
Ingénieur du Génie Sanitaire

Promotion : **2007 - 2008**

Date du Jury : **17 Mars 2008**

ATELIER SANTE ENVIRONNEMENT

Risques et bénéfices possibles des Huiles Essentielles

DEGRYSE Anne-Claire

DELPLA Ianis

VOINIER Marie-Alix

Remerciements

Nous tenons à remercier :

- ⇒ Notre référent pédagogique, M. Denis BARD, enseignant chercheur à l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP) au sein du département d'Evaluation et de Gestion des Risques liés à l'Environnement et aux Systèmes de soins (EGERIES) pour son suivi et ses conseils.

- ⇒ Mme Corinne MANDIN, de l'Institut National de l'Environnement industriel et des Risques (INERIS), pour nous avoir proposé de travailler sur ce sujet et pour nous avoir fourni quelques références bibliographiques nous permettant de démarrer notre étude.

- ⇒ L'ensemble des professionnels des huiles essentielles que nous avons contacté
 - M. Patrick PELLERIN vice-président de l'Association pour la Promotion des Plantes à parfum Aromatiques et Médicinales (APPAM)
 - M. Michel KRAUSZ responsable du Comité Interprofessionnel des Huiles Essentielles Françaises (CIHEF)
 - M. André HYVRIER responsable du laboratoire Sanoflore
 - M. Francis HADJ-MINAGLOU, Docteur en pharmacie
 - M. François HUBERT du groupe de travail « Huiles essentielles » et Mme Céline DELERME de l'unité Evaluation et Publicité des Produits Cosmétiques et Biocides (DEPPCB) à l'AFSSAPS
 - M. Laurent-David GARNIER spécialiste au sein de l'International Fragrance Association (IFRA)

pour nous avoir apporté leur éclairage du secteur des huiles essentielles. Nous les remercions particulièrement de leur disponibilité et de l'intérêt qu'ils ont porté à notre projet.

Sommaire

Introduction	1
CHAPITRE 1 : PRESENTATION DU CONTEXTE.....	1
1 Qu'est ce qu'une huile essentielle ?.....	1
1.1 Généralités.....	1
1.2 Principes de fabrication.....	1
1.3 Composition biochimique	1
1.4 Qualité des huiles essentielles.....	1
2 Production, Commerce extérieur et Consommation	1
3 Principes d'utilisations.....	1
3.1 Médecine douce (ou « Aromathérapie de tradition française »)	1
3.2 Bien-être ou « Aromathérapie de tradition anglo-saxonne ».....	1
3.3 Préconisations générales d'usage.....	1
4 Les huiles essentielles : un problème de Santé Publique ?	1
4.1 Une utilisation de plus en plus fréquente	1
4.2 Des cas graves constatés	1
4.3 Cadre réglementaire.....	1
4.4 Périmètre de l'étude	1
CHAPITRE 2 : Analyse des propriétés des huiles essentielles	1
1 Les différentes propriétés étudiées	1
1.1 Activités antibactériennes et antifongiques.....	1
1.1.1 Grandeurs de mesure	1
1.1.2 Méthodes utilisées.....	1
1.1.3 Activité antibactérienne : effet inhibiteur et bactéricide	1
1.1.4 Activité antifongique	1
1.1.5 Action spécifique de certains composés.....	1
1.2 Activité virucide	1

1.3	Autres propriétés.....	1
1.4	Bilan des propriétés étudiées des huiles essentielles.....	1
1.5	Que sait-on des propriétés des mélanges d'huiles essentielles ?.....	1
2	Mécanismes d'action au niveau cellulaire.....	1
2.1	Action membranaire.....	1
2.1.1	Perméabilisation de la membrane plasmique.....	1
2.1.2	Modification du contenu en ergostérol.....	1
2.1.3	Action sur l'enveloppe virale.....	1
3	Discussion.....	1
3.1	Difficultés de comparaison des résultats des différentes études.....	1
3.2	Possibilités d'application des huiles essentielles.....	1
3.2.1	Désinfection des surfaces.....	1
3.2.2	Désinfection de l'air ambiant.....	1
3.2.3	Traitement des infections bactériennes et virales.....	1
	CHAPITRE 3 : Toxicité des huiles essentielles.....	1
1	Inhalation.....	1
1.1	Formation de composés primaires.....	1
1.1.1	Type de polluants.....	1
1.1.2	Caractérisation des dangers liés à ces composés.....	1
1.1.3	Valeurs guides.....	1
1.1.4	Présentation des résultats de l'étude de Su (2006).....	1
1.2	Formation de composés secondaires.....	1
1.2.1	Type de polluants.....	1
1.2.2	Caractérisation des dangers liés à ces composés.....	1
1.2.3	Valeurs guides.....	1
1.2.4	Présentation des résultats de l'étude de Wainman (2000).....	1
2	Ingestion.....	1
2.1	Toxicité sur l'Homme.....	1
2.2	Toxicité expérimentale.....	1
3	Contact.....	1
3.1	Irritations.....	1
3.2	Allergies par contact.....	1

3.3 Réactions systémiques.....	1
CHAPITRE 4 : DISCUSSION	1
1 Pistes pour une évaluation des risques	1
1.1 Identification des dangers.....	1
1.2 Évaluation de la relation dose-réponse	1
1.3 Estimation des expositions.....	1
1.4 Caractérisation des risques.....	1
2 Gestion des risques	1
Conclusion.....	1
Bibliographie	1
Liste des annexes.....	1

Table des illustrations

Figure 1 : Evolution de la production d'huiles essentielles (source SESSI, MINEFI, enquête mensuelle de branche).....	1
Figure 2 : Substances contenues dans les huiles essentielles et définies comme allergisantes dans la Directive 2003/15/EC [22 et 23].....	1
Figure 3 : Sensibilité de quelques bactéries à l'action du TTO	1
Figure 4 : Sensibilité au TTO de <i>Staphylococcus aureus</i>	1
Figure 5 : Effets aigus observés en fonction de la fraction inspirée de CO ₂ (en %).	1
Figure 6 : Effets chroniques observés en fonction de la fraction inspirée de CO ₂ (en %). .	1
Figure 7 : Pourcentage de patients ayant eu une réaction d'irritation suite au test en fonction de la concentration en TTO du patch.....	1
Figure 8 : Pourcentage de patients ayant eu une réaction allergique suite au test en fonction de la concentration en TTO du patch.....	1

Liste des sigles utilisés

AAPCP	American Association of Poison Control Centers (association internationale financée pour partie par l'Etat américain. Elle a pour but de promouvoir la réduction de la morbidité et de la mortalité dues aux empoisonnements à travers la recherche scientifique et l'éducation du public et des professionnels. Les données proviennent du registre des personnes ayant consulté un centre anti-poison)
AFNOR	Association Française de NORmalisation
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (établissement public de l'État, placé sous la tutelle du ministre chargé de la santé)
AFSSET	Agence Française de Sécurité Sanitaire de L'environnement et du Travail
AOS	Aérosols Organiques Secondaires
APPAM	Association pour la Promotion des Plantes à parfum, Aromatiques et Médicinales
CIHEF	Comité Interprofessionnel des Huiles Essentielles Françaises
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
COV	Composés Organiques Volatiles
COV_t	COV totaux
COV_i	COV Indicateurs
EFFA	European Flavour & Fragrance Association
EINECS	European Inventory of Existing Commercial chemical Substances
HSV-1	Herpes simplex virus (type1)
HSV-2	Herpès simplex virus (type 2)
IC₅₀	Inhibitory Concentration 50
INRS	Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
MBC	Minimum Bactericidal Concentration
MFC	Minimum Fongicidal Concentration
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MLC	Minimum Lethal Concentration
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONIPPAM	Office National Interprofessionnel des Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales (établissement public sous tutelle du ministère de l'Agriculture. Il gère les subventions de l'État dans l'objectif de développer, en France

métropolitaine, les cultures de plantes à parfum, aromatiques et médicinales ainsi que les produits issus de leur première transformation).

OQAI	Observatoire de la Qualité de l'air intérieur
OSHA	Occupational Safety & Health Administration
PPAM	Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales
RIP	REACH Implementation Project
SI	Selectivity Index
SPORT	Strategic Partnership On Reach Testing
TC₅₀	Toxic Concentration 50
TTO	Tea Tree Oil = huile de l'arbre à thé
US EPA	United States Environmental Protection Agency
UVCB	Unknown and Variable composition, Complex reaction products, or Biological materials

Introduction

Les plantes, les fleurs et autres arbres à essence produisent des huiles essentielles pour se protéger des insectes, des maladies ou éliminer des substances de leurs métabolismes. Ces substances volatiles et odorantes, extraites par entraînement à la vapeur ou par expression, étaient déjà connues et utilisées par les Grecs et les Égyptiens.

Aujourd'hui, après un essor constaté à partir des années 1960 [1], on observe que les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées par les particuliers, soit en soin thérapeutique, soit en « bien-être ». Il est de plus en plus fréquent que les industriels ajoutent des huiles essentielles pour parfumer leurs produits manufacturés : savons, détergents, lessives, mais aussi désodorisants ou parfums d'intérieur, ou encore denrées alimentaires.

Ces substances naturelles, généralement présentées comme « sans danger » concentrent les composés actifs des végétaux. On leur attribue empiriquement, depuis de nombreuses années, toutes sortes de propriétés thérapeutiques, spécifiques à chaque type de végétal utilisé. Mais les huiles essentielles sont aussi des composés puissants, qui nécessitent des précautions et des recommandations d'usage.

Étant donné la recrudescence de l'utilisation des huiles essentielles par un public peu averti, la multiplicité des produits disponibles en vente libre, la diversité des voies d'exposition et surtout la publication d'études scientifiques abordant cette thématique sous deux angles opposés, nous avons souhaité en savoir plus sur les risques et les bénéfices possibles des huiles essentielles : quels sont leurs propriétés thérapeutiques validées scientifiquement ? Peut-on les utiliser sans danger pour l'Homme et son environnement ?

Nous vous présenterons, dans une première partie, le contexte général d'utilisation, de production et de réglementation des huiles essentielles. Puis, dans une seconde partie, nous nous attacherons à mettre en évidence les propriétés des huiles essentielles et leurs mécanismes d'action avant d'aborder, dans un troisième temps, leur éventuelle toxicité, présentée selon les trois voies d'exposition.

Pour finir, nous discuterons des résultats scientifiques obtenus à ce jour et nous proposerons quelques axes d'études afin de pouvoir mener une évaluation puis une gestion des risques pour ces substances.

CHAPITRE 1 : PRESENTATION DU CONTEXTE

1 Qu'est ce qu'une huile essentielle ?

1.1 Généralités

1.1.1 Définition

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et aromatiques contenues dans des végétaux et extraites le plus souvent par entraînement à la vapeur ou par expression. Les huiles essentielles ne sont pas présentes dans toutes les plantes : parmi les 800 000 espèces végétales recensées, seules 10% sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont alors dites « aromatiques ».

Les huiles essentielles sont uniquement constituées de molécules aromatiques volatiles car de très faible masse moléculaire. Elles sont très inflammables et très odorantes. Les huiles essentielles sont de nature hydrophobe : elles sont totalement solubles dans l'alcool et les huiles (végétales ou minérales) mais pas dans l'eau.

Bien qu'on les appelle huiles, ces substances ne contiennent aucun corps gras : contrairement à une huile végétale, une goutte déposée sur un papier s'évaporerait sans laisser de trace.

1.1.2 Partie de la plante utilisée

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de la plante. Il peut s'agir de l'**écorce** (ex : citron, orange, bergamote), de **graines** (ex : cardamome, coriandre, fenouil), de **feuilles** (ex : eucalyptus, mélisse), de **racine** (ex : angélique, vétiver), de **fleur** (ex : ylang-ylang, camomille), de **bois** (ex : bois de cèdre, santal) ...

Une liste plus complète, disponible sur le site du département « Neurosciences et Systèmes sensoriels » de l'Université Claude Bernard de Lyon [2], se trouve en annexe 1 de ce document.

La teneur des plantes en huile essentielle est faible, voire infime : pour obtenir un litre d'huile essentielle, il faut par exemple 10 kg de clous de girofle, de 4 à 10 tonnes de pétales de rose, 150 kg de fleurs de lavande ou encore 10 ares de surfaces cultivées de chanvre [3]. La différence de rendement selon le végétal aura une influence sur le prix du flacon.

1.2 Principes de fabrication

Il existe plusieurs principes de fabrication qui dépendent du végétal utilisé. Les deux méthodes les plus courantes sont la distillation et l'expression.

1.2.1 Distillation à la vapeur d'eau

C'est le processus le plus répandu car il convient à la majorité des plantes : les végétaux sont déposés sur une grille à travers laquelle circule de la vapeur d'eau. Celle-ci entraîne avec elle les molécules parfumées qu'elle enlève aux plantes. La solution obtenue circule dans un serpentin où elle se condense en refroidissant. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle reste en surface. On obtient ainsi deux phases non miscibles que l'on peut séparer par décantation : les huiles essentielles et les eaux aromatiques (ou hydrolats) chargées des parties hydrosolubles des essences distillées (exemple : eau de fleur d'orange, eau de rose, eau de lavande, ...).

La distillation se fait lentement, sous basse température et basse pression, avec de l'eau de source non calcaire.

1.2.2 Expression (ou pression à froid)

L'huile essentielle des agrumes se situe dans les zestes (partie externe du péricarpe). Pour l'extraire, on utilise la technique de l'expression : les fruits (bergamote, orange citron...) sont pressés à froid. L'huile essentielle est ensuite séparée du jus par centrifugation. Le produit obtenu est généralement appelé « Essence ».

1.2.3 Autres principes

Lorsque l'huile essentielle ne peut pas être extraite par ces méthodes, on utilise :

- **L'enfleurage (ou macération)** : méthode ancienne utilisée uniquement pour les fleurs fragiles (ex : jasmin, rose). Les parfums sont extraits par contact avec une matière grasse, qui est ensuite lavée à l'alcool pur. Après évaporation de l'alcool, on obtient une absolue.
- **L'extraction par solvant** : technique utilisée pour extraire certains composés contenus dans les plantes non entraînés par la vapeur d'eau. En utilisant des solvants, on obtient des extraits plus complets (substances volatiles, triglycérides, cires, ...). Ces solvants sont ensuite éliminés pour conserver les substances les plus volatiles. On obtient soit des concrètes (substances végétales fraîches), soit des résinoïdes (substances végétales sèches).
 - **Les solvants organiques** utilisés doivent être dépourvus de toxicité et facilement éliminables : les plus utilisés sont l'hexane, l'alcool éthylique, l'acétate d'éthyle ou certains solvants chlorés (dichlorométhane) [4]. Le benzène, très utilisé

par le passé, est désormais interdit car classé cancérigène certain (catégorie 1) par le CIRC depuis 1987 (et catégorie A par l'US EPA depuis 1998).

- **L'extraction au CO₂ supercritique** est une méthode relativement récente qui présente l'avantage de ne pas utiliser de solvant.

1.3 Composition biochimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes, contenant de nombreuses espèces chimiques (identifiables par chromatographie) appartenant au domaine de la chimie organique.

La complexité d'une huile essentielle vient du **nombre important de composés** qui la constitue (huiles poly-moléculaires dans la majorité des cas) : on peut compter jusqu'à plusieurs centaines de composants. Ainsi, l'huile essentielle de lavande (*Lavandula angustifolia*) en compte environ 300 et l'huile essentielle de rose jusqu'à 500. A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces.

La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un **squelette hydrocarboné**, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou **plusieurs sites fonctionnels** semblables ou différents : terpènes (ex : limonène, camphre), alcools (ex : linalol, géraniol), cétones (ex : thuyone, carvone), phénols (ex : thymol, carvacrol), aldéhydes (ex : aldéhyde cinnamique), éthers (ex : eucalyptol) ... [5].

1.4 Qualité des huiles essentielles

1.4.1 Huiles essentielles de synthèse

La composition biochimique d'une huile essentielle est très complexe, il est difficile de recréer l'équilibre naturel des principes actifs par la fabrication de produits de synthèse ou par le mélange de composants extraits. Pour des raisons économiques, les huiles essentielles de synthèse sont principalement utilisées comme parfums.

Notre étude se limitera à étudier les huiles essentielles naturelles car ce sont celles qui ont fait l'objet de publications scientifiques.

1.4.2 Critères de qualité et de traçabilité

Il est important de s'assurer de la qualité de l'huile essentielle utilisée : elle ne doit pas être coupée, allongée ou mélangée ni avec d'autres huiles essentielles, ni avec des molécules de synthèse.

Pour éviter l'utilisation d'huiles essentielles falsifiées, les informations suivantes, signes de qualité et traçabilité, doivent être indiquées sur le flacon :

- **Variété botanique** : un même terme peut désigner des produits différents. Le nom de l'espèce botanique doit figurer en français et surtout en latin sur le flacon.
- **Partie du végétal d'où est extraite l'huile essentielle** : certaines plantes peuvent produire plusieurs huiles essentielles différentes selon les parties distillées : par exemple, l'oranger amer produit de l'huile essentielle de Curaçao (zeste) et de l'huile essentielle de Néroli (fleurs).
- **Chémotype** : une plante, de même variété botanique, élabore des huiles essentielles de composition biochimique différente (donc de propriétés différentes) en fonction de son origine (pays, climat, altitude, sol, saison, ...). Par exemple, le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) est à composante majoritaire cinéole lorsqu'il est produit au Maroc ou en Tunisie, et à composante majoritaire verbétone lorsqu'il est produit en Provence ou en Corse. Il est indispensable que le chémotype exact de chaque huile essentielle soit indiqué sur l'étiquette pour que l'utilisateur puisse faire la distinction.
- **Origine géographique, mode de culture** : les produits doivent être issus soit de cueillette sauvage provenant de zones éloignées des zones polluées, soit de culture biologique, soit de cultures traditionnelles contrôlées. Les plantes ne doivent pas avoir été cultivées avec des engrais, des pesticides ou des herbicides. Une grande partie des huiles essentielles produites en France est bio (Certification AB : Agriculture Biologique) [6].
- **Mode d'extraction** : il permet de savoir si l'huile essentielle a été produite en utilisant des solvants.

La norme AFNOR (NF T75-002) définit les règles générales d'étiquetage et de marquage des récipients contenant des huiles essentielles [7 et 8].

Pour assurer le consommateur de la qualité des huiles essentielles vendues, des laboratoires indépendants peuvent effectuer des **analyses par chromatographie en phase gazeuse** à la demande des producteurs ou vendeurs : ce document permet de connaître très précisément la composition biochimique qualitative et quantitative de l'huile essentielle (composés actifs majoritaires) et de rechercher éventuellement des traces de produits indésirables (comme des pesticides ou des produits chimiques ajoutés).

Il est conseillé de se procurer les huiles essentielles en pharmacie, où les fabricants sont tenus de fournir des dossiers de contrôle complets et où la traçabilité est totale. Ce n'est pas toujours le cas lors d'achats sur les marchés, boutiques de souvenirs ou Internet.

1.4.3 Labels et certifications

La qualité des huiles essentielles peut être garantie par plusieurs labels. Il existe, entre autres une certification française par **ECOCERT** [9] et en Allemagne une **charte (BIDH)** qui certifie depuis 1996 la composition des produits et leur méthode de fabrication.

2 Production, Commerce extérieur et Consommation

2.1 Production française

La production de plantes à parfum, aromatiques et médicinales (PPAM) est très variée : on dénombre **120 espèces cultivées** en France métropolitaine et une **centaine d'autres espèces récoltées par cueillette** (ex : gentiane, tilleul, mimosa, narcisse). Même si l'activité de cueillette est loin d'être négligeable, les données sont plus difficiles à déterminer avec précision.

En 2000, lors du recensement agricole, 33 000 hectares environ de terres étaient cultivés en PPAM, soit seulement 0,1% des superficies agricoles recensées. Cela représente environ 3 600 exploitations agricoles, au sein desquelles les plantes subissent en général une première transformation (distillation et séchage) [10]. On peut noter que la France est leader européen de la production de PPAM bio, avec environ 15 % de la surface cultivée en PPAM.

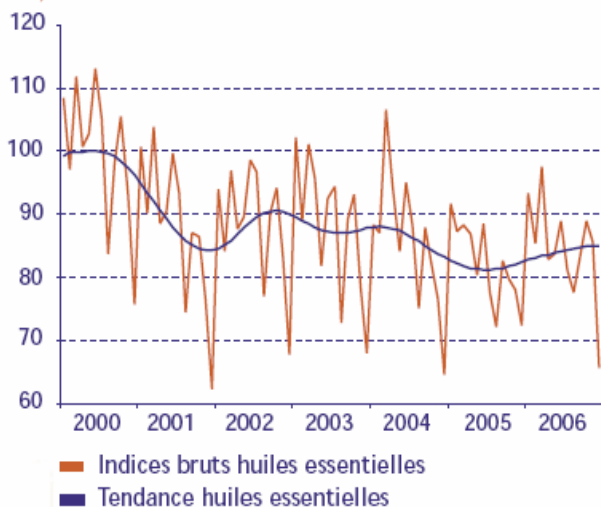
En France, la culture des PPAM est destinée pour **les deux tiers à la production d'huiles essentielles** (le dernier tiers est séché ou commercialisé en frais pour l'alimentaire ou l'homéopathie).

En France métropolitaine, **7 plantes couvrent 90% de la surface implantée en PPAM**. Par ordre d'importance, on trouve : le lavandin (49%), le pavot (23%), la lavande (12%), la sauge sclérée (3%), le ginkgo biloba (1%), le thym (1%) et l'estragon (1%). La production française de lavandin (hybride naturel de la lavande fine et de la lavande aspic), utilisée à 96% sous forme d'huile essentielle et destinée principalement à la parfumerie industrielle, représente la quasi-totalité de la récolte mondiale (1 200 tonnes annuelles en 2000).

L'industrie des huiles essentielles (qui comprend l'extraction des huiles essentielles, la fabrication de résinoïdes et d'hydrolats et la préparation de compositions dérivées) compte environ 120 entreprises, dont la majorité sont très petites (80 ont moins de 20 salariés). Les effectifs sont répartis pour 60% dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur, cœur historique de la profession. Les deux tiers de l'activité du secteur reposent sur les quatre plus grandes entreprises [3].

Evolution de la production

Indices, base 100 en 2000



Depuis 2002, après une chute de production d'huiles essentielles, les industriels ont élargi leur activité au-delà de leurs clients traditionnels (fabricants de parfumerie alcoolique, produits cosmétiques, savons) : ils travaillent également avec les fabricants de détergents, lessives, produits d'entretien et insecticides et aussi avec les industries agro-alimentaires pour lesquelles ils développent leur production d'arômes (50% du chiffre d'affaires en 2005).

Figure 1 : Evolution de la production d'huiles essentielles (source SESSI, MINEFI, enquête mensuelle de branche).

2.2 Importations / Exportations

Les huiles essentielles produites en France sont majoritairement exportées à travers le monde. La part destinée aux **exportations** atteint 63% en 2005 pour 159 millions d'euros. 50% de l'exportation des huiles essentielles (en valeur) est atteinte avec seulement quatre pays, qui disposent d'une industrie de la parfumerie, de la cosmétique et de la détergence développée : les États-unis (18,5%), l'Allemagne (12,5%), la Suisse (12,5%) et le Royaume-Uni (9%).

Les chiffres du commerce extérieur des PPAM fournis par les statistiques douanières **présentent certaines limites :**

- **Erreurs de classement** (produits transformés, huiles essentielles, plantes en l'état, ...)
- **Réexportation** de produits après transformation : modification du flux d'import / export (ex : réexportation d'huile essentielle comme parfum de détergent).
- Marché limité à **quelques entreprises** : son évolution est très liée à un changement de stratégie d'une seule entreprise.
- Déficit apparent : certaines huiles essentielles nécessitent des **conditions climatiques** spécifiques ; ce n'est pas forcément un signe de manque de productivité.

De plus, il est difficile de comparer des chiffres donnés en volume ou en valeur : un pays producteur d'huile essentielle au rendement très faible (rose, vanille, ...) pourra être premier en valeur mais pas en volume.

La valeur des **importations** d'huiles essentielles et concrètes atteint 134 millions d'euros en 2005. La concurrence s'accroît, tant sur la culture des matières premières que sur les coûts : les pays de l'Europe de l'Est proposent une offre croissante de productions florales et deviennent, avec la Chine, les principaux concurrents et fournisseurs d'huile essentielle de lavande pour la France. L'implantation d'usines dans le bassin méditerranéen favorise la production sur place d'huiles essentielles ; une part importante est réexportée vers la France (fleur d'oranger, concrète de rose, ...) [3 et 11].

2.3 Consommation

Le Ministère de l'Industrie et des Finances ne fournit que des chiffres relatifs à la production française d'huiles essentielles et au commerce extérieur [3 et 11]. Nous ne disposons d'aucune information précise concernant la consommation des différentes huiles.

Il est d'autant plus difficile d'évaluer cette consommation que les huiles essentielles sont utilisées pures (médecine naturelle ou « bien-être ») mais sont également intégrées dans de nombreux produits de consommation courante : les industriels s'intéressent principalement aux propriétés odorantes des huiles essentielles et les intègrent dans des détergents, parfums, lessives ...

Dans la suite de l'étude, nous nous intéresserons uniquement à l'utilisation d'**huiles essentielles pures** et non à l'utilisation d'huiles intégrées à des produits de grande consommation. En effet, la recherche scientifique s'intéresse principalement à l'activité des huiles essentielles pures.

3 Principes d'utilisations

Le marché des huiles essentielles (production, distillation, vente) est divisé en de nombreuses petites sociétés. Même s'il existe des associations et des organismes les regroupant, nous avons eu des difficultés à recueillir des données centralisées et représentatives du secteur, en particulier sur les caractéristiques des consommateurs et leurs habitudes d'utilisation (voie d'exposition, fréquence, dosage, raison thérapeutique ou bien-être, ...). Les dosages et modes d'utilisation sont ainsi donnés uniquement à **titre indicatif**. Ils correspondent aux données que nous avons le plus souvent rencontrées dans les ouvrages d'aromathérapie et dans les notices des producteurs ou revendeurs.

3.1 Médecine douce (ou « Aromathérapie de tradition française »)

3.1.1 Formation des praticiens

Il n'existe pas de formation d'**aromathérapeute** en tant que tel. L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie (traitement des maladies par des plantes fraîches ou

desséchées, et par leurs extraits naturels). Quelques cours sont ainsi donnés dans des universités de phytothérapie (Paris XIII délivre un « Diplôme universitaire de naturothérapie » et un « Certificat universitaire de pratiques soignantes en naturothérapie » [12] aux personnes ayant une formation médicale préalable (médecins, infirmiers, sages femmes, pharmaciens ...)).

Il existe également des **organismes privés** qui ne demandent pas aux candidats de formation médicale au préalable (ex : Ecole Lyonnaise des Plantes Médicinales).

Les **médecins généralistes** peuvent rédiger des ordonnances d'huiles essentielles. De même, les **pharmaciens** d'officines spécialisées peuvent faire office de conseillers en la matière.

Il existe cependant une certaine part d'**automédication** : les huiles essentielles sont pour la grande majorité disponibles en vente libre et de nombreux ouvrages existent sur le sujet.

3.1.2 Soins thérapeutiques

Les huiles essentielles sont préconisées principalement pour leurs propriétés bactéricides et bactériostatiques, mais aussi pour augmenter les défenses naturelles du malade, notamment vis-à-vis des virus [13].

Les huiles essentielles peuvent être utilisées de plusieurs façons, sur prescription médicale :

➤ **par voie orale** : les huiles essentielles doivent toujours être diluées car elles sont irritantes pour les muqueuses digestives. Elles peuvent être ingérées en solution [13], fixées sur des poudres dans des gélules [13], ou mélangées avec du yaourt, du lait chaud, du miel, ...

Les formes pharmaceutiques sont recommandées car elles sont faciles d'emploi et permettent une posologie régulière et adaptée en évitant les risques de surdosage par le particulier. Il n'est pas recommandé de prendre plus de 6 gouttes par jour ni de dépasser quelques jours d'utilisation (en général, ne pas dépasser une goutte par tranche de 10 kg de poids corporel) [1].

➤ **par voie rectale** : dispersées dans l'excipient du suppositoire. Les pharmaciens les préparent sur ordonnance [13].

➤ **par inhalation directe** :

L'inhalation humide consiste à respirer les vapeurs dégagées par 3 ou 4 gouttes d'huiles essentielles ajoutées directement à un bol d'eau chaude ou diluées dans une cuillère à café d'alcool à 90°. La séance d'inhalation dure environ une dizaine de minutes [13] et peut être répétée jusqu'à 3 fois par jour [1].

L'inhalation sèche consiste à respirer profondément une dizaine de gouttes déposées sur un mouchoir ou un oreiller [1]. Il n'est pas recommandé d'inhaler directement à la bouteille car il y a un risque de brûlure des sinus.

- **par voie percutanée** : en massages, cataplasmes ou compresses après solubilisation impérative dans une huile végétale.

3.2 Bien-être ou « Aromathérapie de tradition anglo-saxonne »

3.2.1 Diffusion dans l'air ambiant

Les huiles essentielles sont utilisées en diffusion dans l'air ambiant pour assainir et parfumer l'atmosphère.

Plusieurs procédés peuvent être utilisés :

- **le rond d'ampoule** : L'utilisateur dépose quelques gouttes d'huiles essentielles sur un rond en terre cuite (poreuse) posé sur une ampoule. La chaleur de l'ampoule brûle rapidement l'huile essentielle ; seul le parfum est restitué.
- **le brûle-parfum** : l'huile essentielle est déposée dans une coupelle contenant de l'eau au-dessus d'une bougie. Au fur et à mesure que l'eau chauffe, les composés aromatiques s'évaporent et parfument l'air ambiant.
- **le diffuseur électrique** : un moteur actionne une pompe qui nébulise les huiles essentielles. Elles sont alors brisées en milliards de microparticules (jusqu'à 0,5 microns selon la qualité de la verrerie) et projetées dans l'atmosphère sous forme d'un léger brouillard. Les microparticules sont facilement inhalables et les principes actifs ne sont pas détruits car la diffusion se fait à température ambiante.

Les fabricants recommandent une utilisation de 5 à 10 minutes par heure ou 30 à 60 minutes par jour pour ne pas saturer l'air en particules. Le diffuseur d'huiles essentielles ne doit pas être utilisé à proximité d'un bébé de moins de deux ans, au risque d'irriter ses yeux, ses muqueuses, ses voies respiratoires.

Il existe d'autres méthodes de diffusion des huiles essentielles dans l'air ambiant, plus rarement utilisées :

- **La diffusion à froid par un ventilateur** : cette méthode est utilisée principalement dans les systèmes d'aération des maisons ou dans les voitures. Le ventilateur diffuse le parfum des quelques gouttes d'huiles essentielles déposées sur un tissu ou coton.
- **La vaporisation** : l'huile essentielle est diffusée sous forme de spray désodorisant. Cependant, les gouttes vaporisées sont en général trop lourdes et retombent sans pouvoir saturer l'air et être inhalées.

3.2.2 Application cutanée

- **Massage** : pour une utilisation en massage, l'huile essentielle doit au préalable être diluée dans une huile neutre et sans odeur (huile d'amande douce, de noisette, de pépins de raisin ...). Il est également possible de diluer les huiles essentielles dans de l'alcool à 90°. Généralement, une dilution à 5 ou 10% est conseillée.
- **Bain** : les huiles essentielles n'étant pas solubles dans l'eau, elles ne doivent pas être ajoutées pures à l'eau du bain au risque de provoquer des brûlures. Elles doivent être diluées au préalable dans une base pour bain, du gel douche, de l'alcool, du lait ... On compte en général 10 à 20 gouttes pour une baignoire d'eau. Les huiles essentielles agiront de deux manières : par contact et par inhalation des vapeurs dégagées.
- **Cosmétique** : quelques gouttes d'huiles essentielles peuvent être ajoutées aux produits de beauté (crème de soin, shampooing, masque, ...). On compte en général une dilution de 0,5 à 1,5%.

3.2.3 Alimentation

L'utilisation d'huiles essentielles dans les préparations culinaires est plus anecdotique. Cependant, on constate que l'on trouve depuis de nombreuses années des produits alimentaires industriels contenant des huiles essentielles (Bergamote de Nancy [14], thé Earl Grey, ...) et que de plus en plus de livres de cuisine proposent de les utiliser, en faible quantité, pour relever certains plats : assaisonnement à l'huile végétale additionnée d'huile essentielle (thym, basilic, romarin, origan, ...), parfum de desserts (huile essentielle d'agrumes, vanille, ...), ... [15].

On peut remarquer que la littérature scientifique ne s'est pas intéressée à l'utilisation alimentaire des huiles essentielles.

3.3 Préconisations générales d'usage.

Pour éviter les risques de mauvaise utilisation et les accidents, des recommandations sont fournies par les pharmaciens ou les fabricants d'huiles :

- les huiles essentielles ne sont pas recommandées sans préconisation médicale aux **personnes fragiles** (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées, souffrant d'hypertension artérielle ou épileptiques, ...) [1]
- Certaines huiles essentielles sont **photosensibles** (agrumes) [1], d'autres peuvent provoquer des **brûlures** de la peau ou des muqueuses ; d'autres encore des **réactions allergiques**.
- Le mode d'utilisation doit être respecté. Ainsi, certaines huiles, contenant des phénols ou des cétones, sont irritantes ou toxiques lorsqu'elles sont utilisées en diffusion (ex : origan, clou de girofle, sarriette, ...) [16].

4 Les huiles essentielles : un problème de Santé Publique ?

4.1 Une utilisation de plus en plus fréquente

On constate actuellement un engouement particulier du grand public pour les huiles essentielles dans le cadre d'un retour aux pratiques naturelles et médecines douces.

Comme nous l'avons vu précédemment, elles sont utilisées dans différents domaines et par un public plus ou moins bien informé des pratiques à adopter et des effets de ces produits.

En raison de la grande quantité d'huiles essentielles disponibles dans le commerce (plus de 200), des nombreuses propriétés démontrées de manière empirique et de la grande variabilité des préconisations (mode d'utilisation, dosage, mélange des huiles, ...), nous avons choisi de ne vous présenter que quelques utilisations. Cette liste présente les propriétés les plus couramment rencontrées dans les guides, soit une infime partie de leurs possibilités thérapeutiques supposées :

- **Traitement des affections cutanées :** piqûres d'insectes, brûlures bénignes, coupures et érosions, peau sèche et prurigineuse, acné, bouton de fièvre, cellulite, circulation paresseuse, ...

Par exemple : Lavande (*Lavandula augustifolia*), Petite camomille (*Matricaria chamomilla*), arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*) ...

- **Traitement des problèmes musculaires :** pathologies articulaires et rhumatismes (arthrose, polyarthrite rhumatoïde ...)

Par exemple : Romarin (*Rosmarinus officinalis*), Myrte (*Myrtus communis*), Lavande (*Lavandula augustifolia*) ...

- **Traitement des germes et des infections :** infections des voies respiratoires (rhumes et refroidissements, grippe, toux et maux de gorge, ...), démangeaisons et inflammations, pied d'athlète, ...

Par exemple : arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*), Achillée mille-feuilles (*Achillea millefolium*), Cajepout (*Melaleuca leucadendron*) ...

- **Traitement des pathologies liées au stress :** troubles du sommeil, manque de concentration, sentiment d'impuissance, état dépressif, déséquilibre émotionnel, ...

Par exemple : Lavande (*Lavandula augustifolia*), Camomille romaine (*Anthemis nobilis*), Bergamote (*Citrus bergamia*) ...

Il semble donc y avoir des bénéfices liés à l'utilisation des huiles essentielles. Nous verrons dans la suite du rapport les études scientifiques disponibles validant les propriétés intrinsèques des huiles essentielles (chapitre 2).

4.2 Des cas graves constatés

Sans le vouloir (ni forcément le savoir), la population est régulièrement au contact d'huiles essentielles (détergent, savon, lessive, ...), en ingère (arômes alimentaires) et en inhale (désodorisant d'intérieur). Plusieurs articles mettent en évidence des problèmes qui sont apparus, malgré le suivi des recommandations d'usage. Cela laisse à penser que les huiles essentielles ne seraient pas sans danger. En voici quelques exemples :

- **Dermite de contact** : l'INRS recense plusieurs cas de dermatites de contact allergique (maladie de peau qui se manifeste par des rougeurs et des squames) apparues suite à l'utilisation d'huiles essentielles en milieu professionnel, chez les aromathérapeutes et les masseurs principalement.

- **Convulsions de l'enfant** :
 - CALMOSINE est un produit diététique (sirop), vendu en pharmacie, composé d'extraits d'aneth (plante alimentaire à huile essentielle, carvone et limonène majoritaires) et généralement administré à de jeunes enfants pour ses propriétés apaisantes et digestives. Deux cas graves ont été constatés : des convulsions chez un enfant de 4 mois hospitalisé en urgence (2003) ; une hypotonie (diminution de la tension musculaire) et une somnolence le lendemain de l'administration chez un enfant de 16 jours [17].
 - Une petite fille de 11 mois, dont la mère a appliqué quelques gouttes d'un mélange d'huiles essentielles sur le vêtement (ESCUAPE), a manifesté un état d'hypotonie global puis a fait une grave crise de convulsions pendant 3/4 h. A l'hôpital, où elle est restée 5 jours, un anti-épileptique lui a été injecté par voie osseuse. Les spécialistes reconnaissent qu'un mélange de plusieurs composants mis en synergie peuvent s'avérer fortement épileptogènes, à plus forte raison sur un enfant en bas âge. Depuis, le fabricant a l'obligation de faire figurer sur le flacon « Ne pas administrer chez les enfants au dessous de 3 ans » et l'AFSSAPS a fait retirer du marché tous les produits ne contenant pas cette indication [18].

- **Endocrinologie** : trois enfants de 4, 7 et 10 ont développé une gynécomastie (hypertrophie des seins) suite à l'utilisation, respectivement : de massages à l'huile essentielle de lavande ; de savon parfumé à la lavande ; de shampooings et gels à l'huile essentielle de lavande et théier. L'hypothèse d'un lien entre l'apparition des symptômes et la présence d'œstrogène dans l'huile essentielle de lavande a été émise [19].

Devant l'augmentation de l'utilisation des huiles essentielles par des consommateurs peu ou pas avertis, et devant le manque d'informations attestant de la non toxicité de ces substances, on est en droit de s'interroger, du point de vue de la Santé Publique, du risque encouru par les populations exposées aux huiles essentielles (la toxicité des huiles essentielles sera étudiée au chapitre 3 de ce document).

4.3 Cadre réglementaire

4.3.1 Législation française

A) Législation

L'utilisation des plantes et des huiles est contrôlée par le Code de la Santé Publique. Il existe aujourd'hui relativement peu de réglementation concernant la production et la vente d'huiles essentielles :

La **loi L512 du Code de la Santé Publique**, complétée par la **loi 84-534 du 30 juin 1984** [20-1], réglemente la liste des « essences végétales » dont la vente au public est réservée aux pharmaciens : « La vente au détail et toute délivrance au public des huiles essentielles (...) ainsi que leurs dilutions et préparations ne constituant ni des produits à usage ménager, ni des denrées ou boissons alimentaires ».

Un premier **décret (86-778 du 23 Juin 1986** [20-2]) définit la liste suivante : « essences provenant de : l'absinthe, la petite absinthe, l'armoise, de cèdre, l'hysope, la sauge, la tanaïsie, le thuya ».

Depuis, l'article **L4211-1 du Code de la Santé Publique** (modifié par Ordonnance n°2007-613 du 26 avril 2007 - art. 26 JORF 27 avril 2007 [20-3]) ajoute, dans les produits contenant des huiles essentielles non concernés par la délivrance par les pharmaciens, les « produits cosmétiques ».

Le **décret n°2007-1198 du 3 Août 2007** [20-4], publié au Journal Officiel du 8 Août 2007, allonge la liste définie dans le décret 86-778 et précise le nom exacte de chaque variété botanique (voir annexe 2).

L'article **L5311-1 du Code de la Santé Publique** [20-5] donne à l'AFSSAPS le pouvoir de suspendre ou d'interdire une huile essentielle qui présenterait des dangers.

B) Groupe de travail AFSSAPS

Devant le manque d'information et de réglementation sur ces substances, le Directeur Général de l'AFSSAPS a décidé en 2004 de créer un groupe de travail sur les huiles essentielles (décision du 09/07/2004 [21-1]) « chargé de préparer les avis et les délibérations de la commission de cosmétologie, et notamment de mettre en place des recommandations pour le bon usage des huiles essentielles dans les produits cosmétiques ». Le 17 Juillet 2007, une circulaire modifiait la décision de 2004 en précisant notamment les objectifs de ce groupe de travail [21-2].

Celui-ci concentre aujourd'hui ses études sur l'utilisation des huiles essentielles dans les produits cosmétiques. L'usage des huiles pures (massages, diffusion dans l'air ambiant) n'est pas concerné. Un **guide** est en cours de réalisation : il concerne la qualité des huiles essentielles dans les produits cosmétiques et précise leurs recommandations d'usage. Il devrait être mis en ligne sur le site de l'AFSSAPS.

Mme Céline DELERME (membre de l'unité Evaluation de la Publicité et des Produits Cosmétiques et Biocides de l'AFSSAPS) nous a confirmé que l'AFSSAPS travaillait également sur une **évaluation des risques des produits cosmétiques** contenant des huiles essentielles. Les résultats ne sont pas encore disponibles à ce jour. Les nouveaux objectifs du groupe de travail étant relativement récents (07/2007), nous ne disposons pas de publication sur ces sujets à l'heure actuelle.

C) Normalisation

L'AFNOR a défini un certain nombre de normes dans le secteur des huiles essentielles et les révisé régulièrement pour tenir compte des évolutions des caractéristiques des produits, des améliorations de leurs analyses et de la création de nouveaux marchés de consommation. Destinées aux industries chimiques et agroalimentaires et aux laboratoires d'analyses et d'essais, ces **130 normes**, références techniques nationales et internationales, sont regroupées dans un CD depuis Mars 2007. On y trouve deux grandes catégories : **méthodes d'analyse** (normes de caractérisation et de contrôle de la qualité) et **monographies d'huiles essentielles** (ensemble des spécifications physiques, chimiques, organoleptiques et chromatographiques) [8].

4.3.2 Législation européenne

La Directive européenne 2003/15/EC, appelée « Cosmétique », publiée au Journal Officiel du 11 mars 2003 [22] fait la liste de **26 substances** identifiées comme causes importantes de **réactions allergiques de contact**. 16 d'entre elles se trouvent à l'état naturel dans environ 150 huiles essentielles [23].

Les nouvelles dispositions d'étiquetage imposent que leur présence soit indiquée sur l'étiquette du produit fini lorsque leur concentration (incluant les impuretés) dépasse :

- 0,001% (10 ppm) dans les produits appliqués sur la peau et non rincés
- 0,01% (100 ppm) dans les produits rincés

Figure 2: Substances contenues dans les huiles essentielles et définies comme allergisantes dans la Directive 2003/15/EC [22 et 23]

Benzyl Alcohol	Benzyl Salicylate	Cinnamyl Alcohol	Cinnamic Aldehyde
Citral	Coumarin	Eugenol	Geraniol
Isoeugenol	Anisyl Alcohol	Benzyl Benzoate	Benzyl Cinnamate
Citronellol	Farnesol	Limonene	Linalol

4.3.3 Exemple du Canada

Le gouvernement canadien a décidé de renforcer la réglementation sur le commerce des huiles essentielles suite à l'engouement actuel pour l'aromathérapie et le manque d'information sur la toxicité éventuelle. En effet, jusqu'en Avril 2006, le Ministère Fédéral de la Santé (Santé-Canada) avait recensé 27 cas d'effets secondaires liés à l'utilisation de seulement trois huiles essentielles (camphre, eucalyptus et sassafras (laurier)) : douleurs à l'oreille, vomissement, oedèmes, confusion, irritabilité, ...

Santé-Canada possède, depuis le 1^{er} Janvier 2004, un règlement sur les produits de santé naturels (PSN). Pour vendre une huile essentielle, les entreprises doivent faire une **demande d'autorisation** à Santé-Canada : le produit obtient alors un numéro qui doit obligatoirement figurer sur l'emballage. Il assure au consommateur que le fabricant a présenté les preuves d'efficacité, d'innocuité et de qualité de son produit. Malgré la volonté du gouvernement canadien de réglementer rapidement ces produits naturels, du retard a été pris : les démarches sont coûteuses et laborieuses pour les fabricants et le traitement des demandes d'autorisation doit être accéléré par le ministère [24].

4.3.4 Questionnement sur la réglementation européenne REACH

REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals) est le règlement européen, entré en vigueur le 1^{er} Juin 2007, qui vise à renforcer les connaissances sur les effets éventuels des substances chimiques sur la santé et l'environnement, et à permettre une meilleure gestion des risques liés à leur production et leur utilisation.

Ce règlement couvre le contrôle de la fabrication, de l'importation, de la mise sur le marché et de l'utilisation des substances chimiques (en tant que telles ou présentes dans des préparations ou des articles). Les producteurs et les importateurs devront enregistrer environ 30 000 substances chimiques produites ou importées à plus d'une tonne par an.

Le règlement REACH prévoyait de soumettre les huiles essentielles au même régime de contrôle que celui appliqué aux produits chimiques synthétiques. Plusieurs débats ont eu lieu en 2005 au Sénat et à l'Assemblée Nationale ([25-1], [25-2], [25-3]) pour savoir si ces substances, naturelles, devaient entrer dans cette réglementation.

La mise en place de la réglementation REACH a permis de susciter un certain nombre de questions sur l'éventuelle toxicité des huiles essentielles, et surtout de mettre en évidence le **besoin de réaliser des études et des analyses scientifiques**.

Le règlement REACH (n°1907/2006/CE) [26-1] a été adopté le 13 Décembre 2006 au Parlement Européen. L'annexe IV identifie les substances qui sont exemptées des dispositions « car on dispose d'informations suffisantes à leur sujet permettant de considérer qu'elles présentent un risque minimal du fait de leurs propriétés intrinsèques ». Les huiles essentielles **ne font pour le moment pas partie de la liste des substances exemptées** car elles sont déjà classées comme «substances dangereuses » dans la Directive 67/548 (certaines sont inflammables, nocives par ingestion ou pour l'environnement). Cependant, la Commission Européenne doit effectuer un examen de cette annexe avant le 1^e Juin 2008 pour la vérifier et ajouter éventuellement de nouvelles substances (possibilité d'intégrer des propositions émanant d'industriels, dossier à l'appui transmis avant le 30 Novembre 2007) [26-2].

4.3.5 Les premiers résultats de SPORT

Le programme européen SPORT (Strategic Partnership On Reach Testing), auquel ont participé de 2003 à 2005 la Commission Européenne, les Etats membres et les industriels, a permis de tester en grandeur nature sur 9 dossiers, le fonctionnement pratique de REACH : identification des problèmes, mesure de l'applicabilité et coûts d'application [27].

La France a participé, avec EFFA (European Flavour & Fragrance Association), au test de l'intégration des produits naturels dans REACH, en prenant comme exemple l'huile essentielle de lavande. Le rapport d'étude [28], publié en Juillet 2005, donne les conclusions suivantes :

L'enregistrement des huiles essentielles sous SPORT présente déjà des **difficultés** :

- Les huiles essentielles sont produites par de petits producteurs et distillateurs. Les **modalités de financement** des coûts d'enregistrement n'ont pas encore été définies.
- La composition des huiles essentielles manufacturées et des huiles essentielles brutes est différente : à quel **stade de la production** doit intervenir l'enregistrement de la substance ?
- Les huiles essentielles peuvent avoir des compositions et des propriétés physico-chimiques très variables, elles ont d'ailleurs été classées UVCB (Unknown and

Variable composition, Complex reaction products, or Biological materials). Une méthode de test doit être mise en place pour obtenir une **image représentative du danger** d'une huile essentielle.

- Un même numéro EINECS (European Inventory of Existing Commercial chemical Substances) couvre une gamme d'huiles essentielles pouvant avoir des **compositions très différentes**. L'origine et la méthode d'extraction sont souvent plus caractéristiques d'une huile essentielle que le numéro EINECS.

Suite à ces difficultés, le groupe SPORT préconise :

- De rédiger un **guide technique** (RIP 3.10) sur la caractérisation et la vérification de l'identité des substances, pour identifier, définir et enregistrer les produits naturels.
- De **clarifier les ambiguïtés résultant de la nomenclature EINECS** et de l'impossibilité technique de caractériser ces substances sur le plan chimique.

4.4 Périmètre de l'étude

On s'aperçoit que les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées depuis quelques années, que ce soit volontairement par les particuliers (soin ou bien-être) ou par les industriels comme parfum des produits de consommation courante. Elles sont généralement présentées au grand public comme « sans danger » et « bénéfiques » car extraites de végétaux sans aucune transformation. Pourtant, plusieurs cas graves ont été recensés après leur utilisation. On constate également que les législateurs ont du mal à se prononcer sur la nécessité de classer ces substances naturelles comme substances dangereuses.

Que sait-on réellement des propriétés bénéfiques des huiles essentielles et de leur éventuelle toxicité ? Les deux parties suivantes vont s'attacher à présenter un état des connaissances scientifiques sur ce sujet.

CHAPITRE 2 : Analyse des propriétés des huiles essentielles

La connaissance des propriétés bénéfiques des huiles s'est transmise au fil du temps et, aujourd'hui encore, de nombreux professionnels se réfèrent à ces **connaissances empiriques**. Nous avons pu le constater lors des entretiens téléphoniques que nous avons eus avec certains d'entre eux.

On peut donc légitimement se demander ce qu'il en est de la recherche scientifique à ce sujet : ces propriétés empiriques sont-elles confirmées par des études fiables et complètes ? Que connaît-on actuellement de l'action des huiles essentielles et de leurs différents composés ? Que sait-on des mécanismes d'action de ces huiles ?

A partir de l'étude de plusieurs publications scientifiques, nous allons préciser l'avancement actuel des **connaissances** des propriétés des huiles essentielles.

Nous verrons dans un premier temps les différentes **propriétés** qui ont été **étudiées**, puis nous nous pencherons plus précisément sur les **mécanismes d'action** qui ont pu être mis en évidence au niveau cellulaire. Dans un troisième temps nous discuterons de la comparaison des résultats des différentes études ainsi que des **perspectives** de nouveaux domaines d'application des huiles essentielles.

1 Les différentes propriétés étudiées

1.1 Activités antibactériennes et antifongiques

1.1.1 Grandeurs de mesure

L'efficacité de l'huile essentielle testée est évaluée par la mesure de 3 concentrations : MIC, MBC ou MFC.

- **MIC** = Minimum Inhibitory Concentration = Concentration minimale d'agent antimicrobien qui inhibe la croissance bactérienne, après incubation en conditions standards, par comparaison avec un contrôle de croissance ne contenant pas l'agent testé. Les microorganismes restent cependant viables. [34].
- **MBC** = Minimum Bactericidal Concentration = Concentration minimale d'agent antimicrobien nécessaire pour détruire l'inoculum initial après incubation en conditions standards. Les microorganismes ne sont plus viables. La MBC est aussi connue sous

le nom de **MLC** = Minimal Lethal Concentration [47]. La MBC ou MLC peuvent aussi être utilisées lors d'études sur les effets antifongiques [36]

- **MFC** = Minimal Fongicidal Concentration = Concentration minimale d'agent antimicrobien qui inhibe totalement la croissance du champignon après incubation en conditions standards. Les microorganismes ne sont plus viables. [34].

Ces trois concentrations peuvent être exprimées en $\mu\text{g/ml}$ ou en $\mu\text{l/ml}$ ou en % (vol/vol).

De façon générale, ces grandeurs sont utilisées pour évaluer la résistance des microorganismes à un agent antimicrobien, ou encore pour évaluer in vitro l'efficacité d'un nouveau produit désinfectant. On ne dispose pas de définition officielle de ces grandeurs, les définitions données ci-dessous sont celles utilisées dans les études scientifiques. Elles sont donc susceptibles de varier d'un auteur à un autre.

1.1.2 Méthodes utilisées

A) Méthodes d'évaluation des activités bactéricides et fongicides

Les principes généraux utilisés pour déterminer les MIC, MBC et MFC dans les études que nous allons détailler dans cette partie sont les suivants :

Les microorganismes sont mis en contact avec des concentrations variables d'huiles essentielles : les huiles essentielles n'étant **pas solubles dans l'eau**, leur solubilité dans les milieux de culture est limitée. Pour contourner ce problème, du surfactant est généralement ajouté au milieu ; les huiles peuvent également être diluées dans de l'éthanol.

- **Etude de la phase liquide de l'huile** : de l'huile essentielle liquide est ajoutée en concentrations variables au milieu de culture des bactéries. Les bactéries sont ensuite incubées puis la croissance bactérienne est évaluée par comparaison avec la croissance de microorganismes témoins n'ayant pas été en contact avec l'huile essentielle.

Une autre méthode utilisée dans une seule des études [5] que nous présenterons est la méthode des aromatogrammes détaillée en annexe n°3.

- **Etude de la phase gazeuse** : méthode de l'atmosphère modifiée : l'huile essentielle est mise en contact avec les bactéries par évaporation à l'intérieur de l'incubateur : l'huile est déposée sur un papier filtre lui-même placé dans une boîte de pétri ouverte ; la chaleur de l'incubateur provoque l'évaporation de l'huile.

Cette méthode peut aussi être appliquée à l'échelle d'une boîte de pétri (méthode détaillée en annexe n°3).

Nb : dans l'étude sur les effets des huiles essentielles en conditions réelles [37], les huiles sont évaporées directement dans des pièces d'habitation au moyen de bougies chauffantes.

B) Méthode d'évaluation de l'activité virucide

L'activité virucide est évaluée par la méthode classique des plages de lyse cellulaire (Unités Formant Plages - UFP). Les virus sont d'abord incubés avec des concentrations variables d'huile essentielle, puis ces virus traités sont utilisés pour infecter des cultures cellulaires eucaryotes.

Après incubation, une **numération des plages de lyse** est effectuée et comparée avec la numération sur des cultures témoin traitées avec des virus non incubés avec des huiles essentielles. Si l'huile essentielle est active sur les virus, on constate une diminution des plages de lyse par rapport au témoin [35].

1.1.3 Activité antibactérienne : effet inhibiteur et bactéricide

A) Expérimentations in vitro

a) *Activité de la phase liquide de quelques huiles essentielles*

L'huile essentielle dite de « l'Arbre à thé » (*Melaleuca alternifolia* ou Tea tree oil = TTO) a été particulièrement étudiée, son usage étant très répandu, notamment en Australie d'où elle est originaire. L'étude « *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree Oil) : a Review of Antimicrobial and other medicinal properties » [30] est une revue de plusieurs études menées sur les propriétés du TTO.

L'étude des propriétés antibactériennes de cette huile sous forme liquide a été menée in vitro sur des microorganismes tels que *Acinetobacter*, *Bacillus cereus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *E. Coli*... L'efficacité de l'action antibactérienne est donnée par la mesure des MBC et MIC.

Les résultats de ces différentes études montrent que la plupart des **bactéries testées sont sensibles au TTO** à une concentration inférieure ou égale à 1% (MIC < 1% et MBC < 1%).

Certaines bactéries ont des MIC plus élevées et semblent donc plus résistantes à l'action du Tea Tree Oil :

Ex : *Enterococcus faecalis* (0,5 < MIC < 8 % et MBC > 8 %) selon les études

Pseudomonas aeruginosa (1 < MIC < 8% et 2 < MBC < 8 %) selon les études

Il faut cependant noter une **certaine variabilité des résultats** selon les études : par exemple pour *E. Coli*, la MIC varie entre 0,08 et 2 % et la MBC entre 0,25 et 4 %. La valeur donnée n'est donc pas à considérer comme une valeur absolue mais plutôt comme une indication de l'existence d'une activité antifongique de l'huile essentielle.

La synthèse des résultats des différentes études permet d'affirmer que le TTO a bien une activité bactéricide ainsi que bactériostatique à plus faible concentration.

Figure 3 : Sensibilité de quelques bactéries à l'action du TTO

Bactéries	MIC % (vol/vol)	MBC % (vol/vol)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1
<i>Actinomyces viscoses</i>	0,6	> 0,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,5 - >8	> 8
<i>Bacillus cereus</i>	0,3	-
<i>Escherichia coli</i>	0,08 - 2	0,25 - 4
<i>Klebsidia Pneumoniae</i>	0,25 - 0,3	0,25
<i>Lactobacillus spp.</i>	1 - 2	2
<i>Micrococcus luteus</i>	0,06 - 0,5	0,25 - 6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 - 8	2 - >8
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5 - 1,25	1 - 2

Source : (extrait) Carson C. F., Hammer K. A., Riley T. V. (2006)

Des résultats similaires ont été obtenus sur 64 souches de SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline) traitées avec des concentrations variables de TTO [30]. Les résultats sur les différents échantillons étaient les suivants :

Figure 4 : Sensibilité au TTO de *Staphylococcus aureus*

	MIC	MBC
<i>Staphylococcus aureus</i> => Echantillons Australiens	0,25 %	0,5 %
<i>Staphylococcus aureus</i> => Echantillons du Royaume-Uni	0,312 %	0,625 %

Source : (extrait) Carson C. F., Hammer K. A., Riley T. V. (2006)

Ces résultats montrent donc une **activité bactéricide du TTO** envers les SARM, ce qui peut être une piste très intéressante pour la lutte contre ces bactéries résistantes. Ce type d'étude serait alors à approfondir pour évaluer avec plus de précisions le potentiel d'action du TTO (comparaison avec les antibiotiques utilisés, etc).

Une revue des MIC et MBC pour 4 variétés de **Thym** portant sur 14 souches bactériennes (dont *Staphylococcus aureus*) a montrée que dans la majorité des expériences, les valeurs des MIC sont identiques aux MBC. Ceci indique que les huiles essentielles incriminées sont **bactéricides** [31].

b) *Activité de la phase gazeuse de quelques huiles essentielles*

Pibiri (2005) a réalisé une thèse portant sur l'assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Ce travail s'intéresse donc principalement aux **effets de la phase gazeuse** des huiles essentielles sur les microorganismes.

L'auteur a utilisé dans un premier temps la méthode des aromagrammes (effet de la phase liquide de l'huile) et des microatmosphères (effet de la phase gazeuse) pour déterminer le potentiel antibactérien de plusieurs huiles essentielles (cf. annexe n°3). Quelques microlitres de certaines huiles essentielles sont déposés sur un disque de papier poreux et placé dans des boîtes de culture : soit directement sur la culture (aromagrammes), soit sur le couvercle de la boîte de pétri (microatmosphère). Ces disques créent des halos d'inhibition bactéricides dans les cultures de *Staphylococcus aureus* testées.

Les résultats des aromagrammes montrent des diamètres de halos d'inhibition pour *S.aureus* variables selon l'huile utilisée : **l'Origan compact (*Origanum compactum*) est l'huile essentielle la plus active** (diamètre d'inhibition le plus large) devant le Thym à thymol (*Thymus vulgaris*) et la Sarriette des montagnes (*Satureja montana*).

En microatmosphères, **l'Origan reste l'huile essentielle la plus active** suivie de la Sarriette et du Thymol (cf. annexe n°5).

Les résultats numériques en aromagrammes et microatmosphères restent cependant proches : cela s'explique par le fait que la diffusion des composés aromatiques de l'huile se fait essentiellement par la phase gazeuse, l'huile étant peu soluble dans le milieu de culture.

La phase gazeuse des huiles essentielles a donc une activité bactéricide, mais celle-ci a été démontrée pour des petits volumes puisque les expériences ont été réalisées dans des boîtes de pétri.

Pour se rapprocher des conditions réelles et observer l'efficacité des huiles essentielles dans un plus grand volume, les expériences ont été réalisées dans un bioréacteur de 7 litres dans lequel est évaporée de l'huile essentielle de Sarriette (évaporation non forcée, sans dispositif spécial, selon la norme AFNOR NF T-72-281). 33 ml d'huile ont été évaporés dans le réacteur. L'activité bactéricide est mesurée par la capacité de l'huile essentielle à réduire le nombre de bactéries viables par rapport à un témoin non exposé aux huiles essentielles

Les résultats montrent que **790 ppm d'huile essentielle de Sarriette (*Satureja montana*) ont un effet bactéricide sur *Staphylococcus aureus*.**

Cela prouve qu'il est possible d'extrapoler ce qui a été observé au niveau d'une boîte de pétri à un plus grand volume. Cependant, on ne dispose que d'un résultat pour une huile sur un microorganisme spécifique, ce qui reste insuffisant pour formuler une conclusion plus globale concernant d'autres huiles.

B) Expérimentation en conditions réelles

Nous disposons d'une seule étude ayant étudié **l'activité antimicrobienne** des huiles en conditions réelles d'évaporation dans l'air ambiant de pièces d'habitation (bureau et chambre). Su H.-J et al. (2006) ont mis en évidence une diminution de la concentration en bactéries de l'air ambiant suite à l'évaporation d'huile essentielle d'Eucalyptus (*Eucalyptus globules*) et de Lavande (*Lavandula angustifolia*). Cette diminution a été observée seulement pendant les **30 à 60 premières minutes** d'évaporation des huiles, lorsque la concentration en composés issus des huiles essentielles est la plus élevée dans l'air. La durée d'efficacité de l'huile est donc limitée dans le temps.

L'étude ne précise malheureusement pas quelles sont les souches bactériennes étudiées, les auteurs se contentent de parler de « bactéries de l'air ambiant » (l'objectif principal de l'étude était d'étudier les COV émis lors de l'évaporation des huiles, elle est donc peu précise sur les aspects microbiologiques).

Conclusion :

Les études disponibles mettent donc en évidence un effet bactéricide des huiles essentielles sur certains microorganismes. L'activité des huiles semble être dose dépendante.

1.1.4 Activité antifongique

A) Effet inhibiteur et fongicide

L'efficacité antifongique des l'huiles essentielles est évaluée par la mesure de la MIC et MFC. De nombreuses huiles essentielles ont démontré, suite aux études scientifiques, une activité antifongique sur différentes souches.

L'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*) sous forme gazeuse présente une activité antifongique sur *Aspergillus*, *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Trichoderma* spp., *Rhizopus* spp., *Mucor* spp ... [34]

Les souches étudiées dans l'étude de Klaric et al. [34] sont des souches de terrain récoltées dans des habitations touchées par des problèmes d'humidité. L'huile essentielle de thym *Thymus vulgaris* présente une activité antifongique avec un MIC < 20 µg/l et un MFC < 40 µg/l pour la plupart des souches testées.

La plus forte valeur a été obtenue pour *Mucor* spp. sous l'action de l'huile essentielle de thym avec une MIC = 50,20 µg/ml. Cette souche apparaît donc plus résistante à l'action de l'huile essentielle.

On constate ici une sensibilité différente selon les souches étudiées :

La croissance de ***Aspergillus* spp. et *Alternaria* spp.** est inhibée par l'**huile de *Thymus vulgaris*** respectivement pour MIC = 9,85 (+/- 6,19) µg/ml et MIC = 9,40 (+/- 4,5) µg/ml alors que pour *Cladoporidium* spp. ou *Trichoderma* spp., on obtient respectivement MIC = 15,2 (+/- 8) µg/ml et MIC = 16,8 (+/- 0,00) µg/ml.

On peut remarquer ici que les écarts types donnés sont le plus souvent assez larges ; la différence de croissance selon les souches est donc à considérer avec prudence.

Des résultats similaires ont été obtenus pour une autre variété d'huile essentielle de thym : *Thymus pulegioides*, sur *Candida* spp., *Aspergillus* spp. et d'autres souches de dermatophytes [36].

L'action de l'huile a été évaluée par la mesure de la MIC et de la MLC qui montrent une activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus pulegioides* :

- Pour *Aspergillus* spp. et les autres dermatophytes testés :
0,16 < MIC < 0,32 µl/ml et 0,16 < MLC < 0,64 µl/ml
- La valeur la plus élevée est obtenue pour *Candida* spp.:
0,32 < MIC < 0,64 et 0,32 < MLC < 0,64 µl/ml

Les résultats de l'étude de *Su H.-J et al.* obtenus pour les champignons présents naturellement dans l'air intérieur sont identiques à ceux obtenus pour les bactéries. La concentration en champignons dans l'air diminue seulement pendant les 30 à 60 premières minutes d'évaporation des huiles. De même que l'effet antibactérien, **l'effet antifongique est donc limité dans le temps.**

On observe cependant une certaine variabilité des résultats ; par exemple, l'usage du TTO ne fait pas diminuer la concentration en champignons dans l'air, au contraire celle-ci a tendance à augmenter. Cela peut paraître surprenant étant donné que l'activité du TTO a été démontrée dans d'autres études. Cependant, il est difficile d'interpréter ce résultat car que les auteurs ne précisent pas le type de champignon dont il est question et on sait que l'activité d'une huile essentielle n'est pas la même sur tous les microorganismes.

B) Effet sur la sporulation

La suppression du développement des organes de fructification et de sporulation a été observée pour plusieurs souches dont *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp. ...sous l'effet de *Thymus vulgaris* [34]

Ces souches ont été mises en contact avec l'huile essentielle juste avant leur phase de sporulation. Les microorganismes ont été mis en contact avec la phase gazeuse de l'huile : une boîte contenant de l'huile essentielle versée sur un papier filtre a été placée ouverte dans l'étuve à côté des boîtes de pétri contenant les souches.

Il n'a pas été observé de développement des organes de sporulation lors de la remise en culture des souches après leur incubation avec les huiles essentielles.

Un **effet sporicide** a été également observé chez un autre groupe de souches ayant été mises en contact avec l'huile essentielle juste après leur phase de sporulation. Les spores formées n'étaient pas viables suite à l'action de la phase gazeuse de *Thymus vulgaris*. La concentration active a été déterminée à 82 µg/l.

1.1.5 Action spécifique de certains composés

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique (fonction de la nature des groupes fonctionnels portés par les composés majoritaires) mais aussi avec les proportions de ces différents composés. Il se pose la question de savoir si certains composés chimiques des huiles essentielles sont plus actifs que d'autres.

Les auteurs considèrent que les composés chimiques de plus grande efficacité et ayant la cible la plus large sont des **phénols** (thymol, carvacrol et eugenol), des **alcools** (α -terpinène, terpinen-4-ol, linalol), des **aldéhydes**, des **cétones** et plus rarement des terpènes [5].

Des espèces du genre *Thymus* (*T.vulgaris*, *T.zygis*), qui contiennent une quantité importante de phénols, présentent un large spectre d'activité sur les moisissures et champignons filamenteux [36].

A) Activité du Thymol

Le thymol est un constituant majeur des huiles essentielles de thym (*Thymus vulgaris* et *Thymus pulegioides*). Le thymol utilisé seul montre une activité significativement plus forte que l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*) sur les espèces *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Rhizopus* et *Mucor*. Globalement, on constate dans cette étude que le **thymol** a une **activité inhibitrice trois fois plus forte** que l'huile de thym prise dans son ensemble.[34]

Cette activité plus importante du thymol seul (extrait cette fois de *Thymus pulegioides*) a également été observée sur différentes souches de *Candida* ainsi que sur d'autres souches de dermatophytes telles que *M.canis*, *T.rubrum*, *M.gypseum*... [36].

Le ρ -cymène pur, ainsi que le 1-8 cineole pur extraits de l'huile de *Thymus vulgaris*, ont montré une activité antifongique moindre que le thymol pur sur *Aspergillus spp.* et *Penicillium spp.* (MIC > 4 µg/l) [34].

B) Activité du carvacrol et du 1-8 cinéole

Le carvacrol, ρ -cymène, γ -terpinène (qui sont des constituants de l'huile de *Thymus pulegioides*) ont été testés séparément sur les souches de *Candida* spp. et autres dermatophytes. Les résultats obtenus montrent une **activité antifongique plus importante du carvacrol** sur *Candida* spp., et *Aspergillus* spp. par rapport à l'action de l'huile prise dans son ensemble [36].

Conclusion sur l'activité antifongique :

- Les résultats des différentes études montrent donc un effet fongicide des huiles essentielles sur certaines souches de champignons. Cet effet semble dose dépendant.
- On constate également une spécificité d'action des huiles qui agissent de manière ciblée sur la phase de sporulation. Cette efficacité peut être liée à une période de vulnérabilité plus grande des cellules (formation de nouveaux organes), ce qui pourrait faciliter la pénétration des huiles dans les cellules.

1.2 Activité virucide

1.2.1 Méthode utilisée

L'activité virale en elle-même est déterminée par la méthode des plages (Unités Formant Plages- UFP) définie au Chapitre 2, 1.2.1.

1.2.2 Grandeurs de mesure

L'huile essentielle est susceptible d'avoir deux actions : cytotoxique pour des cellules eucaryotes et virucides.

Afin de prendre en compte ces deux activités, Koch et al [35] ont utilisé deux grandeurs: la TC_{50} et l' IC_{50} .

- TC_{50} = Toxic Concentration 50 = Concentration cytotoxique d'huile essentielle qui réduit de 50 % le nombre de cellules eucaryotes cultivées. Cette concentration a été déterminée pour chacune des huiles testées par l'étude de courbes dose-réponse.
- IC_{50} = Inhibitory Concentration 50 = Concentration en huile essentielle qui inhibe la formation de 50 % de plages de lyse par rapport à un contrôle. Les auteurs ont déterminé l' IC_{50} contre le virus HSV-2 de chacune des huiles essentielles testées.

Puis pour tenir compte de l'activité cytotoxique des huiles essentielles sur les cellules eucaryotes, les auteurs ont calculé un index de sélectivité $SI = TC_{50}/ IC_{50}$ (cf. Annexe 4) Plus cet index est élevé, plus l'activité virucide de l'huile est importante.

1.2.3 Résultats

L'étude de Koch et al. (2007) s'est intéressée à l'activité de six huiles essentielles sur le virus HSV-2 de l'herpès génital : Anis (*Illicium verum*), Hysope (*Hyssopus officinalis*), Thym (*Thymus vulgaris*), Gingembre (*Zingiber officinale*), Camomille (*Matricaria recutita*) et Bois de santal (*Santalum album*).

Les IC₅₀ varient entre 0,0015 % pour la Camomille et 0,003 % pour l'Anis. Les résultats selon l'index de spécificité classent **l'activité virucide par ordre décroissant de force : le Gingembre, suivi de la Camomille, de l'Hysope, du Thym, de l'Anis et du Bois de Santal** (les résultats complets se trouvent en annexe n°5).

Une seconde étude s'est intéressée à l'activité du TTO contre le virus de l'herpès génital (HSV-2) et le virus de l'herpès buccal, neuro-méningé et ophtalmique (HSV-1) [30]. Comme dans l'étude précédente, la méthode de test utilisée est celle des « Unités Formant Plages » ; cependant les auteurs n'utilisent pas l'index de spécificité qui permet de s'affranchir de l'activité cytotoxique de l'huile sur les cellules eucaryotes. Les résultats obtenus présentent donc un biais : l'activité virucide de l'huile risque d'être sous évaluée : on attribue une mort cellulaire au virus alors que c'est le contact direct avec l'huile qui l'a provoqué.

Il est tout de même possible de comparer les résultats obtenus pour la IC₅₀ car cette concentration a été obtenue de la même façon dans les deux études : énumération des plaques de lyse et comparaison avec un témoin. L'approximation à faire étant que l'activité cytotoxique de l'huile sur les cellules en culture soit équivalente dans les deux études. Cette comparaison reste approximative mais nous montre que les résultats obtenus sont du même ordre de grandeur (annexe n°6) et indiquent une **activité virucide** des huiles testées.

Ex : contre HSV-2 : IC₅₀ du TTO = 0.0009 %
IC₅₀ du thym = 0.0007 %.

L'analyse de ces études scientifiques montre la relative complexité de la détermination des propriétés virucides des huiles essentielles. Il faut en effet pouvoir distinguer l'action cytotoxique de l'huile sur les cellules eucaryotes de l'activité du virus à proprement parler sur ces mêmes cellules. Cela rajoute une étape à l'analyse, ce qui augmente d'autant le risque d'erreur ou d'approximation dans le résultat obtenu.

De plus, l'analyse par culture cellulaire, si elle est relativement sensible et spécifique pour des virus en bon état, a un coût élevé et est une méthode longue à mettre en œuvre. Elle n'est, de plus, pas adaptée à tous les sérotypes viraux : l'étude de l'activité des huiles essentielles sur d'autres virus devra donc faire appel à d'autres techniques de détection.

Les études dont nous disposons sont très récentes (2006 et 2007), ce qui peut expliquer qu'il n'y ait pas encore eu beaucoup de recherches sur le sujet.

1.3 Autres propriétés

Deux études ont montré une **activité antiprotozoaire** du TTO entraînant une diminution de 50 % de la croissance de *Leishmania major* (à 403 mg/ml de TTO) et *Trypanosoma bucei* (à 0,5 mg/ml de TTO) Le terpinen-4-ol contribuerait fortement à cette activité. Une concentration de TTO de 300 mg/ml permettrait également de tuer les cellules de *Trichomonas vaginalis* [30].

On dispose également de quelques données limitées concernant la toxicité du TTO sur les insectes : la phase gazeuse du TTO est active contre les *Trialeurodes vaporariorum* à des concentrations différentes contre les adultes, les nymphes ou les œufs [30].

La toxicité spécifique de certains composants du TTO à l'encontre des insectes a également été étudiée. Cette activité toxique semble due en partie à l'**activité anticholinestérase** de certains composants du TTO. Cependant, la toxicité des monoterpènes contenus dans l'huile est relativement basse comparée à celle des insecticides conventionnels.

Bien que ces différentes études montrent que le TTO entraîne une mortalité chez les insectes, les différences de méthodes de mesures entre les études ne permettent pas de conclure avec certitude de la toxicité générale de l'huile. De plus, il n'y a pas à l'heure actuelle d'études à long terme investiguant les effets chroniques de l'huile sur la survie et la reproduction des insectes [30].

1.4 Bilan des propriétés étudiées des huiles essentielles

Les résultats concordants des différentes études permettent de conclure à l'existence d'une **activité antibactérienne et antifongique** in vitro de certaines huiles essentielles. Cette activité, qui entraîne l'inhibition de la croissance, voire la destruction des cellules bactériennes, a été relativement bien étudiée par de nombreuses publications et les auteurs s'accordent sur les résultats obtenus.

Certaines huiles essentielles semblent également avoir un effet virucide même si les données disponibles à l'heure actuelle ne sont pas applicables à un nombre important de souches virales.

D'une manière générale, les résultats obtenus, que se soit au niveau antibactérien, antifongique, ou antiviral, **dépendent du type du microorganisme cible** (certains sont plus résistants que d'autres) ainsi que de la composition de l'huile essentielle testée. Une huile essentielle peut être, par exemple, biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres, ou n'avoir aucun effet [5].

Les activités in vivo (chez l'Homme), ou en conditions réelles (évaporation dans l'air ambiant ou usage de surface) ont été beaucoup moins étudiées : on ne dispose, à l'heure actuelle, que de très peu d'informations à ce sujet. D'après les quelques résultats publiés, les activités antibactériennes et antifongiques semblent non négligeables en conditions réelles (action de la phase gazeuse notamment) mais des données plus nombreuses seraient nécessaires pour fiabiliser les résultats et étudier différents cas de figure. Il est donc nécessaire d'analyser avec prudence les résultats obtenus et de ne pas faire d'extrapolation trop hâtive vers une utilisation de ces huiles in vivo.

1.5 Que sait-on des propriétés des mélanges d'huiles essentielles ?

Pour être étudiés précisément, les différents composés ont été séparés du reste de l'huile essentielle ; ce faisant, on ne peut pas tenir compte des **actions synergiques** entre les différents composés de l'huile.

La possibilité d'effets antagonistes ou synergiques des différents composants du TTO a été explorée in vitro, mais aucune conclusion n'a pu être faite sur le sujet. De même, la possibilité d'interactions du TTO avec d'autres huiles a été investiguée dans quelques études, mais là encore, aucun résultat significatif n'a pu être établi [30].

Il est à noter que cette question d'effets synergiques ou antagonistes entre les huiles peut avoir un impact sur le plan de la santé publique. On sait, par expérience, que les huiles essentielles peuvent avoir quatre types d'effets : **indifférence** (activité indépendante de la présence d'une autre huile), **additionnel** (effet égal à la somme des effets de chaque huile), **synergie** (effet significativement supérieur à la somme de chaque huile) ou **antagonisme** (l'association diminue l'activité de l'une ou l'autre des huiles) [5].

De nombreuses pratiques (aromathérapie notamment) se basent sur la connaissance empirique de ces effets et préconisent de mélanger quelques gouttes des différentes variétés d'huiles (utilisées en application cutanée, en évaporation ...). Les connaissances des effets de ces mélanges sont, à l'heure actuelle, toujours empiriques et on peut imaginer qu'il pourrait exister un risque pour la santé si des personnes prennent l'initiative de mélanger et d'utiliser des huiles dont les effets ne sont pas « compatibles ».

2 Mécanismes d'action au niveau cellulaire

Nous présenterons dans cette partie des pistes de mécanismes d'action sur lesquels s'accordent plusieurs études.

2.1 Action membranaire

2.1.1 Perméabilisation de la membrane plasmique

A) Observation d'une altération physique de la membrane bactérienne

La nature lipophile des huiles essentielles ainsi que leur composition en molécules hydrocarbonées laissent présager une action au niveau de la **membrane cellulaire** des microorganismes. En effet, les molécules lipophiles sont susceptibles de traverser les parois et membranes cellulaires. Les hydrocarbures se logent préférentiellement dans les membranes biologiques et en perturbent leurs fonctions vitales [30].

L'analyse par cytométrie en flux de cellules de *Candida* spp. (après incubation pendant 1h d'huile essentielle de *Thymus pulegioides*) et de cellules d'*Aspergillus* spp. (après incubation pendant 7h) montre des **lésions sévères** de la membrane plasmique des microorganismes (la concentration d'huile utilisée variant de 0,32 à 1,25 µl/ml). Cet effet s'avère également dose dépendant : plus la concentration en huile essentielle est forte plus le pourcentage de cellules lésées augmente. Les effets du TTO sont également visibles en microscopie électronique : on observe un **changement morphologique** des cellules de *S.aureus* mais pas de lyse complète de la cellule. *E.coli* subit quant à elle une lyse cellulaire complète [30].

L'utilisation de thymol et carvacrol seul (qui sont les deux composés majoritaires de l'huile de *Thymus pugelioides*) a montré les mêmes résultats que l'usage d'huile complète sur *Candida* spp. et *Aspergillus* spp., ce qui peut laisser penser que ces deux composés sont les plus actifs parmi les différents constituants de l'huile [36].

B) Pertes ioniques

L'altération de la membrane cellulaire et notamment de sa perméabilité peut entraîner des **pertes anormales d'ions**, voire de macromolécules. Ces dérèglements des échanges transmembranaires ont été observés dans plusieurs études.

Le traitement de *Staphylococcus aureus* par du TTO entraîne une perte d'ions potassium par la bactérie ainsi qu'une inhibition de sa respiration. Le traitement de cette même bactérie avec du terpinen-4-ol, α -terpinéol et 1,8-cineole (composés majoritaires du TTO), s'il ne cause pas de lyse complète de la cellule, entraîne une perte de molécules caractérisée par une absorption de la lumière à 260 nm. [29].

De même, chez *E.coli*, on observe des effets délétères sur l'homéostasie en potassium ainsi que sur la respiration glucose dépendante. Ces résultats laissent supposer un effet néfaste du TTO sur l'intégrité ainsi que sur les fonctions membranaires des microorganismes.

D'autres études supposent une action des huiles essentielles au niveau de la membrane mitochondriale : diminution du potentiel membranaire affectant ensuite les échanges de Ca^{2+} et H^+ (d'où une modification du gradient de pH) [29].

2.1.2 Modification du contenu en ergostérol

L'ergostérol est le stérol majoritaire qui constitue la membrane cellulaire des microorganismes ; il participe donc au maintien de l'intégrité cellulaire. Après incubation de *C.albicans* avec une concentration de *T.pulegioides* égale à la MIC (0,64 $\mu\text{l/ml}$) et à la moitié de la MIC (0,32 $\mu\text{l/ml}$), on observe une **réduction du contenu en ergostérol** de 80 à 100 % [36]. Ces résultats indiquent bien une action négative de *T.pulegioides* sur la synthèse en ergostérol de *C.albicans*.

Ces résultats rejoignent l'action des produits antifongiques traditionnels qui inhibent la croissance cellulaire en interrompant les voies normales de **biosynthèse de stérols**, ce qui conduit à une réduction de la synthèse d'ergostérol [36].

2.1.3 Action sur l'enveloppe virale

Kocha C et al se sont interrogés sur les mécanismes d'action des huiles essentielles sur le virus de l'herpès HSV-2 (virus enveloppé).

Des virus, ainsi que des cellules hôtes de culture, ont été incubés avec des huiles essentielles (Anis, Hysope, Thym, Gingembre, Camomille et Bois de Santal).

Les cellules ont été incubées avant l'infection par le virus avec des concentrations non cytotoxiques d'huiles essentielles. De même, les virus ont été incubés avec des concentrations non cytotoxiques d'huiles essentielles : soit avant et pendant la phase d'adsorption, soit après la pénétration du virus dans les cellules hôte.

Les différents résultats obtenus montrent une réduction du pouvoir infectant des virus lorsque l'huile est ajoutée spécifiquement lors de la phase d'adsorption du virus sur les cellules hôtes [35].

Ces résultats suggèrent donc que l'huile essentielle pourrait agir principalement lors de la pénétration du virus dans la cellule en interférant avec les **mécanismes d'adsorption membranaire**.

Des tests réalisés avec du TTO donnent des résultats concordants [30]. L'application de TTO à différents stades du cycle viral montre un effet maximal sur les virus libres (avant l'infection des cellules). Une légère diminution dans la numération des plages de lyse est également observée lorsque le TTO est ajouté pendant la **période d'adsorption**. Le prétraitement des cellules hôtes ou le traitement après la pénétration dans les cellules ne modifie pas l'activité virale.

L'ensemble des résultats obtenus concorde vers l'hypothèse d'une action des huiles essentielles sur l'enveloppe virale. La période précise d'action n'est pas totalement définie car l'incubation préalable des virus libres, de même que l'ajout d'huile pendant la période d'adsorption elle-même, réduisent le nombre de plages de lyse. On ne sait donc pas si l'huile agit au préalable sur l'enveloppe virale ou spécifiquement au moment de l'adsorption.

L'effet inhibiteur de l'huile pourrait être dû à l'interaction de l'huile essentielle avec les **protéines virales de la capsid**e nécessaires à l'adsorption du virus sur la cellule cible ou à des dommages de l'enveloppe virale ce qui empêcherait par la suite le virus d'infecter les cellules. Peu d'études ont étudié précisément le phénomène à ce jour, ce qui ne permet pas de donner des résultats significatifs pour les huiles essentielles.

Il est à noter que les études présentées ont été menées sur des virus enveloppés ; nous ne disposons donc pas d'information sur l'action des huiles essentielles sur les virus nus.

Conclusion :

D'après l'ensemble de ces résultats, l'action des huiles essentielles semble donc se concentrer sur les membranes bactériennes provoquant une perte d'intégrité et une altération des fonctions vitales de la cellule.

Pour les virus, l'enveloppe virale au moment de l'adsorption serait la cible privilégiée.

3 Discussion

3.1 Difficultés de comparaison des résultats des différentes études

L'action d'une huile essentielle est dépendante de la nature de l'huile et du microorganisme sur lequel elle agit. Afin d'obtenir une vision globale de l'activité des huiles essentielles sur un nombre significatif de microorganismes, il est nécessaire de multiplier les expérimentations (différentes huiles sur différents microorganismes). La quantité de résultats obtenus devient donc vite importante. Cependant la comparaison précise de toutes ces données est mal aisée pour plusieurs raisons :

3.1.1 Variété des méthodes utilisées

L'insolubilité des huiles essentielles dans l'eau, et plus généralement dans les milieux utilisés en microbiologie, explique la **variété des techniques** employées. Nous avons étudié ici deux grands types de méthode pour les bactéries et champignons : les méthodes par ajout à la culture d'une concentration variable d'huile essentielle, qui permettent d'obtenir des MIC et MIB, et les méthodes par chromatogrammes ou atmosphères modifiées, qui donnent des résultats sous forme de diamètre d'inhibition.

L'analyse fine de ces méthodes montre des variations de protocole : ajout ou non de surfactant pour solubiliser l'huile, dilution ou non de l'huile dans de l'éthanol, utilisation de différents milieux de culture, durées d'incubations variables L'emploi de ces différentes méthodes peut donc induire des **biais dans la comparaison** entre eux des résultats des différentes études.

La méthode d'évaluation de l'activité virucide est très particulière et constitue un cas à part dont les limites ont été discutées précédemment.

3.1.2 Expression des résultats

Les notions de MIC, MFC et MBC ne sont pas définies de façon précise et universelle, les auteurs peuvent exprimer les résultats dans différentes unités. Par exemple, on trouve la MIC exprimée en % (vol/vol) ou en $\mu\text{g/ml}$ ou encore en $\mu\text{l/ml}$ ce qui rend difficile la comparaison des résultats entre eux. De plus, les résultats des études par chromatogramme ou microatmosphère sont exprimés en diamètre d'inhibition, qu'on ne peut pas comparer à une MIC ou MBC.

3.1.3 Variation de composition des huiles

Comme nous l'avons vu précédemment, il est possible de distinguer différents **chénotypes** au sein d'une même famille botanique de plantes.

La composition exacte des huiles étudiées n'est pas toujours précisée dans les articles et on peut supposer que les différences de composition induites par la zone de provenance de l'huile peuvent influencer sur son activité.

Cependant, concernant l'huile de TTO, dont la composition doit respecter des standards australiens, on distingue six chénotypes (1 selon la composition en terpinen-4-ol, 1 selon celle en terpinolène, et 4 selon celle en 1,8-cineole). Malgré ces variabilités de composition, **aucune variation de bioactivité**, que ce soit in vitro ou in vivo, n'a été observée jusqu'à présent. Si des études ont supposé l'existence d'une différence entre les chénotypes d'huile, aucun résultat significatif n'a pu être mis en évidence [30].

Malgré le manque de résultats fiables concernant cette question, il semble important de garder à l'esprit ces possibles différences de composition et donc d'activité des huiles essentielles.

3.2 Possibilités d'application des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont démontré in vitro et pour quelques études en conditions réelles des propriétés bactéricides et antifongiques. Quelles pourraient être les utilisations pratiques de ces différentes activités ? Sous quelles conditions ?

3.2.1 Désinfection des surfaces

Etant donné les propriétés antibactériennes et antifongiques, leur utilisation en tant que « désinfectant » de surface semble envisageable. Les huiles essentielles étant **actives à très faible concentration**, l'huile ne pourra être utilisée pure et devra donc être diluée de façon optimale dans le produit. L'objectif sera d'avoir une concentration suffisante pour être efficace sur les microorganismes sans être trop élevée, pour limiter les risques pour la personne utilisatrice du produit (possibilité de réactions allergiques, toxicité... ?). Se pose également la question du rôle des éventuels autres éléments constitutifs de la solution désinfectante : les différents **additifs** et composés chimiques sont-ils susceptibles d'interagir avec l'huile essentielle ? Peuvent-ils limiter l'activité de l'huile essentielle ? Toutes ces questions nécessitent donc la réalisation d'études plus approfondies prenant en compte la globalité du produit et ses effets testés en conditions réelles d'utilisation. De même une comparaison avec l'action des différents désinfectants utilisés actuellement serait intéressante.

3.2.2 Désinfection de l'air ambiant

Deux études décrites précédemment [37] et [5] montrent une activité bactéricide et fongicide de certaines huiles essentielles sur les microorganismes de l'air ambiant. Ces résultats suggèrent une possible utilisation de ces propriétés pour traiter l'air ambiant (dans les hôpitaux par exemple). Il faut cependant considérer ces données avec prudence car ce sont des résultats obtenus en laboratoire (l'étude de Pibiri (2005) notamment était faite dans un bioréacteur de 7 litres). L'application en conditions réelles soulève de nombreuses questions : quelle concentration d'huile doit-on utiliser pour qu'elle soit efficace sans risquer d'incommoder les personnes présentes dans le bâtiment ? Y a-t-il un risque pour les **personnes allergiques** ? Existe-t-il des interactions possibles entre l'huile essentielle et d'autres composés de l'air ambiant ? De plus, l'étude de *Su H.-J. et al.* montre que l'**efficacité** fongicide et bactéricide est **limitée dans le temps** : on constate une diminution de la concentration en microorganismes de l'air seulement pendant les 30 à 60 premières minutes d'utilisation.

Les dispositifs d'évaporation d'huile essentielle sont également susceptibles d'entraîner la **formation de COV** et autres composés potentiellement toxiques pour l'Homme (cf. chapitre 3). Il est donc nécessaire d'obtenir plus de données sur ces différents aspects avant de recommander tout usage d'huile essentielle dans ce sens.

3.2.3 Traitement des infections bactériennes et virales

Les huiles essentielles pourraient également être utilisées pour le traitement des infections chez l'Homme.

Nous disposons de quelques données sur le sujet. Une étude clinique a notamment étudié les effets du TTO sur le **traitement de l'acné** en comparaison avec le traitement classique par benzoyl peroxyde (BP). L'étude a montré que les deux traitements réduisent le nombre de lésions inflammées, même si le BP est significativement plus actif que le TTO. [30].

Une autre étude sur le **traitement des gingivites** compare l'utilisation d'un gel de TTO à 2,5 % à celle d'un gel de chlorhexidine à 0,2 % (et d'un gel placebo). Le groupe traité au TTO a montré une réduction significative de l'occurrence des gingivites. Le TTO semble donc permettre une réduction du nombre de bactéries orales.

Il est à noter que bon nombre des utilisations actuelles des huiles essentielles n'ont fait l'objet d'aucune étude clinique poussée. Si certaines utilisations des huiles essentielles pour le traitement des affections cutanées ou encore des infections des voies respiratoires peuvent éventuellement s'interpréter grâce aux propriétés antifongiques, antibactériennes et virucides que nous avons évoquées précédemment, le traitement du stress ou encore des problèmes musculaires ne reposent à ce jour sur aucune base scientifique fiable.

Pour conclure, les huiles essentielles présentent donc des **propriétés intéressantes** (propriétés « désinfectantes ») qui pourraient être utilisées dans la vie courante, sous réserve **d'études supplémentaires**.

Les données concernant une application à l'Homme restent ponctuelles, il serait donc intéressant de pousser les recherches dans ce sens.

CHAPITRE 3 : Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont dans certains cas provoqué des réactions indésirables : l'effet convulsif des huiles essentielles de camphre et d'eucalyptus chez les jeunes enfants est ainsi connu depuis longtemps. Des dangers existent et certaines associations de consommateurs réclament désormais une plus grande transparence sur le contenu des produits et aussi sur leur toxicité. C'est dans ce but que des travaux scientifiques sur la toxicité sont aujourd'hui entrepris.

En raison de la multiplicité des applications des huiles essentielles, leur toxicité et leurs dangers vont donc être étudiés selon les trois voies d'exposition : inhalation, ingestion et contact. En raison de la forte volatilité des huiles essentielles et de leur importante concentration en produit actif, l'inhalation est la première voie d'exposition présentée.

1 Inhalation

Les préoccupations actuelles en matière de qualité de l'air intérieur amènent à un besoin de connaissance accrue, tant les polluants présents sont nombreux et leurs effets méconnus.

Si la toxicité des principaux polluants de l'air intérieur commence à être mieux connue et à faire l'objet de mesures de gestion du risque qu'elles occasionnent. Peu d'études en revanche ont à ce jour investigué la formation de composés volatils susceptibles d'être inhalés suite à l'évaporation d'huiles essentielles. Cependant, deux sortes de composés sont d'ores et déjà identifiés : primaires, c'est à dire tout ce qui regroupe les composés produits par la combustion de l'huile essentielle ; et secondaires, produits par recombinaison entre les produits de combustion et les autres composés présents initialement dans l'air intérieur [37]. Cependant, la toxicité des composés actifs des huiles n'est pas étudiée dans le détail. C'est pourquoi les données de toxicité présentées ici concernent uniquement les polluants de l'air identifiés dans deux études ([37] et [38]).

Ces polluants sont multiples : les COV, le monoxyde de carbone (CO), le dioxyde de carbone (CO₂) et les particules de poussière de diamètre inférieur à 10 microns (PM₁₀) ou de diamètre inférieur à 2,5 microns (PM_{2,5}). Ces polluants sont présents classiquement dans l'air intérieur. Les composés présentés dans la suite de ce document ne sont donc pas représentatifs de l'ensemble des composés volatils susceptibles d'être émis par les huiles essentielles, ni de leur spécificité.

L'étude de Su (2007) traite uniquement des huiles essentielles d'eucalyptus (*Eucalyptus globules*), d'arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*) et de lavande (*Lavandula angustifolis*) ; seuls les résultats obtenus pour ces huiles seront donc présentés. Néanmoins, il est à noter que leur utilisation est largement répandue, ces produits faisant partie des huiles les plus consommées dans les pays occidentaux (Etats-Unis, Europe et Australie).

1.1 Formation de composés primaires

Les principaux polluants primaires rencontrés dans l'étude [37] sont ceux résultant directement du processus de combustion, c'est à dire les COV_T, le monoxyde et le dioxyde de carbone, ainsi que les particules dont le diamètre est inférieur à 10 microns (PM₁₀). Par ailleurs, une mesure est faite des COV indicateurs produits par la combustion des composés actifs des huiles (d-limonène, p-cymène, eucalyptol, linalol et 4-terpinéol).

1.1.1 Type de polluants.

A) COV

Les composés organiques volatils (COV) regroupent une multitude de substances qui peuvent être d'origine biogénique (origine naturelle) ou anthropogénique (origine humaine). Ce terme désigne l'ensemble des polluants atmosphériques composés d'un élément de base, le carbone, et d'autres éléments tels l'hydrogène, les halogènes, l'oxygène, le soufre, ... à l'exception du monoxyde de carbone et des carbonates, et ayant une pression de vapeur supérieure à 0.01 kPa à 293.15 K (20°C) [39]. On dénombre plusieurs centaines de COV qui appartiennent à différentes familles chimiques : terpènes, alcools, aldéhydes, cétones, esters, glycols et éthers de glycol, hydrocarbures halogénés, aliphatiques et aromatiques, ...

La volatilité des COV leur confère l'aptitude de se propager plus ou moins loin de leur lieu d'émission, entraînant ainsi des impacts directs et indirects sur l'Homme et son environnement. A l'intérieur des bâtiments, les COV peuvent se fixer sur d'autres matériaux, ce qui ralentit leur élimination par la ventilation. Ils peuvent aussi réagir entre eux ou avec d'autres polluants (ozone, UV) pour former de nouveaux composants plus ou moins toxiques (aérosols organiques secondaires). L'étude de (Su, 2007) ne précise pas la nature des COV émis par les huiles essentielles. Ceux-ci sont regroupés sous le vocable de COV totaux. C'est pourquoi ce terme sera employé dans la suite de ce document. Cependant, 5 COV indicateurs produits par combustion des composés actifs des huiles sont mesurés (linalol, d-limonène, 4-terpinéol, Eucalyptol et p-cymène) [37].

B) Monoxyde de carbone [40]

Dans des conditions ordinaires de température et de pression, le monoxyde de carbone (CO) est un gaz incolore, inodore et de densité voisine de celle de l'air. Les principales sources d'émission de CO sont liées aux activités humaines, dès lors qu'il existe une combustion incomplète de matières carbonées. De grandes quantités de CO peuvent être émises en environnement intérieur par des appareils de chauffage et de production d'eau chaude vétustes ou défectueux. Le CO est émis par le processus de combustion des huiles essentielles.

C) Dioxyde de carbone [41]

A température et pression ordinaires, le dioxyde de carbone est un gaz incolore et inodore, plus lourd que l'air, ininflammable et non conducteur d'électricité. Il est produit lui aussi lors des processus de combustion. La production industrielle et les émissions des automobiles en sont les principales sources. Dans l'environnement intérieur, la principale source après les combustions est l'Homme. L'émission de CO dans l'air est lui aussi la conséquence du processus de combustion de l'huile essentielle.

D) Particules de poussières (PM₁₀).

Les particules en suspension d'un diamètre inférieur à 10 microns (PM₁₀) se composent d'un mélange complexe de substances organiques et minérales, sous forme solide et liquide. Il faut aussi remarquer qu'une grande partie des PM₁₀ est produite par les industries et la circulation automobile, et qu'elle vient s'ajouter à la pollution de l'air intérieur [42]. La concentration en PM₁₀ est liée à la manière dont la combustion est faite. Dans le cas des huiles essentielles, de nombreuses particules sont ainsi émises, leur concentration variant selon le mode de diffusion (bougie, diffuseur, ...).

1.1.2 Caractérisation des dangers liés à ces composés.

Au vu des concentrations faibles des polluants produits par combustion d'huiles essentielles, de l'utilisation fréquente et parfois de manière multiple (mélange) des huiles et de l'absence de données sur des intoxications aiguës par inhalation, seuls les dangers liés à une exposition aux polluants primaires identifiés précédemment seront présentés.

A) Composés Organiques Volatils (COV).

Il faut remarquer que le terme de COV regroupe un très grand nombre de substances différentes dont la dangerosité et les risques sont très hétérogènes et ne sont connus seulement que pour certaines d'entre elles (benzène, hydrocarbures halogénés par exemple). Les effets des COV sont le plus souvent mal connus : on attribue toutefois à certains composés la faculté de causer des irritations de la peau, des muqueuses et du système pulmonaire, mais aussi des nausées, des maux de tête, des vomissements, voire des cancers, des altérations de la fertilité ainsi que des troubles du développement de l'embryon comme du futur adulte. De nombreux travaux scientifiques sont en cours pour mesurer l'exposition des populations et tenter de comprendre leur impact sur la santé.

Dans le cadre d'études de qualité de l'air intérieur [43], les valeurs de référence suivantes sont proposées :

- une exposition à moins de 200 $\mu\text{g.m}^{-3}$ de COV_T (COV totaux) serait sans effet sur la santé : les effets associés aux COV_T dans l'air intérieur étant principalement reliés à la perception des odeurs et à l'irritation des voies respiratoires,
- une exposition entre 200 et 3 000 $\mu\text{g.m}^{-3}$ de COV_T pourrait entraîner des irritations et de l'inconfort en présence d'autres expositions,
- une exposition à plus de 3 000 $\mu\text{g.m}^{-3}$ de COV_T semblerait causer de l'inconfort et possiblement certains effets sur la santé.

Ces valeurs sont données à titre indicatif, les dangers liés aux COV_T sont peu caractérisés, les effets sur la santé étant dépendants du type de composé rencontré et de sa part dans les COV totaux.

Par ailleurs, les composés volatils émis par les substances des huiles essentielles ne sont pas, excepté pour le d-limonène (présent dans de nombreuses huiles essentielles d'agrumes), des substances dont les dangers par inhalation ont été caractérisés (consultation des bases de données (INERIS, INRS, US EPA)). D'après la fiche toxicologique publiée par l'INRS [44], le d-limonène a une toxicité aiguë par inhalation chez l'Homme. L'inhalation de ce composé peut causer des irritations des voies aérodigestives et à forte concentration, des céphalées, des nausées, des vomissements, voire des comas. Par ailleurs, l'exposition de volontaires pendant 2 heures à une concentration de 450 mg.m^{-3} (80 ppm) n'a provoqué aucun trouble neurologique ni irritation. Les vapeurs sont irritantes pour les yeux, la survenue de l'effet se produisant chez des volontaires pour des concentrations entre 1 700 et 3 400 mg.m^{-3} (300 et 600 ppm). Aucun effet cancérigène n'a été identifié.

B) Monoxyde de carbone

a) Effets aigus

Les premiers symptômes observés à de faibles concentrations sont une hypotension, une hyperthermie et une tachycardie réflexe. Au niveau neurologique, les premiers symptômes sont des nausées, des vomissements, puis des céphalées. A un degré supérieur, on observe une asthénie, des vertiges, des troubles de l'humeur (angoisse, agitations) et du comportement (confusions). On observe parfois un état pseudo-démontiel (aphasie, apraxie, agnosie). En cas d'intoxication grave, une paralysie des membres peut survenir [45].

b) Effets chroniques

Il n'existe pas de données disponibles sur l'existence d'effets chroniques suite à une exposition de longue durée. Aucune donnée ne permet en l'état actuel des connaissances de conclure que le CO soit une substance cancérigène. [45]

C) Dioxyde de carbone

a) *Effets aigus*

A forte concentration, le dioxyde de carbone est principalement un gaz asphyxiant qui peut entraîner la mort.

La symptomatologie est liée aux cas d'intoxications rapportés :

Figure 5 : Effets aigus observés en fonction de la fraction inspirée de CO₂ (en %).

[CO ₂] dans l'air	Effets
> 2 % (20000 ppm)	Augmentation de l'amplitude respiratoire
> 4 %	Accélération de la fréquence respiratoire, la respiration devient pénible chez certaines personnes
> 5 %	Effets secondaires peu spécifiques : vertiges, céphalées, augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle.
> 10 %	Troubles visuels, tremblements, hypersudation, hypertension artérielle et perte de connaissance
> 20 %	Troubles graves : dépression respiratoire, convulsions et mort

Source : fiche toxicologique InRS (2005) [41]

b) *Effets chroniques*

Les données existantes concernent des expositions expérimentales de volontaires à des concentrations assez élevées.

Figure 6 : Effets chroniques observés en fonction de la fraction inspirée de CO₂ (en %).

[CO ₂] dans l'air	Effets
< 1 % (10 000 ppm)	Pas de variation significative des paramètres biologiques
> 1 %	Légère augmentation de la pression en CO ₂ artérielle (début d'hyperventilation)
> 2 %	Légère augmentation de la pression en CO ₂ artérielle, faible diminution du pH artériel
> 3 %	Hyperventilation marquée et baisse du pH artériel
> 4 %	Apparition de céphalées et de gastralgies au repos, d'asthénie et d'extrasystoles à l'effort

Source : fiche toxicologique InRS (2005) [41]

Il n'y a pas de données existantes concernant un effet cancérogène ou toxique pour la reproduction.

D) Particules de poussière (PM₁₀)

D'après les directives concernant la qualité de l'air pour la protection de la santé publique mises à jour en 2006 par l'OMS, l'exposition chronique aux PM₁₀ contribue à augmenter le risque de contracter des maladies cardiovasculaires et pulmonaires, ainsi que des cancers pulmonaires [42].

1.1.3 Valeurs guides

Les résultats trouvés dans la littérature sont synthétisés en annexe 7.

A) COV

L'OQAI (Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur) a publié en 2007 son rapport sur la qualité de l'air intérieur des logements français [46]. Ce rapport fait la synthèse des résultats de sa campagne de mesure des polluants réalisée sur la période 2003-2005 dans 567 résidences principales françaises. Les prélèvements sont réalisés à hauteur des voies respiratoires (1.5 m). Les résultats ont ensuite été extrapolés à l'ensemble des logements français. Il est à remarquer que les seules substances présentes dans les huiles essentielles faisant partie de la liste de polluants initialement retenue (a-pinène et d-limonène) n'ont finalement pas été conservées pour la campagne de mesure.

Cette étude révèle qu'une majorité des logements français ont des teneurs en COV dans l'air intérieur supérieures à celles trouvées dans l'air extérieur.

B) Monoxyde de carbone.

Des **valeurs guides** ont été proposées par l'**OMS** en 2000 pour la concentration en monoxyde de carbone dans l'air intérieur : 26 ppm pour une durée d'exposition d'une heure, 9 ppm pour une durée d'exposition de 8 heures [48].

L'**AFSSET** propose aussi les valeurs guides suivantes : 30 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (27 ppm) pour une exposition d'1h et 10 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (9 ppm) pour une exposition de 8h. Cette valeur est donnée à titre indicatif. [41]

L'**enquête nationale logements** donne des concentrations médianes des moyennes glissantes dans les pièces principales (séjour, chambre, salon, bureau, studio et cuisine américaine) toutes égales à 0 ppm quelque soit la durée d'exposition (15 minutes, 30 minutes, 1 heure et 8 heures). Ces pièces sont celles où des huiles essentielles sont susceptibles d'être utilisées, c'est pourquoi les valeurs trouvées dans les garages et annexes des habitations ne sont pas citées dans ce document. Les niveaux maxima des moyennes glissantes sont de 91 ppm pour 30 minutes d'exposition (dans 0.1 % à 1.2 % des logements), 53 ppm pour 1 heure (0.6 à 3.2 % des logements) et 43 ppm pour 8 heures (2 à 5.6 % des logements). Le bruit de fond en **CO dans l'air intérieur** apparaît donc comme déjà **très supérieur aux valeurs limites** préconisées par l'OMS dans certains logements français.

C) Dioxyde de carbone.

A titre indicatif, pour une exposition régulière au CO_2 , les valeurs guides communément retenues pour une exposition professionnelle sont égales à 5000 ppm. L'OSHA préconise une valeur guide de 5000 ppm pour une durée d'exposition de 8h [49]. L'InRS préconise une valeur guide de 1000 ppm dans les bâtiments tertiaires.

D'après les résultats de la campagne nationale logements menée par l'OQAI [39], les valeurs médianes de concentration en CO₂ dans les logements français (mesures faites dans les chambres) sont de 756 ppm alors que 25 % des logements présentent des valeurs de concentration supérieures à 972 ppm (moyennes sur une semaine de prélèvement). Le bruit de fond en CO₂ semble être lui aussi, dans de nombreux cas, supérieur aux valeurs guides disponibles. Cependant, ces données ne sont pas directement comparables au vu de l'absence de VGAI pour le CO₂ dans les logements.

D) Particules de poussière (PM₁₀)

En ce qui concerne les PM₁₀, deux valeurs guides préconisées par l'OMS (Directives concernant la qualité de l'air) sont disponibles : 50 µg.m⁻³ (moyenne sur 24 heures) et 20 µg/m³ (moyenne annuelle) [42]. Ces valeurs sont données à titre indicatif car elles concernent l'air extérieur. Par ailleurs, ces polluants font partie des substances pour lesquelles l'élaboration de valeurs guides de qualité d'air intérieur est jugée prioritaire par l'AFSSET. D'après l'enquête de l'OQAI sur la qualité de l'air intérieur des logements [46], 50 % des logements français (séjour) présentent des teneurs en particules supérieures à 31,3 µg.m³ (valeurs calculées sur une semaine). Par ailleurs, 25 % des logements ont des concentrations supérieures à 56,7 µg.m⁻³ [46].

1.1.4 Présentation des résultats de l'étude de Su (2006)

Les essais réalisés par (Su, 2006) [37] sont réalisés en conditions réelles dans deux types de pièces différentes : une chambre de 21,6 m³ et un bureau de 28,2 m³. Les taux de renouvellement de l'air sont de 1.8 h⁻¹ pour la chambre et de 1.3 h⁻¹ pour le bureau. Une quantité de 300 µl d'huile essentielle est diluée dans 50 ml d'eau (soit une concentration de 0,6 % en huile essentielle) puis évaporée à l'aide d'un évaporateur à bougie. Des échantillons d'air sont prélevés 30 minutes avant le début de l'évaporation afin de connaître le bruit de fond en polluants. Les valeurs de concentration obtenues sont calculées sur une période d'évaporation de 3 heures. Chaque test est répété trois fois, pour chaque type d'huile et chaque pièce d'habitation. Les mesures de COV totaux, CO, CO₂ et de PM₁₀ sont réalisées grâce à des analyseurs automatiques et celles des COV indicateurs grâce à des tubes contenant des adsorbants spécifiques (Tenax TA et Carboxène). Les trois huiles (eucalyptus, TTO et lavande) sont testées séparément.

Des concentrations moyennes significativement plus élevées en CO et en CO₂ lors de l'évaporation des huiles sont trouvées dans l'étude (p value < 0.01). Le niveau moyen de CO au cours de l'évaporation est de 1,48 ppm, contre 0,47 ppm avant les essais (soit environ 210 % d'augmentation), celui du CO₂ de 543,21 ppm contre 435,47 ppm (soit environ 20 % d'augmentation).

Les émissions de COV_T apparaissent maximales durant les vingt premières minutes d'évaporation pour l'eucalyptus et l'arbre à thé, tandis que pour la lavande, les émissions croissent plus lentement pour atteindre une valeur stable à partir de 30 à 45 minutes. Le niveau moyen de COV_T durant l'évaporation des huiles est de 0,74 ppm contre 0,48 ppm avant les essais (p value < 0.01) soit environ 35 % d'augmentation.

Par ailleurs, des émissions élevées de COV indicateurs sont observées. Les valeurs données correspondent aux minimum et maximum obtenus :

- linalol : 496,04 à 986,9 $\mu\text{g.m}^{-3}$
- eucalyptol : 203,1 à 1540,6 $\mu\text{g.m}^{-3}$
- d-limonène : 2,4 à 69,3 $\mu\text{g.m}^{-3}$
- γ -cymène : 72,25 à 173,23 $\mu\text{g.m}^{-3}$
- 4-terpinéol : 467,7 à 954,2 $\mu\text{g.m}^{-3}$

Il faut remarquer que ces composés appartiennent tous à la famille des terpènes.

En revanche, aucune augmentation statistiquement significative de PM₁₀ n'est observée dans cette étude : 2,45 $\mu\text{g.m}^{-3}$ contre 2,42 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (p -value = 0,05).

On remarque que les concentrations émises de polluants peuvent varier de manière importante d'un test à un autre. Les auteurs suggèrent que ces variations sont liées à celles de la température de combustion de la bougie.

Les augmentations des teneurs en monoxyde et dioxyde de carbone ainsi qu'en COV_T dues aux huiles essentielles sont statistiquement significatives. Cependant, les concentrations obtenues dans l'étude de (Su, 2006) restent très en deçà des valeurs guides préconisées.

Il faut aussi remarquer que ces valeurs de concentrations sont inférieures aux valeurs moyennes trouvées par l'OQAI dans l'air intérieur des logements français [46].

Il faut cependant nuancer la portée de tels résultats. En effet, cette étude ayant été réalisée à Taiwan, les paramètres de confort (température, hygrométrie, bruit de fond en polluants) sont très probablement différents de ceux rencontrés dans les logements français. Par ailleurs, les taux de renouvellement de l'air intérieur ne sont pas encore précisément connus dans les logements français (rapport OQAI [46]). Ces résultats ne sont donc pas directement transposables mais ils permettent cependant de conclure que les huiles essentielles contribuent à la production de polluants dans l'air intérieur.

1.2 Formation de composés secondaires.

Peu d'études renseignent sur la formation de composés secondaires. Cependant, les types de composés formés commencent à être bien identifiés. Il n'existe pas de données fiables sur les concentrations de polluants secondaires produits lors de l'utilisation d'huiles essentielles. Il faut remarquer que les huiles essentielles sont dans leur ensemble

composées de terpènes [5]. C'est pourquoi la recherche sur la formation de composés secondaires s'est intéressée principalement aux réactions d'oxydation par l'ozone de ces composés.

1.2.1 Type de polluants.

Les produits d'oxydation du terpène et de l'ozone sont connus pour être les principales sources de polluants secondaires lors de l'utilisation d'huiles essentielles. Les deux types de polluants ainsi caractérisés et étudiés sont le formaldéhyde et les particules de diamètre inférieur à 2,5 microns.

A) Formaldéhyde.

Le formaldéhyde, qui est apparenté à un COV mais non classé comme tel, est le principal produit dérivé de la réaction entre des oxydants (ozone, radicaux hydroxyles et nitrates) et les terpènes, ces derniers réagissant facilement avec ce type d'oxydants [37]. L'AFSSET identifie comme source de production les émissions issues des phénomènes de combustion (bougies, encens, tabagisme), les meubles et les produits d'usage courants tels que peintures, colles, détergents, désodorisants ... Seule l'étude de (Su, 2006) fait mention de la formation de ce composé lors de la combustion d'huiles essentielles, sans toutefois en mesurer les concentrations dans l'air après leur évaporation.

B) Aérosols Organiques Secondaires (PM_{2,5})

Les huiles essentielles ont été identifiées comme produisant de grandes quantités de composés organiques volatils, en particulier de terpènes et de d-limonène. Ces composés ont un rôle important dans la formation, après oxydation par l'ozone, d'aérosols organiques secondaires en phase gazeuse et particulaire. Les AOS sont principalement des particules très fines dont le diamètre est souvent inférieur au micron. A titre d'exemple, l'eucalyptol, le linalol, le limonène, le α -cymène, le α -terpinène et le 4-terpinéol, qui appartiennent tous à la famille des terpènes et sont les principaux constituants des huiles étudiées par (Su, 2006), peuvent facilement interagir avec les oxydants (ozone, radicaux hydroxyles et nitrates). Les réactions ozone - terpènes dans l'air intérieur sont identifiées comme étant contributives à la production de PM_{2,5} (Su, 2006). De plus, la présence commune d'ozone dans l'air intérieur couplée avec un usage tout aussi fréquent de produits à base de terpènes est susceptible de produire des aérosols secondaires dans les habitations [38].

1.2.2 Caractérisation des dangers liés à ces composés

A) Formaldéhyde [50]

a) *Effets aigus*

Le formaldéhyde présent dans l'air est très irritant pour le nez, les yeux et la gorge à de très faibles concentrations (de l'ordre de 0,2 à 1,6ppm (0,25 à 2 mg.m⁻³)) et pendant une exposition de quelques minutes à 5 heures. Il entraîne également une congestion nasale, à laquelle peut être associée des éternuements et des démangeaisons. En ce qui concerne les effets du formaldéhyde sur la fonction respiratoire, les résultats sont contradictoires.

b) *Effets chroniques*

De nombreuses études réalisées sur la population générale exposée au formaldéhyde dans l'air intérieur des logements ont pu confirmer son pouvoir irritant au niveau des voies aériennes supérieures. Pour des expositions moyennes entre 0,1 et 1 ppm (0,125 et 1,25 mg.m⁻³), l'irritation des yeux, du nez et de la gorge est ressentie par 75 % des adultes. Des effets sur la capacité respiratoire, des phénomènes de sensibilisation et des pathologies asthmatiques ont été mis en évidence, particulièrement chez des enfants.

c) *Effets cancérigènes*

Par ailleurs, un lien a été établi chez l'Homme entre l'exposition au formaldéhyde et le cancer du nasopharynx et, dans une moindre mesure, à celui des cavités nasales.

d) *Effets suspectés*

D'autres effets sont suspectés tels que des effets neurologiques, reprotoxiques ainsi que l'apparition de leucémies. Il faut remarquer que ces résultats ont été obtenus pour des expositions professionnelles.

Ce composé a été classé en classe 1 (cancérigène certain) par le CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer) en 2006 et B1 (cancérigène probable pour l'Homme) par l'EPA en 1991.

B) Aérosols Organiques Secondaires (PM_{2,5})

Les aérosols organiques secondaires (AOS) sont principalement des particules ultra-fines (PM_{2,5}). Ces particules sont plus dangereuses que les PM₁₀ car, après inhalation, elles peuvent atteindre la région alvéolaire et altérer les échanges gazeux à l'intérieur des poumons. Ces substances produites par recombinaison sont souvent plus irritantes et allergisantes que la substance originelle [37].

Ces composés font l'objet actuellement de recherches importantes afin d'élaborer un classement et de préciser leur dangerosité, encore mal connue [42].

1.2.3 Valeurs guides.

Les valeurs guides disponibles sont présentées ci-dessous et synthétisées en annexe 8.

A) Formaldéhyde

Le groupe de travail européen INDEX préconise une valeur guide de $30 \mu\text{g.m}^{-3}$ pour 8 heures d'exposition. L'AFSSET dans son rapport sur le formaldéhyde publié en 2007 propose une valeur de $50 \mu\text{g.m}^{-3}$ applicable sur 2 heures (VTR aiguë) et une autre de $10 \mu\text{g.m}^{-3}$ pour une exposition à long terme (VTR chronique) [50].

L'enquête de l'OQAI révèle que 50 % des logements français (chambre principale ou pièce assimilée) présentent des concentrations en formaldéhyde dans l'air intérieur supérieures à $19,6 \mu\text{g.m}^{-3}$ et que 5 % ont des teneurs supérieures à $46,6 \mu\text{g.m}^{-3}$ (valeurs calculées sur une semaine). Il ressort de l'enquête que 22 % des logements dépassent les valeurs maximales proposées (projet INDEX : $30 \mu\text{g.m}^{-3}$) [46].

De plus, il apparaît que les concentrations en formaldéhyde dans l'air intérieur des logements français sont en moyenne 10 fois plus importantes que celles rencontrées en air extérieur [46].

B) Aérosols Organiques Secondaires ($\text{PM}_{2,5}$).

Des valeurs guides de $10 \mu\text{g.m}^{-3}$ (moyenne annuelle) et de $25 \mu\text{g.m}^{-3}$ (moyenne sur 24h) sont données par l'OMS (Directives concernant la qualité de l'air). Ces valeurs sont données à titre indicatif car elles concernent l'air extérieur [42].

L'enquête de l'OQAI indique que la valeur médiane en $\text{PM}_{2,5}$ dans l'air intérieur (séjour) est égale à $19,1 \mu\text{g.m}^{-3}$, 25 % des logements ayant des concentrations moyennes supérieures à $35,4 \mu\text{g.m}^{-3}$ (valeurs calculées sur une semaine). Le bruit de fond en particules paraît être important, bien qu'on ne puisse pas le comparer directement aux valeurs guides pour l'air extérieur et qu'il n'en existe pas encore pour l'air intérieur [46].

1.2.4 Présentation des résultats de l'étude de Wainman (2000)

Plusieurs auteurs ont étudié la formation d'aérosols organiques secondaires issus de la réaction entre l'ozone et le limonène. Dans l'étude de (Wainman, 2000) [38], le protocole est basé sur l'utilisation de chambres, qui est une méthode utilisée fréquemment dans les études portant sur la formation de composés secondaires dans l'air intérieur. Une chambre est placée dans une autre d'un volume plus important. Le système est dynamique : l'échange d'air se fait par une circulation entre les deux chambres. L'échange d'air entre les deux modélise la dynamique des échanges d'air entre une habitation et l'air extérieur. Les volumes des chambres sont de $2,5 \text{ m}^3$ pour la chambre intérieure et de 25 m^3 pour la chambre extérieure. Ces chambres sont utilisées spécifiquement pour les recherches sur les polluants. Les polluants présents sont très strictement contrôlés et ne sont pas représentatifs de la multiplicité des polluants présents

dans un environnement intérieur. Les taux d'humidité sont eux aussi strictement contrôlés.

Le limonène, composé de nombreuses huiles essentielles, est introduit de deux manières différentes : via un désodorisant au citron utilisé comme diffuseur de limonène puis avec 10 ml de d-limonène chauffé dans un four puis injecté dans la chambre intérieure.

Il ressort de cette étude que les constituants secondaires formés par la réaction d'oxydation ozone-limonène les plus abondants sont l'acide limonique, l'acide limononique, le limonaldéhyde et l'acide 7-hydroxylimononique. A un taux d'humidité de 70% et des taux élevés d'ozone (100ppm), une production de $PM_{2.5}$ d'environ $30 \mu g.m^{-3}$ dans l'air intérieur résultant de l'introduction de limonène préalablement chauffé a ainsi été trouvé. Ces résultats sont obtenus avec les conditions les plus « défavorables ». Il faut remarquer que la concentration en $PM_{2.5}$ dans l'air peut varier grandement avec les saisons et la concentration en ozone de l'air extérieur [38]. L'été paraît donc être une saison particulièrement propice à la production de particules ultra-fines dans l'air intérieur.

Conclusion :

Les huiles essentielles sont donc clairement identifiées comme étant productrices à la fois de polluants primaires et secondaires. Elles participent à la pollution de l'air intérieur dont les valeurs pour les polluants étudiés ci dessus dépassent déjà fréquemment les valeurs guides préconisées. Cependant, ces résultats doivent faire l'objet d'études complémentaires.

Les effets spécifiques des huiles essentielles par inhalation demeurent largement inconnus à ce jour. Cependant, d'une manière générale, les huiles essentielles sont suspectées d'être au moins des agents de sensibilisation. L'exposition par inhalation aux huiles essentielles peut induire ou aggraver des problèmes respiratoires, par exemple une diminution de la fonction pulmonaire et une augmentation de la sensation de poitrine oppressée, une respiration sifflante et augmenter l'asthme chez les populations sensibles. Ces résultats justifient donc des évaluations complémentaires sur les conséquences sanitaires des huiles essentielles. Par ailleurs, les effets des recombinaisons des composés des huiles avec les polluants de l'air intérieur, comme par exemple ceux produits par la fumée de tabac ne sont encore que très peu documentés.

2 Ingestion

De nombreuses données sur la toxicité par ingestion d'huiles essentielles sont disponibles du fait des nombreuses circonstances d'intoxications rapportées. L'huile essentielle d'arbre à thé a fait l'objet d'une revue de toxicité relativement détaillée [33]. Par ailleurs

les données toxicologiques proviennent pour la plupart d'études réalisées sur des animaux de laboratoire (souris, rat, lapin, ...).

2.1 Toxicité sur l'Homme

Aux Etats-Unis, en 2006, le système de surveillance de l'American Association of Poison Control Centers (AAPCC) a recensé 7377 cas d'expositions par ingestion aux huiles essentielles. Parmi celles-ci, le type d'huile essentielle incriminée est notifié dans seulement 2333 cas d'exposition et une majorité de ces cas (966 personnes soit 41,5%) font suite à l'utilisation de TTO [51]. Les autres huiles essentielles incriminées sont principalement l'eucalyptus (496 cas), la cannelle (449 cas), la girofle (396 cas). L'exposition à ces huiles est très majoritairement inintentionnelle (92,3% des cas) et concerne principalement des enfants de moins de 6 ans (5477 cas soit 74%). Seuls 94 cas d'exposition au total (soit 1,2 % des cas) faisaient suite à une utilisation normale et à un suivi des recommandations d'usage du produit, le TTO étant incriminé dans 30 de ces cas (soit 3,1% des expositions au TTO). Ces résultats suggèrent néanmoins une sensibilité importante de ces personnes au produit ou bien des recommandations d'usage inadéquates. Au total, l'ingestion d'huiles essentielles a eu des conséquences pour 1454 personnes, classées comme mineures (1351), modérées (99) ou majeures (4, dont 2 pour le TTO). Il faut remarquer qu'aucun décès n'a été rapporté suite à l'ingestion de ces différentes huiles et que, d'une manière générale, aucun décès n'est reporté dans la littérature [33].

Ces cas d'intoxication sont donnés à titre indicatif car ils ne concernent que ceux rapportés aux Etats-Unis. Par ailleurs, ces données doivent être manipulées avec prudence en raison de la nature des procédures d'enregistrement des cas. En effet, les données spécifiant le type d'huile incriminée et la quantité ingérée sont absentes pour une majorité des expositions. Par ailleurs, la symptomatologie n'est pas décrite et on ne peut écarter non plus des erreurs de classifications des substances et des erreurs de diagnostic.

Certaines publications font état d'une toxicité systémique due à l'ingestion de TTO chez l'Homme. Ces résultats sont résumés dans un tableau en annexe n° 9 [33]. Ces données sont limitées et ne permettent pas de fournir des relations dose-réponse car l'information concernant la quantité réellement ingérée en TTO est manquante. Elles permettent néanmoins de conclure que le TTO peut être toxique par ingestion.

Les bases de données toxicologiques (ChemID, US EPA) fournissent aussi de nombreuses données (DL_{50} , TL_{50} , LDL_0 et TDL_0) calculées pour les huiles essentielles les plus communément utilisées et étudiées (eucalyptus, TTO et lavande) et pour la plupart

des composés actifs (thymol, eucalyptol, linalol, limonène, carvacrol, camphre, cymène,...). Bien que ces données de toxicité ne soient pas directement reliées à une toxicité chez l'Homme, elles semblent bien confirmer l'existence d'une toxicité à haute dose des huiles essentielles.

2.2 Toxicité expérimentale

2.2.1 Toxicité sur le développement

Une étude sur l'embryophytotoxicité de l' α -terpinene, composé présent à environ 9 % dans le TTO, a démontré une toxicité significative chez le rat. Une concentration de 60 mg/kg de poids corporel du sixième au quinzième jour de grossesse a provoqué une ossification et des malformations du squelette. Les auteurs suggèrent donc une NOAEL pour l'embryophytotoxicité de 30 mg/kg de poids corporel par exposition orale des rats à l' α -terpinene. Deux autres études avec du β -myrcene, autre composé du TTO (environ 0,5 %), donnent des NOAEL pour des effets toxiques sur la fertilité et la reproduction de 250 et 300 mg/kg de poids corporel. Les auteurs relèvent que les données sont limitées et que les niveaux élevés des NOAEL suggérés correspondent à une ingestion d'une dose très importante de ces composés, donc à une utilisation inhabituelle [33].

2.2.2 Mutagénicité

Des tests de mutagénicité ont été effectués sur *Salmonella* ainsi que sur *Bacillus*. Les composés suivants ont été identifiés comme non-mutagènes : 4-terpinéol, α -terpinene, 1,8-cinéole, α -terpinéol, cymène, limonène, α -pinene, β -pinene, linalol et β -myrcene. En revanche, le terpinéol possède un léger pouvoir mutagène.

D'une manière générale, les données disponibles concernant le TTO indiquent un faible potentiel mutagénique de cette substance [33].

De nombreuses données toxicologiques sont disponibles sur les huiles essentielles ainsi que sur leurs principaux composants. Cependant, la quasi totalité des données sont obtenues après des tests expérimentaux sur des animaux de laboratoire et manquent ainsi de précision. Ce sont en effet des données (DL_{50} , LC_{50} , TDL_0 et LDL_0) obtenues en testant les composés actifs seuls et non l'huile sur des animaux. Ces données ne sont donc pas exploitables pour faire une évaluation des risques des huiles essentielles qui sont des mélanges de plusieurs composés. Aucune NOAEL ni LOAEL pour l'Homme n'est non plus disponible.

Quelques VTR existent ainsi pour certaines substances (linalol, acétate de linalyle, eugénol, alcool de benzyle, benzoate de benzyle). Il faut cependant remarquer que les

auteurs précisent que ces données doivent être complétées par de nouvelles études (pas de mention d'organe cible, ni d'effets critiques).

Conclusion :

La toxicité par ingestion d'huiles essentielles est globalement bien connue chez l'animal, que ce soit la toxicité des composés des huiles ou de l'huile dans sa globalité. Cependant, les données de toxicité disponibles chez l'Homme ont été obtenues le plus souvent suite à une ingestion accidentelle. Il est à noter que les nombreux cas de toxicité rapportés due à l'ingestion sont dans leur quasi-totalité accidentels, à très fortes doses et concernent principalement des enfants.

3 Contact

Peu de données toxicologiques sont disponibles sur la toxicité des huiles essentielles par contact. Les deux huiles essentielles principalement étudiées sont le TTO et la lavande. Le TTO a fait l'objet d'une revue de toxicité sur l'Homme relativement détaillée. Les effets aigus et chroniques ont été quelque peu investigués. Trois types d'effets sont étudiés : irritations, allergies et réactions systémiques.

3.1 Irritations

Le pouvoir irritant du TTO a été testé dans plusieurs études en suivant le même type de tests de sensibilisation [33]. La sensibilité des patients est testée grâce à des patchs (chambres de Finn) d'une concentration variable en TTO (de 1 à 100 %). Ce protocole est détaillé dans 2 études [33]. Les patchs sont appliqués sur les bras pour une durée de 24h. Après 24h, ils sont retirés, la peau est examinée et un nouveau patch est appliqué pour une durée de 24h. Cette opération est répétée durant 21 jours. Les résultats obtenus sont synthétisés dans le tableau ci-dessous.

Figure 7 : Pourcentage de patients ayant eu une réaction d'irritation suite au test en fonction de la concentration en TTO du patch.

Auteur	Effectif	Concentration en TTO (%)	Réactions positives (%)
Southwell et al.	28	?	10.7
Aspres et Freeman	311	?	1.6
Knight et Hausen	20	1	0
Veien et al. : 1 ^{er} essai	217	10	0
Veien et al. : 2 ^{ème} essai	160	5	2.5

Ces résultats ne permettent pas de conclure à un éventuel lien entre la concentration en TTO et l'augmentation des réactions d'irritations au vu de la grande dispersion des résultats et de l'absence d'historique médical des patients.

Le 1,8-cinéole (eucalyptol), composant du TTO, est connu pour être un irritant de la peau. Cependant, son application locale n'a provoqué aucune réaction d'irritation [33]. Par ailleurs, le d-limonène est aussi connu pour être un agent irritant.

D'une manière générale, les réactions d'irritation ne sont pas dépendantes d'une exposition préalable à un agent irritant. Ce type de réactions peut être évité en utilisant des concentrations faibles de l'agent irritant, et donc par extension de TTO [33].

3.2 Allergies par contact

Ce type d'allergie est définie comme étant une réaction cutanée causée par contact direct avec un allergène auquel le patient est devenu sensible.

De nombreux cas ont été reportés dans la littérature médicale concernant l'utilisation d'huile essentielle de TTO. Le protocole d'étude est identique à celui du test des réactions irritantes : les patchs utilisés ont une concentration de 0,1 % à 100 % de TTO. Les composés actifs de l'huile essentielle ne sont pas testés [33].

Figure 8 : Pourcentage de patients ayant eu une réaction allergique suite au test en fonction de la concentration en TTO du patch.

Auteur	Effectif	Concentration en TTO (%)	Réactions positives (%)
Lisi et al.	725	0,1	0
Lisi et al.	725	1	0.13
Lisi et al.	725	5	0.13
Coutts et al.	550	100	2.3
Veien et al	217	5 (lotion)	1.4
Veien et al	217	10	0.46
Southwell et al.	28	?	10.7
Aspres and Freeman	309	?	0.97

Ces résultats, à l'exception de ceux de Southwell qui ont été obtenus avec un échantillon de patients restreint, semblent indiquer un possible lien entre l'augmentation de la concentration en TTO et celui du nombre d'allergies.

L'huile essentielle de lavande a aussi fait l'objet de tests à l'aide de chambres de Finn : ils sont rapportés dans l'étude de (Siguira, 2000) qui s'est déroulée sur 9 ans (1990-1999). Les personnes testées sont toutes suspectées d'avoir des dermatites provoquées par contact avec des produits cosmétiques. L'allergie est diagnostiquée chez les patients ayant une réaction positive au test au minimum un jour après le retrait du patch. Le taux

de positivité du test s'élève à 3,7 % pour toute la période d'étude [52]. Ces pourcentages, bien que relativement faibles, indiquent que certaines huiles ont un pouvoir allergisant et peuvent ainsi être contre-indiquées.

En ce qui concerne les composants actifs, la directive européenne « cosmétique » (2003/15/EC) en identifie 16 comme étant allergènes. Ces 16 substances se retrouvent à l'état naturel dans environ 150 huiles essentielles. D'autres composés sont suspectés d'être allergènes : α -terpinene, α -terpinéol, aromadendrene, α -phellandrène, l'ascardiole et le 1,2,4-trihydroxymethane. Cependant, les causes des allergies font toujours débat, il n'a pas encore été identifié d'allergène unique qui puisse être responsable de tous ces cas d'allergies [33].

3.3 Réactions systémiques.

Les données de la littérature font état de réactions chez les chiens et les chats traités contre les puces avec des doses très élevées de TTO. Ces animaux ont présenté des signes typiques de dépression, de fatigue, de mauvaise coordination et de tremblements musculaires. Des symptômes plus graves ont aussi été observés pour des doses plus importantes de TTO : hypothermie, tremblements et déshydratation. Il est à noter qu'aucune séquelle n'a été observée chez ces animaux [33].

Un seul cas de réaction systémique a été relevé chez l'Homme. Les symptômes (prurit, rougeurs, constriction de la gorge et vertiges) apparurent peu de temps après l'application de l'huile essentielle [33].

Conclusion générale :

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise.

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées. En revanche, il semble que l'inhalation des composés émis par les huiles essentielles représente un danger mal connu et probablement sous-estimé. Le manque évident de données sur la toxicité des huiles pour l'Homme invite cependant à la prudence quant aux conclusions à tirer. Une démarche exploratoire semble donc nécessaire afin de mieux d'identifier la toxicité des substances contenues dans les huiles et les possibles effets synergiques ou antagonistes de leurs mélanges. Les connaissances sont à approfondir sur les concentrations en polluants de l'air intérieur émis directement ou indirectement. C'est dans ce sens que les recherches doivent aller afin de permettre de réaliser une évaluation des risques sur les huiles essentielles.

CHAPITRE 4 : DISCUSSION

Les informations dont nous disposons à l'heure actuelle sur les huiles essentielles sont largement insuffisantes pour pouvoir faire une évaluation des risques sur ces produits. La priorité à l'heure actuelle est donc d'obtenir plus d'informations, que ce soit sur les propriétés et risques intrinsèques des huiles, que sur leur utilisation par le grand public.

Ceci étant, nous allons dans cette partie donner quelques pistes pour conduire une telle évaluation des risques en faisant le point sur les données qu'il serait pertinent d'obtenir, ainsi que sur les difficultés que présente un tel travail étant donné la spécificité de ces produits.

1 Pistes pour une évaluation des risques

1.1 Identification des dangers

Comme nous l'avons souligné à de multiples reprises dans les parties précédentes, les huiles essentielles sont des produits relativement complexes. La grande variété des huiles disponibles ainsi que les nombreux constituants qui les composent rendent leur étude difficile. Pour pouvoir faire une évaluation des risques, il est nécessaire dans un premier temps d'évaluer les dangers liés au produit.

Il faut d'abord choisir sur quelle huile l'évaluation des risques va porter : en effet, les différentes huiles sont tellement différentes qu'il ne semble pas envisageable de pouvoir faire une évaluation des risques pour l'ensemble des huiles. Il serait intéressant d'étudier les huiles les plus utilisées, que ce soit en aromathérapie ou par la population générale.

Le problème est que l'on ne dispose pas de données précises sur la consommation d'huiles essentielles en France. Nous ne disposons que de données sur la production (cf. chapitre 1, 2.1). Sachant qu'une grande partie est exportée et que de nombreuses autres huiles sont importées en France, il serait imprécis de se baser uniquement sur ces données pour choisir les huiles à étudier. Une enquête chez les professionnels du secteur (aromathérapeutes, magasins spécialisés) pourrait donner une idée sur les huiles les plus utilisées car l'utilisation par les particuliers est plus difficile à évaluer.

La grande difficulté liée à l'identification des dangers provient du fait que l'on ne sait pas si les actions des huiles essentielles sont liées à la composition de l'huile dans sa globalité ou à l'action spécifique de certains composés plus actifs. Comme l'ont montré quelques études, certains composés utilisés séparément pourraient être plus actifs que d'autres (le Thymol par exemple). Seize composants des huiles essentielles ont déjà été identifiés

comme allergisants par la directive Européenne (2003/15/EC) [22], il pourrait donc être intéressant de prendre en compte ces substances dans une évaluation des risques.

De même, les effets synergiques ou antagonistes d'un mélange d'huile essentielle reste largement méconnus, alors que ce mode d'utilisation par les consommateurs est fréquent. De plus, nous ne disposons que de très peu de données sur les interactions possibles des huiles avec d'autres substances présentes dans l'environnement. Les seules données dont nous disposons sont celles sur la formation de composés secondaires lors de l'utilisation des huiles par évaporation (cf. chapitre 3), données qui ne viennent que d'une seule étude et mériteraient donc d'être confirmées par de plus amples recherches.

1.2 Évaluation de la relation dose-réponse

Les études menées sur les activités bactéricides et fongicides des huiles essentielles tendent à montrer une activité dose dépendante : plus la concentration en huile est élevée, plus l'action bactéricide ou fongicide est importante (c'est-à-dire plus l'huile est toxique pour les microorganismes). Ces données peuvent être intéressantes pour évaluer l'efficacité des huiles essentielles comme désinfectant (ex : connaître la concentration d'huile à utiliser pour fabriquer un désinfectant à base d'huile essentielle) mais sont inutilisables en évaluation des risques.

Certains accidents survenus chez l'Homme ont montré qu'une huile utilisée, qui ne provoque pas d'effets nocifs en petite quantité, peut s'avérer extrêmement toxique si elle est utilisée en grande quantité sur la peau (risque de brûlure) ou ingérée (intoxication).

On connaît donc l'effet de certaines huiles à très forte concentration. Se pose alors le problème de l'extrapolation aux faibles doses. Etant donné le peu d'information dont on dispose, la réalisation d'un modèle d'extrapolation cohérent semble difficile: ce sont des accidents relativement peu fréquents et les huiles mises en cause sont différentes à chaque fois.

La solution serait alors de s'intéresser aux tests effectués sur les animaux pour obtenir des valeurs toxicologiques (VTR, DJA, ERU...). Cette fois, les bases de données fournissent des informations sur certaines huiles essentielles et leurs principaux composants. Cependant, la quasi totalité des données sont des DL_{50} , des LC_{50} ou des LDL_0 , qui ne sont donc pas utilisables dans une évaluation des risques. On ne dispose d'aucune NOAEL ou LOAEL fiable pour l'Homme. Des études plus poussées sont donc nécessaires pour obtenir ce genre de données et avoir une meilleure connaissance de la relation dose-réponse.

1.3 Estimation des expositions

D'après les modes d'utilisation des huiles essentielles, les trois voies d'exposition (cutané-muqueux, ingestion et inhalation) sont à prendre en compte.

Les expositions peuvent parfois se combiner : par exemple, un bain aux huiles essentielles provoque une exposition cutanée et une exposition par inhalation des vapeurs.

1.3.1 Variabilité des usages et des composés émis

Les composés émis lors de ces différentes utilisations peuvent varier. Par exemple en diffusion, certains vaporisateurs brûlent les huiles, ce qui peut dénaturer les constituants chimiques de l'huile et produire notamment des COV, alors que d'autres diffuseurs brumisent l'huile en fines gouttelettes. Selon le mode d'utilisation qu'il fait de l'huile essentielle, l'utilisateur n'est donc pas exposé au même type de composés chimiques.

La **connaissance des modes d'utilisation** des huiles essentielles est donc nécessaire pour l'évaluation des risques ; nous nous sommes rendu compte lors de nos recherches du peu d'informations disponibles.

Une solution pourrait être d'effectuer une enquête auprès des consommateurs pour mieux connaître leurs pratiques : il pourrait être judicieux de cibler cette enquête auprès de clients de magasins spécialisés ou de patients d'aromathérapeutes. Cela permettrait d'avoir des réponses assez précises car ces personnes sont sensibilisées à ces produits.

De plus, la bibliographie ne fournit pas d'informations concernant la quantité de composés provenant des huiles pouvant être inhalés par heure. Une solution envisageable pourrait être la modélisation, mais celle-ci implique de connaître la répartition dans l'espace des composés émis et leur durée moyenne d'émission. Or, cette durée est très dépendante du mode d'utilisation et du taux de renouvellement de l'air (qui peuvent grandement varier d'un foyer à l'autre). Il est également difficile de savoir si les particuliers respectent bien les doses recommandées pour l'utilisation des huiles : il est conseillé d'utiliser seulement quelques gouttes mais un surdosage (volontaire ou non) peut être fréquent et induire un biais dans le calcul de l'exposition.

En conséquence, il paraît difficile d'arriver à calculer un Budget Espace Temps sans connaître toutes ces données.

Un autre problème est celui de la formation de composés secondaires par interaction avec les composés présents initialement dans l'environnement domestique. Comment peut-on quantifier la formation de ces composés sachant qu'ils ne sont pas spécifiques à l'utilisation d'huiles essentielles ? Leur présence, en plus ou moins grande quantité, peut être liée à de nombreux paramètres : travaux récents, ameublement, pollution extérieure,

présence de fumeurs... La quantification du « bruit de fond » de ces composés est délicate et peut être à l'origine d'incertitudes lors de l'évaluation des risques.

Les huiles essentielles pourraient être intégrées dans les enquêtes sur la pollution de l'air intérieur afin de préciser les niveaux d'exposition des populations aux substances potentiellement dangereuses qu'elles émettent.

1.3.2 Multiplicité des expositions

La multiplicité des expositions pourra être une autre difficulté de l'évaluation des risques. Comme nous l'avons vu précédemment, les huiles essentielles sont présentes dans de nombreux produits de la vie courante ; les sources d'expositions sont donc multiples.

De plus, les consommateurs n'ont pas forcément conscience d'utiliser des huiles essentielles en se servant de ces produits : utilisées principalement pour parfumer, la présence d'huile essentielle n'est pas toujours signalée de manière très lisible. Un questionnaire ne permettra donc pas forcément de détecter ces usages « indirects » et pourtant très répandus.

Les expositions sont donc extrêmement variables selon les personnes :

- De l'exposition « **minimale** » = personne n'utilisant jamais d'huiles essentielles de manière volontaire (exceptée celles contenue dans les produits de grande consommation). On peut considérer, étant donné l'utilisation des huiles dans de multiples domaines, que l'exposition n'est jamais totalement nulle.
- A l'exposition « **maximale** » = personne se soignant par aromathérapie, utilisant des produits de beauté à base d'huiles essentielles, parfumant sa maison à l'aide d'huiles essentielles, etc.

Une étude épidémiologique pourrait être envisagée et permettrait de préciser les liens entre l'utilisation d'huiles essentielles et l'apparition de certaines pathologies.

1.4 Caractérisation des risques

Le manque important de données que nous avons détaillé précédemment ne permet pas de faire une réelle caractérisation des risques.

Certains **effets aigus** des huiles essentielles ont été décrits, principalement chez les populations sensibles (enfants, personnes allergiques...). Certaines huiles sont connues pour être entre autre neurotoxiques et leur usage est réglementé (vente réservée aux pharmaciens).

Les **effets chroniques** restent largement méconnus à ce jour.

2 Gestion des risques

Les huiles essentielles sont des produits populaires dont les modes d'utilisation, mais aussi de commercialisation, sont très variés. Devant le manque d'information sur les risques liés aux huiles, il nous apparaît nécessaire de prendre certaines mesures de gestion préventive.

L'acquisition de données concernant les molécules émises par les huiles essentielles et la réalisation d'une évaluation des risques permettrait de mettre en place des normes de protection spécifique des consommateurs déterminant les valeurs acceptables dans l'air intérieur des polluants émis dans les huiles.

Par ailleurs, une des plus grosses lacunes liée à la vente des huiles est justement l'**absence de réglementation** précise. En effet, la réglementation impose seulement des normes sur la composition des produits et non sur les polluants émis lors de leur combustion : il n'y a pas d'obligation de test sur les émissions produites par la combustion des huiles.

La réglementation de la vente sur Internet paraît être une priorité, le niveau d'information du consommateur et la fiabilité des données étant très hétérogènes selon les sites (composition du produit, utilisation).

Celle-ci pourrait être couplée à la diffusion d'**un guide de bonne pratique des huiles essentielles** car les recommandations sont parfois données uniquement par les fabricants et les commerçants. L'AFSSAPS, qui travaille déjà sur ces problématiques, pourrait fournir des recommandations avisées. Une sensibilisation des professionnels de santé chargés de leur vente pourrait aussi être une piste à suivre.

Les huiles essentielles sont par nature considérée comme bénéfiques, c'est pourquoi un effort devrait être mis sur l'**information des consommateurs**. Il nous paraît important de faire figurer des mentions claires sur les emballages et les sites de vente en ligne de produits contenant une ou plusieurs substances dangereuses par inhalation, ingestion ou contact. Des recommandations sur les emballages, concernant l'aération des logements et la durée d'utilisation des huiles, semblent aussi une piste à suivre si les études viennent confirmer leur potentiel polluant de l'air intérieur.

Une généralisation de **bouchons** comportant des « sécurités enfants » permettrait aussi de diminuer les dangers liés à l'ingestion des huiles, dont les enfants sont les principales victimes.

Conclusion

Tous les professionnels que nous avons contactés s'accordent à dire que le sujet des huiles essentielles est très complexe, très vaste et encore peu connu. Nous avons pu confirmer cet avis par une recherche bibliographique : les publications parues sur ce sujet étudient généralement une seule huile essentielle, dans des conditions expérimentales bien précises, souvent éloignées de l'utilisation par le grand public.

Les risques vis-à-vis de la santé humaine n'ont donc pas encore vraiment été étudiés aujourd'hui. Les résultats d'études publiées concluent toutefois que certaines huiles essentielles peuvent avoir, dans certaines conditions, des propriétés antibactériennes, antifongiques ou virucides. En revanche, certaines peuvent être toxiques en diffusion dans l'air intérieur par la création de composés primaires et secondaires, en ingestion à forte dose ou par contact (irritations, allergies, ...).

Aucune étude en population n'a été effectuée pour constater un éventuel « bien-être » lié à leur utilisation ; une telle étude serait difficile à mettre en place et à analyser, étant donné qu'il s'agit d'une perception individuelle.

La réglementation REACH devrait permettre de mener des études et d'apporter un certain nombre de réponses sur les propriétés physico-chimiques, toxicologiques et écotoxicologiques de ces substances. Des difficultés d'enregistrement sont prévisibles car les huiles essentielles sont de composition chimique très variable selon la variété botanique et le chémotype : leurs propriétés, et donc leurs impacts potentiels, peuvent être très différents.

Avant d'envisager de nouvelles utilisations, il nous paraît important de poursuivre les études de ces substances mais aussi de connaître l'exposition de la population (les informations sont aujourd'hui complètement inexistantes), afin de pouvoir mener une évaluation des risques et statuer sur l'éventuelle toxicité des huiles essentielles en conditions recommandées d'utilisation.

Mieux connaître ces substances permettra aussi de valider les hypothèses de leurs actions bénéfiques en condition réelle d'utilisation. En effet, de nouvelles applications des huiles essentielles sont proposées et semblent être intéressantes, comme le traitement des surfaces ou de l'air, mais seraient à approfondir.

En attendant d'en savoir plus, des mesures de prévention et d'information des consommateurs nous paraissent nécessaires à mettre en œuvre dès à présent.

Bibliographie

Remarque : les liens vers tous les sites Internet ont été vérifiés le 7 Mars 2008.

[1] Larousse des médecines douces (2006)

[2] Université Claude Bernard, Lyon :
<http://olfac.univ-lyon1.fr/documentation/olfaction/>

[3] Ministère de l'Economie, des Finances et de l'Industrie. *La parachimie en chiffres*.
Edition 2007 (pages 14-15) :
http://www.industrie.gouv.fr/sessi/publications/dossiers_sect/pdf/parachimie07.pdf

[4] Université Pierre et Marie Curie, Paris. Liste des solvants utilisés lors de
l'extraction :
<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/aromes/nature-arome/aromes.htm>

[5] Pibiri MC (2005). Thèse de sciences : Assainissement microbiologique de l'air et
des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Ecole polytechnique fédérale
de Lausanne, Suisse, 161 p.

[6] ONIPPAM. Fiche de synthèse sur les PPAM bio : « Les plantes à parfum,
aromatiques et médicinales en agriculture biologique ». Chiffres 2001 :
<http://81.255.95.209/onippam/upload/document/document2244.pdf>

[7] AFNOR (2004). Liste des normes relatives aux huiles essentielles (02/04/2004) :
<http://www.onippam.fr/pub/docs/henormes.pdf>

[8] AFNOR : normes « huiles essentielles ». Date de parution Mars 2007 :
http://www.boutique.afnor.org/LIV7DetailLivre.aspx?CLE_ART=FA092687&nivCtx=LIVZLI VZ1A10A201A206&ts=1424795

[9] Organisme français de certification : www.ecocert.com

[10] Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales – Service central des enquêtes et études statistiques, AGRESTE – *Recensement 2000 des plantes à parfum, aromatiques et médicinales* – AGRESTE Primeur, n° 21, Juin 2003 :

<http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/primeur131.pdf>

[11] ONIPPAM. Commerce extérieur 2005 : « Le commerce extérieur des huiles essentielles ». Chiffres 2005 :

<http://81.255.95.209/onippam/upload/document/1181643549.pdf>

[12] Université Paris XIII – UFR Santé, Médecine, Biologie humaine – Diplôme universitaire de naturothérapie : <http://dumenat.smbh.univ-paris13.fr/du/naturo.htm>

[13] Francis DURIEZ (pharmacien). *Dictionnaire des médicaments naturels*. Edition Seuil. Mai 2000.

[14] Extrait d'un rapport rédigé par un groupe d'élèves de l'ENSAIA : projet "filère Bergamote", sous la responsabilité de Christophe SCHWARTZ, Maître de conférence à l'ENSAIA (Nancy), relu par Valéry PRÉVOST, professeur CPGE au Lycée Corneille (Rouen) :

<http://culturesciences.chimie.ens.fr/dossiers-experimentale-extraction-article-bergamote.html>

[15] Les huiles essentielles du Docteur Valnet, mode d'emploi :

<http://cosbio.com/valneth.htm>

[16] Pranarôm International, vente d'huiles essentielles, formation et R&D :

http://www.pranarom.be/fr/articles_divers/articles_intro_005

[17] AFSSAPS. *Comité de coordination des vigilances des produits de santé. Bilan 2004 : principaux faits marquants des vigilances sanitaires* :

<http://afssaps.sante.fr/pdf/5/bilan05.pdf>

[18] Que choisir du 31/01/2006

[19] HENLEY D. et al. Prepubertal gynecomastia linked to lavender and tea tree oils. *N. Engl. J. Med.* 2007, 356: 479-85.

[20] Législation française :

(1) Loi 84-534 du 30 Juin 1984 :

http://legifrance.gouv.fr/jopdf/common/jo_pdf.jsp?numJO=0&dateJO=19840703&numTexte=&pageDebut=02087&pageFin=

(2) Décret 86-778 du 23 Juin 1986 :

http://www.legifrance.com/affichTexteArticle.do;jsessionid=E72D16D7F2A6C47F9E89E3A35BEDD9C0.tpdjo16v_1?cidTexte=JORFTEXT000000523198&idArticle=LEGIARTI000006722953&dateTexte=19860625

(3) L4211-1 du Code de la Santé Publique (modifié par Ordonnance n°2007-613 du 26 avril 2007 - art. 26 JORF 27 avril 2007) :

<http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006689006&dateTexte=20080304>

(4) Décret n° 2007-1198 du 3 Août 2007 :

<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000470070&dateTexte=>

(5) L5311-1 du Code de la Santé Publique fixant les missions de l'AFSSAPS :

http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do;jsessionid=AFD8069955EC3E182BE824002B8868DC.tpdjo10v_1?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006690344&dateTexte=20080304

[21] Création du groupe de travail AFSSAPS sur les huiles essentielles :

(1) JORF n°184 du 10 août 2004 page 14206 texte n° 24. Décision du 9 juillet 2004 portant création d'un groupe de travail sur les huiles essentielles à l'AFSSAPS :

<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000604759>

(2) JORF n°179 du 4 août 2007 page 13119 texte n° 34. Décision du 17 juillet 2007 modifiant la décision du 9 juillet 2004 portant création d'un groupe de travail sur les huiles essentielles à l'AFSSAPS :

<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000823936>

[22] Directive européenne 2003/15/EC du 27 Février 2003 modifiant la directive 76/768/CEE du Conseil concernant le rapprochement des législations des Etats membres relatives aux produits cosmétiques :

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:066:0026:0035:FR:PDF>

[23] EFEO (European Federation of Essential Oil). Substances classées allergènes dans la Directive « Cosmétiques » et présentent dans les huiles essentielles :

http://www.efeo-org.org/pages_main/news/5congress/1centifo/centifolia.htm

[24] Santé-Canada, Direction Générale des Produits de Santé et des Aliments, 26 mars 2004. *Guide de conformité aux produits de santé naturels* :

http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodnatur/legislation/pol/compli-conform/compli-conform_guide_f.html#5

[25] Discussions à l'Assemblée Nationale et au Sénat :

(1) Débat au Sénat le 14/06/2005 entre M. DOMEIZEL (Sénateur des Alpes de Haute-Provence) et M. ESTROSI, pour le ministère de l'Écologie et du Développement Durable :

<http://www.senat.fr/cra/s20050614/s20050614H1.html>

(2) Question n° 65350 posée à l'Assemblée Nationale par Madame Michèle Tabarot (Union pour un Mouvement Populaire - Alpes-Maritimes) publiée au JO du 17/05/2005 (page : 4894) et réponse du ministère de l'agriculture, de l'Alimentation et de la Pêche publiée au JO du 19/07/2005 (page : 7062) :

<http://questions.assemblee-nationale.fr/q12/12-65350QE.htm>

(3) Application du projet de réglementation européenne REACH aux huiles essentielles : question écrite n° 16922 de M. Jean Besson (Drôme - SOC) publiée dans le JO Sénat du 31/03/2005 (page 890) et réponse du Ministère délégué aux affaires européennes publiée dans le JO Sénat du 12/10/2006 (page 2602) :

<http://www.senat.fr/basile/visio.do?id=qSEQ050316922&idtable=q162990%7Cq163484%7Cq163508%7Cq166388%7Cq166618&&rch=qa&de=20061007&au=20061013&dp=1+an&radio=deau&date=dateJORep&appr=text&aff=sep&tri=da&off=0&afd=ppr&afd=ppl&afd=pjl&afd=cvn>

[26] REACH :

(1) Réglementation finale :

http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/oj/2007/l_136/l_13620070529fr00030280.pdf

(2) REACH : critères pour l'inclusion de substances à l'annexe IV du règlement n° 1907/2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques :

<http://www.ecologie.gouv.fr/Revision-de-l-annexe-IV.html>

http://www.ecologie.gouv.fr/IMG/pdf/Revision_Annexe_IV_Traduction_Fr.pdf

- [27] INERIS. Présentation du programme SPORT :
http://www.ineris.fr/index.php?module=cms&action=getContent&id_heading_object=1119
- [28] European Commission, Member States and Industry (CEFIC, UNICE, UEAPME and DUCC). The Sport report, making REACH work in practice, 5 Juillet 2005 :
<http://reach.chemnet.com/upload/0702061538155889.pdf>
- [29] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2007). Biological effects of essential oils-A Review. *Food and Chemical Toxicology*, **46**(2) : 446-75.
- [30] Carson C. F., Hammer K. A., Riley T. V. (2006), *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical microbiology reviews*,**19**(1): 50-62
- [31] Cosentino S., Tuberoso C.I.G., (1999), In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils, *Letters in Applied Microbiology*, **29**: 130–135
- [32] De Billerbeck V.-G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, **5** : 249-253.
- [33] Hammer KA., Carson CF., Riley TV., Nielsen JB. (2005). A review of toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Food and chemical toxicology*, **44**(5):616-25.
- [34] Klaric MS., Kosalec I., Mastelic J., Pieckova E., Pepeljnak S. (2006). Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in Applied Microbiology*, **44** (1) : 36-42.
- [35] Kocha C., Reichling J., Schnee J., Schnitzler P. (2007). Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2. *Phytomedicine*,**15**(1), 71-78.
- [36] Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Gonçalves MJ., Costa-de-Oliveira S., Cavaleiro C., Palmeira A., Rodrigues A., Martinez-de-Oliveira J. (2006). Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, **55** : 1367-1373.

- [37] Su H.-J., Chao C.-J., Chang H.-Y., Wu P.-C.(2006). The effects of evaporating essential oils on indoor air quality. *Atmospheric environment*, **41** : 1230-1236.
- [38] Wainmann T., Zhang J., Weschler C. J., Liou P. J. (2000). Ozone and limonene in indoor air: a source of submicron particle exposure. *Environmental Health Perspectives*, **108** (12): 1139-1145.
- [39] Directive 1999/13/CE du 11 Mars 1999 relative à la réduction des émissions de composés organiques volatils dues à l'utilisation de solvants organiques dans certaines activités et installations. http://admi.net/eur/loi/leg_euro/fr_399L0013.html (consulté le 25 février).
- [40] InRS: Fiche toxicologique du monoxyde de carbone.1996.
<http://www.inrs.fr/fichetox/ft47.html> (consulté le 02 mars 2008).
- [41] InRS: Fiche toxicologique du dioxyde de carbone.2005.
<http://www.inrs.fr/fichetox/ft238.html> (consulté le 02 mars 2008).
- [42] OMS : Mise à jour des directives qualité de l'air pour la protection de la santé publique : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs313/fr/index.html>
- [43] Molhave L. (1995). The use of the TVOC-concept in source characterization and regulation of IAQ. *Indoor air quality ventilation and energy conservation in buildings*.
- [44] InRS: Fiche toxicologique d-limonène. 2004
http://www.inrs.fr/htm/dipentene_ou_d_limonene.html (consulté le 02 mars 2008).
- [45] Rapport AFFSET : proposition de VGAI : le monoxyde de carbone. mars 2007 :
http://www.afsset.fr/upload/bibliotheque/611421649658249684013021570308/VGAI_monoxyde_carbone.pdf (consulté le 2 mars).
- [46] OQAI (2007). « Campagne nationale logements, Etat de la qualité de l'air dans les logements français, Rapport final ». Observatoire de la qualité de l'air intérieur, 183 p.
- [47] Pfaller M.A, Sheehan D.J., Rex J.H (2004). Determination of Fungicidal Activities against Yeasts and Molds: Lessons Learned from Bactericidal Testing and the Need for Standardization ; *American Society for Microbiology* ; **17**: 268–280.

[48] OMS, Organisation Mondiale de la Santé, WHO air quality guidelines, 2nd édition, regional Office for Europe, 2000.

[49] OSHA, Occupational Safety & Health Administration, Toxic and Hazardous Substances : Table Z-1 Limits for Air Contaminants, 1910.1000, ,
http://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=STANDARDS&p_id=9992 (consulté le 25 février 2008).

[50] AFSSET. Rapport Proposition de valeur guide de qualité d'air intérieur : le formaldéhyde. Juillet 2007.
http://www.afsset.fr/upload/bibliotheque/815908201109553246969584471508/VGAI_formaldehyde.pdf (consulté le 03 mars 2008).

[51] American Association of Poison Control Centers : Rapport 2006 :
<http://www.aapcc.org/Annual%20Reports/06Report/2006%20Annual%20Report%20Final.pdf>, (consulté le 3 mars 2008).

[52] Sugiura M, Hayakawa R, Kato Y, Sugiura K, Hashimoto R (2000). Results of patch testing with lavender oil in Japan. *Contact Dermatitis*, **43** (3) :157-60.

Liste des annexes

- [1] Liste (non exhaustive) des huiles essentielles, de leur nom latin, de la partie utilisée, de leur origine et de leur mode d'extraction [2]
- [2] Décret n° 2007-1198 du 3 Août 2007 [20-4], publié au JO du 8 Août 2007.
- [3] Description des méthodes des microatmosphères et des aromagrammes
- [4] Schéma de la méthode d'évaluation de l'activité virucide d'une huile essentielle sur HSV-2 (Koch C., Reichling J., 2007)
- [5] Tableau comparatif des résultats des études sur les activités bactéricides, fongicides et virucides des huiles essentielles
- [6] Récapitulatif de l'IC₅₀ de quelques huiles essentielles contre HSV-1 et HSV-2
- [7] Valeurs guides préconisées par les organismes de référence par type de polluant primaire
- [8] Valeurs guides pour le formaldéhyde et les particules de diamètre inférieur à 2,5 microns pour la qualité de l'air intérieur.
- [9] Cas rapportés de toxicité systémique liés à une ingestion de TTO

Annexe 1

Liste (non exhaustive) des huiles essentielles, de leur nom latin, de la partie utilisée, de leur origine et de leur mode d'extraction [2]

HUILE ESSENTIELLE	NOM LATIN	PARTIE UTILISEE	ORIGINE	MODE D'OBTENTION	-1
AIL	Allium sativum liliacées	Gousses broyées	France	Hydrodistillation ou Hydrodiffusion	PE
ANETH	Anethum Graveolens	Graines	Inde	Hydrodistillation	PE
ANGELIQUE	Angélica Archangélica	Racines	France, Belgique	Hydrodistillation	PE
ANIS	Pimpinella anisum	Fruits murs et séchés	France	Hydrodistillation	PE
ARMOISE	Artémisia vulgaris	Plante fleurie	Maroc	Hydrodistillation	PE
ASPIC	Lavandula latifolia	Sommités fleuries	Espagne	Hydrodistillation	PE
BASILIC	Ocimum Basilicum	Sommités fleuries	Egypte	Hydrodistillation	PE
BAY St THOMAS	Pirenta racemosa	Feuilles	Porto-Rico	Hydrodistillation	PE
BERGAMOTE	Citrus Bergamia	Ecorce du Fruit, Péricarpe	Calabre, Sicile	Expression du Zeste	PE
BIGARADE	Citrus Aurantium, variété amara	Ecorce du Fruit, Péricarpe	Italie	Expression du Zeste	PE
BOULEAU	Betula alba	Goudron de bouleau	Finlande	Hydrodistillation	PE
CAJEPUT	Melaleuca leucadendrom	Feuilles et Tiges	Floride	Hydrodistillation	PE
CALAMUS	Acorus calamus	Rhizomes	U.R.S.S.	Hydrodistillation	PE
CANNELLE	Cinnamomum Zeylanicum	Ecorces	Ceylan	Hydrodistillation	PE
CARDAMONE	Elettaria Cardamomum	Graines	Guatemala	Hydrodistillation	PE
CAROTTE	Daucus Carotta	Graines	France	Hydrodistillation	PE
CARVI	Carum carvi	Graines	Hollande	Hydrodistillation	PE
BOIS DE CEDRE	Cedrus Atlantica	Bois	Maroc	Hydrodistillation	PE
CAMOMILLE ROMAINE	Anthémis nobilis	Fleurs	France (Maine et Loire)	Hydrodiffusion	PE
CELERI	Apium Graveolens	Graines	France	Hydrodistillation	PE
CITRON	Citrus limonum	Fruit, Péricarpe	Italie	Expression du Zeste	PE
CITRONNELLE	Cymbopogon winterianus	Plante	Chine	Hydrodistillation	PE
CISTE	Cistus labdaniférus	Feuilles et sommités fleuries	France	Hydrodistillation	PE
CORIANDRE	Coriandrum sativum	Graines	U.R.S.S., Pologne	Hydrodistillation ou Hydrodiffusion	PE
CUBEBE	Piper Cubeba	Fruit	Malaisie	Hydrodistillation	PE
CUMIN	Cuminum Cyminum	Graines	Egypte	Hydrodistillation	PE
CYPRES	Cupressus sempervirens	branches et feuilles séchées	France (Drôme)	Hydrodistillation	PE
ESTRAGON	Artemisia Dracunculus	Plante fleurie	Sud de la France, Italie	Hydrodistillation ou Hydrodiffusion	PE
EUCALYPTUS	Eucalyptus globulus	Feuilles	Espagne	Hydrodistillation	PE
FENOUIL	Foeniculum vulgare	Graines	Provence	Hydrodistillation	PE
GALBANUM	Ferula Galbaniglua	Gomme	Iran	Exsudation + lavage alcoolique	PE
GERANIUM	Pelargonium Graveolens	Plante	Egypte	Hydrodistillation	PE
GENIEVRE	Juniperus Communis	Baies	France, Yougoslavie	Hydrodiffusion	PE
GINGEMBRE	Zingiber officinalis	Rhizomes	Chine	Hydrodistillation	PE
GIROFLE CLOUS	Eugenia caryophyllata	Boutons séchés	Madagascar	Hydrodistillation ou Hydrodiffusion	PE
HYSOPE	Hyssopus officinalis	Plante fleurie	France	Hydrodistillation	PE
LAVANDE	Lavandula officinalis	Sommités fleuries	France (Drôme)	Hydrodistillation	PE
LAURIER NOBLE	Laurus nobilis	Feuilles	France	Hydrodistillation	PE
LEMONGRASS	Cymbon citratus	Feuilles	Inde	Hydrodistillation	PE
LIVECHE	Levisticum officinalis	Racine	France	Hydrodistillation	PE
MANDARINE	Citrus reticulata	Ecorce du Fruit	Italie	Expression du Zeste	PE
MARJOLAINE	Thymus Masticina	Tiges fleuries	Espagne	Hydrodistillation	PE
MATRICIAIRE	matricaria chamomilla	Sommités fleuries et tiges	Hongrie	Hydrodistillation	PE
MELISSE	Melissa officinalis	Feuilles	France (Sud de la)	Hydrodistillation	PE
MENTHE	Menthe Piperata	Plante fleurie	France,	Hydrodistillation	PE
MYRRHE	Gommiphora Myrrha	Gomme	Arabie	Exsudation + lavage alcoolique	PE
MYRTE	Myrtus Gommunis	Fleurs et feuilles	France	Hydrodistillation	PE
NEROLI	Citrus aurantium	Fleurs	Tunisie	Hydrodistillation	PE
NIAOULI	Melaleuca viridiflora	Feuilles	Australie	Hydrodistillation	PE
NOIX DE MUSCADE	Miristica officina2is	Fruit	Indonésie	Hydrodistillation	PE
OIGNON	Allium cepa	Bulbes	France	Hydrodistillation	PE
ORANGE DOUCE	Citrus Aurantium, variété dulcis	Ecorce du fruit	Floride	Expression du Zeste	PE
ORIGAN	Thymus Capitatus	Plante fleurie	Espagne	Hydrodistillation	PE
PERSIL	Petroselinum sativum	Semences	France	Hydrodistillation	PE
PETIT GRAIN, BIGARADE	Citrus aurantium	Feuilles et tiges	France (Sud de la)	Hydrodistillation	PE
PIN	Pinus sylvestris	Aiguilles de Pin	U.R.S.S.	Hydrodistillation	PE
POIVRE	Piper nigrum	Fruits murs séchés et broyés	Inde	Hydrodistillation	PE
ROMARIN	Rosmarinus officinalis	Tiges et feuilles	France	Hydrodistillation	PE
SANTAL	Santalum album	Bois	Inde du	Hydrodistillation	PE
SARRIETTE	Satureia Hortensis	Plante fleurie	France	Hydrodistillation	PE
SASSAFRAS	Sassafras Albidum	Bois	U.S.A.	Hydrodistillation	PE
SAUGE	Salvia officinalis	Tiges fleuries	Alpes Haute Provence	Hydrodistillation	PE
SAUGE SCLAREE	Salvia sclaréa	Tiges fleuries	France	Hydrodistillation	PE
TEREBENTHINE	Pinus palustris	Feuilles	France	Hydrodistillation	PE
THUYA	Thuya occidentalis	Feuilles	Canada	Hydrodistillation	PE
THYM	Thymus Vulgaris	Plante fleurie	France	Hydrodistillation	PE
VERVEINE	Lippia Citriodora	Plante fleurie	France	Hydrodistillation	PE
VETIVER	Vetiveria Zizanoïdes	Racines	Madagascar	Hydrodistillation	PE
WINTERGREEN	Gauthéria procumbens	Feuilles	U.S.A.	Hydrodistillation	PE
YLANG-YLANG	Cananga odorata	Fleurs	Madagascar	Hydrodistillation	PE

(1) Liste des fournisseurs

PE : Laboratoire Phyto-Est, Unipharma

Annexe 2

Décret n° 2007-1198 du 3 août 2007 modifiant l'article D. 4211-13 du code de la santé publique relatif à la liste des huiles essentielles dont la vente au public est réservée aux pharmaciens

Le Premier ministre,

Sur le rapport de la ministre de la santé, de la jeunesse et des sports,

Vu la directive 98/34/CE du Parlement européen et du Conseil du 22 juin 1998 prévoyant une procédure d'information dans le domaine des normes et réglementations techniques et des règles relatives aux services de la société de l'information, ensemble la notification n° 2007-0091 adressée à la Commission européenne ;

Vu le code de la santé publique, notamment son article L. 4211-1,

Décète :

Article 1

A la section 3 du chapitre 1er du titre 1er du livre II de la quatrième partie du code de la santé publique, l'article D. 4211-13 est remplacé par les dispositions suivantes :

« Art. D. 4211-13. - La liste des huiles essentielles mentionnées au 6° de l'article L. 4211-1 est fixée ainsi qu'il suit : Huiles essentielles de :

- grande absinthe (*Artemisia absinthium* L.) ;
- petite absinthe (*Artemisia pontica* L.) ;
- armoise commune (*Artemisia vulgaris* L.) ;
- armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso) ;
- armoise arborescente (*Artemisia arborescens* L.) ;
- thuya du Canada ou cèdre blanc (*Thuja occidentalis* L.) et cèdre de Corée (*Thuja Koraenensis* Nakai), dits "cèdre feuille ;
- hysope (*Hyssopus officinalis* L.) ;
- sauge officinale (*Salvia officinalis* L.) ;
- tanaïsie (*Tanacetum vulgare* L.) ;
- thuya (*Thuja plicata* Donn ex D. Don.) ;
- sassafras (*Sassafras albidum* [Nutt.] Nees) ;
- sabine (*Juniperus sabina* L.) ;
- rue (*Ruta graveolens* L.) ;
- chénopode vermifuge (*Chenopodium ambrosioides* L. et *Chenopodium anthelminticum* L.) ;
- moutarde jonciforme (*Brassica juncea* [L.] Czernj. et Cosson). »

Annexe 3

Description des méthodes des microatmosphères et des aromagrammes

Tiré de *Pibiri MC, 2005*

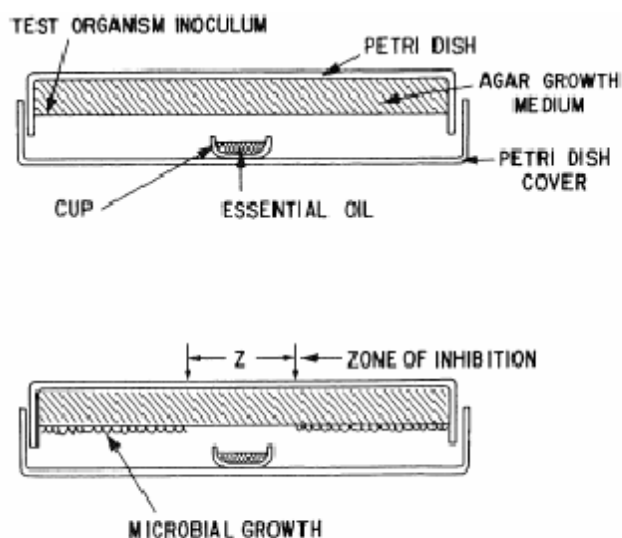
I) METHODE DES MICROATMOSPHERES

Cette technique permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatiles des huiles essentielles à l'intérieur d'une boîte de Pétri.

La technique consiste à disposer le disque imbibé d'une quantité déterminée d'huile essentielle au milieu du couvercle de la boîte de Pétri. La boîte est fermée avec le couvercle en bas (ce qui empêche le disque de tomber sur la gélose) et mise à l'étuve à 37° pendant 12 à 18 heures. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par une zone translucide sur la gélose de contour plus ou moins nette, à tendance circulaire lorsque le disque est bien centré. Les résultats se lisent avec un pied à coulisse et s'expriment par un diamètre moyen en cm, ou mm.

Le témoin réalisé pour chaque expérience est une boîte ensemencée dont le disque déposé sur le couvercle n'est pas imbibé d'huile essentielle. La boîte de contrôle est une boîte de Pétri ensemencée dans les conditions de l'expérience. Elle nous renseigne sur l'homogénéité du tapis bactérien.

Schéma illustrant la méthode des microatmosphères sur boîte de pétri



- 1 Zaïka, L. L. (1988). "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its Determination" *Journal of Food Safety* 9- 2: (97-118).

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide. Le milieu de culture gélosé en surfusion est

coulé dans des boîtes de Pétri. L'ensemencement de l'inoculum de 1 ml est réalisé en surface (ensemencement en nappe) après solidification du milieu. Le surplus d'eau est évaporé dans la hotte jusqu'à ce que la gélose soit sèche. Un ou plusieurs disques pour aromagrammes sont déposés au centre de la boîte. Chaque disque est ensuite imprégné d'une quantité variable (entre 1 et 10 μ l) de l'huile essentielle sélectionnée. La boîte est ensuite fermée et mise à l'étuve à 37° pendant 12 à 18 heures.

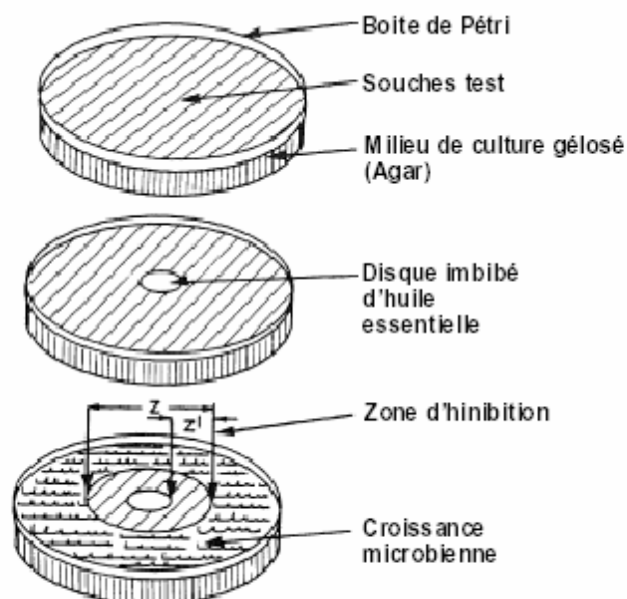
A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à de la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré et exprimé soit en cm, soit en mm.

La boîte de contrôle, réalisée pour chaque expérience, est une boîte ensemencée dont le disque déposé au centre de la gélose n'est pas imbibé d'huiles essentielles.

Le témoin est une boîte de Pétri ensemencée dans les conditions de l'expérience, sans disque.

Elle nous renseigne sur l'homogénéité du tapis bactérien.

Schéma illustrant la méthode des microatmosphères sur boîte de pétri



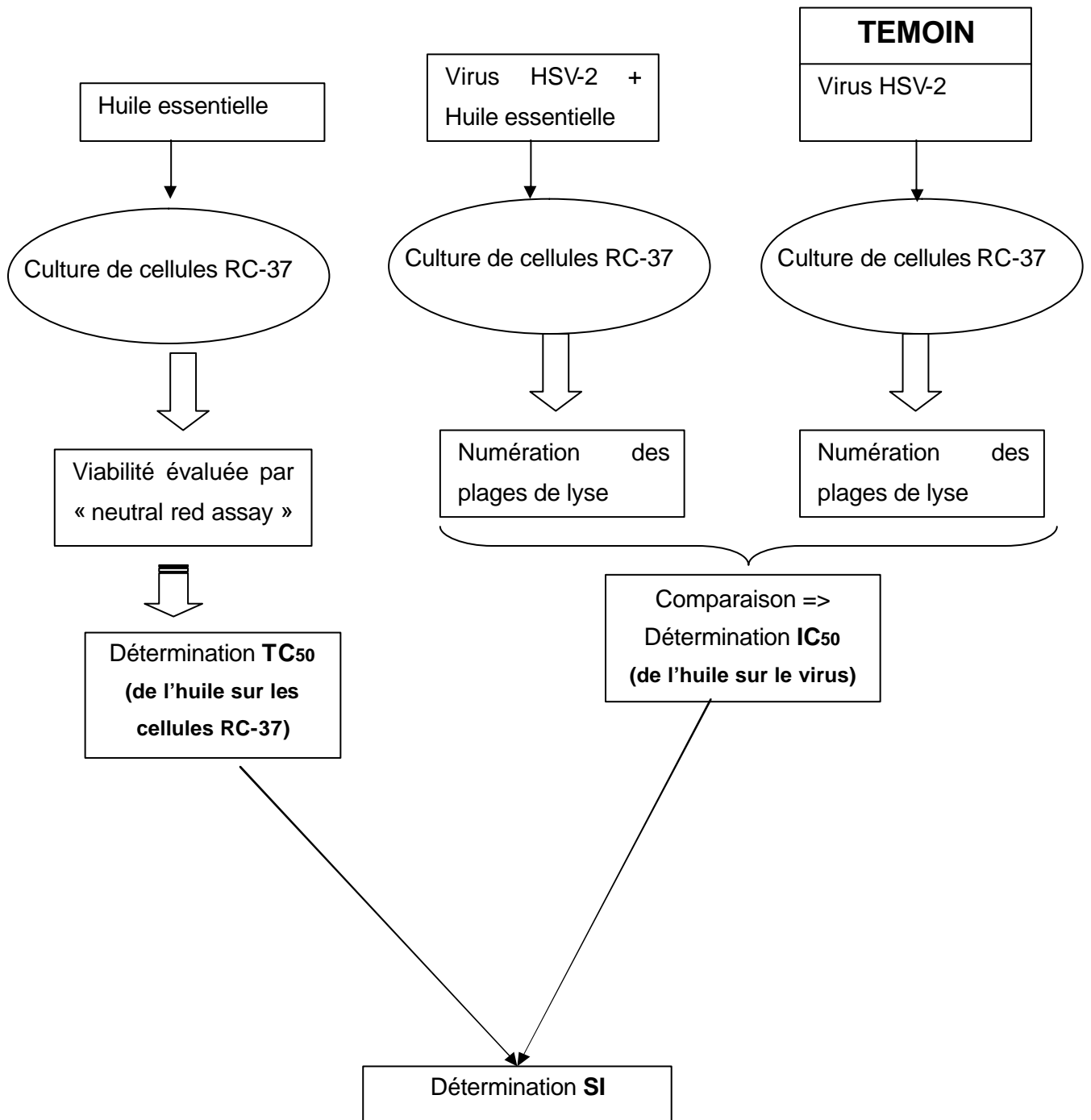
Zaïka, L. L. (1988). "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its Determination" *Journal of Food Safety* 9- 2: (97-118).

III) EXPRESSION DES RESULTATS

Dans la littérature relative aux huiles essentielles, les résultats des aromagrammes et des microatmosphères sont exprimés exclusivement à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions, en cm ou mm.

Annexe 4

Schéma de la méthode d'évaluation de l'activité virucide d'une huile essentielle sur HSV-2 (Koch C., Reichling J., 2007)



Annexe 5

Tableau comparatif des résultats des études sur les activités bactéricides, fongicides et virucides des huiles essentielles

Référence bibliographique	Nom de l'huile essentielle	Phase	Microorganisme cible	MIC	MBC (ou MLC)	MFC	IC50	Diamètre du halo d'inhibition Aromatogrammes/microatmosphère
BACTERIES								
Carson C. F., Hammer K. A., (2006)	Tea tree oil (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	?	<i>B.cereus</i>	0,3 % (vol/vol)				
Carson C. F., Hammer K. A., (2006)	Tea tree oil (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	?	<i>E.coli</i>	0,08-2 % (vol/vol)	0,25-4 % (vol/vol)			
Carson C. F., Hammer K. A., (2006)	Tea tree oil (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	?	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5-1,25 % (vol/vol)	1-2 % (vol/vol)			
Carson C. F., Hammer K. A., (2006)	Tea tree oil (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	?	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1-8 % (vol/vol)	2 - >8 % (vol/vol)			
Carson C. F., Hammer K. A., (2006)	Tea tree oil (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	?	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,5 - >8 % (vol/vol)	> 8 (vol/vol)			
Su H.-J., Chao C.-J.,(2006)	Lavande (<i>Lavandula angustifolis</i>)	Gazeux	"Bactéries de l'air ambiant"		+			
Su H.-J., Chao C.-J.,(2006)	Eucalyptus (<i>Eucalyptus globules</i>)	Gazeux	"Bactéries de l'air ambiant"		+			
Pibiri MC., (2005)	Origan vulgaire (<i>Origanum marjorana</i>)	Gazeux	<i>Staphylococcus aureus</i>					6,18 cm/ 6cm
Pibiri MC., (2005)	Sarriette des Montagnes (<i>Satureja montana</i>)	Gazeux	<i>Staphylococcus aureus</i>					5,7 cm/5,5 cm
Pibiri MC., (2005)	Thym à thymol (<i>Thymus vulgaris</i>)	Gazeux	<i>Staphylococcus aureus</i>					5,7 cm/5,2 cm
VIRUS								
Kocha C., Reichling J.,(2007)	Thymus vulgaris	Liquide	HSV-2				0,0007 %	

Référence bibliographique	Nom de l'huile essentielle	Phase	Microorganisme cible	MIC	MBC (ou MLC)	MFC	IC50	Diamètre du halo d'inhibition Aromatogrammes/microatmosphère
Kocha C., Reichling J.,(2007)	Tea tree oil (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	Liquide	HSV-1				0,0009 %	
Kocha C., Reichling J.,(2007)	Tea tree oil (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	Liquide	HSV-2				0,0008 %	
Kocha C., Reichling J.,(2007)	Anis (<i>Ilicium verum</i>)	Liquide	HSV-2				0,003 %	
Kocha C., Reichling J.,(2007)	Hyssop (<i>Hyssopus officinalis</i>)	Liquide	HSV-2				0.0006 %	
Kocha C., Reichling J.,(2007)	Gingembre (<i>Zingiber officinale</i>)	Liquide	HSV-2				0,0001 %	
Kocha C., Reichling J.,(2007)	Camomille (<i>Matricaria recutita</i>)	Liquide	HSV-2				0,00015 %	
Kocha C., Reichling J.,(2007)	Bois de Santal (<i>Santalum album</i>)	Liquide	HSV-2				0,0005 %	

CHAMPIGNONS

Bakkali F., Averbeck S.,(2007)	Origan (<i>Origanum compactum</i>)	?	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>			0,45 µl/ml (50% létalité)		
Bakkali F., Averbeck S.,(2007)	coriandre (<i>Coriandrum sativum</i>)	?	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>			1,6 µl/ml (50% létalité)		
Bakkali F., Averbeck S.,(2007)	Camphre (<i>Cinammomum camphra</i>)	?	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>			> 8 µl/ml (50% létalité)		
Bakkali F., Averbeck S.,(2007)	Armoise herbe blanche (<i>Artemisia herba alba</i>)	?	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>			> 8 ml/ml (50% létalité)		
Bakkali F., Averbeck S.,(2007)	Immortelle d'Italie (<i>Helichrysum italicum</i>)	?	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>			> 8 ml/ml (50% létalité)		

Référence bibliographique	Nom de l'huile essentielle	Phase	Microorganisme cible	MIC	MBC (ou MLC)	MFC	IC50	Diamètre du halo d'inhibition Aromatogrammes/microatmosphère
Su H.-J., Chao C.-J.,(2006)	Lavande (<i>Lavandula angustifolis</i>)	Gazeux	"Champignons de l'air ambiant"			+		
Su H.-J., Chao C.-J.,(2006)	Eucalyptus (<i>Eucalyptus globules</i>)	Gazeux	"Champignons de l'air ambiant"			+		
Pinto E., Pina-Vaz C. (2006)	Thymus Pulegioides	Liquide	<i>Candida albicans</i>	0,64 µl/ml	0,64 µl/ml			
Pinto E., Pina-Vaz C. (2006)	Thymus Pulegioides	Liquide	<i>Aspergillus niger</i>	0,32 µl/ml	0,64 µl/ml			
Pinto E., Pina-Vaz C. (2006)	Thymus Pulegioides	Liquide	<i>M.canis</i>	0,16 µl/ml	0,16-0,32 µl/ml			
Klaric MS., Kosalec I., (2006).	Thymus vulgaris	Liquide	<i>Aspergillus niger</i>	9,35 (+ 3,45) µg/ml		22,50 (+ 5,6) µg/ml		
Klaric MS., Kosalec I., (2006).	Thymus vulgaris	Liquide	<i>Penicillum spp</i>	18,95 (+ 11,4) µg/ml		28,13 (+ 12,18) µg/ml		

+	Effet fongicide ou bactéricide: Concentration non précisée dans l'étude
	Sans Objet

Annexe 6

Récapitulatif de l'IC₅₀ de quelques huiles essentielles contre HSV-1 et HSV-2

Source	Huiles essentielles testées	IC ₅₀ contre HSV-2	IC ₅₀ contre HSV-1
<i>Carson C. F., Hammer K. A., (2006)</i>	TTO	0,0009 %	0,0008 %
<i>Kocha C., Reichling J., (2007).</i>	Anis	0,003 %	Non testé
<i>Kocha C., Reichling J., (2007).</i>	Hysope	0,0006 %	Non testé
<i>Kocha C., Reichling J., (2007).</i>	Thym	0,0007 %	Non testé
<i>Kocha C., Reichling J., (2007).</i>	Gingembre	0,0001 %	Non testé
<i>Kocha C., Reichling J., (2007).</i>	Camomille	0,00015 %	Non testé
<i>Kocha C., Reichling J., (2007).</i>	Bois de santal	0,0005 %	Non testé

Annexe 7

Valeurs guides préconisées par les organismes de référence par type de polluant primaire

Organisme	Type de polluant		
	CO ₂	CO	PM ₁₀
OMS (2000)		52 ppm (30 min) 26 ppm (1 heure) 9 ppm (8 heures)	50 µg.m ⁻³ (moy. sur 24 heures) 20 µg/m ³ (moy annuelle)
AFSSET (2007)		30 µg.m ⁻³ (1 heure) 10 µg.m ⁻³ (8 heures)	
OSHA	5000 ppm		

Annexe 8

Valeurs guides pour le formaldéhyde et les particules de diamètre inférieur à 2,5 microns pour la qualité de l'air intérieur.

Organisme	Type de polluant	
	Formaldéhyde	PM _{2,5}
INDEX (UE) (2005)	30 µg.m ⁻³ (8 heures)	
AFSSET (2007)	50 µg.m ⁻³ (applicable sur 2 heures) 10 µg.m ⁻³ (exposition à long terme)	
OMS (2007)	100 µg.m ⁻³ (sur 30 min)	10 µg.m ⁻³ (moyenne annuelle) 25 µg.m ⁻³ (moyenne sur 24h)

Annexe 9

Cas rapportés de toxicité systémique liés à une ingestion de TTO [33]

Auteur	Age	Quantité ingérée	Symptômes
Jacobs (2004)	23 mois	< 10 ml de TTO pur	30 min après ingestion : démarche chancelante. Disparition des symptômes 5 h après administration du traitement (sorbitol et charbon activé).
Del Beccaro (1995)	17 mois	< 10 ml de TTO pur	Démarche chancelante 10 min après ingestion. Disparition des symptômes 5 h après admission à l'hôpital.
Morris (2003)	4 ans	2 cuillères à thé de TTO pur	Ataxie puis perte de conscience.
Seawright (1993)	Adulte	0,5 - 1,0 ml/kg de poids corporel	Patient comateux durant 12 h. Puis état semi conscient et hallucinatoire durant 36 h. Douleurs abdominales et diarrhée durant 6 semaines.
Elliott (1993)	60 ans	1 cuillère et demie	Eruptions cutanées sur les pieds, les genoux, la poitrine, les bras, les mains et les coudes. Disparition des éruptions une semaine après l'ingestion.