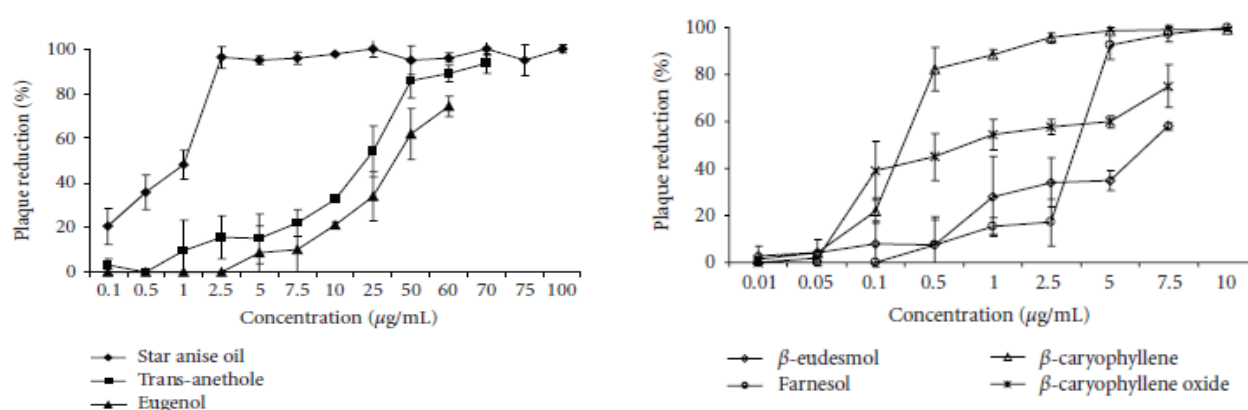


Figure 40 : activité antivirale de diverses dilutions d'HE d'Anis étoilé, de phénylpropanoïdes et sesquiterpènes

Grâce aux concentrations cytotoxique de 50% (CT₅₀) et inhibitrice de 50% (CI₅₀), l'index de sélectivité (IS) a été calculé. Il correspond au ratio (CT₅₀)/(CI₅₀) et permet de connaître le composé avec la meilleure activité antivirale. Une concentration cytotoxique élevée et une concentration inhibitrice faible donne un IS élevé.

L'HE d'Anis étoilé, riche en trans-anethole, a révélé un indice de sélectivité élevé de 160 contre VHS-1, tandis que les composés seuls, β-caryophyllène affiche un index de sélectivité élevé de 140. La présence de β-caryophyllène dans beaucoup d'HE peut donc fortement contribuer à leur capacité antivirale.

TABLE 1: Selectivity indices of anise oil and selected phenylpropanoids and sesquiterpenes against HSV-1^(a).

Essential oil/compound	Max. non-cytotoxic conc. (µg mL ⁻¹) ± SD	TC ₅₀ (µg mL ⁻¹) ± SD	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹) ± SD	SI
Star anise oil	100 ± 8.0	160 ± 30.7	1 ± 0.1	160
Trans-anethole	70 ± 3.0	100 ± 6.4	20 ± 1.1	5
Eugenol	60 ± 11.1	85 ± 8.1	35 ± 6.2	2.4
β-Eudesmol	9 ± 1.3	35 ± 5.4	6 ± 0.3	5.8
Farnesol	10 ± 0.4	40 ± 3.7	3.5 ± 0.1	11.4
β-Caryophyllene	10 ± 0.1	35 ± 2.3	0.25 ± 0.0	140
β-Caryophyllene oxide	9 ± 1.1	18 ± 1.2	0.7 ± 0.1	25.7

^(a) Experiments were repeated independently and data presented are the mean of three experiments.

Tableau 10 : Index de sélectivité de l'HE d'Anis étoilé et des phénylpropanoïdes et sesquiterpènes sélectionnés contre VHS-1.

Les courbes dose-réponse ci-dessus nous prouvent que les composés testés ainsi que l'HE d'Anis étoilé ont un effet antiviral concentration-dépendant.

Avec un SI de 160 légèrement supérieur à celui du β-caryophyllène qui est de 140, cette HE

apparaît comme la plus efficace de tous les produits testés. En effet, à la concentration maximale non cytotoxique, elle a pu supprimer la multiplication virale de plus de 99% alors que, parmi les 6 composés testés, seuls le trans-anethole, le β -caryophyllène et le farnésol ont inhibé l'infectivité virale de VHS-1 de plus de 90% à une concentration maximale non cytotoxique.

Pour ce qui est du mécanisme antiviral, les résultats des différents essais réalisés sont représentés sur les diagrammes ci-dessous (figure 41). Nous pouvons constater que les drogues testées n'ont aucun effet statistiquement significatif sur l'infection virale lorsque les cellules RC-37 sont pré-traitées avant l'infection (Figure 41 a).

D'autre part, lorsque le virus est pré-incubé avec l'HE ou l'un des 6 composés étudiés, une diminution des titres viraux est accusée pour la totalité d'entre eux mais à des degrés différents. En effet, cette réduction est supérieure à 99% pour l'HE d'Anis étoilé, suivie d'une réduction de 98% pour le β -caryophyllène. Tous les autres constituants ont révélé une inhibition modérée comprise entre 60% (Eugénol) et 90% (Farnésol). Toutefois, l'effet antiviral de l'Eugénol n'est pas significatif (Figure 41b).

En revanche, lorsque l'HE ou les composés sont additionnés après pénétration du virus dans la cellule hôte, plus aucune inhibition significative n'est observée (Figure 41 c). Néanmoins, cet article stipule que durant cette période de réplication, l'aciclovir montre l'activité antivirale la plus élevée avec une inhibition de réplication supérieure à 99%.

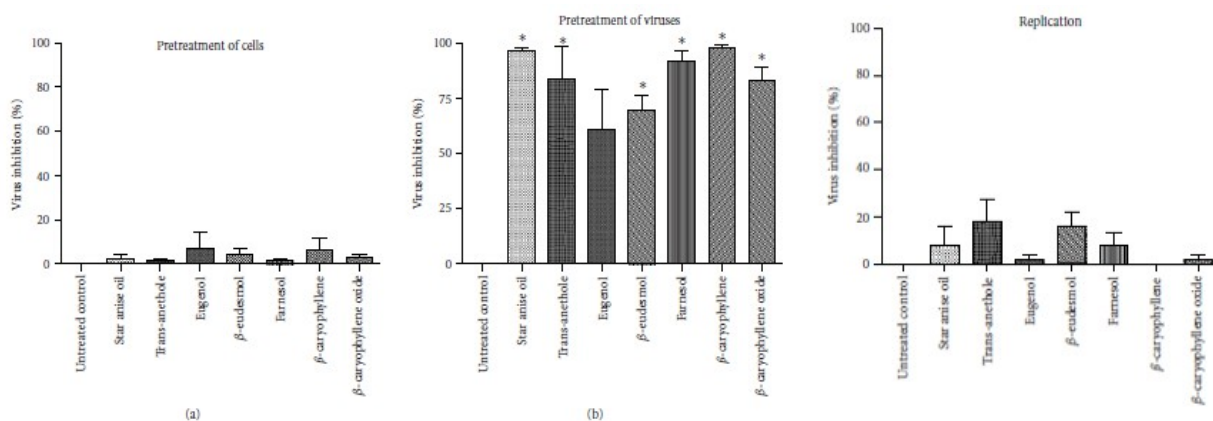


Figure 41 : activité antivirale des composés testés contre VHS-1 à différents temps du cycle de réplication : a) pré-incubation des cellules non infectées ; b) pré-incubation des virus avant l'infection ; c) traitement durant la réplication

3. Discussion

Dans cette étude, l'effet inhibiteur de l'HE d'Anis étoilé contre le VHS-1 a été comparé au potentiel antiviral des composés phénylpropanoïdes et sesquiterpéniques. L'HE d'Anis étoilé et la plupart des composés ont présenté une activité antivirale contre VHS-1. À des concentrations maximales non cytotoxiques, cette HE a réduit considérablement la formation de plaques (supérieure à 99%), les phénylpropanoïdes ont pu supprimer l'infection virale de 60 à 80% alors que les sesquiterpènes l'ont inhibé de 40 à 98% .

Le mode d'action antiviral a été démontré en additionnant l'HE ou les composés à différents moments du cycle de réplication. Le prétraitement des cellules n'a eu aucun effet sur la production virale et la formation de plaque. Les mêmes résultats ont été trouvés lorsque l'HE ou les composés ont été insérés pendant la période de réplication du cycle.

Cependant l'HE d'Anis étoilé, le trans-anethole, le farnesol et le β -caryophyllène ont manifesté une activité antivirale importante lorsqu'ils ont été ajoutés au VHS-1 avant l'infection.

Ces résultats suggèrent donc qu'ils inactiveraient directement le virus de l'herpès et pourraient interférer avec les structures d'enveloppe du virion.

Quant à l'aciclovir, il inhibe la réplication du virus par interférence avec l'ADN polymérase à l'intérieur de la cellule, tandis que l'HE d'Anis étoilé, phénylpropanoïdes et sesquiterpènes inactivent probablement VHS avant qu'il entre dans la cellule.

Les 6 études décrites ci-dessus ont mis en évidence le mécanisme d'action des HE de Menthe poivrée, de Mélisse officinale, d'Armoise arborescente, d'Eucalyptus globuleux, de Tea tree et de Thym à thymol ainsi que de divers constituants d'HE contre le VHS-1.

Un même mécanisme d'action a été montré dans ces 6 études. L'action virucide est principalement exercée directement sur le virus avant sa pénétration dans la cellule hôte. Il reste cependant à déterminer si l'inhibition de ce développement viral est provoqué par la liaison de l'HE aux protéines virales nécessaires à l'absorption ou à la pénétration ou encore par des dommages causés au virion qui pourraient nuire à leur capacité d'infecter les cellules hôtes.

Dans ces différentes études, un mécanisme autre que celui de l'aciclovir a été mis en évidence. En effet, dans la première publication décrite, la menthe poivrée est capable d'inhiber une souche virale VHS-1 résistante à l'aciclovir. Cet antiviral qui inhibe l'ADN polymérase cellulaire, entre en jeu au moment de la réplication virale alors que les HE agissent sur le virus avant même

qu'il ne pénètre dans la cellule hôte.

Face à ce constat, on peut se demander si l'association de certaines HE avec l'aciclovir pourrait améliorer l'efficacité du traitement de l'herpès labial.

Ainsi, l'étude suivante qui porte sur la menthe odorante met en évidence un autre mécanisme d'action que celui évoqué jusqu'à présent mais aussi un effet synergique entre cette HE peu courante et l'antiviral le plus fréquent, l'aciclovir.

II. Synergie d'action entre HE et l'aciclovir

Cette étude « In vitro inhibition of herpes simplex virus type 1 replication by *Mentha suaveolens* essential oil and its main component piperitenone oxide » a été publiée en 2014 par Livia Civitelli et son équipe⁸¹.

1. Matériel et méthode

L'HE de *Mentha suaveolens* utilisée se compose majoritairement d'oxyde de pipériténone (entre 80 et 90%) et en quantité plus restreinte, le limonène, l' α -cubène et le pulegone.

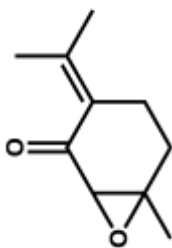


Figure 42 : structure chimique du constituant majeur de l'HE de *Mentha suaveolens*, l'oxyde de piperitenone

Les cellules de rein de singe africain (cellules Vero) ont de nouveau été sollicitées pour tous les essais et le VHS-1 souche F a été employé pour les tests antiviraux des 3 composés examinés.

En premier lieu, la toxicité cellulaire de l'HE de Menthe odorante, de l'oxyde de piperitenone, et de l'HE de Tea Tree dont l'action antivirale a déjà été prouvée dans d'autres études a été testée. Pour cela, les cellules Vero ont été incubées avec chacun des 3 composés à différentes concentrations allant de 1 à 500 $\mu\text{g/mL}$. La prolifération cellulaire a ensuite été mesurée par le

moyen du test MTT. Ce test de cytotoxicité a permis d'évaluer les concentrations cytotoxiques à 50% (CT₅₀).

Ensuite, l'effet de l'HE de Menthe odorante, de l'oxyde de piperiténone, de l'HE de Tea Tree ainsi que l'action synergique entre l'aciclovir et l'HE de Menthe odorante ou son composé majoritaire ont été appréciés sur la réplication de VHS-1 en mesurant le titre viral dans le surnageant des cellules infectées ou, directement par dosage de réduction de plaque.

Pour cela, dans un premier temps, les cellules Vero infectées par VHS-1 ont été exposées à des concentrations en HE de Menthe odorante allant de 1 à 30 µg/mL pendant 24, 48 et 72 heures après l'infection. Les surnageants des cellules infectées ont ensuite été récupérés pour subir le test de réduction de plaque. L'HE de Tea Tree a subi les mêmes essais.

Dans un second temps, les cellules infectées par VHS-1 ont été traitées avec des concentrations croissantes en oxyde de pipériténone pendant 24 heures après l'infection afin d'évaluer l'activité virale de ce composé.

Enfin, pour évaluer l'effet synergique de l'association aciclovir et HE de Menthe odorante, ou oxyde de pipériténone, les composés testés ont été utilisés à des concentrations sous-inhibitrices de 0,05µg/mL pour l'aciclovir et 15µg/mL pour les 2 autres.

Les témoins de ces expériences comprennent des cellules infectées et traitées par l'un des 3 composés selon celui testé.

Dans le but d'étudier leur mécanisme d'action, l'HE de Menthe odorante, l'oxyde de pipériténone et l'HE de Tea Tree ont été additionnés à la concentration finale de 30µg/mL à différentes étapes du cycle de réplication virale :

- les cellules ont été pré-incubées avec les composés ;
- les composés ont été ajoutés durant la période d'adsorption
- les composés ont été additionnés immédiatement après la période d'adsorption ;
- les composés ont été pré-incubés avec VHS-1

Ensuite, les résultats des expériences précédentes ont laissé apparaître que l'oxyde de pipériténone était plus efficace que l'HE dont il en est le composé majoritaire dans le traitement de VHS-1 après son entrée dans la cellule hôte. Des essais complémentaires ont donc été entrepris. Ce composé a été additionné, à différents moments après l'infection, à une concentration de 30g/mL. 24 heures après l'infection, les surnageants des cellules infectées, traitées ou non, ont été récupérés pour un dosage de réduction de plaque afin d'apprécier le titre viral.

Pour finir, les protéines cellulaires ont été détectées et identifiées par la méthode du Western

Blot et le taux de GSH intracellulaire a été déterminé par une méthode utilisant la glutathion réductase. Les valeurs obtenues sont exprimées en équivalent GSH/mg de protéines.

2. Résultats

Pour l'évaluation de la cytotoxicité, les expériences sur la prolifération et la viabilité cellulaires ne montrent pas de toxicité majeure. Pour toutes les doses testées, l'HE de Tea Tree et l'oxyde de pipéritenone ne révèlent pas de toxicité alors que l'HE de Menthe odorante montre un effet cytotoxique à partir d'une concentration de 300µg/mL .

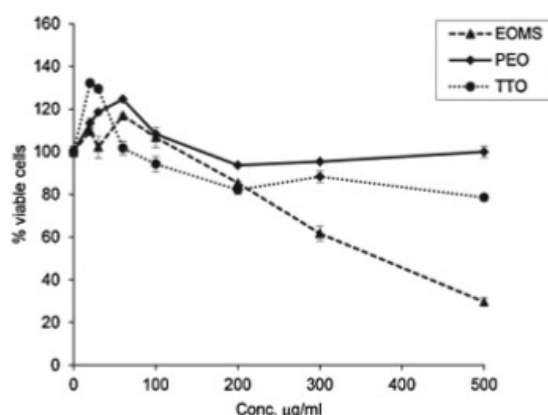


Figure 43 : Courbes dose-dépendante de la viabilité cellulaire en fonction de la concentration en HE et en oxyde piperitenone

Les valeurs des concentrations cytotoxiques 50 (CT₅₀) des 3 composés testés sont rapportés dans le tableau 11 ci-dessous.

Table 1

Cytotoxicity (CC₅₀) and antiviral effect (IC₅₀) of EOMS, PEO and TTO.

	EOMS	PEO	TTO
CC ₅₀	343.6 µg/ml	>1000 µg/ml	568.4 µg/ml
IC ₅₀	5.1 ± 0.48 µg/ml	1.4 ± 0.07 µg/ml	13.2 ± 0.21 µg/ml
SI ^a	67	>700	44

^a SI: selectivity index (CC₅₀/IC₅₀).

Tableau 11 : Cytotoxicité (CC₅₀) et activité antivirale (CI₅₀) de l'HE de Menthe odorante, de l'oxyde de pipéritenone et de l'HE de Tea Tree

L'activité antivirale de l'HE de Menthe odorante, de l'oxyde de pipériténone a été étudiée.

En ce qui concerne l'HE de **Menthe odorante**, le diagramme ci-dessous (figure 44) nous démontre que cette HE inhibe la formation de plaque de manière dose-dépendante. Une réduction significative de la réplication virale est observée en particulier à la dose de 30µg/mL. Cet effet est

maintenu 72 heures après l'infection. Puisque la réduction de plaque est observée pour une concentration en HE de 30µg/mL, cette dose est appliquée pour les expériences suivantes.

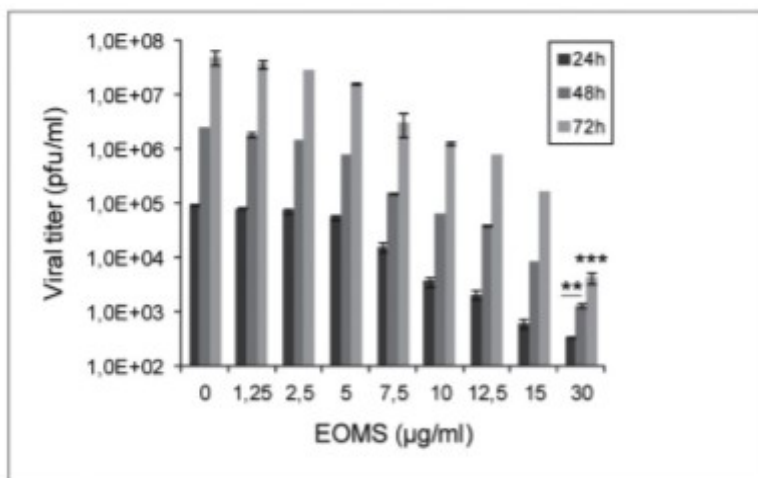


Figure 44 : Activité antivirale l'HE de Menthe odorante contre VHS-1 après 24,48 et 72 heures d'infection

Pour l'**oxyde de piperiténone**, les résultats d'expériences tracés sur le diagramme ci-dessous (figure 45) évoquent des réductions significatives à des concentrations supérieures à 10 µg/mL et une inhibition presque totale à 30µg/mL.

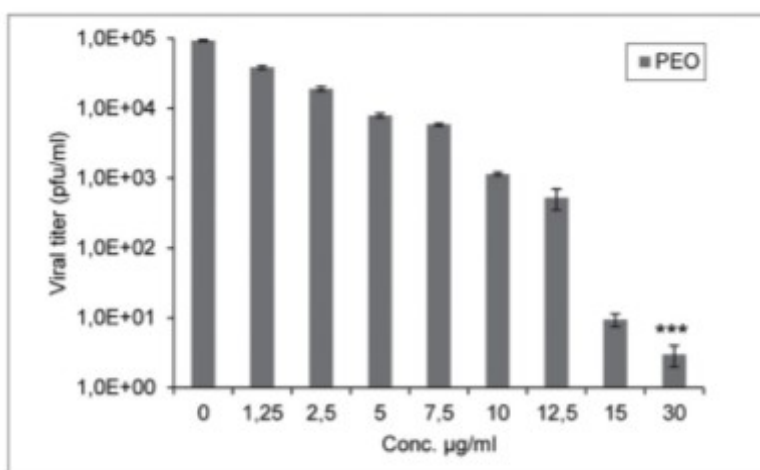


Figure 45 : activité antivirale de l'oxyde de piperitenone contre VHS-1, 24 heures après infection

Nous pouvons donc constater que pour une même concentration de 30µg/mL, l'oxyde de pipériténone est plus efficace que l'HE de Menthe odorante sur la réplication virale de VHS-1.

Quant à l'HE de Tea Tree, en discordance avec les études précédentes, elle ne révèle aucun effet significatif sur la réplication virale.

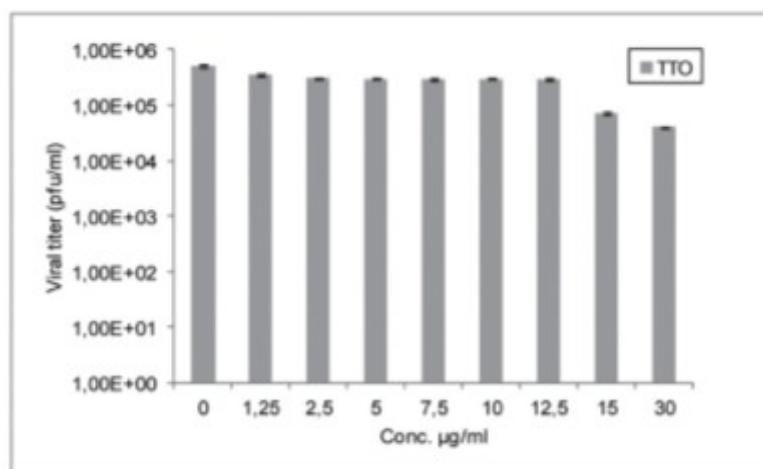


Figure 46 : activité antivirale de l'HE de Tea Tree contre VHS-1 24 heures après l'infection

Dans le tableau 9 présenté un peu plus haut, les valeurs de CC_{50} , CI_{50} et les IS pour chacun des composés testés sont répertoriés. On peut ainsi constater que l'HE de Menthe odorante présente un IS (IS = 67) inférieur à celui de l'oxyde de pipériténone (IS > 700), ce qui nous permet de dire que, d'après cette étude, ce composé est plus actif que l'HE contre le VHS-1. Quant à l'HE de Tea Tree, avec un IS plus faible de 44, elle apparaît moins efficace sur la réplication virale que les 2 autres drogues. Elle a servi de contrôle dans les expériences suivantes.

L'aciclovir, antiviral connu pour son action durant la réplication du virus, a été employé dans les expériences suivantes comme contrôle positif de l'activité antivirale. D'ailleurs, les auteurs de cet article nous rapportent une concentration inhibitrice à 50% de 0,03 µg/mL. De plus, l'emploi de cet antiviral à la même dose de 30µg/mL que l'HE de Menthe odorante et de l'oxyde de pipériténone, inhibe également complètement la réplication virale.

En ce qui concerne la synergie d'action entre l'aciclovir et l'HE de Menthe odorante ou son composé majoritaire, sur le diagramme ci-dessous (Figure 47), il apparaît qu'une faible dose d'aciclovir peut inhiber la réplication de VHS-1 de plus de 1,5 log par rapport aux cellules infectées (CTR).

Si l'on s'intéresse à l'HE de Menthe odorante et à l'oxyde de pipériténone, on s'aperçoit que cette inhibition est du même ordre de grandeur avec, comme évoqué précédemment, une action légèrement plus élevée pour le composé isolé.

Néanmoins, une action synergique entre l'aciclovir et les 2 drogues testées a été observée. En effet, par rapport aux cellules infectées, l'association HE/aciclovir diminue le titre viral d'environ

2,5 log et celle HE/oxyde de piperitenone de 4 log. Ces résultats confirment que l'HE et son composé majoritaire ont une action antivirale lorsqu'ils sont ajoutés, immédiatement après l'infection virale, et laisse penser que ces derniers contribuent à améliorer l'action de l'aciclovir.

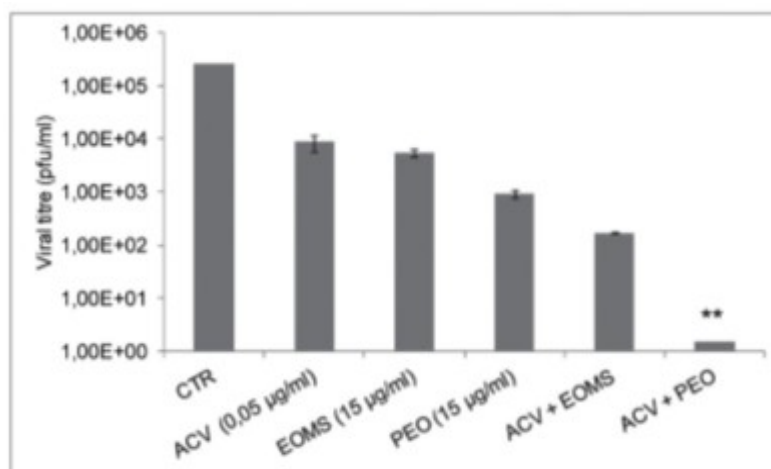


Figure 47 : Activité antivirale de l'aciclovir, de l'HE de Menthe odorante ou de l'oxyde de piperitenone seuls ainsi que des associations HE de Menthe odorante + aciclovir et oxyde de pipériténone + aciclovir

Ensuite, d'autres expériences ont permis de mettre en évidence un mécanisme d'action à d'autres étapes du cycle viral.

Table 2
Inhibitory effect of EOMS, PEO and TTO against HSV-1 added at different times of viral infection.

Untreated-infected cells ^a	Viral titer (pfu/ml) (2.56 ± 0.063) $\times 10^5$		
	EOMS	PEO	TTO
Pre-treatment cells ^b	(1.22 ± 0.16) $\times 10^5$	(2.07 ± 0.10) $\times 10^5$	(2.4 ± 0.14) $\times 10^5$
Treatment during adsorption ^c	(4.10 ± 0.14) $\times 10^5$	(2.35 ± 0.49) $\times 10^5$	(1.68 ± 0.03) $\times 10^5$
Treatment post-infection ^d	(4.24 ± 1.2) $\times 10^2$ **	(8.31 ± 0.2) $\times 10^0$ ***	(1.0 ± 0.15) $\times 10^5$
Pre-treatment virus ^e	(8.99 ± 1.8) $\times 10^4$ *	(3.28 ± 0.3) $\times 10^4$ *	(1.2 ± 0.14) $\times 10^5$

^a Untreated-virus infected cells.

^b Vero cells were pretreated with the test compounds prior to virus infection.

^c EOMS, PEO and TTO were added to Vero monolayers during adsorption period.

^d The test compounds were added after penetration of the virus into the host cells.

^e HSV-1 was treated with EOMS, PEO and TTO prior to infection. All values were expressed as the means $\pm$ SD ($n = 4$).

* $p < 0.05$ vs. untreated-infected cells.

** $p < 0.01$ vs. untreated-infected cells.

*** $p < 0.001$ vs. untreated-infected cells.

Tableau 12 : effet inhibiteur de l'HE de Menthe odorante, de l'oxyde piperitenone et de l'HE de Tea Tree contre le VHS-1 à différents moments de l'infection virale

En comparaison au titre viral des cellules non traitées, le tableau 12 ci-dessus nous révèle que l'HE de Tea Tree n'entraîne aucune modification sur la production virale, quelque soit le stade du cycle de vie du virus.

En ce qui concerne l'HE de Menthe odorante et l'oxyde de pipériténone, aucune action virucide n'a été observée lorsque ces 2 composés ont été additionnés aux cellules avant l'infection ou pendant la phase d'adsorption.

Par contre, lorsqu'ils ont été ajoutés au virus avant l'infection, une réduction modérée mais significative du titre viral a été constatée, indiquant que cette HE et son principal composant actif exercent un effet direct sur le virion, empêchant ainsi l'adsorption et l'entrée du virus dans la cellule hôte.

Comme pour les expériences précédentes, l'oxyde de piperitenone s'est révélé plus efficace que l'HE de Menthe odorante dans le traitement de VHS-1 après son entrée dans la cellule hôte. Ainsi pour caractériser son effet sur la réplication virale, il a été additionné à différents intervalles de temps après l'infection et pendant des durées variables.

Tout d'abord, dans une première série d'expériences, ce composé a été additionné à différents moments et maintenu jusqu'à 24 heures après l'infection.

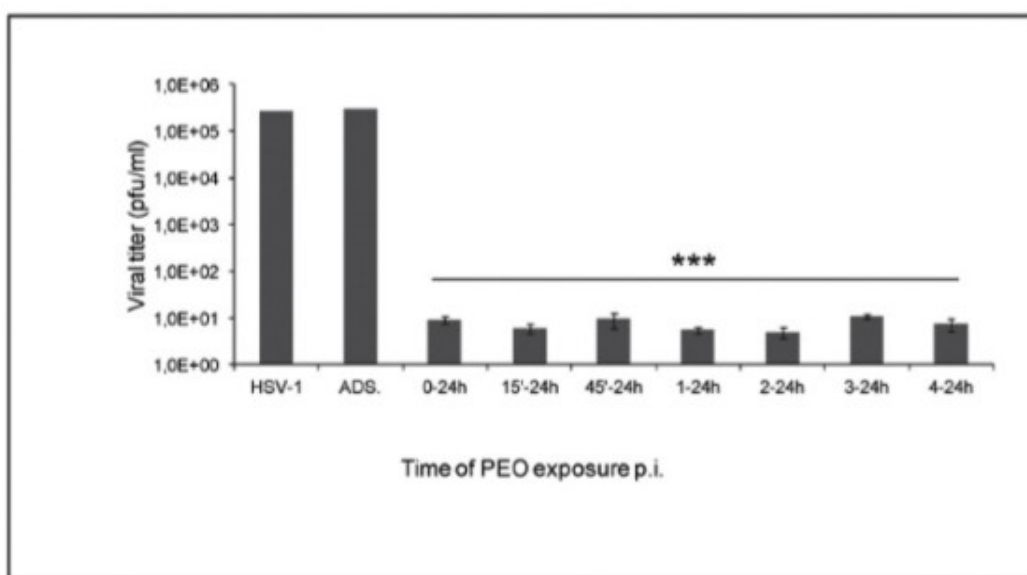


Figure 48 : activité antivirale de l'oxyde de piperitenone sur VHS-1 lors de son ajout sur les cellules infectées durant la période d'adsorption (ADS) et à différents temps durant l'infection

Comme nous le montre le graphique ci-dessus (figure 48), aucune inhibition de la réplication virale n'est observée lorsque l'oxyde de pipériténone est ajouté aux cellules infectées pendant la phase d'adsorption (ADS). En revanche, cette inhibition est significative dès l'addition de ce composé après infection par VHS-1.

Des résultats similaires ont été obtenus lors de l'analyse par la technique du Western Blot. Les cellules traitées ou non par l'oxyde de piperiténone durant la période d'adsorption et les cellules traitées avec l'oxyde de pipériténone aux mêmes moments ont été lysées et les échantillons ont été exécutés sur électrophorèse. Cette technique a été réalisée en utilisant des anticorps anti-HSV-1 et anti-ICP8.

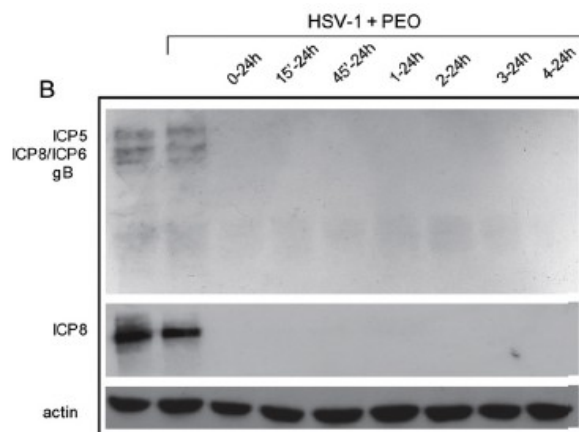


Figure 49 : analyse par la technique du Western Blot des mêmes échantillons que précédemment avec utilisation des anticorps anti-VHS-1 ou anti-ICP8

L'expression de gène spécifique produit des groupes β (ICP6 et ICP8) et γ (ICP5 ET gB) a été fortement réduite dans les cellules traitées avec l'oxyde de pipériténone ajouté à tout instant post-infection, par rapport aux cellules infectées non traitées, alors qu'aucune inhibition de la synthèse protéique n'a été révélée pour les cellules traitées avec le composé durant la période d'adsorption.

Dans une seconde série d'essais, l'oxyde de pipériténone a été additionné immédiatement après l'infection, pour de courtes durées, et retiré à différents stades. Ces tests ont été comparés à un traitement plus long avec le composé de 8 heures jusqu'à 24 heures après l'infection.

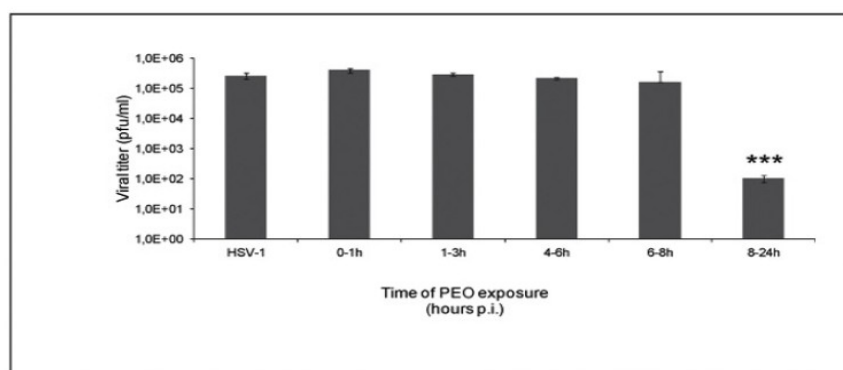


Figure 50 : activité antivirale de l'oxyde de piperitenone sur les cellules VHS-1 suite à son ajout à différents moments post-infection

Les résultats présentés ci dessus (figure 50) nous informent que le traitement de courte durée avec l'oxyde de pipériténone n' affecte pas la réplication virale, alors qu'elle est largement inhibée, lorsque les cellules ont été traitées avec le composé, 8 heures après l'infection jusqu'à la fin de l'expérience. Ces données ont été confirmées par l'analyse de Western Blot. En effet, les cellules infectées non traitées ou traitées avec l'oxyde de pipériténone de 0 à 8 heures, de 0 à 24 heures ou de 8 à 24 heures, ont été lysées pour ensuite être analysées par électrophorèse. Cette technique, a utilisé un anticorps anti-VHS-1.

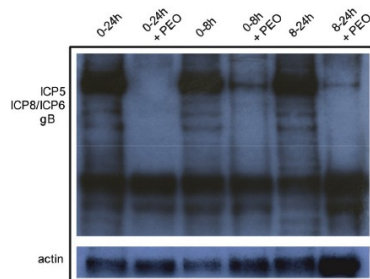


Figure 51 : Électrophorèse de protéines mises en contact avec des anti-corps anti-VHS-1

Les résultats montrent, selon si le traitement est de courte ou de longue durée, des différences dans l'expression des protéines virales sont observées : l'addition du composé pendant une longue période inhibe l'expression de beaucoup d'entre elles alors qu'un traitement de courte durée provoque une inhibition partielle de la synthèse protéique.

Le diagramme ci-dessous (figure 52) représentant le titre viral mesuré dans les surnageants des cellules infectées traitées, ou non avec l'oxyde de pipériténone à différents temps après l'infection, confirme également les résultats des études précédentes.

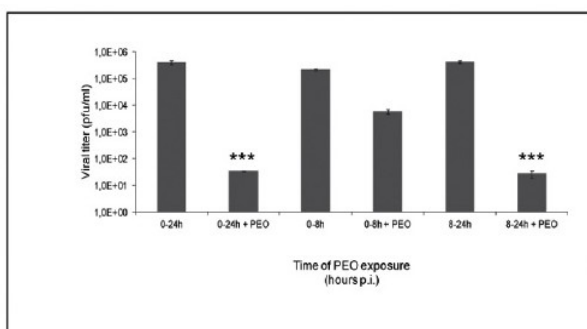


Figure 52: Réplication virale de l'oxyde de piperitenone à différents temps après l'infection par VHS-1

L'ensemble de ces résultats déclare que l'oxyde de pipériténone inhibe des étapes spécifiques de la réplication virale et suggère que les étapes tardives de cette réplication sont bloquées par un traitement de longue durée.

Dans des études précédentes, il a été prouvé que la diminution des taux intracellulaires de Glutation total (GSH) est essentielle pour la réplication des virus à ADN ou ARN. En effet, l'addition de GSH exogène aux cellules infectées par le VHS-1, en restaurant son contenu cellulaire, altère les derniers stades du cycle de vie du virus et, par conséquent, inhibe la réplication virale.

Pour cette raison, l'effet de l'oxyde de piperitenone sur le contenu intracellulaire de GSH, a été évalué. Des cellules infectées par le VHS-1 ont été traitées par ce composé après infection. Les cellules infectées par le VHS-1 (HSV-1) et les cellules témoins (CTR) ont été analysées en parallèle.

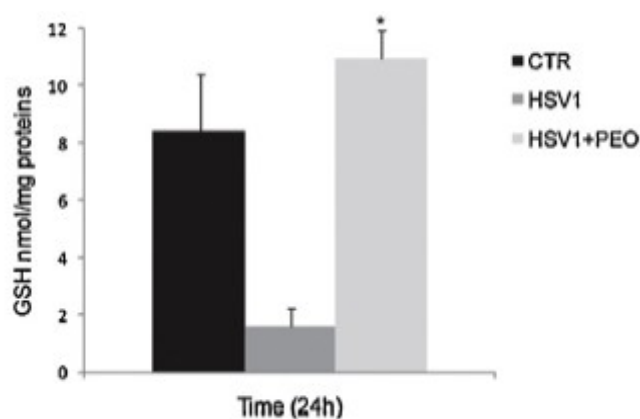


Figure 53 : Teneur intracellulaire en GSH durant l'infection à VHS-1 après traitement par l'oxyde de pipériténone

Comme prévu, le VHS-1 a réduit significativement la teneur intracellulaire en GSH, 24 heures après l'infection. Néanmoins, dans les cellules infectées et traitées par l'oxyde de pipériténone, la teneur en GSH intracellulaire a été préservée.

Ces résultats montrent que l'addition du composé majoritaire de l'HE de Menthe odorante sur les cellules infectées, maintient le taux de GSH intracellulaire et évoquent que l'effet de ce composant sur la réplication virale peut être dû à une altération des voies régulées par l'oxydoréduction. Ces dernières sont importantes pour des étapes spécifiques du cycle de vie du virus.

3. Discussion

Cette étude publiée en 2014 a démontré une activité antivirale, *in vitro*, de l'HE de Menthe odorante et de son composé principal, l'oxyde de pipériténone contre VHS-1. Cette performance est provoquée par l'inhibition de certaines étapes du cycle de vie du virus.

En effet, les 2 composés ont inhibé significativement la formation de plaque lorsqu'ils ont été ajoutés après l'infection.

Les données de cette expérience indiquent également que, l'HE de Menthe odorante et l'oxyde de pipériténone ont un léger effet virucide mais significatif direct contre le VHS-1. Ainsi, on peut donc émettre l'hypothèse que cette HE et son composé inactiveraient directement les particules virales par interférence avec l'enveloppe ou en masquant les glycoprotéines virales nécessaires pour l'entrée dans les cellules hôtes.

Dans cette publication, contrairement à d'autres recherches, l'HE de Tea Tree n'a révélé aucun effet inhibiteur sur la réplication virale que se soit par action directe sur le virus ou pendant la phase de réplication. Mr Civitelli et son équipe ont expliqué ceci par le fait que, dans ce contexte, la concentration en HE de Tea Tree (30 µg/mL) est bien moindre que celle utilisée dans d'autres travaux

Au travers des différents essais, il a également été constaté que l'oxyde de pipériténone purifié était plus efficace que l'HE de Menthe odorante. Ce composé a exercé son activité inhibitrice en ciblant un stade tardif de l'infection virale. En effet, l'expression de quasiment toutes les protéines virales a été réduite lorsque le composé a été additionné aux cellules infectées pour de longues périodes, alors qu'une inhibition moindre de la synthèse protéique a été observée lorsque le composé a été introduit tard et pour des traitements courts.

Comme nous l'avons évoqué dans la première partie de ce mémoire, la naissance des protéines de VHS-1 (α β et γ) se produit séquentiellement après une régulation en cascade, qui est nécessaire pour produire une « progéniture » infectieuse. Ainsi, nous pouvons supposer que l'oxyde de pipériténone peut bloquer l'expression des protéines tardives (particulièrement les produits des gènes γ), soit en empêchant leur transcription soit en agissant sur une voie cellulaire de la traduction protéique ou sur les événements post-traductionnels.

De plus, dans cette publication, il a été déclaré que les cellules infectées par VHS-1, traitées avec l'oxyde de piperitenone, maintiennent significativement les niveaux de GSH intracellulaire.

Ainsi nous pouvons penser que ce composé peut interférer avec certaines voies sensibles aux changements redox utiles pour les stades avancés du cycle viral.

D'autre part, l'association de l'HE ou de son composé principal avec l'ACV a été testé et a prouvé une réduction importante de la réplication virale pour les cellules traitées par l'une ou l'autre combinaison. Cet effet n'est pas vraiment expliqué mais les auteurs de cette étude émettent l'hypothèse que ces composés pourraient contribuer au mécanisme d'action de l'aciclovir, probablement par activation de quelques voies cellulaires qui rendent cet antiviral plus efficace contre l'ADN polymérase virale.

III. Discussion générale

L'ensemble des HE étudiées ont mis en évidence une activité antivirale contre le VHS-1, *in vitro*. Cet activité antivirale est principalement directe ; elle est exercée sur le virus lui-même avant sa pénétration dans la cellule hôte. Le mécanisme d'action est ainsi différent de celui de l'aciclovir. Effectivement cet antiviral agit au niveau de l'ADN-polymérase, pendant la phase de réplication virale.

Face à ce résultat, nous pouvons suggérer que ces HE pourraient être actives contre les souches virales résistantes à cet antiviral. Cette supposition a d'ailleurs été confirmée pour l'HE de Menthe poivrée, testée *in vitro* sur ce type de souches.

D'autre part, avec une activité précoce pour les HE et plus tardive pour l'aciclovir, nous pouvons aussi prétendre que l'association aciclovir/HE pourrait potentialiser l'effet antiviral. Cette action synergique a été rapportée dans la dernière étude présentée, concernant l'HE de Menthe odorante qui, en plus d'agir modérément mais significativement avant l'infection, produit également un effet virucide plus important après l'infection des cellules hôtes.

Au travers des différentes expériences, nous pouvons dire que toutes les HE présentent une propriété antivirale contre le VHS-1 mais à des doses différentes. En effet, la concentration requise pour inhiber 50% des populations virales est variable d'une HE à une autre.

Les HE de Mélisse officinale et de Menthe poivrée ne peuvent être comparées aux 6 autres car leur unité de mesure n'est pas identique. Cependant, nous pouvons dire qu'avec une concentration inhibitrice de 50% à 0,002%, l'HE de Menthe poivrée est moins efficace que celle de Mélisse officinale ($CI_{50} = 0,0004\%$).

Pour les 6 autres HE, la valeur la plus faible de cette concentration est obtenue par l'Anis

étoilé ($CI_{50} = 1 \mu\text{g/mL}$). Elle est suivie par l'HE de Tea tree ($CI_{50} = 2 \mu\text{g/mL}$), puis par les HE d'Armoise arborescente ($CI_{50} = 2,4 \mu\text{g/mL}$), de Menthe odorante ($CI_{50} = 5,1 \mu\text{g/mL}$), de Thym à thymol ($CI_{50} = 11 \mu\text{g/mL}$) et d'Eucalyptus globuleux ($CI_{50} = 55 \mu\text{g/mL}$).

En ce qui concerne la toxicité cellulaire, ce phénomène d'inégalité est également reconnu. Pour les mêmes raisons que précédemment, les HE de Mélisse officinale et de Menthe poivrée ne sont comparables qu'entre elles. Avec une concentration maximale non cytotoxique plus faible (0,002%), l'HE de Mélisse officinale est plus toxique pour la cellule que celle de Menthe poivrée (0,01%).

Pour les 6 autres, la cytotoxicité la plus élevée est observée pour l'HE de Thym à thymol (50 $\mu\text{g/mL}$), suivent les HE de Tea tree (75 $\mu\text{g/mL}$), d'Anis étoilé (100 $\mu\text{g/mL}$) et d'Armoise arborescente (100 $\mu\text{g/mL}$), d'Eucalyptus globuleux (200 $\mu\text{g/mL}$), de Menthe odorante (300 $\mu\text{g/mL}$).

Cet ordre de toxicité est conservé pour les concentrations nécessaires à la destruction de 50% des cellules ($CT_{50} = 0,014\%$ pour l'HE de Menthe poivrée $> CT_{50} = 0,003\%$ pour l'HE de Mélisse officinale ; HE de Menthe odorante ($CT_{50} = 343,6 \mu\text{g/mL}$) $>$ HE d'Eucalyptus globuleux ($CT_{50} = 290 \mu\text{g/mL}$) $>$ HE d'anis étoilé ($CT_{50} = 160 \mu\text{g/mL}$) $>$ HE d'Armoise arborescente ($CT_{50} = 132 \mu\text{g/mL}$) $>$ HE de Tea Tree ($CT_{50} = 120 \mu\text{g/mL}$) $>$ HE de Thym à thymol ($CT_{50} = 70 \mu\text{g/mL}$)).

Ces deux critères (cytotoxicité et inhibition virale) peuvent être interprétés simultanément grâce aux index de sélectivité (IS) qui permettent d'évaluer l'activité antivirale en prenant en compte les concentrations toxique et inhibitrice à 50%. Une HE cytotoxique à forte dose qui entraîne une inhibition de la multiplication virale à faible concentration aura un IS élevé. L'IS le plus haut (IS=160) des HE explorées, est rapporté par l'HE d'Anis étoilé. Elle est suivie de l'HE de Menthe odorante (IS = 67), de l'HE de Tea Tree (IS= 60), de l'HE d'Armoise arborescente (IS=55), de l'HE de Mélisse officinale (IS = 7,5), de l'HE de Menthe poivrée (SI = 7), de l'HE de Thym à thymol (SI = 6,4), puis de l'HE d'Eucalyptus globuleux (SI = 5,3).

D'autre part, les publications présentées ont également mis en évidence l'activité antivirale de 18 composés contre VHS-1. Parmi ces 18 molécules, plusieurs familles biochimiques sont représentées :

- des monoterpènes : β -pinène, limonène, α -terpinène, γ -terpinène, α -pinène, p-cymène
- des alcools monoterpéniques : terpinèn-4-ol, α -terpinéol
- des phénols monoterpéniques : thymol et (eugénol)
- un phénol méthyl éther : trans-anéthole
- un sesquiterpène: β -caryophyllène

- des alcools sesquiterpéniques : farnesol, β -eudesmol
- des oxydes terpéniques : 1,8-cinéole, oxyde de pipériténone ; oxyde de β -caryophyllène
- un aldéhyde terpénique : citral

La plupart de ces composés testés agissent principalement directement sur le VHS-1 avant sa pénétration dans la cellule hôte. Cependant, le 1,8-cinéole a montré une activité, très modérée à cette période de réplication, mais qui s'est prolongée après l'infection. Quant à l'oxyde de pipériténone, il garantit, en plus, un effet virucide après l'infection des cellules hôtes.

D'autre part, si l'on cherche à déterminer, pour chacune des HE citées en fin de deuxième partie, le ou les constituant(s) responsable(s) de l'activité contre le VHS-1, nous pouvons supposer qu'elle est apportée par les monoterpènes et alcools monoterpéniques qui les composent puis, le 1,8-cinéole pour les HE de Tea Tree, de Ravintsara ou de Niaouli.

Pour l'HE d'Eucalyptus globuleux, son composé majoritaire, le 1,8 cinéole, puis secondairement, les quelques monoterpènes présents en faible concentration seraient impliqués.

Pour l'HE de Mélisse officinale, le citral puis le β -caryophyllène seraient essentiellement à l'origine de cette action virucide.

Pour l'HE de Thym à thymol, le thymol aidé des monoterpènes qui entrent dans sa composition sont la cause de cette activité.

En ce qui concerne les HE de Menthe poivrée et d'Armoise arborescente, il est difficile d'établir le lien car leurs principaux constituants n'ont pas été étudiés seuls.

Pour l'HE de Menthe poivrée, les monoterpènes et le 1,8-cinéole et pour l'HE d'Armoise arborescente, le limonène présents en faible quantité pourraient éventuellement participer, à minima, à leur action contre le VHS-1.

Quant à l'HE d'Anis étoilé, son composé principal, le trans-anéthole, pourrait être à l'origine de cette activité antivirale. Pour l'HE de Menthe odorante, ce serait l'oxyde de pipériténone qui la constitue à plus de 80%.

Les différentes études présentées au sein de ce mémoire ont permis de démontrer, *in vitro*, le mécanisme d'action de quelques HE contre le VHS-1 et d'émettre l'hypothèse d'une action synergique de l'association HE/aciclovir.

D'autre part, avec un mécanisme d'action distinct de celui de l'aciclovir, face au problème de souches résistantes à cet antiviral, les HE semblent être de bons prétendants.

Pour conclure, d'après ces études *in vitro*, l'utilisation d'HE seules ou en association avec l'aciclovir semble donc pertinente dans le traitement de l'herpès labial.

Partie IV : Conseil à l'officine

À l'officine, la situation clinique d'une éruption vésiculeuse au niveau de la lèvre est régulièrement rencontrée. Que se soit lors d'une demande spontanée ou à la suite d'une prescription médicale, le Pharmacien se doit d'accompagner sa dispensation de conseils qui porteront notamment sur les notions de contagiosité et de prévention.

I. « Diagnostic » et limites du Pharmacien

Face à une demande spontanée, le professionnel de santé doit, dans un premier temps, reconnaître la pathologie ou, le plus souvent, la confirmer. En effet, cette affection récidivante est bien connue des patients qui ont généralement identifié le problème avant même de se rendre à l'officine.

Pour caractériser cette affection, le pharmacien se base notamment sur la clinique (aspect et localisation des lésions,...) mais aussi sur un interrogatoire. En effet, comme nous l'avons précisé en première partie, la réactivation survient après un facteur déclenchant (stress, fatigue, émotions, épisodes infectieux, fièvre, exposition solaire, froid, règles, utilisation de corticoïdes et d'immunosuppresseurs...) et des signes annonciateurs (démangeaisons, picotements, brûlures avant l'éruption...). Il est donc judicieux d'interroger le patient à propos de ces symptômes.

Parfois, le pharmacien doit faire preuve de prudence ; limiter son conseil à des recommandations de désinfection locale et orienter le patient vers un médecin car la consultation médicale s'impose. C'est notamment le cas^{83,84} :

- chez les patients immunodéprimés,
- chez les jeunes enfants,
- lorsque le bouton de fièvre s'accompagne d'une fièvre élevée ou d'une douleur intense,
- lorsque les vésicules se diffusent au-delà des lèvres ou apparaissent sur d'autres parties du visage (yeux, ...),
- lorsque les poussées sont fréquentes (plus de 6 par an)
- lorsque les lésions s'aggravent ou ne cicatrisent pas après 10 jours de traitement.

II. Les traitements disponibles sans ordonnance

Dans l'arsenal thérapeutique du Pharmacien, plusieurs traitements de disciplines différentes (allopathie, homéopathie, phytothérapie et aromathérapie) sont disponibles sans prescription médicale. Quelque soit le type de remède choisi, le but est de réduire la durée de la poussée mais aussi de limiter les risques de transmission. Le traitement doit être administré le plus précocement possible, dès les signes annonciateurs d'une crise (démangeaisons, picotements, sensation de brûlure...).

A. L'allopathie

Parmi les traitements allopathiques disponibles sans ordonnance, on retrouve l'aciclovir, l'ibacitabine et le doconasol présents sous forme de crème⁸⁵.

L'aciclovir 5% (Zovirax®, Aciclovivax®, Activir®, Herpésédermyl®) est un antiherpétique local qui permet de bloquer la réplication du virus au sein des cellules. Administrable à partir de 6 ans, il doit être appliqué 5 fois par jour pour une durée de 5 à 10 jours. Il est à débiter le plus tôt possible, dès les premiers signes d'infection⁸⁶.

L'ibacitabine (Cuterpès®) est également actif sur le virus de l'herpès. Son mécanisme d'action reste inconnu. Cet antiviral est d'autant plus efficace qu'il est à appliquer, localement, dès les premiers symptômes 3 à 10 fois par jour pour une durée ne dépassant pas 10 jours⁸⁷.

Le docosanol 10% (Erazaban®) est également un antiviral à usage topique dont le mécanisme d'action est encore mal connu. Selon des études *in vitro*, il jouerait un rôle dans la fusion entre le virus et la membrane plasmique cellulaire, empêchant ainsi la pénétration du virus dans la cellule et par conséquent sa réplication⁸⁸.

Cet antiviral indiqué chez les adultes et les adolescents à partir de 12 ans s'applique en fine couche sur le bouton 5 fois par jour jusqu'à guérison (maximum 10 jours). Il est important de l'appliquer dès les prodromes. Son efficacité n'a pas été démontrée lorsque le traitement est commencé au stade de vésicules ou d'ulcérations⁸⁹.

B. L'homéopathie

Dans la prise en charge de l'herpès labial, plusieurs souches homéopathiques peuvent être conseillées en fonction du stade de l'infection, des symptômes mais aussi des facteurs déclenchant la réactivation. Ces médicaments homéopathiques sont indiqués en traitement des crises récurrentes mais aussi en prévention des récides.

Les principales souches utilisées sont^{90,91}:

- *vaccinotoxinum 15 CH* : 1 dose dès les premiers symptômes ,
- *Rhus toxicodendron 15 CH* : 5 granules toutes les 2 heures (à espacer selon amélioration) et,
- *Hypericum perforatum 5 CH* : 5 granules 4 fois par jour lorsque la récurrence survient à la suite d'une exposition inhabituelle au soleil ou,
- *Staphysagria 9CH* : 5 granules 4 fois par jour lorsque la récurrence survient à la suite d'une contrariété ou,
- en cas d'herpès cataménial, c'est-à-dire réactivé avant ou pendant les règles, on préférera *Sépie 7 CH* aux mêmes posologies.

Nous avons pu remarquer que les lésions herpétiques sont souvent précédées d'un œdème rouge, piquant, brûlant, accompagné de démangeaisons qui peuvent être soulagés par l'administration de 5 granules d'*Apis mellifica 9 CH* toutes les heures. Selon l'amélioration, ces prises pourront ensuite être espacées.

D'autre part, au stade vésiculeux, la souche *Rhus toxicodendron* peut être remplacée par *Cantharis 5 CH* lorsque les vésicules sont très brûlantes⁹¹.

Au stade de croûtes, on retrouve principalement 2 souches, à raison de 3 granules 3 fois par jour⁹¹ :

- *Mezereum 5 CH* : lorsque les lésions sont remplies d'un liquide blanchâtre et sont rapidement remplacées par des croûtes qui démangent ou,
- *Graphites 5 CH* : lorsque les vésicules brûlantes, piquantes, sécrétant un liquide jaunâtre se transforment en croûtes qui ne démangent plus.

Pour une meilleure efficacité, il sera conseillé au patient de prendre son traitement homéopathique à jeun ou à distance des repas.

C. La phytothérapie

En phytothérapie, la Mélisse officinale, l'Echinacée, la Propolis, les Extraits de pépins de pamplemousse peuvent être conseillés dans la prise en charge de l'herpès labial.

Reconnue par l'OMS pour son utilisation locale dans le traitement de l'herpès labial⁹², la Mélisse officinale possède un pouvoir antiviral contre le VHS-1⁹². Dans cette indication, elle est utilisée en application externe, sous forme de crèmes dosées à 1% d'extrait aqueux de Mélisse, à raison de deux applications par jour dès les premiers symptômes de la poussée et jusqu'à cicatrisation⁹³. Il est également possible de faire des compresses avec l'infusion⁹⁴.

D'autre part, comme nous l'avons déjà évoqué, une immunodépression peut être à l'origine d'une réactivation du virus de l'herpès. Ainsi, le contrôle d'une infection herpétique repose en grande partie sur une immunité vigoureuse⁹⁵.

L'Echinacée réputée pour sa propriété immunostimulante possède aussi une action antivirale contre le virus de l'herpès simplex de type 1⁹⁵.

La Propolis, grâce à ses propriétés antimicrobiennes et stimulantes du système immunitaire, trouve également son indication dans cette pathologie. Utilisée en application cutanée, la crème à base de propolis s'applique sur les lésions, 4 fois par jour pendant une dizaine de jours^{96,97}.

Quant aux extraits de pépins de pamplemousse, remèdes antibactériens puissants, ils présentent également des propriétés immunostimulantes. Dans le traitement de l'herpès, quelques gouttes sont à mettre directement sur le bouton de fièvre, 4 à 5 fois au cours de la journée^{98,99}.

D. L'aromathérapie

Nous avons déjà montré la capacité de quelques huiles essentielles à agir sur le virus de l'herpès simplex de type 1, principal agent causal de l'herpès labial.

Pour la prise en charge de cette affection, les HE peuvent être employées seules, en association entre elles ou avec l'aciclovir. En effet, la dernière étude portait sur une action synergique entre une HE et l'aciclovir.

D'une manière générale, cette thérapeutique naturelle ne sera pas proposée chez la femme enceinte ou allaitante, chez l'enfant de moins de 7 ans ainsi que chez les patients épileptique ou asthmatique.

- **utilisation seule**

Parmi les HE citées précédemment, en utilisation seule, le conseil se tournera en premier lieu vers celles de Tea Tree, de Ravintsara et de Niaouli. En effet, elles présentent peu de toxicité au niveau cutané. Les HE d'Eucalyptus globuleux, de Mélisse officinale, de Thym à thymol, d'Armoise arborescente et d'Anis étoilé nécessitent obligatoirement une dilution avant une application cutanée car elles présentent un effet dermocaustique.

De part leur composition respective en thujone et en trans-anéthole, composés neurotoxiques et abortifs, les HE d'Armoise arborescente et d'Anis étoilé sont relativement dangereuses si leur utilisation est mal maîtrisée. Pour cette raison mais aussi parce qu'elles sont peu courantes dans le monde officinal, elles seront très peu conseillées. Dans les cas contraires, elles seraient réservées aux patients ayant une très bonne connaissance en aromathérapie et l'habitude de faire bonne usage des HE.

Pour l'HE de Menthe odorante, très peu courante, il est très difficile de dénicher des indications dans la littérature sur son utilisation.

En ce qui concerne la dilution, elle dépendra principalement de la dermocausticité de l'HE. En pratique, on la conseille généralement à 20% c'est-à-dire 1 goutte d'HE pour 4 gouttes d'huile végétale.

Parmi les huiles végétales, on privilégiera celles aux propriétés anti-inflammatoire, nourrissante, cicatrisante, régénérante et apaisante comme, par exemple, celle de jojoba (nourrissante) ; de calophylle (anti-inflammatoire) ; de calendula (anti-inflammatoire, cicatrisante et apaisante) ; ou de rose musquée (nourrissante, cicatrisante et régénérante).

La dilution peut également avoir lieu dans une crème réparatrice cicatrisante comme le Cicalfate® (Avène) ou le Cicabio® (Bioderma).

En ce qui concerne la posologie, on pourra recommander au patient d'appliquer 2 à 3 gouttes d'HE pure ou diluée 5 fois par jour sur le « bouton de fièvre ».

- **utilisation d'association d'HE**

À travers des études décrites dans le chapitre précédent, nous avons pu constater que l'association de plusieurs molécules dans une même HE provoque un effet virucide plus important qu'un composé seul. Nous pouvons donc supposer que l'association de plusieurs HE pourrait présenter un effet synergique...

D'autre part, cette association d'HE peut également offrir l'avantage notamment dans la prise

en charge de l'herpès labial, de retrouver plusieurs actions (antivirale, antiseptique, apaisante et cicatrisante) pour une même application. Ceci est vrai pour le gel labial, Labiarom® (Pranarom), qui associe les HE de Ravintsara, d'Eucalyptus radié, de Niaouli, de Citronnier, de Menthe poivrée, de Tanaisie.

Quelques exemples d'association d'HE :

- Exemple 1⁴¹ :
 - 1 mL d'HE de Niaouli
 - 2 mL d'HE de Ravinstara
 - 2 mL d'HE de Tea Tree
 - 1 mL d'HE de Thym à thymol
 - 4 mL d'Huile végétale
- exemple 2 : gel labial, Labiarom® de chez pranarom : HE de Ravintsara, d'Eucalyptus radié, de Niaouli, de Citronnier, de Menthe poivrée, de Tanaisie associées aux huiles végétales d' Onagre, de Jojoba, de Calophylle, d'Argan, de Rose musquée.
- Exemple 3¹⁰⁰ :
 - 25 gouttes d'HE de Niaouli
 - 25 gouttes d'HE de Tea Tree
 - 50 gouttes d'HE de lavande (apaisante, cicatrisante)
- exemple 4¹⁰¹ : Gel SOS labial® (PuresSENTIEL) qui regroupe 10 HE : Camomille romaine, Citron, Génévrier, Lavande officinale, Menthe poivrée, Niaouli, Ravintsara, Sauge officinale, Tea tree, Thym à thymol associées à des extraits de Grand Plantain, de Mélisse, de Propolis et de beurre de karité.
- **utilisation d'association HE/ aciclovir**

Enfin, la troisième partie de ce mémoire nous a permis de constater que les HE présentent un mécanisme d'action différent de celui de l'aciclovir. En effet, la plupart des HE exercent une action

antivirale directe sur le virus alors que l'aciclovir inhibe l'ADN-polymérase nécessaire à la réplication virale. Ainsi, leur utilisation concomitante pourrait optimiser le pouvoir antiviral. En officine, on pourrait par exemple, conseiller l'application 5 fois par jour de 2 gouttes d'HE de Tea Tree, de Ravintasa ou encore de Niaouli... dans une noisette de crème antivirale jusqu'à guérison complète des lésions herpétiques.

E. Les patchs cicatrisants

Le patch cicatrisant (patch Compeed bouton de fièvre®) est un pansement hydrocolloïde qui, en créant un environnement humide, favorise la cicatrisation et traite le bouton de fièvre en évitant la formation de croûtes^{102,103}.

Ce dispositif invisible présente plusieurs avantages : il apaise la douleur et atténue la sensation de brûlure ; réduit la gêne sociale en masquant le bouton ; constitue une barrière physique qui protège la plaie des impuretés et des bactéries, limitant ainsi les surinfections. Il limite également la contamination^{102,103}.

Pour une meilleure performance, il est recommandé de l'apposer dès les premiers signes (picotements, démangeaisons) et de le garder 24 heures sur 24 jusqu'à guérison complète. Il sera remplacé par un nouveau patch dès qu'il se détache naturellement, après environ 8 heures. De toute évidence, il s'applique sur une peau nue, propre et sèche¹⁰¹.

III. Les conseils de prévention

Comme nous l'avons précisé en première partie, le virus de l'herpès labial est un virus strictement humain, contagieux, mais fragile qui ne persiste que peu de temps dans le milieu extérieur. Il se transmet principalement par contact direct avec les lésions herpétiques et la salive, riches en virus. C'est également un virus latent qui peut se réactiver à tout moment.

Dans le but de prévenir les récurrences et de limiter la transmission interhumaine ainsi que l'auto-contamination, le pharmacien a un rôle à jouer dans la dispensation de conseils de prévention et de règles d'hygiène.

Tout d'abord, la prévention des récurrences passe principalement par l'identification et l'éviction des facteurs déclenchant¹⁰⁵.

Parmi les plus fréquents, on retrouve les expositions au soleil et au froid. On peut ainsi, respectivement, préconiser l'application d'un baume protecteur indice 50+ (Anthélios stick lèvres®

de chez La Roche Posay ; Bariésun stick® d'Uriage ou encore Photerpès stick labial® de Bioderma,...) plusieurs fois par jour et d'un baume hydratant afin d'assurer aux lèvres une bonne protection.

Il convient aussi de lutter contre la fatigue et le déficit immunitaire capables de déclencher une récurrence, en conservant une alimentation équilibrée et en réalisant différentes cures de propolis, d'échinacée, de vitamine,... plusieurs fois dans l'année.

Pour la prévention des rechutes, il est tout à fait judicieux d'entreprendre un « traitement de terrain » en homéopathie afin de diminuer la fréquence et l'intensité des crises. Un homéopathe pourra déterminer ce remède de terrain.

Puis, en ce qui concerne les règles d'hygiène, il est bienveillant « d'apprendre » au patient d'acquiescer de bons réflexes pour limiter le risque de contagion^{104,105} :

- se laver soigneusement les mains et/ou utiliser un gel hydroalcoolique après un contact avec le virus (application de la crème,...)
- ne pas humecter les lentilles avec la salive ou toucher les yeux avec des doigts contaminés (auto-contamination des yeux pouvant être responsable d'une kératite herpétique)
- éviter le contact (salive, baiser) notamment avec les nouveaux-nés, les femmes enceintes, les personnes âgées, malades et immunodéprimées
- se tenir à distance des personnes présentant une dermatite atopique (eczéma) : risque de surinfection herpétique grave
- ne pas partager serviettes et gants de toilette, ni prêter les produits de beauté (rouge à lèvres...), baume à lèvres,...
- ne pas toucher ou gratter les croûtes afin d'éviter les surinfections bactériennes
- éviter les rapports sexuels oro-génitaux

Conclusion

Causé par le virus de l'*herpès simplex* de type I, l'herpès labial est une pathologie que l'on rencontre régulièrement en officine. Dans la majorité des cas, cette affection gênante et inesthétique, se résout dans un délai d'une dizaine de jours.

Avec une action postérieure à la pénétration du virus dans la cellule hôte, au moment de la réplication, l'aciclovir est le traitement de référence dans la prise en charge de cette infection virale. Néanmoins, cet antiviral voit émerger des souches virales, résistantes à son mécanisme d'action. Ce phénomène de résistance a donc suscité la recherche de nouvelles thérapeutiques alternatives.

Ces dernières décennies, quelques huiles essentielles ont fait l'objet de nombreuses études qui ont démontré leur activité antivirale contre le virus de l'*herpès simplex* de type I. *In vitro*, la plupart d'entre elles agissent directement sur le virus lui-même, avant sa pénétration dans la cellule hôte. Cependant, l'huile essentielle de menthe odorante a déployé un mécanisme d'action différent, qui s'effectue, comme l'aciclovir, au moment de la réplication virale et de manière synergique lorsqu'elle y est associée.

L'utilisation des huiles essentielles dans la prise en charge de l'herpès labial apparaît comme une bonne alternative thérapeutique à l'aciclovir, que se soit en premier choix, à la suite d'une résistance mais aussi en usage complémentaire à cet antiviral.

Les patients atteints de cette pathologie attendent essentiellement que le Pharmacien leur propose un traitement, dans le but de soulager la douleur et de raccourcir la durée des lésions. Ils ont rarement connaissance du caractère contagieux de cette affection. Le professionnel de santé a donc un rôle prépondérant à jouer dans la prévention, en dispensant des conseils d'hygiène en vue de limiter la contamination et par conséquent la propagation du virus.

À ce jour, aucun traitement ne permet d'éradiquer complètement le virus qui alterne des phases de latence et de récurrence. Des progrès sont encore nécessaires afin d'améliorer la qualité de vie des patients concernés...

Bibliographie

1. OMS – Deux tiers de la population des moins de 50 ans sont infectés par le virus *Herpes simplex* de type 1. Disponible sur <http://who.int/mediacentre/news/releases/2015/herpes/fr/> [consulté le 9 février 2018]
2. MK. Kukhanova, AN. Korovina, SN. Kochetkov. REVIEW : Human Herpes Simplex Virus : Life Cycle and Development of Inhibitors. Biochemistry (Mosc). 2014;79(13):1635-1652. Disponible sur <http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v79/full/79130457.html> [consulté le 11 juillet 2017]
3. J. Bestman-Smith. Caractérisation des mutations du virus Herpès Simplex impliquées dans la résistance aux antiviraux. Thèse de doctorat : microbiologie-immunologie. Québec : Faculté des études supérieures de l'Université Laval, 2004, 303 p. Format PDF. Disponible sur <https://corpus.ulaval.ca/jspui/bitstream/20.500.11794/17876/1/21483.pdf> [consulté le 09 février 2018]
4. R. Laurent. Herpès. EMC-Médecine. 2005 ; 2:265-275
5. Campus de microbiologie médicale. La multiplication virale. Disponible sur <http://www.microbes-edu.org/etudiant/multivirale.html> [consulté le 9 février 2018]
6. M. Fatahzadeh, R.A. Schwartz. Human herpes simplex virus infections: Epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. Journal of the American Academy of Dermatology. 2007;57(5):737-763
7. Caducée. Herpès labial. Disponible sur <http://www.caducee.net/DossierSpecialises/dermatologie/herpes-labial.asp> [consulté le 10 février 2018]
8. Ameli – Reconnaître un herpès labial. Disponible sur <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/herpes-labial/reconnaitre-herpes-labial>. [Consulté le 09 février 2018]
9. J-M. Huraux. Virologie. Université Pierre et Marie Curie. Disponible sur : www.chups.jussieu.fr/polys/viro/oldpoly/viro.pdf [consulté le 10 mars 2018]
10. OMS- Herpès (virus de l'herpès). Disponible sur : who.int/mediacentre/factsheets/fs400/fr. [consulté le 09 mars 2018]
11. S. Lautenschlager. Infections cutanées à Herpes simplex. Forum Med Suisse. 2013;13(36):703-708
12. Collège nationale des enseignants de dermatologie. Infections à herpès virus de l'enfant et de l'adulte immunocompétents : herpès cutané et muqueux. Site interne : Campus de dermatologie de l'Université médicale francophone. Nantes ; 2010-2011. Disponible sur http://campus.cerimes.fr/dermatologie/enseignement/dermato_6/site/html/cours.pdf [consulté le 09 février 2018]

13. Société française de dermatologie – Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Conférence de consensus - Prise en charge de l'herpès cutanéomuqueux chez le sujet immunocompétent (manifestations oculaires exclues). novembre 2001. Boulogne. Disponible sur http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/_documents/consensus/herpes-2001.pdf [consulté le 10 mars 2018]
14. L'herpès. Le Moniteur des Pharmacies. 24 mai 2014 ; 3033 cahier 2.
15. VIDAL. Herpès cutanéomuqueux - Prise en charge Disponible sur https://www.vidal.fr/recommandations/1479/herpes_cutaneomuqueux/prise_en_charge/ consulté le 06 février 2018]
16. D. Vital Durand. Ordonnances - 150 prescriptions courantes. Maloine, 2ème édition. 2015
17. VIDAL. Zovirax 200 mg cp – Indications. Disponible sur <https://www.vidal.fr/Medicament/zovirax-18172-indications.htm> [consulté le 06 février 2018]
18. VIDAL. Zovirax 200 mg cp – Pharmacodynamie. Disponible sur <https://www.vidal.fr/Medicament/zovirax-18172-pharmacodynamie.htm> [consulté le 06 février 2018]
19. R.C. Brady, D.I. Bernstein. Treatment of herpes simplex virus infections. Antiviral Research. 2004;61:73-81
20. VIDAL. Zovirax 200 mg cp- Pharmacocinétique. Disponible sur <https://www.vidal.fr/Medicament/zovirax-18172-pharmacocinetique.htm> [consulté le 06 février 2018]
21. VIDAL. Valaciclovir – Mécanisme d'action. Disponible sur : <https://www.vidal.fr/substances/8161/valaciclovir/> [consulté le 06 février 2018]
22. E. Frobert, S. Burrel, S. Ducastelle-Lepretre et al. Résistance of herpes simplex viruses to acyclovir : an update from a ten-year survey in France. Antiviral research. 2014 ; 111:36-41
23. M. Faucon. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale – Fondements et aide à la prescription. Sang de la Terre. 2015
24. OPB - ISO 9235:2013(fr) Matières premières aromatiques naturelles — Vocabulaire. Disponible sur <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:fr> [consulté le 15 décembre 2017]
25. ANSM - Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. 2008
26. Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes. Les huiles essentielles. Disponible sur: <https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publication/Vie-pratique/Fiches-pratiques/Huiles-essentielles> [consulté le 12 novembre 2017]
27. D. Baudoux. Aromathérapie. Dunod. 2017

28. D. Festy. Huiles essentielles - Le guide visuel. Disponible sur <https://www.unitheque.com/UploadFile/DocumentPDF/H/U/PEOM-9782848996790.pdf> [consulté le 04 septembre 2017]
29. F. Couic-Marinier, A. Lobstein. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités pharmaceutiques. Avril 2013 ; 525:18-21
30. Le Moniteur des pharmacies. 2009 ; 2767 cahier 2
31. T. Folliard. Le petit Larousse des huiles essentielles. Larousse. 2014.
32. Fédération française d'Aromathérapie. La posologie et la durée d'utilisation. Disponible sur : <https://www.formationaromatherapie.com/> [consulté le 15 décembre 2017]
33. Ph. GOEB, D. Pesoni. Huiles essentielles – Guide d'utilisation. Ravintsara. 4ème édition. 2014
34. Le Moniteur des Pharmacies. 21 novembre 2015 ; 3104 cahier 2
35. Fédération française d'aromathérapie. Les modes d'administration. Disponible sur: <https://www.formationaromatherapie.com/> [consulté le 15 décembre 2017]
36. F. Couic-Marinier, A. Lobstein. Mode d'utilisation des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques. Avril 2013;525:26-30
37. Le moniteur des Pharmacies. 2 avril 2005 ; 2576 cahier 2
38. PRANAROM – Les diffuseurs d'huiles essentielles. Disponible sur : <https://www.pranarom.com/informations/diffuseurs-d-huiles-essentielles> [consulté le 02 janvier 2018]
39. La compagnie des sens. Comment choisir son diffuseur d'huiles essentielles? . Disponible sur: <https://www.compagnie-des-sens.fr/diffuseur-huile-essentielle/> [consulté le 02 janvier 2018]
40. Fédération française d'aromathérapie. Les champs d'action. Disponible sur : <https://www.formationaromatherapie.com/> [consulté le 15 décembre 2017]
41. JP. Willem. Huiles Essentielles antivirales – La solution naturelle pour lutter contre les infections. Trédaniel. 2Ème Édition.2015,2017. [consulté le 01 mai 2018]
42. Myrtea – Monographie Huile essentielle – Melaleuca alternifolia. Disponible sur <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&act=fiche&ind=47> [consulté le 01 mai 2018]
43. La compagnie des sens. Guide complet de l'huile essentielle de Tea Tree. Disponible sur : <https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-tea-tree/> [consulté le 01 mai 2018]
44. Photographie de l'arbre à thé. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/wiki/Arbre_à_thé#/media/File:Melaleuca_alternifolia_\(Maria_Seren](https://fr.wikipedia.org/wiki/Arbre_à_thé#/media/File:Melaleuca_alternifolia_(Maria_Seren)

- a)_tree.jpg [consulté le 01 mai 2018]
45. Photographie de feuilles d'arbre à thé. Disponible sur : <https://www.creapharma.ch/arbre-a-the.htm> [consulté le 01 mai 2018]
46. Photographie des fleurs d'arbre à thé. Disponible sur: <https://jardin-secrets.com/arbre-a-the-article-605,190,fr.html> [consulté le 01 mai 2018]
47. Myrtea. Monographie huile essentielle – *Cinnamomum camphora cineoliferum* . Disponible sur: <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&act=fiche&ind=36> [consulté le 01 mai 2018]
48. La Compagnie des sens. Guide complet de l'huile essentielle de Ravintsara. Disponible sur: <https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-ravintsara/> [consulté le 01 mai 2018]
49. Photographie des feuilles de Ravintsara. Disponible sur: https://www.viearome.fr/index.php?route=product/product&path=82&product_id=242 [consulté le 01 mai 2018]
50. Myrtea. Monographie huile essentielle – *melaleuca quinquenervia*. Disponible sur: <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&act=fiche&ind=17> [consulté le 01 mai 2018]
51. La compagnie des sens. Guide complet de l'huile essentielle de Niaouli. Disponible sur: <https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-niaouli/> [consulté le 01 mai 2018]
52. Photographies des arbre, feuilles et écorce de Niaouli. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Niaouli> [consulté le 01 mai 2018]
53. Myrtea. Monographie Huile essentielle – *mentha piperita*. Disponible sur: <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&act=fiche&ind=66> [consulté le 01 mai 2018]
54. La Compagnie des sens. Guide complet de l'huile essentielle de menthe poivrée. Disponible sur: <https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-menthe-poivree> [consulté le 01 mai 2018]
55. A. Lobstein, F. Couic-Marinier, N. Koziol. Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. Actualités pharmaceutiques. Février 2018;573:59-61
56. Myrtea. Monographie huile essentielle – *Eucalyptus Globulus*. Disponible sur: <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&act=fiche&ind=57> [consulté le 01 mai 2018]
57. La Compagnie des sens. Guide complet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. Disponible sur: <https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-eucalyptus-globulus/> [consulté le 01 mai 2018]
58. Photographie de l'arbre d'*Eucalyptus Globulus*. Disponible sur: <http://grainesdumonde.be/fr/graines-arbres/71-eucalyptus-globulus.html> [consulté le 01

mai 2018]

59. Photographie des fleurs d'Eucalyptus Globulus. Disponible sur: <https://jardin-secrets.com/eucalyptus-globuleux-article-550,190,fr.html> [consulté le 01 mai 2018]
60. Myrtéa - Monographie huile essentielle - Mélissa officinalis. Disponible sur: <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&act=fiche&ind=19> [consulté le 01 mai 2018]
61. La Compagnie des sens. Guide complet de l'huile essentielle de mélisse. Disponible sur: <https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-melisse/> [consulté le 01 mai 2018]
62. Photographie de la plante de *Melissa officinalis*. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/wiki/Mélisse_officinale [consulté le 01 mai 2018]
63. C. Ollier. Le thym. Le moniteur des pharmacies. 30 août 2014 ; 3044 :48
64. La Compagnie des sens. Guide complet de l'huile essentielle de Thym à Thymol. Disponible sur: <https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-thym-a-thymol/> [consulté le 01 mai 2018]
65. Photographie de la plante thym à thymol. Disponible sur <http://huiles-essentielles-aromatherapie.eu/le-thym-thymol/> [consulté le 01 mai 2018]
66. Photographie des feuilles de thym à thymol. Disponible sur: <https://www.plantaromatique.com/nos-plantes/462-thym-a-thymol-2.html> [consulté le 01 mai 2018]
67. Photographie des fleurs de thym à thymol. Disponible sur: <https://www.centre-arome.fr/huiles-essentielles-pures/37-he-thym-a-thymol.html> [consulté le 01 mai 2018]
68. Myrtea. Monographie huile essentielle – Artemisia arborescens. Disponible sur: <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&act=fiche&ind=125> [consulté le 01 mai 2018]
69. Photographie du feuillage d'armoise arborescente. Disponible sur: <https://www.pepinieres-valderdre.fr/pepinieriste/coups-de-coeur/arbustes/739-l-armoise-arborescente-argentee-meme-en-ete.html> [consulté le 01 mai 2018]
70. Medisite. Badiane de Chine. Disponible sur : www.medisite.fr/dictionnaire-des-plantes-medicinales-badiane-de-chine.48661.8.html [consulté le 01 mai 2018]
71. Photographie de l'arbuste de Badiane. Disponible sur: <https://www.deco.fr/jardin-jardinage/arbuste/badiane/> [consulté le 01 mai 2018]
72. Photographie des feuilles d'anis étoilé. Disponible sur: <https://www.lecourrier.vn/lanis-etoile/110225.html> [consulté le 01 mai 2018]
73. Photographie de la badiane. Disponible sur: <https://www.menthe-bergamote.fr/lhuile-essentielle-de-badiane/> [consulté le 01 mai 2018]

74. A. Schuhmacher, J. Reichling, P. Schnitzler. Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 *in vitro*. *Phytomedicine*. 2003 ; 10:504-510
75. P. Schnitzler, A. Schuhmacher, A. Astani et al. . Melissa officinalis oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine*. 2008 ; 15:734-740
76. M. Saddi, A. Sanna, F. Cottiglia et al. . Antiherpesvirus activity of *Artemisia arborescens* essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero cells. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2007 ; 6:10
77. A. Astani, P. Schnitzler. Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro. *Iranian Journal of Microbiology*. 2014;6(3):149-155
78. A. Astani, J. Reichling, P. Schnitzler. Comparative Study on the Antiviral Activity of Selected Monoterpenes Derived from Essential Oils. *Phytotherapy Research*. 2010 ;24 : 673-679
79. P. Schnitzler, K. Schön, J. Reichling. Antiviral activity of Australian Tea Tree oil and Eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Parmazie*. 2001 ; 56(4) 343-347
80. P. Schnitzler, C. Koch, J. Reichling. Susceptibility of Drug-Resistant Clinical Herpes Simplex Virus Type 1 Strains to Essential Oils of Ginger, Thyme, Hyssop and Sandalwood. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2007;5(51):1859-1862
81. A. Astani, J. Reichling, P. Schnitzler. Screening for Antiviral Activities of Isolated Compounds from Essential Oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative medicine*. 2011;2011:8
82. L. Civitelli, S. Panella, M.E. Marocchi. *In vitro* inhibition of herpes simplex virus type 1 replication by *Mentha suaveolens* essential oil and its main component piperitenone oxide. *Phytomedicine*. 2014 ;21 : 857-865
83. D. Ferey. *Conseils du Pharmacien en Homéopathie – Phytothérapie – Aromathérapie – Nutrithérapie*. Maloine. 2015
84. Améli. Les bons gestes et la consultation en cas d'herpès labial. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/herpes-labial/bons-reflexes-cas-faut-consulter> [consulté le 10 avril 2018]
85. D. Vital Durand, C. Le jeune. *DOROSZ – Guide pratique des médicaments* 37ème édition. Maloine. 2018
86. Vidal. ZOVIRAX 5 % crème en tube de 2 g- Posologie et mode d'administration. Disponible sur: https://www.vidal.fr/Medicament/zovirax_5_creme_en_tube_de_2_g-18175-posologie_et_mode_d_administration.htm
87. Vidal. CUTERPES 1 % gel p appl loc - Posologie et mode d'administration. Disponible sur: https://www.vidal.fr/Medicament/cuterpes-4652-posologie_et_mode_d_administration.htm

88. Vidal. ERAZABAN 10 % crème - Pharmacodynamie. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/Medicament/erazaban-82698-pharmacodynamie.htm>
89. Vidal. ERAZABAN 10 % crème – Posologie et mode d'administration. Disponible sur: https://www.vidal.fr/Medicament/erazaban-82698-posologie_et_mode_d_administration.htm
90. J-L. Masson. L'homéopathie de A à Z. Marabout. 2012
91. Homéophyto. Traiter l'herpès labial avec l'homéopathie. Disponible sur <http://herpes-stop.com/traitement-homeopathique-herpes/>
92. A. Shakeri, A. Sahebkar, B. Javadi. Melissa officinalis L. - a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 2016 ; 188 :204-228
93. Eurékasanté. Mélisse. Disponible sur : <https://eurekasante.vidal.fr/parapharmacie/phytotherapie-plantes/melisse-melissa-officinalis.html>
94. Passeportsanté. Mélisse. Disponible sur: https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=melisse_ps
95. Phytovox. HERPES LABIAL ou bouton de fièvre: les plantes et huiles essentielles. Disponible sur: <http://www.phytovox.fr/article-27533576.html>
96. La compagnie des sens. La Propolis: guide complet d'utilisation. Disponible sur: <https://www.compagnie-des-sens.fr/propolis-guide-complet/>
97. Passeportsanté. Bouton de fièvre: des remèdes naturels. Disponible sur: <https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=boutons-fievre-remedes-naturels-la-propolis-pour-guerir-l-herpes-plus-vite->
98. Passeport santé. Les bienfaits de l'extrait de pépins de pamplemousse. Disponible sur: <https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=bienfaits-extrait-pepins-pamplemousse>
99. Pharmacien Giphar. L'extrait de pépin de pamplemousse, un antibiotique naturel puissant. Disponible sur: <http://www.pharmaciengiphar.com/medecines-naturelles/phytotherapie/extrait-pepin-pamplemousse-un-antibiotique-naturel-puissant>
100. La compagnie des sens. Se débarrasser d'un herpès labial avec les huiles essentielles. Disponible sur <https://www.compagnie-des-sens.fr/herpes-labial-huiles-essentielles/> [consulté le 01 mai 2018]
101. Puressentiel. SOS Labial-gel réparateur – 10 huiles essentielles. Disponible sur :<https://fr.puressentiel.com/sos-labial-gel-reparateur>
102. Compeed. Patch bouton de fièvre. Disponible sur: <https://www.compeed.fr/produits/patch-bouton-de-fievre/patch-bouton-de-fievre-compeed>
103. Compeed. Comment traiter un bouton de fièvre. Disponible sur:

<https://www.compeed.fr/bouton-de-fievre/comment-traiter-un-bouton-de-fievre>

- 104.** Ameli. Prévenir la survenue de l'herpès labial. Disponible sur:
<https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/herpes-labial/prevention>
- 105.** N. Hervé, M. Lorient. 100 conseils de comptoir. Les éditions Porphyre, 5ème édition.
2013

COFFRE Céline

Les huiles essentielles dans la prise en charge de l'herpès labial

Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie

Université de Picardie Jules Verne

2018

Mots clés : Herpès labial – virus de l'herpès simplex de type 1 – aciclovir – résistance – huiles essentielles

Résumé:

Causé par le virus de l'herpès simplex de type I, l'herpès labial est une pathologie que l'on rencontre régulièrement en officine. Dans la plupart des cas, cette affection est bénigne et se résout dans un délai d'une dizaine de jours.

L'aciclovir est le traitement de référence. Néanmoins, cet antiviral voit émerger des souches virales résistantes à son mécanisme d'action. Ce phénomène de résistance a donc suscité la recherche de nouvelles thérapeutiques alternatives.

Ces dernières décennies, les huiles essentielles ont fait l'objet de nombreuses études. On retrouve par exemple les huiles essentielles de Tea Tree, de Menthe poivrée ou encore d'Eucalyptus globuleux, souvent rencontrées en aromathérapie.

JURY :

Président : Mme Théodora POPOVICI (Professeur)

Directeur : Mr Roland MOLINIE (Maître de Conférences)

Membre : Melle Malvina RICHARD (Pharmacien)