

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE 2001

THESE N° 852

**LES IMMUNOMODULATEURS NATURELS
UTILISES EN PROPHYLAXIE ET LORS DU TRAITEMENT
DES INFECTIONS ORL A RECIDIVES.**

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 17 décembre 2001

PAR

Melle Peggy BEAU

née le 3 décembre 1975 à Saint-Junien (87).

EXAMINATEURS DE LA THESE

Mr le Professeur CHULIA Albert.....	Président.
Mme ALLAIS Daovy.....	Juge.
Mme COOK-MOREAU Jeanne.....	Juge.
Mr MOMPEYSSIN Robert.....	Juge.

BOTINEAU Michel
CARDI Patrice
CLEDAT Dominique
COMBY Francis
DELEBASSEE Sylvie
DREYFUSS Marie-Françoise
EA KIM Leng
FAGNERE Catherine
FROISSARD Didier
FOURNIER Françoise
JAMBUT Anne-Catherine
LAGORCE Jean-François
LARTIGUE Martine
LIAGRE Bertrand
LOFTI Hayat
MARION Sandrine
MOREAU Jeanne
PARTOUCHE Christian
ROUSSEAU Annick
SIMON Alain
TROUILLAS Patrick

VIANA Marylène
VIGNOLES Philippe

BOTANIQUE et CRYPTOLOGAMIE
PHYSIOLOGIE
CHIMIE ANALYTIQUE
CHIMIE THERAPEUTIQUE
BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
CHIMIE ANALYTIQUE et BROMATOLOGIE
PHARMACODYNAMIE
CHIMIE ORGANIQUE
BOTANIQUE et CRYPTOLOGAMIE
BIOCHIMIE
CHIMIE THERAPEUTIQUE
CHIMIE ORGANIQUE
PHARMACODYNAMIE
SCIENCES BIOLOGIQUES
TOXICOLOGIE
CHIMIE THERAPEUTIQUE
IMMUNOLOGIE
PHYSIOLOGIE
PHYSIQUE-INFORMATIQUE
CHIMIE PHYSIQUE et CHIMIE MINERALE
BIOMATHEMATIQUES et INFORMATIQUE
PHARMACEUTIQUE
PHARMACIE GALENIQUE
INFORMATIQUE

ASSISTANT :

FAURE Monique

PHARMACIE GALENIQUE

PROFESSEUR CERTIFIE :

MARBOUTY Jean-Claude

ANGLAIS

ATER :

CALLISTE Claude
MARFAK Abdelghafour
RIAH DEHKORDI Homayoun
TALLET Dominique

BIOPHYSIQUE
BIOPHYSIQUE
PHYSIOLOGIE-PARASITOLOGIE
PHARMACOLOGIE

A Mr le Professeur Chulia,

pour son enseignement et pour avoir bien voulu accepter la présidence du jury.

A Mme Allais,

pour sa charge de directrice de thèse, pour sa gentillesse et sa disponibilité.

A Mme Moreau,

A Mr Mompeyssiin,

pour leur très apprécié et agréable encadrement parmi le jury.

A tous mes Professeurs d'Université,

pour leur précieux enseignement.

A toute l'équipe officinale de la pharmacie Mompeyssiin.

A mes parents,

A mes grand-parents,

A ma grand-mère,

A mon arrière grand-mère,

A mon oncle,

pour leur amour et leur constant soutien tout au long de ces années.

A ma sœur,
mon double caché et irremplaçable.

A Jérôme,
pour les promesses de bonheur à venir.

A Jean-François,
pour m'avoir montré le chemin.

A Fanny,
notre petit rayon de fraîcheur.

A toute la famille Hivert,
pour leur chaleureux accueil, et leur aide.

A Hélène et Chris,
pour leur présence à mes côtés.

A tous ceux qui m'ont aidé à devenir ce que je suis,
je dédie cette thèse...

SOMMAIRE

INTRODUCTION.

1^{ère} PARTIE : LES INFECTIONS ORL RECIDIVANTES.

LES ETIOLOGIES.

LES FACTEURS FAVORISANTS.

LES MESURES ET TRAITEMENTS PREVENTIFS.

2^{ème} PARTIE : PHARMACOLOGIE DE L'IMMUNOMODULATION.

LE SYSTEME IMMUNITAIRE.

DEFINITION D'UN IMMUNOMODULATEUR.

LES NIVEAUX D'ACTION DES COMPOSES IMMUNOMODULATEURS DANS
L'ORGANISME.

COMPLEXITE DE L'ETUDE CLINIQUE D'UN IMMUNOMODULATEUR.

3^{ème} PARTIE : LES IMMUNOMODULATEURS NATURELS.

1^{ère} SOUS-PARTIE : *ECHINACEA PURPUREA* MOENCH, *ECHINACEA PALLIDA* NUTT., *ECHINACEA ANGUSTIFOLIA* D.C.

UTILISATION A TRAVERS L'HISTOIRE.

IDENTIFICATION BOTANIQUE.

COMPOSITION CHIMIQUE.

COMPOSES PARTICIPANT A L'ACTION IMMUNOMODULATRICE.

LES ETUDES SUR L'IMMUNOMODULATION.

LES AUTRES ETUDES.

UTILISATION.

CONCLUSION.

2^{ème} SOUS-PARTIE : LA PROPOLIS.

DEFINITION.

HISTORIQUE DE SON UTILISATION.

LA PROPLIS ET LES ABEILLES.

COMPOSITION ANALYTIQUE.

PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES.

UTILISATION.

CONCLUSION.

3^{ème} SOUS-PARTIE : *LARIX OCCIDENTALIS*.

INTRODUCTION.

IDENTIFICATION BOTANIQUE.

ORIGINE DES ARABINOGALACTANES.

CARACTERISTIQUES PHYSIQUES.

ANALYSE CHIMIQUE.

PHARMACOCINETIQUE.

PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES SUR L'IMMUNOMODULATION PAR
ACTIVATION DES NK

ETUDES CLINIQUES SUR LES OTITES.

EFFETS SECONDAIRES ET TOXICITE.

UTILISATION EN THERAPEUTIQUE.

CONCLUSION.

CONCLUSION GENERALE.

INTRODUCTION

La vague annuelle d'affections respiratoires est parfois l'occasion de constater le caractère itératif de ces infections à récurrence qui touchent plus particulièrement le jeune enfant.

Dans la pathologie ORL récidivante, les infections virales tiennent une place prépondérante. Les complications qui en découlent font l'objet de surinfections bactériennes.

Il est établi que le caractère récurrent de ces pathologies a pour origine des causes multifactorielles.

Cependant un rôle majeur est joué par les virus qui provoquent un affaiblissement des défenses immunitaires de l'organisme, ainsi que par l'immaturation immunologique du jeune enfant à l'origine de complications bactériennes.

Pour corriger ces déficits, et ainsi pallier au risque de récurrence, de nombreux immunomodulateurs d'origine bactérienne ont été proposés en traitement prophylactique chez les sujets prédisposés ou affaiblis. La place dans cette indication est également faite aux vaccins spécifiques qui protègent efficacement et durablement mais dont le spectre d'action est limité.

Parallèlement à ces mesures préventives, il existe produits naturels pouvant moduler la réaction de défense du système immunitaire, ces composés sont : l'Echinacée, la Propolis et plus récemment découvert, le Méléze.

Ces immunomodulateurs ont la propriété d'interagir à différents niveaux avec le système immunitaire entraînant ainsi une « synergie » d'action avec les moyens de défense physiologiques de l'organisme.

Ces derniers ont prouvé une activité dans le renforcement de l'organisme face aux agressions à répétition et notamment face aux affections ORL.

Leur indication et leur utilisation thérapeutique dans le domaine de la prévention et du traitement des affections respiratoires à récurrence font l'objet de recherches cliniques actuelles.

Avant d'aborder l'étude de ces immunomodulateurs proprement dits, il semble utile d'énoncer les circonstances de récurrence des affections ORL et leur traitement dans la thérapeutique courante ; puis de rappeler les réactions de défense du système immunitaire et le niveau d'intervention dans ce système des composés immunomodulateurs en général.

1^{ère} PARTIE
LES INFECTIONS ORL RECIDIVANTES

I/ LES ETIOLOGIES.

De nombreux facteurs interviennent dans le caractère récurrent des infections respiratoires de la sphère ORL telles que les rhino-pharyngites.

Néanmoins il existe deux facteurs essentiels.

Le premier est en corrélation avec l'incidence de la pathologie ORL qui est plus élevée chez le jeune enfant. En effet, l'immaturation du système immunitaire, liée à l'âge est directement en cause (63).

Le second facteur est représenté par les affections virales qui provoquent un déficit localisé du système immunitaire.

Les virus sont la première cause d'agents pathogènes dans les infections ORL récidivantes. Il existe plus de 200 virus susceptibles d'induire une infection respiratoire (tableau 1). Ces virus ont une prédominance saisonnière nette et provoquent souvent des épidémies.

Les virus induisent une immunité spécifique locale de type Ig A, mais la durée de protection par les Ig A n'atteint au maximum que deux ans et ne protège pas contre les types hétérologues permettant ainsi les réinfections (59).

L'infection virale, par différents mécanismes, peut déséquilibrer l'équilibre hôte-bactérie et favoriser l'infection bactérienne en augmentant l'adhérence de certaines bactéries qui est une étape indispensable dans la pathogénie de ce type d'infections (42).

Les bactéries retrouvées dans les sécrétions rhinopharyngées d'un individu malade font partie de la flore commensale du nasopharynx. La prolifération bactérienne pathologique se fait consécutivement à une modification physiologique du terrain qui englobe une immuno-dépression induite par les virus ou par l'âge du malade.

La plupart des virus et des bactéries impliqués dans ces infections perturbent profondément les fonctions de défense immunitaire. En effet, ils produisent un dysfonctionnement des polynucléaires neutrophiles, ce qui entraîne une diminution du chimiotactisme, de la phagocytose et du pouvoir bactéricide de ces cellules (1).

	Rhino-pharyngites	Pharyngites	Laryngites	Bronchiolites
Rhinovirus (>89 sérotypes)	<u>+++</u>	++	+	+
Virus Respiratoire Syncitial (VRS)	+++	++	++	<u>++++</u>
<i>Para-influenzae</i> (1,2,3)	+++	++	<u>++++</u>	+
Adéno-virus (1,2,3,5) (>35 sérotypes)	++	<u>++</u>	+	+
Coronavirus	++	+	+	+
<i>Myxovirus influenzae A</i>	+	++	++	+
<i>Myxovirus influenzae B</i>	+	++	++	+
Coxsackies A et B (>72 sérotypes)	+	++	+	-
Echovirus	+	++	-	-

Tableau 1 : Virus et infections respiratoires (59).

II/ LES FACTEURS FAVORISANTS.

Diverses circonstances de survenue sont à considérer :

A/ LE TERRAIN.

► L'âge est un facteur essentiel.

Du fait du développement encore immature de ses moyens de défense, l'enfant est très préférentiellement touché.

► L'allergie.

On estime que le facteur allergique joue un rôle adjuvant de l'infection dans 10 à 20% des rhino-pharyngites chroniques ou récidivantes (66).

► Une carence en fer, vitamines et oligo-éléments peut être un facteur favorable à ces infections.

► Une malnutrition.

Une carence en protéines rend sensible aux infections.

► Un déficit immunitaire constitutionnel en Ig A sécrétoires.

Ce déficit reste exceptionnel.

B/ L'ENVIRONNEMENT.

► La vie en collectivité.

Un pédiatre du service de pédiatrie de Créteil a démontré que l'enfant en collectivité faisait en moyenne 5 infections fébriles en 8 mois, alors que l'enfant restant à la maison n'en présentait que deux (69).

► Un temps froid et humide.

La plupart des virus ont une survie plus longue dans l'air froid et humide que dans l'air chaud et sec. De plus l'air froid entraîne une vasoconstriction des vaisseaux de la muqueuse nasale, à l'origine d'une diminution des mouvements des cils excréant le mucus, favorisant la pénétration intracellulaire des virus et la prolifération bactérienne (66).

► Le tabagisme.

► La pollution urbaine.

III/ LES MESURES ET TRAITEMENTS PREVENTIFS.

A/ LES MESURES ETIO-PATHOGENIQUES.

On peut agir sur l'environnement du malade en prenant certaines mesures qui ont un rôle important dans la prévention des récurrences.

Certaines pratiques d'hygiène personnelle comme l'apprentissage du mouchage pour l'enfant, le lavage répété des mains sont des mesures essentielles pour mettre un frein aux récurrences.

Interviennent également la suppression du tabagisme familial, l'aération du logement ainsi que la modération de son chauffage et de son humidification moyenne, qui sont un tremplin à la prolifération microbienne.

Il est également nécessaire de pouvoir limiter autant que possible le passage en collectivité, et notamment la crèche.

L'envoi en moyenne altitude durant quelques semaines ou mois s'avère aussi très efficace quant aux récurrences.

Cependant les deux dernières mesures semblent difficilement applicables en regard du contexte socio-économique (66).

B/ CORRECTION DE L'ETAT PATHOLOGIQUE ASSOCIE.

Dans le cadre de recherches pour une prévention efficace, on constate qu'un état pathologique associé est susceptible d'avoir un rôle adjuvant sinon déterminant dans la genèse de la chronicité ou des récurrences de la pathologie ORL.

C'est la raison pour laquelle, il est recommandé de rechercher une carence en fer et d'y remédier.

La preuve d'une carence en vitamines et en oligo-éléments n'est pas évidente à déterminer, mais il est recommandé d'en associer systématiquement (Alvityl sirop®, Hydrosol polyvitaminé®...) (66).

C/ L'ANTIBIOTHERAPIE PREVENTIVE.

Le traitement d'une pathologie ORL aiguë s'accompagne souvent d'une antibiothérapie systématique si une complication a eu lieu lors d'une précédente infection. Cette attitude est discutée car son effet sur la prévention des complications éventuelles n'est pas définitivement établi (35,66).

Un traitement antibiotique hivernal continu a été préconisé pour réduire la fréquence des rhino-pharyngites bactériennes, et surtout celle de complications bactériennes, otites suppurées en particulier. Il s'agit de l'amoxicilline à la dose de 25 mg/kg/j en une seule prise quotidienne pendant 3 mois ; ou de l'association benzathine-benzylpénicilline (Extencilline®) à la dose de 600.000 unités de 2 à 6 ans et de 1.200.000 unités après 6 ans à prendre toutes les 3 semaines pendant les 3 mois d'hiver. L'efficacité de cette conduite est incertaine et ses inconvénients ne sont pas négligeables (66).

En effet la prescription, même préventive, d'antibiotiques a des répercussions non négligeables dans différents domaines.

Tout d'abord, il faut évaluer l'ampleur de l'impact écologique que de telles prescriptions représente. La résistance aux antibiotiques est fonction de l'importance de leur consommation. Quelle que soit la cause de la prescription (angines, otites, rhinopharyngites...), c'est au niveau de la flore nasopharyngée que s'opère l'évolution vers la résistance des pneumocoques ou des *Haemophilus* responsables d'infections ORL, mais aussi pulmonaires ou systémiques. En effet

ces derniers subissent une pression de sélection importante suite à la prise d'antibiotiques multiples.

Il est à noter, qu'en France, un enfant de moins de 30 mois reçoit en moyenne plus de 3 cures d'antibiotiques par an contre moins d'une cure par an chez un adulte. Ceci explique que soit retrouvé chez l'enfant les plus forts taux de résistance.

Parallèlement, le fait est de constater une possible inefficacité de l'antibiothérapie. Les macrolides sont inactifs sur *Haemophilus influenzae* et sur 50% des pneumocoques isolés du rhinopharynx de l'enfant. Les céphalosporines de première génération sont également inactives sur *Haemophilus influenzae*, à l'exception du céfaclor et de la céfatrizine, et sont peu actives sur les pneumocoques de sensibilité intermédiaire. Environ 40% des pneumocoques isolés du rhinopharynx ont une sensibilité diminuée aux β -lactamines. L'amoxicilline est inactive sur 20 à 30% des *Haemophilus influenzae*, mais elle reste active sur les pneumocoques de sensibilité intermédiaire (21,66).

Les effets indésirables sont à prendre en compte, car même s'ils sont bien tolérés, aucun antibiotique n'est entièrement dénué d'effets secondaires ; les plus fréquents sont les troubles digestifs, mais il y a aussi les interactions médicamenteuses, les allergies...

Enfin le coût économique est à prendre en compte car il est loin d'être négligeable.

D/ L'IMMUNOTHERAPIE.

Elle est proposée pour corriger un éventuel déficit immunitaire suite à un affaiblissement de l'organisme face à des agressions externes, ou pour renforcer l'immunité encore incomplète de l'enfant.

1/ L'ADMINISTRATION D'IMMUNOGLOBULINES.

Ce type d'injection réalise une immunothérapie passive par apport d'anticorps.

Les immunoglobulines G ont la faculté d'activer la voie classique du complément, de stimuler la phagocytose par les neutrophiles et les macrophages et de sensibiliser les cellules cibles pour permettre leur destruction par les cellules Natural Killer (NK) (56).

L'administration d'immunoglobulines a pour but de corriger l'hypo-Ig G transitoire du nourrisson mais également l'hypo-Ig G₂ toujours importante au cours des deux premières années. Il est théoriquement impossible qu'elles corrigent le déficit en Ig A sécrétoires puisque celles-ci ne sont pas présentes dans le sérum (48).

Cependant, il est à présent admis que les immunoglobulines intramusculaires en doses classiquement utilisées n'ont aucun effet préventif sur les rhino-pharyngites récidivantes et les otites. Toutefois, des travaux ont montré que l'administration par voie intraveineuse d'immunoglobulines riches en anticorps spécifiques pouvait avoir un effet préventif sur les infections à VRS mais aussi sur les otites à pneumocoque (69).

2/ LES IMMUNOMODULATEURS D'ORIGINE BACTERIENNE.

Les immunomodulateurs suivants sont ceux utilisés de nos jours en France en tant que traitement prophylactique pour renforcer les défenses immunitaires de l'organisme face aux affections ORL récidivantes (87).

Ils déterminent une immunothérapie active. Ils se composent d'extraits ribosomiaux, de protéoglycanes et de lysats bactériens.

Dans la pathologie expérimentale, ils protègent l'animal normal ou immunodéprimé contre la plupart des infections bactériennes. Ils interviennent à différents niveaux de la réponse immunitaire. Ils sont à l'origine d'une activation des cellules phagocytaires et notamment des macrophages, ils augmentent ainsi le chimiotactisme et la bactéricidie. Ils accroissent la synthèse des Ig A, stimulent les réponses lymphocytaires, ils augmentent la synthèse d'interféron et de certaines lymphokines (IL-1) (69).

Malgré de tels effets expérimentaux, les résultats cliniques chez l'enfant restent très modestes et ne procurent pas les effets escomptés (66,69).

Parmi ces immunomodulateurs, on distingue trois groupes :

► *le 1^{er} groupe* rassemble les antigènes des micro-organismes les plus fréquemment rencontrés. Ils opèrent une antigénothérapie polyvalente dans le but de faire apparaître les anticorps correspondants, en particulier les Ig A sécrétoires.

IRS 19® se présente sous forme de suspension nasale d'une solution antigénique. Il se compose de différents lysats bactériens. Chaque lysat correspond aux substances antigéniques contenues dans des suspensions microbiennes titrant 15 milliards de germes par millilitre. La nébulisation provoque une dispersion micronisée qui réalise un tapissage de la muqueuse nasale et permet une pénétration rapide du produit.

Il est indiqué dans le traitement curatif et préventif des lésions inflammatoires de la sphère ORL et des voies aériennes supérieures.

La posologie est de 2 nébulisations par jour dans chaque narine pendant 2 semaines en moyenne.

Son action curative, non spécifique, fait augmenter le taux de lysozyme et stimule la fonction phagocytaire.

Son action préventive spécifique permet une augmentation du taux des anticorps locaux (immunoglobulines de type A sécrétoires) (87).

Imocur® enfant se présente sous forme de gélules. Il contient différentes fractions bactériennes. Il est indiqué dans la prévention des infections récidivantes de la sphère respiratoire haute.

Le schéma thérapeutique usuel consiste en l'administration d'une gélule par jour, 10 jours par mois, pendant trois mois consécutifs.

Il est contre-indiqué chez l'enfant de moins de 1 an, et déconseillé chez les malades porteurs de maladies auto-immunes.

C'est un immunomodulateur non spécifique qui agit sur le recrutement et l'activation du macrophage. Il active également les lymphocytes T et potentialise la synthèse des Ig A sécrétoires (87).

► **le 2^{ème} groupe** est composé par les ribosomes bactériens et les protéoglycanes membranaires. Il stimule à la fois l'immunité à médiation humorale et à médiation cellulaire.

Ribomunyl® est commercialisé sous forme aérosol, injectable, de sachets et de comprimés.

Il est indiqué en traitement prophylactique des infections récidivantes bronchiques et de la sphère ORL.

La posologie diffère selon la forme d'administration, mais pour les comprimés et les sachets elle est identique : un comprimé ou sachet par jour le matin à jeun ; le 1^{er} mois, 4 jours par semaine pendant 3 semaines ; les 5 mois suivants, 4 jours par mois.

Il est déconseillé chez les malades porteurs de maladies auto-immunes.

Il stimule l'immunité spécifique et non spécifique en augmentant la phagocytose par les polynucléaires et les macrophages, il stimule les cellules T dépendantes ainsi que la production d'immunoglobulines sériques et sécrétoires (87).

► **le 3^{ème} groupe** comprend les glycoprotéines extraites de *Klebsiella pneumoniae*.

Bioestim® est présenté sous forme de gélules et de comprimés.

Il est indiqué dans le traitement prophylactique des infections respiratoires récidivantes chroniques.

Le schéma thérapeutique habituel exige une cure par mois pendant trois mois consécutifs, soit : - 1^{ère} cure de 8 jours à 2 comprimés ou gélules par jour suivi d'un

arrêt de 3 semaines,

- 2^{ème} cure de 8 jours à 1 comprimé ou gélule par jour suivi d'un arrêt de 3 semaines,

- 3^{ème} cure de 8 jours à 1 comprimé ou gélule par jour.

Il est contre-indiqué chez l'enfant de moins de 1 an.

Bioestim® est un immunomodulateur actif sur les différentes populations cellulaires et certains médiateurs immunologiques impliqués dans les défenses anti-infectieuses. Son action s'exerce à différents niveaux:

- sur les cellules phagocytaires :
 - * activation de la bactéricidie des polynucléaires *in vitro* et *in vivo*,
 - * augmentation de la phagocytose par les macrophages,
 - * augmentation des lignées granulomonocytaires dans la moelle osseuse et la rate *in vivo*,
 - * cytotoxicité naturelle des cellules NK accrue *in vivo*,

- sur l'immunité humorale (lymphocytes B):
 - * augmentation de la maturation des lymphocytes B *in vitro*,
 - * stimulation *in vivo* des cellules productrices d'anti-corps,

- sur l'immunité à médiation cellulaire (lymphocytes T) :
 - * augmentation de la prolifération lymphocytaire *in vitro*,

- action sur les médiateurs :
 - * augmentation *in vivo* du taux sérique des CSF (Colony Stimulating Factor) ; ce médiateur augmente la prolifération et l'activité des macrophages et des granuleux,
 - * augmentation *in vitro* de la production d'interleukine 1, considéré comme le premier signal immunologique (87).

Biostim® protège contre les infections bactériennes (intra ou extracellulaire), fongiques ou virales. Un effet synergique est observé *in vivo* avec l'ampicilline.

Chez l'adulte, l'efficacité de Biostim® a été prouvée par des essais contrôlés en double insu contre placebo. Ces essais ont permis d'observer une diminution des récives infectieuses en nombre et en durée ainsi qu'une diminution de la durée de l'antibiothérapie.

Chez l'enfant de plus de 1 an, l'action prophylactique des infections respiratoires récidivantes a été démontrée lors d'essais contrôlés en double insu contre placebo (87).

3/ LES VACCINS SPECIFIQUES.

Les vaccins spécifiques anti-*Haemophilus B*, anti-pneumococcique et anti-grippal peuvent avoir un intérêt dans la prévention des rhino-pharyngites et otites récidivantes.

a/ LE VACCIN HAEMOPHILUS.

Haemophilus influenzae B est responsable d'infections invasives telle que la méningite, mais aussi de complications broncho-pulmonaires.

Le vaccin anti-Hib joue un rôle mineur mais certain dans la prévention des otites à *Haemophilus influenzae B*. En effet, dans la plupart des études, on constate que 2 à 5% des otites à *Haemophilus* sont provoquées par *Haemophilus influenzae* du type B (52).

Il est par contre beaucoup plus difficile de prouver qu'il modifie la fréquence et la gravité de certaines rhino-pharyngites (69).

b/ LE VACCIN ANTI-PNEUMOCOCCIQUE.

Ce vaccin polysaccharidique est thymo-indépendant : il n'induit une séroconversion qu'à partir de l'âge de 2 ans.

Le pneumocoque est le principal germe responsable des otites moyennes aiguës de l'enfant.

La fréquence de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline, entraîne un intérêt accru pour la vaccination anti-pneumococcique (69).

c/ LE VACCIN ANTI-GRIPPAL.

Lors d'épidémies de grippe, on constate une recrudescence des otites moyennes aiguës. On a montré que cette vaccination effectuée avant l'âge de 6 mois entraînait une réduction significative des otites (69).

2^{ème} PARTIE

PHARMACOLOGIE DE L'IMMUNOMODULATION

I/ LE SYSTEME IMMUNITAIRE.

L'immunité est le terme initialement réservé à l'acquisition par l'organisme de défenses naturelles et spécifiques à la suite d'une infection.

Par extension, il désigne l'ensemble des mécanismes humoraux (immunité humorale) ou cellulaires (immunité cellulaire) protégeant l'organisme contre une agression infectieuse ou toxique (25).

L'immunothérapie qui en découle consiste à traiter certaines maladies ou déficits immunitaires au moyen de substances agissant sélectivement sur le système immunitaire.

Plus spécifiquement, l'immunoprophylaxie se traduit par la prévention des infections en sollicitant le système immunitaire de l'organisme.

Ce système immunitaire se caractérise par deux concepts traditionnellement utilisés pour décrire les différents mécanismes utilisés par l'organisme pour se défendre. Ces deux systèmes se dissocient par leur aptitude à reconnaître soit les antigènes libres, soit les antigènes associés aux cellules.

On distingue :

A/ L'IMMUNITE A MEDIATION HUMORALE.

C'est un système apte à reconnaître les antigènes (Ag) libres comprenant principalement les lymphocytes B, les anticorps (Ac), le système du complément (C), les cytokines...

On y trouve tout d'abord les anticorps dont la fonction première est de se lier à l'antigène mais aussi d'interagir avec les systèmes effecteurs et les tissus de l'hôte afin d'éliminer l'antigène. Parmi ces anticorps on distingue les immunoglobulines A, D, E, G et M.

Le système du complément est un groupe de molécules du sérum impliquées dans le contrôle de l'inflammation, dans l'élimination des complexes immuns et dans la lyse des

pathogènes ou des cellules reconnues par les anticorps. Le complément est majoritairement activé par la voie classique, celle des anticorps.

Les cytokines sont des protéines solubles qui modulent la différenciation et la multiplication des cellules souches hématopoïétiques ainsi que l'activation des lymphocytes et des phagocytes.

Les cytokines se composent d'interleukines, de monokines, de lymphokines, d'interférons, du facteur de nécrose tumorale (TNF), des facteurs stimulant les colonies (CSF).

On considère que l'équilibre entre aide et suppression, entre tolérance et réaction, entre réponse humorale et réponse cellulaire est sous le contrôle des cytokines (56).

B/ L'IMMUNITE A MEDIATION CELLULAIRE.

C'est un système apte à reconnaître les antigènes liés aux cellules.

On y trouve les lymphocytes T (effecteur ou suppresseur), les phagocytes, les cellules NK.

Le rôle des lymphocytes T est de reconnaître les antigènes provenant de l'intérieur des cellules de l'hôte. Les cellules T ont différentes fonctions :

- * les cellules T auxiliaires (Th, « helper ») sécrètent des cytokines, aident les cellules B à se diviser, à se différencier et à produire des anticorps,

- * les cellules T cytotoxiques sont capables de détruire les cellules cibles infectées par les virus,

- * les cellules T suppressives sont caractérisées par leur aptitude à réguler négativement les fonctions des cellules B ou d'autres cellules T.

Les phagocytes comprennent les monocytes sanguins, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. Leur fonction est de capturer les agents pathogènes, les antigènes et les débris cellulaires afin de les dégrader.

Les anticorps et les composants du complément, fixés sur les particules, facilitent ce processus.

Les macrophages présentent les antigènes internalisés aux lymphocytes.

Les cellules tueuses naturelles (Natural Killer ou NK) sont capables de détruire une grande variété de cellules cibles, soit infectées par un virus, soit transformées sans sensibilisation préalable (56).

C/ LA LUTTE ANTI-INFECTIEUSE.

1/ LA LUTTE ANTI-INFECTIEUSE NON SPECIFIQUE.

a/ LA PHAGOCYTOSE.

C'est le processus par lequel les cellules internalisent des particules et des micro-organismes. On peut arbitrairement décomposer ce processus en 4 étapes (56) :

- **Le chimiotactisme et l'activation des phagocytes.**

Le chimiotactisme consiste en l'orientation du mouvement des cellules en réponse à une stimulation par des médiateurs, qui peuvent être des molécules chimiotactiques tels que certains fragments du complément C3a et C5a, mais aussi des molécules libérées par des bactéries.

Lors de la présence pathogène d'un agent infectieux, cette stimulation chimique va permettre la migration active des cellules phagocytaires sur le site de l'infection.

L'activation des phagocytes décrit l'augmentation de l'activité anti-microbienne provoquée par les lymphokines et les fragments du complément.

- **L'adhésion.**

Le phagocyte va adhérer à la membrane de la particule à ingérer. Cette adhésion est rendue possible par la présence de récepteurs de membrane non spécifiques, ou spécifiques (récepteurs pour les Ig G ou le C3b).

Les particules, qui sont liées préalablement au Ig G ou au facteur activé du complément (C3b), sont capturées plus efficacement.

Cette association de molécules qui a pour fin de faciliter la capture s'appelle l'opsonisation.

- **L'endocytose.**

C'est le phénomène d'internalisation de la particule depuis l'extérieur vers l'intérieur de la cellule phagocytaire.

L'endocytose a pour but de former des vésicules intracellulaires, appelées phagosomes, qui contiennent les éléments phagocytés (débris cellulaires, micro-organismes...).

- **La fusion.**

Il s'agit de la fusion du phagosome avec un lysosome aboutissant à la formation d'un phagolysosome. Le lysosome est un organite que l'on trouve à l'intérieur des phagocytes, il contient des enzymes qui dégradent et digèrent les éléments phagocytés.

Les mécanismes de destruction de la particule sont variés :

- **Mécanisme dépendant de l'oxygène.**

Une enzyme de la membrane du phagosome (la NADPH oxydase) réduit l'oxygène en ion superoxyde (O_2^-) qui donne naissance aux radicaux hydroxyles (OH \cdot), à l'oxygène singulet (O^{\cdot}) et au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

La myéloperoxydase des lysosomes en présence d' H_2O_2 peut convertir les halogénures en composés toxiques tel que l'acide hypochloreux.

Ces réactions en chaîne sont à l'origine d'une bactéricidie dépendante de l'oxygène endommageant les particules endocytées.

- **Mécanisme de variation du pH.**

Dans le phagolysosome, immédiatement après la fusion, se produit une brève augmentation du pH qui va activer les protéases neutres (collagénases, élastases) et les protéines cationiques (qui attaquent la bicouche lipidique externe de certaines bactéries Gram-).

Ensuite le pH redescend et les protéases acides (glycosidases, nucléases, lipases, phosphatases acides) deviennent fonctionnelles.

■ Mécanisme enzymatique.

En plus du mécanisme de variation de pH, le lysosome libère des enzymes dont une muraminidase (le lysozyme) qui découpe une liaison du peptidoglycane de la paroi de certaines bactéries Gram+. Cette enzyme est produite par les neutrophiles et certains macrophages.

■ Autres mécanismes.

La lactoferrine des granules des neutrophiles peut se lier très fortement au fer, privant ainsi les bactéries de cet élément essentiel à leur survie.

Les macrophages, les monocytes et les polynucléaires neutrophiles ainsi activés sécrètent les interleukines IL-1 et IL-6 et le TNF α qui sont les principales cytokines responsables des mécanismes inflammatoires non spécifiques mais aussi de la réponse immunitaire spécifique contribuant à la défense anti-infectieuse (56).

Au cours de cette lutte non spécifique, il se produit :

- * une hyperthermie modérée favorisant la lyse des micro-organismes thermosensibles,
- * une activation des polynucléaires et des cellules NK,
- * une synthèse par les hépatocytes de protéines de la phase aiguë de l'inflammation,
- * une activation des fibroblastes à l'origine du dépôt et du remodelage des fibres de collagène intervenant dans le processus de cicatrisation (56).

b/ LES INTERFERONS.

Ce sont des molécules qui limitent l'extension des infections virales en s'opposant à la réplication virale intra-cellulaire, et en empêchant la transmission de la contamination virale de cellules à cellules par contiguïté. Elles ne sont pas spécifiques d'un virus donné.

Trois types d'interférons coexistent :

- l'IFN α et l'IFN β produits par les leucocytes et les fibroblastes,
- l'IFN γ produit par les lymphocytes T activés possède une faible activité antivirale.

Les interférons produits par les cellules activées ou par les cellules infectées par un virus se lient aux récepteurs des cellules voisines, les incitant ainsi à fabriquer des protéines antivirales.

L'IFN γ présente un certain nombre d'autres activités immunomodulatrices au delà de ses effets anti-viraux. Il est la principale cytokine activant les macrophages et favorisant ainsi la capacité de ces cellules à détruire les pathogènes (56).

2/ LA LUTTE ANTI-INFECTIEUSE SPECIFIQUE.

a/ INTERVENTION DES LYMPHOCYTES T CD4 ET T CD8.

Les polynucléaires monocytes et les macrophages sont également responsables de l'induction de la réponse immunitaire spécifique.

Ils phagocytent l'antigène, le dégradent en le dénaturant et l'externalisent à la surface de leur membrane sous forme de fragments peptidiques associés aux molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe I ou II. Ils font fonction de cellules présentatrices de l'antigène afin que les fragments peptidiques soient reconnus par les cellules de l'immunité spécifique (56).

Ces cellules présentatrices de l'antigène sécrètent en même temps l'IL-1 qui stimule les lymphocytes T.

Les particules virales sont exprimées à la surface des lymphocytes B reconnaissant l'antigène sous sa forme native. Ces lymphocytes B vont synthétiser des anticorps qui vont neutraliser efficacement ces fragments antigéniques.

Les lymphocytes T CD4, activés par l'IL-1, sécrètent de l'IL-2 entraînant une prolifération des lymphocytes T CD4. Les lymphocytes T CD4 sécrètent des cytokines qui vont entraîner une stimulation des lymphocytes B.

Après avoir reconnu l'antigène, les lymphocytes B vont se transformer en plasmocytes sous l'influence de facteurs de différenciation, et produire des anticorps spécifiques de l'antigène à l'origine de la réaction.

Lorsque les particules infectieuses occupent l'intérieur des cellules de l'hôte, un mécanisme de cytotoxicité directe se met en place. En effet les lymphocytes T CD8 sont responsables d'une toxicité directe particulièrement efficace dans la lutte contre les virus.

L'IL-2, sécrétée par les lymphocytes T CD4 activés, stimule aussi les lymphocytes T CD8 cytotoxiques.

Ces lymphocytes T CD8 effecteurs vont lyser les cellules infectées qui présentent l'antigène viral à leur surface par l'intermédiaire des molécules de CMH de classe I (56).

b/ LE SYSTEME DU COMPLEMENT.

Le système du complément est un système enzymatique composé d'un ensemble de protéines plasmatiques qui interviennent dans l'inflammation, dans l'opsonisation de particules antigéniques (notamment les micro-organismes) et dans la destruction des pathogènes.

Ces protéines sont des protéases qui s'activent les unes les autres par une série de protéolyses en cascade aboutissant à la formation d'un complexe capable de former des pores dans les membranes des cellules cibles et d'aboutir ainsi à la lyse de ces dernières (56).

Le système du complément peut être activé de 2 façons :

- **par la voie classique**, par interaction avec les complexes Ac-Ag,
- **par la voie alterne**, par contact avec certaines surfaces bactériennes ou virales.

II/ DEFINITION D'UN IMMUNOMODULATEUR.

Ce terme provient du latin *immunis* signifiant « exempt de », et de *modulari* qui veut dire « mesurer en cadence ».

Un immunomodulateur est une substance qui modifie l'activité du système immunitaire, tantôt en le déprimant, tantôt en le stimulant, selon les doses utilisées, la nature des éléments du système immunitaire concernés (macrophages, lymphocytes B ou T...) et les conditions d'administration de l'agent actif.

La notion d'immunomodulateur englobe aussi bien des produits naturels, synthétiques qu'issus de la biotechnologie (25).

Comme il n'existe pas à l'heure actuelle d'immunostimulants purs, en raison des phénomènes de rétroaction très efficaces et nécessaires du système immunitaire, le terme immunomodulateur est souvent employé à la place d'immunostimulant pour qualifier un composé accroissant l'efficacité du système immunitaire (25).

L'immunomodulation qui en résulte est la modification physiologique induite pharmacologiquement ou dans certaines conditions, par un immunomodulateur, d'un ou de plusieurs types de réactions immunitaires.

Les immunomodulateurs ont de très nombreuses applications cliniques potentielles dans les déficits immunitaires, les maladies infectieuses, les maladies auto-immunes, l'allergie et les cancers.

III/ LES NIVEAUX D'ACTION DES COMPOSES IMMUNOMODULATEURS DANS L'ORGANISME.

Les effets de cascades, les interférences entre les différentes cellules effectrices et les systèmes de régulation immunitaire rendent difficile la mise en évidence des sites d'action des immunomodulateurs stimulant le système immunitaire.

Les substances immunothérapeutiques agissent aussi bien par voie humorale que par voie cellulaire en se fixant sur des récepteurs à la surface des cellules immunocompétentes.

Les modifications qu'ils engendrent dépendent particulièrement de la nature du composé mis en jeu. Mais d'une manière plus globale, on les retrouve à différents niveaux d'action (4,38,98) :

- **Induction de la différenciation des lymphocytes T et des lymphocytes B.**

Cette transformation est elle-même sous la dépendance de facteurs dérivant des macrophages (Il-1, Il-6). De ce fait, des activateurs de macrophages peuvent promouvoir, de façon indirecte, une différenciation lymphocytaire.

- **Prolifération des lymphocytes T et des lymphocytes B.**

- **Stimulation de la migration et du chimiotactisme des macrophages.**

Ces activités sont sous l'influence de lymphokines produites par les lymphocytes T comme le Migration Inhibitory Factor et le Macrophage Chemoattractant Protein, d'où la possibilité d'une action indirecte à ce niveau également.

- **Prolifération des macrophages**

Une lymphokine, le Macrophage Mitogenic Factor, induit également cette stimulation.

- **Activation des macrophages.**

L'IFN γ produit par les lymphocytes T possède un effet sur cette activation.

Les macrophages activés libèrent des médiateurs, en particulier des dérivés de l'acide arachidonique comme les prostaglandines, le Platelet Activating Factor et des protéases, qui jouent un rôle à la fois dans la phase effectrice de la réponse immunitaire et dans la régulation de l'activation des lymphocytes T.

- **Induction de la libération d'interféron γ par les lymphocytes T.**

- **Activation directe ou indirecte du complément** (voie alterne) par l'intermédiaire de la libération de corticoïdes ou de prostaglandines, les produits de clivage C3a et C5a ayant une activité chimiotactique sur les polynucléaires neutrophiles.

- **Induction d'une légère activité pyrogénique.**

La fièvre entraînerait une activation de l'immunité par l'intermédiaire de l'IL-1. Les macrophages et les polynucléaires stimulés produisent également des pyrogènes. Les interférons ont aussi une activité pyrogène (4, 38, 98).

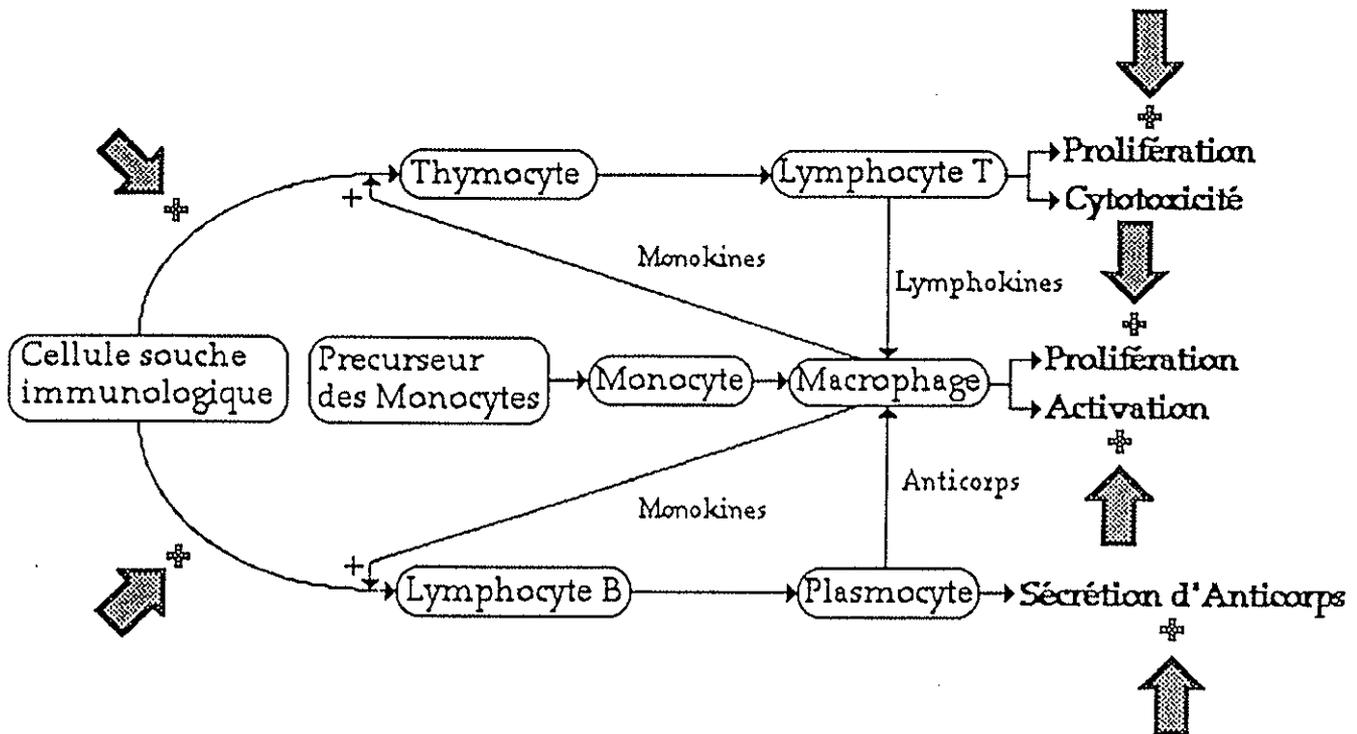


Schéma 1 : Principaux niveaux d'action des substances immunostimulantes
(38, 95, 98).

Le schéma 1 montre les principaux niveaux d'action dans l'organisme des substances immunomodulatrices.

IV/ COMPLEXITE DE L'ETUDE CLINIQUE D'UN IMMUNOMODULATEUR.

La complexité de mise en œuvre, d'interprétation et de comparaison des études cliniques chez l'homme ne provient pas de l'inactivité des composés.

Pour de nombreuses substances, on a pu dégager des activités stimulantes sur la réponse immunitaire de l'animal, sur des maladies expérimentales ou spontanées de l'animal (tumeurs, infections, maladies auto-immunes), sur la réponse immunitaire spécifique et non spécifique (cellules NK, macrophages) de l'homme.

Cependant, la connaissance physiopathologique des maladies ayant une composante immunologique étant encore très incomplète, il apparaît illusoire d'apporter une définition précise et rigoureuse du mécanisme cible du traitement utilisé (84).

De plus, de part la complexité du système immunitaire en ce qui concerne les mécanismes de régulation et rétroaction, il est rare qu'une activité à un niveau donné n'ait pas des répercussions plus ou moins indirectes sur d'autres composants du système immunitaire.

En dehors de l'utilisation d'anticorps monoclonaux, les traitements immunologiques n'ont pas souvent une cible unique et un effet spécifique sur un mécanisme exclusif. Même dans le cas où une spécificité pourrait être démontrée, l'intervention secondaire du système d'amplification, lui même non spécifique, devrait entraîner des effets supplémentaires (84).

De nombreux facteurs conditionnent également l'activité d'une substance immunomodulatrice (tableau 2).

IMMUNOSTIMULANT

- * structure, pureté, toxicité
- * effets pharmacologiques
- * dose, voie d'administration
- * moment d'administration

HOTE

- * espèce
- * facteurs génétiques
- * âge, sexe
- * nutrition
- * maladies intercurrentes et leur thérapeutique
- * stress, état du système nerveux

SYSTEME IMMUNITAIRE

- * macrophages
- * lymphocytes (populations, sous populations, nombre, fonctions)
- * cellules NK
- * autres cellules
- * croissance
- * maturation
- * interactions cellulaires et effet final
- * effets rétroactifs
- * production de lymphokines...

ANTIGENE, MALADIE

- * type de l'antigène, antigénicité
- * influence de la maladie sur le système immunitaire
- * influence sur les fonctions de l'hôte (hormones...)
- * rôle des réponses immunitaires dans la genèse et l'évolution de la maladie(en général inconnu)
- * difficulté dans la constitution de groupes homogènes de malades statistiquement utilisables (nombre, randomisation, évaluation...)

Tableau 2 : Facteurs intervenant dans l'activité d'un immunomodulateur (4).

L'évaluation de l'effet clinique est elle-même délicate. La réponse clinique est souvent progressive, parfois peu rapide et elle doit être distinguée de l'effet *placebo* qui peut être observé dans 20 à 30% des cas.

Le moment le plus approprié pour des essais cliniques initiaux est lorsque l'on dispose d'informations sur les cellules et les fonctions principalement mises en œuvre, et lorsque plusieurs tests ont démontré des effets immunologiques de la substance étudiée.

Cette évaluation nécessite des études préalables *in vitro* et *in vivo* chez l'animal. Une telle nécessité est importante non seulement pour des raisons toxicologiques et immunotoxicologiques mais aussi pour permettre d'évaluer l'effet de l'immunomodulateur.

La détermination de la dose d'immunomodulateurs intervenant dans les études est importante : certaines substances ont une activité fortement immunosuppressive à doses élevées, alors qu'ils sont immunostimulants à des doses plus modérées.

Les effets secondaires spécifiques éventuellement induits par ces substances ne doivent pas être redoutés de façon excessive, mais une surveillance est nécessaire (84).

L'avenir des immunomodulateurs est à une plus vaste application en thérapeutique.

Cependant, les expériences retirées des études cliniques (notamment pour les immunomodulateurs d'origine bactérienne) incitent à beaucoup de prudence dans les prévisions, en particulier dans l'anticipation des maladies à traiter (84).

3^{ème} PARTIE

LES IMMUNOMODULATEURS NATURELS

Trois espèces de plantes du genre *Echinacea* sont utilisées dans la médecine traditionnelle depuis plusieurs siècles pour de nombreuses propriétés.

Il a été découvert pour ces espèces l'existence d'une activité modulatrice notable sur le système immunitaire pour laquelle elles sont largement utilisées de nos jours en phytothérapie dans la prévention et l'aide au traitement des affections respiratoires récurrentes.

Plus récemment, des recherches ont montré qu'un composé spécifique contenu en grande quantité dans l'écorce de mélèze, l'arabinogalactane, avait pour propriété de renforcer la réponse immunitaire de l'organisme dans ces mêmes indications.

De même, la propolis, produit naturel constitué de sécrétion végétale de bourgeons d'arbres, récoltée par les abeilles butineuses et enrichie de leur propres sécrétions, est employée dans cette indication.

L'étude se propose de mettre en évidence, par ordre d'ancienneté d'utilisation dans cette indication, les propriétés immunomodulatrices de ces plantes et produit naturel utilisés dans la thérapie française pour prévenir et combattre les affections respiratoires.

Pour cela, on étudiera l'Echinacée, puis la propolis et enfin l'arabinogalactane du mélèze.

1^{ère} SOUS-PARTIE

***ECHINACEA PURPUREA* MOENCH.,**

***ECHINACEA PALLIDA* NUTT.,**

***ECHINACEA ANGUSTIFOLIA* D.C.**

I/ UTILISATION A TRAVERS L'HISTOIRE.

A/ CHEZ LES AMERINDIENS.

Les premières personnes à avoir utilisé les plantes du genre *Echinacea* pour leur vertus thérapeutiques, furent ceux qui vécurent dans les zones où elles poussaient à l'état sauvage, en l'occurrence en Amérique du Nord.

En effet, dès le XVII^{ème} siècle des extraits, infusions, teintures, pommades contenant différentes parties de cette plante de la famille des Astéracées, sont utilisés couramment dans la médecine traditionnelle des indiens aborigènes du continent nord-américain (Nebraska, Missouri...).

Les tribus Cheyenne, Sioux, Omaha, Osage et Crow l'employaient comme vulnéraire et cicatrisant en applications locales contre les entorses, les hématomes, les plaies ouvertes, les morsures de serpent...

En usage interne, ces tribus utilisaient la plante pour guérir les états fébriles, les céphalées, les douleurs gingivales, la toux, les maux d'estomac, les désordres intestinaux liés à un refroidissement et même la syphilis chez les tribus Delawara et Choctow qui vécurent sur la côte Atlantique (18,43).

B/ AUX ETATS-UNIS A LA FIN DU XIX^{ème} SIECLE.

A la fin des années 1800, vers 1885, le médecin américain Meyer, commercialise, en tant que dépuratif sanguin, le « Meyer's Blood Purifier » qui est un extrait de la racine fraîche d'*Echinacea angustifolia* (44).

A la suite de cela, démarre le commerce, aux États Unis, des extraits d'*Echinacea* comme agent anti-infectieux. Dès lors, les utilisations de préparations à base d'*Echinacea* connurent un essor considérable.

C/ EN EUROPE A PARTIR DU DEBUT DU XX ème SIECLE.

La plante fut introduite en Europe vers 1895 et fut utilisée sous forme de préparations homéopathiques notamment en Allemagne pour les mêmes indications que celles qui avaient dominées aux USA :

- les infections accompagnées de frissons ou de fièvre,
- les états inflammatoires chroniques ou aigus,
- les douleurs dentaires,
- les affections cutanées en usage externe dont les piqûres d'insectes, les plaies, les blessures en tout genre et également les brûlures .

Sa culture démarra à la fin des années 1930 en Allemagne suite à une demande croissante et pour faire face aux ruptures de stock (9).

D/ DE NOS JOURS.

De nos jour, on relève 4 grands pôles d'intérêt :

- dans les infections chroniques et chez les personnes fragilisées (enfants, immunodéprimés, personnes âgées), l'Echinacée est utilisée en thérapeutique préventive ou adjuvante aux traitements classiques, notamment antibiotiques,
 - dans les états inflammatoires aigus ou chroniques (polyarthrite...),
 - dans de nombreuses affections cutanées en usage externe comme vulnéraire et cicatrisant,
 - dans les asthénies, les états de faiblesse, le retard au rétablissement après une infection ou une opération.

L'Allemagne demeure le pays où l'utilisation des Echinacées en thérapeutique et leur commercialisation sont les plus développées.

Le genre *Echinacea* ne figure pas à la Pharmacopée française X^{ème} édition, cependant il figure sur la liste A des plantes reconnues médicinales.

La popularité de l'Echinacée dans le domaine de renforcement des défenses de l'organisme face aux agressions extérieures, n'a pas décliné. Elle reste au cœur de l'actualité scientifique en ce qui concerne son rôle de prévention et de traitement des infections respiratoires hautes (37).

II/ IDENTIFICATION BOTANIQUE.

A/ HISTORIQUE DE SA DENOMINATION.

L'Echinacée aurait été récoltée pour la première fois en Virginie par un Révérend en 1680 et envoyée à des botanistes européens.

Le Professeur de botanique R. Morison de l'université d'Oxford appela cette fleur conique pourpre (Purple Coneflower) « La morsure du diable » et lui donna le premier nom de *Dracunculus virginianus latifolius, petalis florum longissimis purpurascens* traduit par « Petit dragon de Virginie ayant des fleurs avec de longs pétales pourpre-rougeâtre projetés en dehors sur le côté ».

Etymologiquement, *Echinacea* vient d'*echinus* signifiant « hérisson » qui est l'aspect du capitule à la fructification.

B/ CLASSIFICATION.

embranchement : Spermaphytes

sous-embranchement : Angiospermes

classe : Dicotylédones

sous-classe : Sympétales

ordre : Campanules

famille : Astéracées
sous-famille : Tubuliflores
tribu : Heliantheae
sous-tribu : Helianthinae.

C/ HABITAT.

Les espèces étudiées du genre *Echinacea* sont des plantes calcicoles nord-américaines poussant à l'état sauvage dans les prairies, à flanc de colline, sur des pentes plus ou moins arides, et sur des bancs de sable asséchés. Elles peuvent être parfois cultivées (5).

L'espèce *E. purpurea* Moench se rencontre dans l'état du Missouri, dans l'Ohio, le Tennessee ainsi que dans les régions nord de la Georgie, l'Alabama et le Mississippi.

Les espèces *E. angustifolia* D.C. et *pallida* Nutt. sont fréquentes au nord et au sud des Etats-Unis (32).

D/ CARACTERES BOTANIQUES.

La famille des Astéracées à laquelle appartient *Echinacea* se caractérise par :

- une inflorescence en capitule,
- le fruit qui est un akène.

1/ CARACTERES MACROSCOPIQUES.

Il existe 9 espèces décrites dans le genre *Echinacea* dont celles utilisées en thérapeutique : *purpurea*, *angustifolia* et *pallida*.

a/ *ECHINACEA PURPUREA* MOENCH.

La drogue est constituée par la tige feuillée et fleurie, fraîche.

Echinacea purpurea M. est une plante herbacée, sa tige est verte et vigoureuse.

La partie basale est arrondie et non ramifiée, le tiers supérieur est légèrement côtelé et porte des ramifications.

Les rameaux fleuris sont épaissis, partiellement sillonnés et creux.

L'épiderme, vert clair, présente souvent des stries longitudinales de couleur brune à gris-violacé. Des poils tecteurs courts et recourbés vers le bas donnent à la tige un aspect presque glabre dans sa partie basale et à peine duveteux dans ses parties apicales.

Les feuilles caulinaires plus ou moins dentées sont alternes, pétiolées et ovales, à nervation pennée à cinq nervures. Le limbe mesure environ 20 cm de long et 8 cm de large près de sa base. Les feuilles basales forment une rosette d'environ 35 cm de hauteur.

L'inflorescence est un capitule pourpre entouré d'un involucre constitué par trois ou quatre rangées de bractées lancéolées triangulaires, imbriquées. Le capitule jeune est plat, il évolue rapidement en formant un réceptacle conique d'environ 3 cm de haut, recouvert de fleurons tubulaires de couleur pourpre foncé. A maturité, l'inflorescence mesure 3 à 5 cm sans compter les fleurs en languette de couleur pourpre-violacé, mesurant 4 à 6 cm chacune (32).

b/ *ECHINACEA PALLIDA* NUTT.

C'est un arbuste pouvant atteindre 1,20 m de hauteur.

La tige est le plus souvent non ramifiée. Les feuilles sont lancéolées, entières et à poils rugueux sur les deux faces.

Les capitules floraux sont composés de fleurs ligulées blanches, roses ou pourpres, pendantes de 4 à 9 cm de long.

Les grains de pollen, blancs, ont un diamètre d'environ 25 à 32 μm .

Le fruit est un akène glabre à aigrette.

Les racines possèdent des bords irréguliers, à face supérieure rouge-brun à gris-brun, striée longitudinalement et à cassure courte et fibreuse. La cassure transversale laisse apparaître une zone corticale de 1 mm d'épaisseur au maximum et un xylème parcouru de stries radiales jaunâtres et gris-noir. Le centre est jaune blanchâtre et le plus souvent circulaire. L'accumulation de phytomélanine noire, sous forme de rayures, et dont la taille dépend de la drogue est caractéristique. Aucune différence morphologique ne la distingue d'*E. angustifolia*.

Les racines nécessitent au moins 3 ans de croissance avant d'être récoltées en octobre et novembre (97).

c/ ECHINACEA ANGUSTIFOLIA D.C.

C'est un arbuste pouvant atteindre 60 cm de hauteur.

La tige est simple ou plus rarement ramifiée. Les feuilles sont oblongues, lancéolées à elliptiques, entières à poils rugueux. Les feuilles les plus basses sont pétiolées, celles du haut sont sessiles.

Les hampes florales portent des fleurs ligulées blanches, roses ou pourpres, lancéolées, entières et écartées, de 2 à 4 cm de long, s'épanouissant de juillet à octobre.

Les grains de pollen sont jaunes et d'un diamètre de 19 à 26 μm .

Le système racinaire est fortement développé et se compose de plusieurs racines fortes s'enfonçant perpendiculairement et se comportant comme une racine pivotante (97).

ESPECE	<i>ECHINACEA PURPUREA</i>	<i>ECHINACEA ANGUSTIFOLIA</i>	<i>ECHINACEA PALLIDA</i>	<i>PARTHENIUM INTEGRIFOLIUM</i>
Hauteur de la plante	60 - 150 cm	10 - 60 cm	30 - 100 cm	30 - 130 cm
Tige	Ramifiée	Simple Souvent ramifiée	Simple Rarement ramifiée	Ramifiée
Forme des feuilles basales	Ovale	Lancéolée	Lancéolée	Ovale Elliptique
Bord de la feuille	± Denté	Entier	Entier	Crénelé-denté
Capitule	Isolé 	Isolé 	Isolé 	Nombreaux panicules ombelliformes 
Fleurs tubuleuses	Fertiles	Fertiles	Fertiles	Stériles
Fleurs ligulées	Pendants	± Horizontales	Pendants	Dressées
Couleur	Pourpre	Pourpre	Jaune pâle	-
Longueur	2 - 4 cm	2 - 4 cm	4 - 9 cm	1,5 - 3 cm
Stigmates				
Couleur du pollen	Jaune	Jaune	Blanc	Blanc
Dimension	18 - 25 µm	19 - 26 µm	25 - 32 µm	12 - 22 µm
Type pollinique	Verruqueux			Épineux 

Schéma 2 : Critère de diagnose des organes aériens des espèces d'*Echinacea* (41).

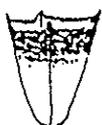
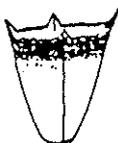
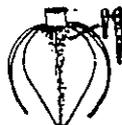
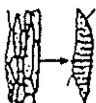
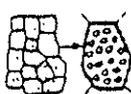
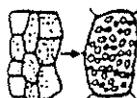
AKENES	<i>ECHINACEA PURPUREA</i>	<i>ECHINACEA ANGUSTIFOLIA</i>	<i>ECHINACEA PALLIDA</i>	<i>PARTHENIUM INTEGRIFOLIUM</i>
Longueur	4.0 - 5.5 mm	3.5 - 5.5 mm	4.5 - 6.5 mm	2.5 - 3.4 mm
Section transverse				
Couleur	Gris - brun	Blanchâtre-brun clair	Blanchâtre-brun clair	Noir
Pigmentation	Absente	Présente	Présente	Absente
Forme				
Structure de l'épiderme tégumentaire				
Dimension cellulaire	60 x 10 μ m	20 x 10 μ m	30 x 15 μ m	
Pappus coalescent avec l'akène	Absent	Absent	Absent	Présent

Schéma 3 : Critères de diagnose des akènes (41).

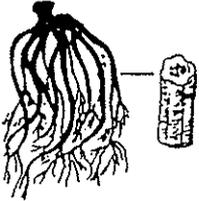
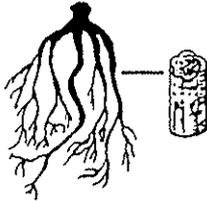
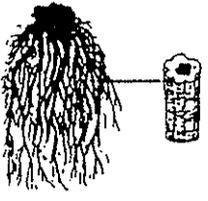
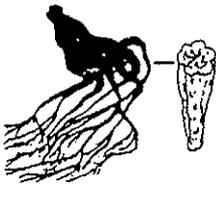
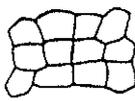
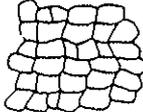
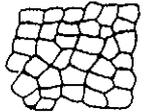
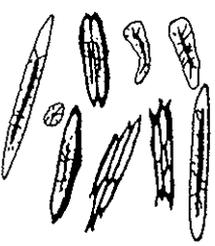
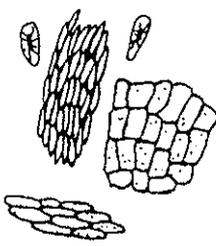
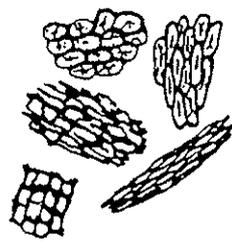
	<i>Echinacea pallida</i>	<i>Echinacea angustifolia</i>	<i>Echinacea purpurea</i>	<i>Parthenium integrifolium</i>
Système racinaire				
Couleur	brun clair	brun clair	rouge-brun	noir
Épiderme de la racine Vue du dessus				
Dimensions de la cellule	40 × 80 μm	45 × 30 μm	50 × 30 μm	50 × 20 μm
Cellules à cristaux (CC) et fibres sclérenchymateuses (FS)	le plus souvent isolées ou en amas de 2 à 4 cellules	groupes de 2 à 8 cellules	souvent absentes ou isolées	vastes groupes de 5 à 30 cellules
Longueur CC/FS	50-400/100-300 μm	50-150/300-800 μm	50-120/300-800 μm	50-150/200-350 μm
Poches à huile essentielle	Zone corticale + xylème	Zone corticale	Zone corticale	Zone corticale + partie médullaire
Stockage de phytomélanine	présence	présence	absence	présence
Sclérites dans la poudre de la drogue				

Schéma 4 : Caractères morphologiques et anatomiques des racines de quelques espèces d'*Echinacea* (41).

d/ POSSIBILITES DE CONFUSION.

Il existe de nombreuses possibilités de confusions dans la reconnaissance des Echinacées. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle on utilise trois espèces différentes en thérapeutique.

Echinacea angustifolia D.C. fut la première espèce cultivée et produite à des fins médicinales, bien que les amérindiens utilisèrent plusieurs espèces différentes.

A la fin des années 1930, face à une demande en thérapeutique croissante et à un approvisionnement européen insuffisant, un médecin allemand se rendit aux USA afin de se procurer des graines d'*Echinacea angustifolia* D.C. pour réaliser une culture indigène de grande importance. A cette époque, aux USA, l'Echinacée étant en perte d'intérêt, le médecin allemand réussit difficilement à se procurer les graines, mais il s'agissait en réalité de l'espèce *purpurea* Moench.

C'est ainsi qu'*Echinacea purpurea* M. fut employée dans la thérapeutique allemande à la place d'*Echinacea angustifolia* D.C. (39).

De même, *Echinacea pallida* Nutt. est utilisée en thérapeutique, car cette espèce et *Echinacea angustifolia* D.C. ont souvent été confondues au cours du temps.

Il est à noter une possibilité de falsification des 3 espèces d'*Echinacea* par une autre Astéracée qui est *Parthenium integrifolium* L. En effet, *Parthenium integrifolium* L. possède des caractères botaniques très proches de ces 3 espèces d'*Echinacea* ; d'où la nécessité de contrôles rigoureux afin de bien identifier l'espèce et déceler une éventuelle falsification.

Espèces	<i>E. angustifolia</i>	<i>E. pallida</i>	<i>E. purpurea</i>
Hauteur de la plante	40 à 60 cm	60 à 120 cm	60 à 150 cm
	1 m en culture		1,8 m en culture
Ligules	L= 2 à 4 cm	L= 4 à 9 cm	L= 4 à 6 cm
	espacés	tombants	tombants
Couleur pollen	jaune	blanc	jaune
Feuilles	lancéolées	lancéolées	lancéolées
	à bords entiers	à bords entiers	à bords entiers
Nombre de chromosomes	n = 11	n = 22	n = 11

Tableau 3 : Distinction pratique entre les trois Echinacées utilisées en phytothérapie (71).

2/ EXAMEN MICROSCOPIQUE d'ECHINACEA PURPUREA MOENCH.

a/ LA TIGE.

L'examen d'une section transversale de la tige (schéma 5) révèle une cuticule épaisse recouvrant une couche de cellules épidermiques bombées.

Le parenchyme corticale est constitué par quelques assises de cellules chlorophylliennes polygonales.

Le péricycle est formé par un anneau discontinu de fibres qui coiffent et entourent les faisceaux cribro-vasculaires.

Les rayons médullaires et la moelle centrale, large, sont formés de cellules non différenciées (32).

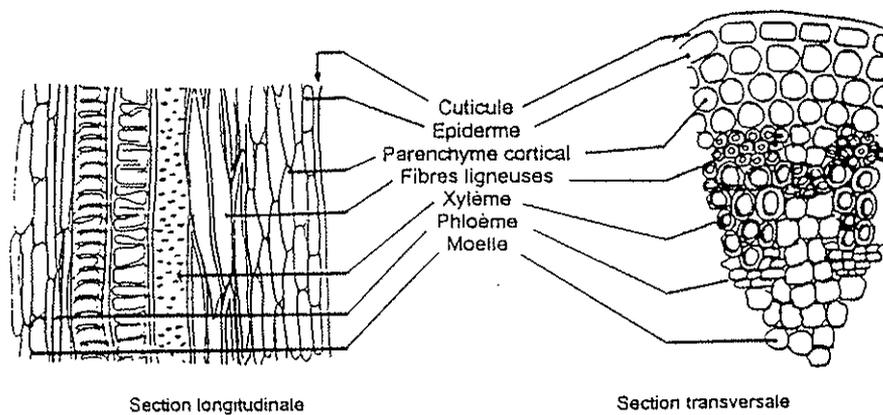


Schéma 5 : Examen microscopique d'une section de tige d'*Echinacea purpurea* M.(32).

b/ LA FEUILLE.

L'examen d'une section transversale de la feuille (schéma 6) montre une cuticule épaisse recouvrant l'épiderme supérieur et quelques rares trichomes, petits et courbes.

Le mésophylle est différencié en tissu palissadique, formé par deux assises cellulaires et un tissu spongieux, puis une couche de cellules moins typiques de disposition assez lâche.

Une section transversale réalisée au niveau de la nervure médiane montre de longs poils tecteurs recourbés, unisériés, pluricellulaires, à paroi cellulaire épaisse et verruqueuse.

Le faisceau libéro-ligneux est renforcé par des fibres de phloème identiques à celles de la tige (32).

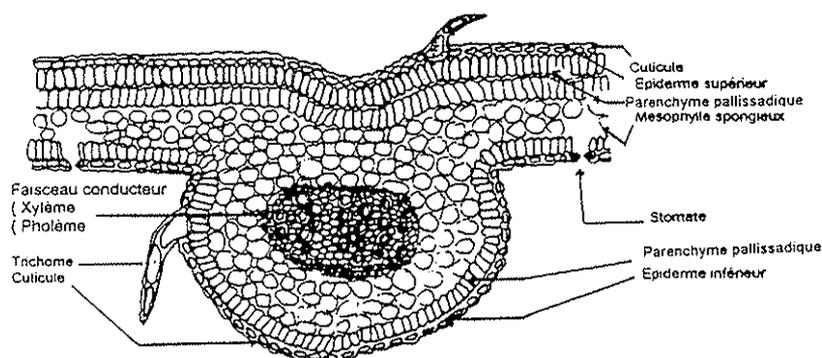


Schéma 6 : Examen microscopique de la section transversale de la feuille à la nervure médiane d'*Echinacea purpurea* M. (32).

c/ LE CRYOBROYAT DE PLANTES FRAICHES.

La drogue fraîche pulvérisée par cryobroyage montre des fragments de faisceaux vasculaires comportant des faisceaux réticulés et ponctués accompagnés de fibres libériennes lisses et longues.

Des fragments épidermiques d'origines diverses peuvent être identifiés : ceux de la tige sont composés de cellules allongées à disposition compacte, alors que ceux de la feuille sont constitués par des cellules à paroi presque rectiligne, aux contours très légèrement sinués, entourant de nombreux stomates anomocytiques.

Des cellules polygonales riches en chloroplastes sont visibles ; elles proviennent du mésophylle, aussi bien du tissu palissadique que du mésophylle spongieux.

De nombreux grains de pollen jaunes, à exine verruqueuse, sont isolés ou groupés dans les sacs polliniques.

Les poils tecteurs épidermiques sont pluricellulaires, unisériés à paroi cellulaire verruqueuse et lumen central (32).

III/ COMPOSITION CHIMIQUE DES ECHINACEES UTILISEES EN THERAPEUTIQUE.

A ce jour, plus d'une centaine de composés ont été isolés des Echinacées utilisées en thérapeutique.

Ces composés sont présents dans les parties actives (racines et tiges feuillées) des trois espèces d'Echinacées utilisées en phytothérapie : *E. purpurea* Moench, *E. angustifolia* D.C., *E. pallida* Nutt.

A/ L'EAU.

Elle constitue 70 à 90% du poids de la plante fraîche (99).

B/ LES VITAMINES ET SELS MINERAUX.

La quantité d'acide ascorbique retrouvée dans les fleurs d'*E. purpurea* M. équivaut à 0,2% du poids de la drogue sèche.

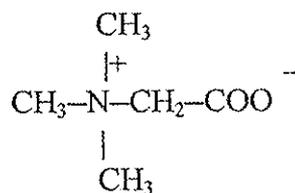
Le taux de cendres est d'environ 7 à 8% chez *E. purpurea*.

On y trouve de l'aluminium, du calcium, du fer, du magnésium et de la silice.

C/ LES ACIDES AMINES.

Un dérivé des acides aminés a été isolé puis dosé dans des extraits d'*E. purpurea* M. et *E. angustifolia* D.C. après extraction méthanolique (79).

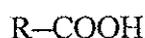
Il s'agit de la glycine bêtaïne :



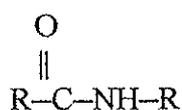
D/ LES ACIDES GRAS ET LEURS DERIVES.

On trouve dans les parties actives des acides gras et des composés formés au cours du métabolisme de ces acides gras, qui sont :

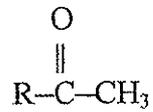
- Les **acides gras** proprement dits, à chaîne aliphatique saturée ou non, et leurs dérivés pouvant être hydroxylés. C < 20.



- Les **alkylamides** possédant une chaîne aliphatique polyinsaturée et une chaîne carbonée courte. C < 20.



- Les **polyacétyléniques** à chaîne aliphatique polyinsaturée et leurs dérivés pouvant être hydroxylés. C < 20.
- Les **cétoalcènes** et **cétoalcynes** à chaîne aliphatique polyinsaturée et leurs dérivés pouvant être hydroxylés. C < 20.



En effet, le métabolisme des acides gras peut se schématiser de la façon suivante (schéma 7) :

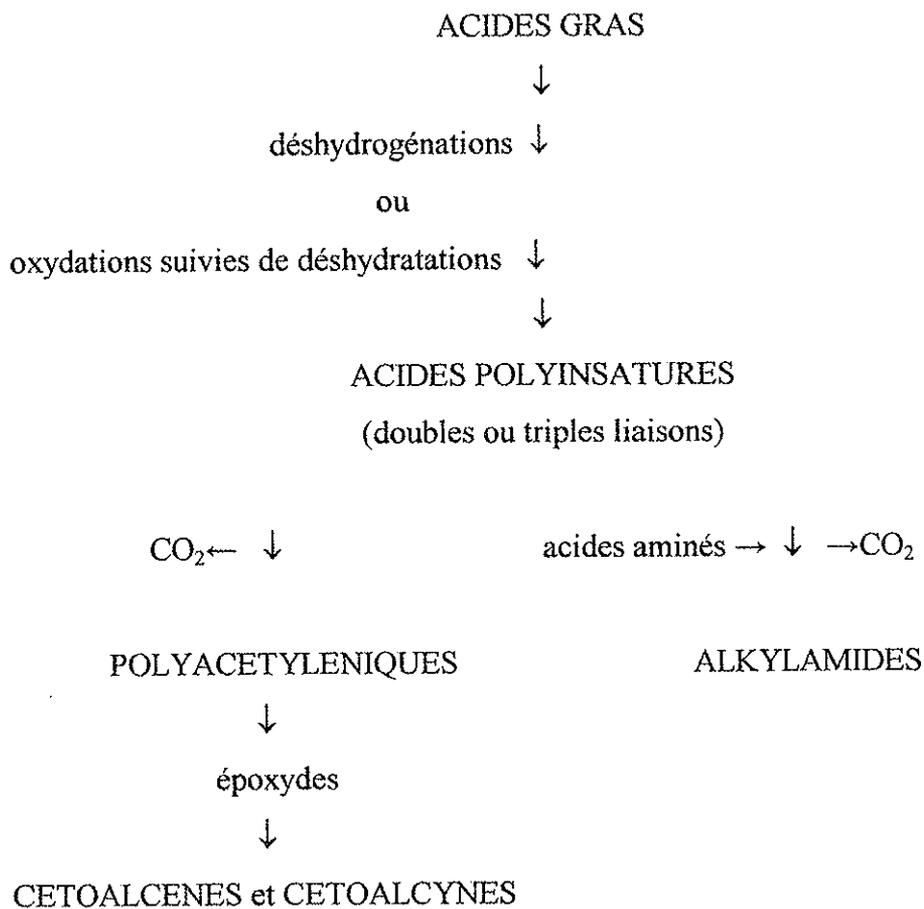


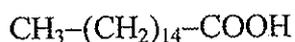
Schéma 7 : Métabolisme des acides gras.

1/ LES ACIDES GRAS.

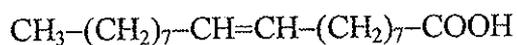
Ils sont présents dans les racines :

• chez *E. angustifolia* D.C. et *E. pallida* N., on trouve : les acides palmitique, oléique et linoléique.

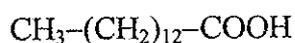
•chez *E. purpurea*, on trouve les acides myristique, palmitique, stéarique, linoléique et linoléinique (50) :



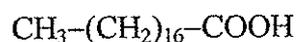
Acide palmitique.



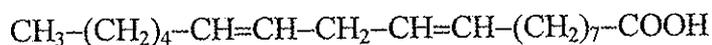
Acide oléique.



Acide myristique.



Acide stéarique.



Acide linoléique.



Acide linoléinique.

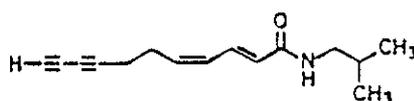
2/ LES ALKYLAMIDES.

Ces composés sont isolés des fractions lipophiles des racines et des parties aériennes d'*Echinacea* (6,8).

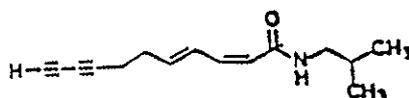
Ils possèdent une fonction amide et proviennent d'acides gras en C11 et C12.

Ces composés aliphatiques insaturés sont au nombre d'une vingtaine (18,97).

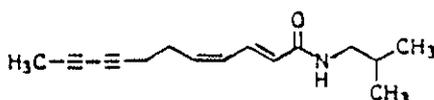
Il s'agit, pour les trois quarts, d'isobutylamides d'acides polyényniques (diènes et diyne) issus de la biogénèse à partir de l'acide aminé valine. Les autres sont issus de la biogénèse à partir de l'isoleucine (50).



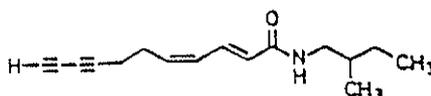
Isobutylamide de l'acide undéca-2E,4Z-diène-8,10-diynoïque.



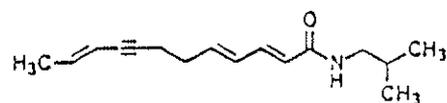
Isobutylamide de l'acide undéca-2Z,4E-diène-8,10-diynoïque.



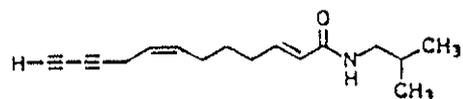
Isobutylamide de l'acide dodéca-2E,4Z-diène-8,10-diynoïque.



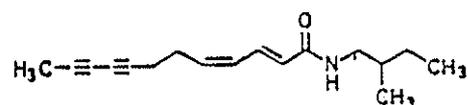
2-méthylbutylamide de l'acide undéca-2E,4Z-diène-8,10-diynoïque.



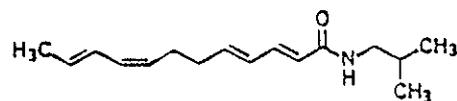
Isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*,4*E*,10*E*-triène-8-ynoïque.



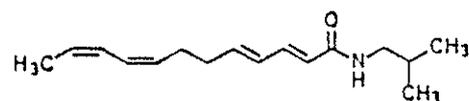
Isobutylamide de l'acide tridéca-2*E*,7*Z*-diène-10,12-diynoïque.



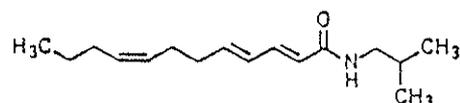
2-méthylbutylamide de l'acide dodéca-2*E*,4*Z*-diène-8,10-diynoïque.



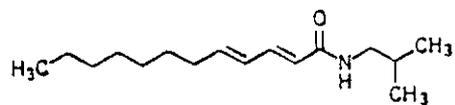
Isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*E*-tétraénoïque.



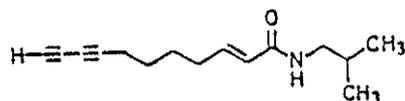
Isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*Z*-tétraénoïque.



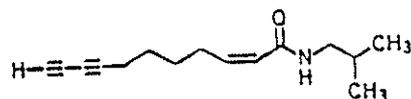
Isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*,4*E*,8*Z*-triénoïque.



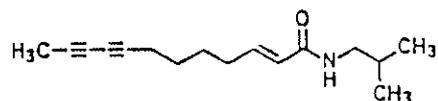
Isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*,4*E*-diénoïque.



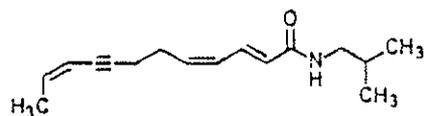
Isobutylamide de l'acide undéca-2*E*-ène-8,10-diynoïque.



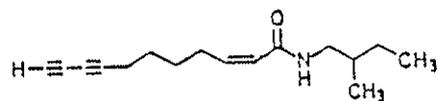
Isobutylamide de l'acide undéca-2*Z*-ène-8,10-diynoïque.



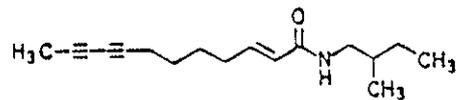
Isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*-ène-8,10-diynoïque.



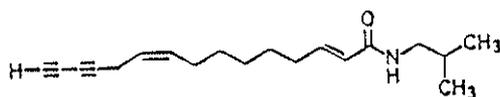
Isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*,4*Z*,10*Z*-triène-8-ynoïque.



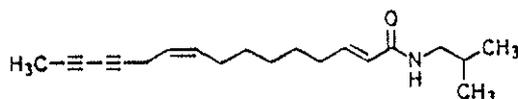
2-méthylbutylamide de l'acide undéca-2*Z*-ène-8,10-diynoïque.



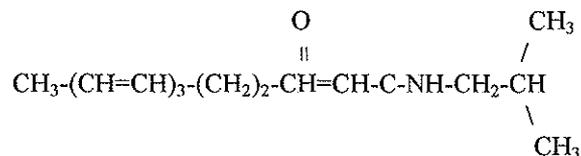
2-méthylbutylamide de l'acide dodéca-2*E*-ène-8,10-diynoïque.



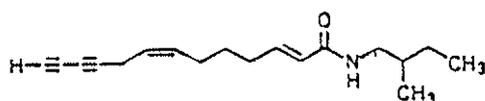
Isobutylamide de l'acide pentadéca-2*E*,9*Z*-diène-12,14-diynoïque.



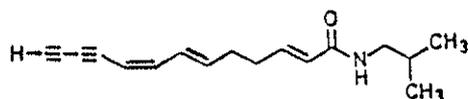
Isobutylamide de l'acide hexadéca-2*E*,9*Z*-diène-12,14-diynoïque.



Isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*,6*Z*,8*E*,10*E*-tétraénoïque ou Echinacéine.



2-méthylbutylamide de l'acide tridéca-2*E*,7*Z*-diène-10,12-diynoïque.



Isobutylamide de l'acide tridéca-2*E*,6*E*,8*Z*-triène-10,12-diynoïque.

Ils sont présents chez les trois espèces d'Echinacées, leurs structures et leurs teneurs respectives sont légèrement différentes ce qui permet de différencier les espèces.

3/ LES POLYENES ET POLYINES.

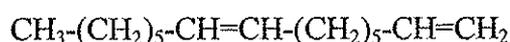
Jusqu'alors on a dénombré une vingtaine de polyènes et polyines présents chez les Echinacées. Ceux-ci sont séparables en deux sous groupes :

- les polyacétyléniques vrais,
- les polyacétyléniques à fonction cétone : cétoalcènes et cétoalcynes.

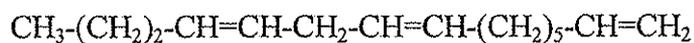
Ils sont issus d'acides gras à 14 atomes de carbone, et sont présents essentiellement dans les racines mais en moindre mesure dans les parties aériennes. Ils sont sensibles à l'oxygène de l'air et à la lumière et leur conservation en dépend (50).

a/ LES DERIVES POLYACETYLIENIQUES.

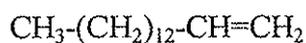
Le principal composé des fleurs fraîches d'*Echinacea* est le tridéca-1-ène-3,5,7,9,11-penta-yne (96), mais il existe également d'autres composés qui sont :



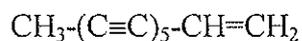
Pentadéca-1,8Z-diène.



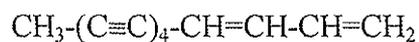
Pentadéca-1,8,11-triène.



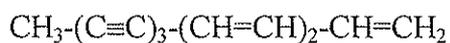
Pentadéca-1-ène.



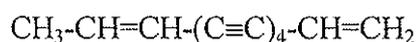
Tridéca-1-ène-3,5,7,9,11-pentayne.



Tridéca-1,3-diène-5,7,9,11-tétrayne.



Tridéca-1,3,5-triène-7,9,11-triayne.



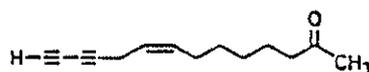
Tridéca-1,11-diène-3,5,7,9-tétrayne.

b/ LES CETOALCENES ET CETOALCYNES.

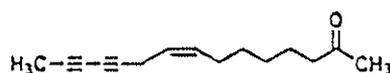
Les cétoalcènes et cétoalcynes à longue chaîne sont surtout présents chez *Echinacea pallida* (97).

Ces composés peuvent s'oxyder dans la drogue où ils sont stockés de façon prolongée (97).

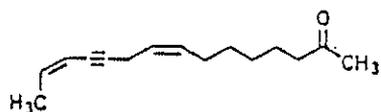
Les cétoalcènes et cétoalcynes présents sont représentés par (50) :



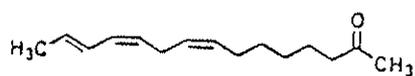
Tétradéca-8Z-ène-11,13-diyne-2-one.



Pentadéca-8Z-ène-11,13-diyne-2-one.



Pentadéca-8Z,13Z-diène-11-yne-2-one.



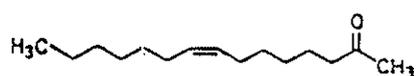
Pentadéca-8Z,11Z,13E-triène-2-one.



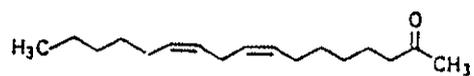
Pentadéca-8Z,11E,13Z-triène-2-one.



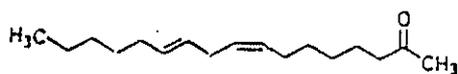
Pentadéca-8Z,11Z-diène-2-one.



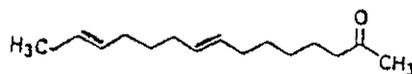
Pentadéca-8Z-ène-2-one.



Heptadéca-8Z,11Z-diène-2-one



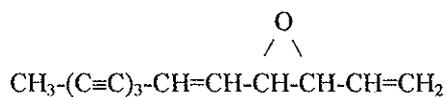
Heptadéca-8Z,11E-diène-2-one.



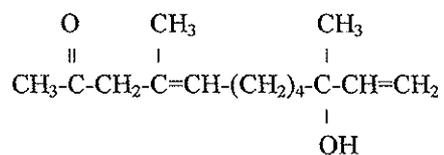
Pentadéca-8E,13E-diène-2-one.

Position de la double liaison non déterminée.

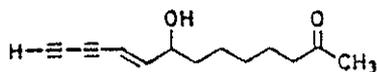
Tridécaène-2-one.



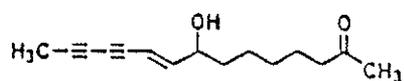
Ponticaépoxyde.



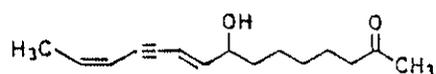
10-hydroxy-4,10-diméthyl-dodéca-4,11-diène-2-one ou Echinolone.



8-hydroxy-tétradéca-9E-ène-11,13-diyne-2-one.



8-hydroxy-pentadéca-9E-ène-11,13-diyne-2-one.



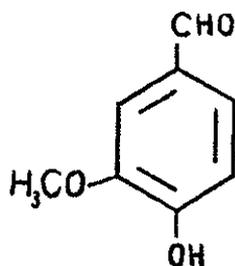
8-hydroxy-pentadéca-9E,13Z-diène-11-yne-2-one.

E/ LES DERIVES PHENOLIQUES.

1/ LA VANILLINE.

C'est un dérivé de l'acide benzoïque (C6-C1) isolé des parties aériennes fraîches d'*Echinacea purpurea* M.

La vanilline est un des constituants de l'huile essentielle.



Vanilline.

2/ LES ESTERS DE L'ACIDE CAFEIQUE.

Les esters de l'acide caféique sont des dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3).

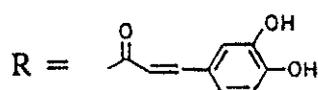
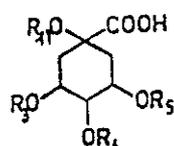
Ils sont constitués par une vingtaine de composés.

Le groupement alcool entrant dans la fonction ester est fourni par l'acide quinique, par l'acide tartrique ou par du glucose.

Parmi ces composés phénoliques dérivés de l'acide caféique, on distingue 3 catégories (12,50,80):

a/ LES ESTERS DES ACIDES CAFEIQUE ET QUINIQUE.

Ils sont représentés principalement par l'acide chlorogénique, sont présents uniquement dans les racines.

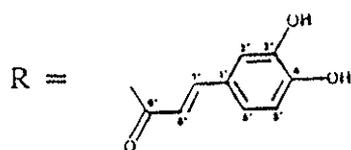
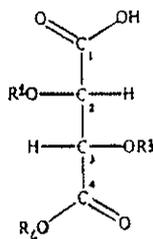


	R1	R3	R4	R5
Acide -3-caféyl-quinique ou acide chlorogénique.	H	R	H	H
Acide-4-caféyl-quinique ou acide isochlorogénique.	H	H	R	H
Acide-1,3-dicaféyl-quinique ou cynarine (spécifique d' <i>E. angustifolia</i>).	R	R	H	H
Acide-3,5-dicaféyl quinique.	H	R	H	R
Acide-4,5-dicaféyl quinique.	H	H	R	R

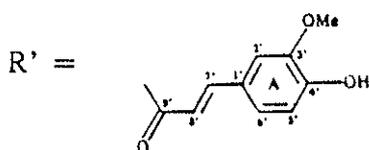
Tableau 4 : Les esters des acides caféique et quinique présents chez les Echinacées utilisées en thérapeutique (50).

b/ LES ESTERS DES ACIDES CAFEIQUE ET TARTRIQUE.

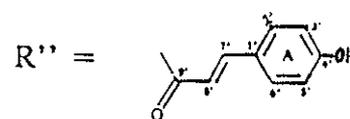
Ils sont représentés principalement par l'acide cichorique qui est abondant chez *E. purpurea* et pratiquement absent chez *E. angustifolia*.



Reste caféyl



Reste férulyl



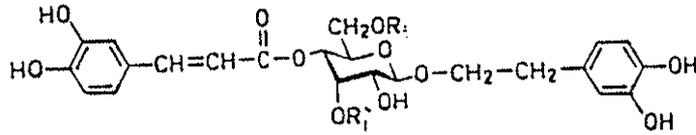
Reste coumaryl

	R2	R3	R4
Acide-2-caféyl-tartrique ou acide caftarique.	R	H	H
Acide-2-férulyl-tartrique.	R'	H	H
Acide-2,3-dicaféyl-tartrique ou acide cichoréique.	R	R	H
Acide-2-caféyl-3-férulyl tartrique	R	R'	H
Acide-2,3-diférulyl tartrique ou diétherméthylque de l'acide cichoréique.	R'	R'	H
Ester méthylique en 4 de l'acide cichoréique.	R	R	CH ₃
Acide-2-caféyl-3-coumaryl-tartrique.	R	R''	H

Tableau 5 : Les esters des acides caféique et tartrique présents chez les Echinacées utilisées en thérapeutique (50).

c/ LES ESTERS HETEROSIDIQUES DE L'ACIDE CAFEIQUE.

Ils sont représentés principalement par l'échinacoside (absent chez *E. purpurea*).



Acide Caféique

Glucose

Reste dihydroxy-phényl éthyl

	R1	R2
Echinacoside.	Rhamnose	Glucose
Verbascoside.	Rhamnose	H
Desrhamnosyl verbascoside.	H	H
6-O-caféyl-echinacoside.	Rhamnose	6-caféyl-glucose

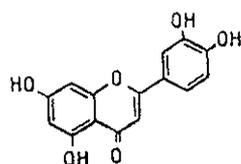
Tableau 6 : Les esters hétérosidiques de l'acide caféique présents chez les Echinacées utilisées en thérapeutique (50).

3/ LES FLAVONOIDES ET LES ANTHOCYANOSIDES.

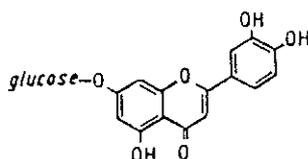
Ces dérivés sont constitués par l'enchaînement de 2-phénylchromane (C6-C3-C6).

a/ LES FLAVONOÏDES.

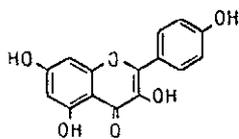
Les flavonoïdes suivants ont été isolés des parties aériennes et des tiges feuillées d'*E. purpurea* M. et d'*E. angustifolia* D.C. (50).



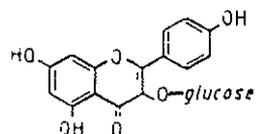
Lutéoline (chez *E. angustifolia* D.C.).



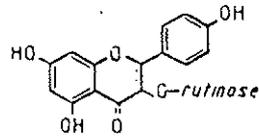
7-glucoside-lutéoline.



Kaempférol.

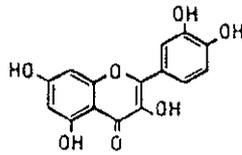


3-glucoside-kaempférol.

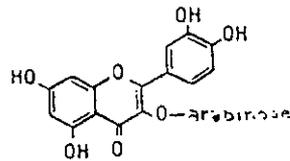


rutinose = α -L-rhamnosyl (1 \rightarrow 6) β -D-glucose

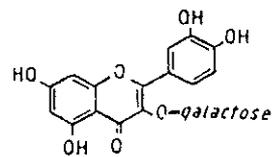
3-rutinoside-kaempférol (chez *E.purpurea* M.).



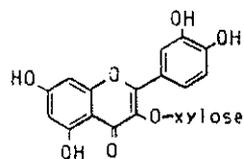
Quercétine (chez *E.purpurea* M.).



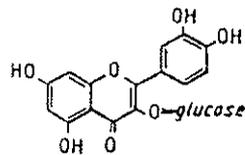
3-arabinoside quercétine.



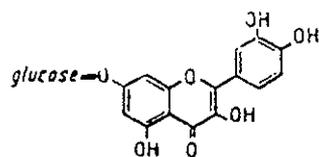
3-galactoside-quercétine.



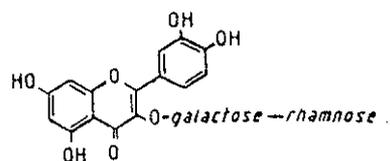
3-xyloside-quercétine.



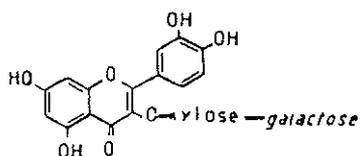
3-glucoside quercétine (chez *E.purpurea* M.).



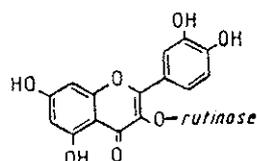
7-glucoside quercétine (chez *E. angustifolia* D.C.).



3-robinobioside-quercétine.



3-xylosylgalactoside-quercétine.



3-rhamnoglucoside-quercétol ou rutine
(chez *E.purpurea* M. et chez *E. angustifolia* D.C.).



3-rutinoside-isorhamnétine (chez *E. angustifolia* D.C.).

b/ LES ANTHOCYANOSIDES.

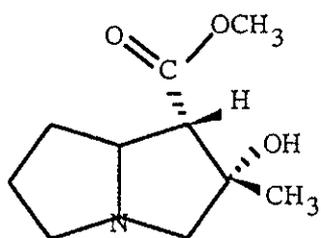
On retrouve ces pigments à partir des fleurs séchées d'*E. purpurea* M. et d'*E. pallida* N.

F/ LES ALCALOÏDES.

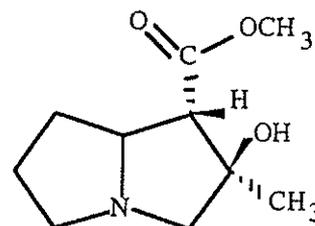
Des alcaloïdes indolizidiniques sont contenus dans les racines (18).

Deux alcaloïdes pyrrolizidiniques stéréoisomères ont été isolés d'extraits méthanoliques des racines et tiges feuillées d'*E. purpurea* et *angustifolia* : il s'agit de la tussilagine et de l'isotussilagine (71).

Ces composés n'ont pas d'effets secondaires toxiques, contrairement aux alcaloïdes pyrrolizidiniques présents chez certaines plantes de la famille des Astéracées comme *Arnica montana*.



Tussilagine.



Isotussilagine.

G/ LES STEROLS ET LES TERPENES

Des phytostérols ont été obtenus des trois espèces : β sitostérol et stigmastérol.

On trouve des sesquiterpènes volatils : humulène, caryophyllène, caryophyllène époxyde, germacrène ; et des sesquiterpènes non volatils ayant une activité immunologique et dont la structure est détaillée au chapitre suivant.

Un diterpène à noyau labdane a été trouvé dans les parties aériennes fraîches d'*E. purpurea* M.

H/ LES HUILES ESSENTIELLES.

Selon l'espèce, elles représentent 0,1 à 2% du poids de la plante sèche (97).

La teneur est maximale dans les racines en juin qui est la période optimale de récolte. Pour les parties aériennes, elle se situe en juillet.

Parmi ces composés, on retrouve majoritairement les terpènes volatils cités précédemment (germacrène, humulène, caryophyllène, caryophyllène époxyde), la vanilline (composé phénolique), l'échinolone, mais aussi le pentadéca-8Z-ène-2-one, le pentadéca-1,8Z-diène, le pentadéca 8Z,11Z,-diène-2-one, le dodéca-2,4-diène-1-ol, le pentadéca-1-ène et le méthyl *p*-hydroxycinnamate (97).

I/ LES POLYSACCHARIDES.

La structure complète des polysaccharides des Echinacées est encore inconnue.

C'est un des groupes structuraux le plus intéressant de la plante sur le plan de l'activité pharmacologique (10). Comme ces composés sont responsables en grande partie de l'action

immunomodulatrice des Echinacées, leurs structures seront étudiées avec plus de détails dans le paragraphe suivant.

Il s'agit de composés immunomodulateurs de structure complexe qui, après hydrolyse, libèrent de l'arabinose, du galactose et du rhamnose (14).

Ces composés sont présents dans l'hémicellulose de la paroi cellulaire, ils représentent environ 1% du poids de la plante sèche (67).

La fraction polysaccharidique des extraits d'*Echinacea* est hydrophile.

L'obtention des fractions glucidiques à partir des matières premières, que sont les parties souterraines d'*E. angustifolia* DC et les parties aériennes d'*E. purpurea* M., s'effectue par une série de précipitations et de solubilisations suivies de filtration ou d'ultracentrifugation. Cette méthode a été mise au point par Wagner et Proksch (schéma 8) (96).

Une fois obtenues, les différentes fractions polysaccharidiques sont séparées par chromatographie sur gel.

Matière première (racines et tiges feuillées)

méthanol ↓

Précipité

agitation avec NaOH 0,5 M ↓
↓ filtration

Filtrat

précipitation par méthanol dilué ↓
↓ ultracentrifugation

Précipité

dissolution dans l'eau ↓
↓ filtration

Filtrat

précipitation par CCl_3COOH à 15% ↓
↓ ultracentrifugation

Filtrat

précipitation par éthanol dilué ↓
↓ ultracentrifugation

Précipité

dissolution dans l'acétate de Na à 2% ↓
↓ filtration

Filtrat

précipitation par éthanol dilué ↓
↓ ultracentrifugation

Précipité

redissolution dans l'eau ↓
↓ filtration sur membrane

Fraction polysaccharidique.

Schéma 8 : Extraction de la fraction polysaccharidique des Echinacées (96).

IV/ COMPOSES PARTICIPANT A L'ACTION IMMUNOMODULATRICE DES ECHINACEES.

Les recherches pour évaluer l'activité immunomodulatrice des 3 espèces d'*Echinacea* ont montré que les composés responsables majoritairement de cette activité étaient les polysaccharides contenus dans ces plantes.

A l'origine d'une action plus modérée, on retrouve également des composés lipophiles, hydrophiles, ainsi que des sesquiterpènes non volatils.

Dans ce chapitre nous mettrons en évidence la nature de ces différents composés. Les méthodes et les études concernant l'évaluation de leurs activités immunomodulatrices seront traitées au chapitre suivant.

A/ LES POLYSACCHARIDES D'ECHINACEA SP.

Ce sont des substances de haut poids moléculaire dont le nombre de ligands polyclonaux, pouvant réagir avec les structures de surface des cellules immunocompétentes, semble infini.

Cependant, le nombre restreint de composés utilisables en thérapeutique démontre que certaines conditions sont nécessaires pour créer une activité immunomodulatrice : ceci dépend de la nature des liaisons, du poids moléculaire et de certaines configurations spatiales (94,96).

On peut distinguer 2 catégories de polysaccharides présents chez *Echinacea* sp. en fonction de leur mode d'obtention :

- les polysaccharides, d'origine naturelle, extraits directement des plantes,
- les polysaccharides obtenus à partir de cultures de cellules végétales du genre *Echinacea*.

*Le polysaccharide II est un arabino-rhamno-galactane (figure 2), d'un poids moléculaire de 450.000 D, composé de rhamnose, d'arabinose, de galactose, d'acide glucuronique et d'acide galacturonique. La chaîne primaire est constituée de rhamnose et de galactose (dans un ratio de 1 ;1) avec des connections aux chaînes secondaires en C4-OH de chaque seconde unité de rhamnose (9,33,67,94).

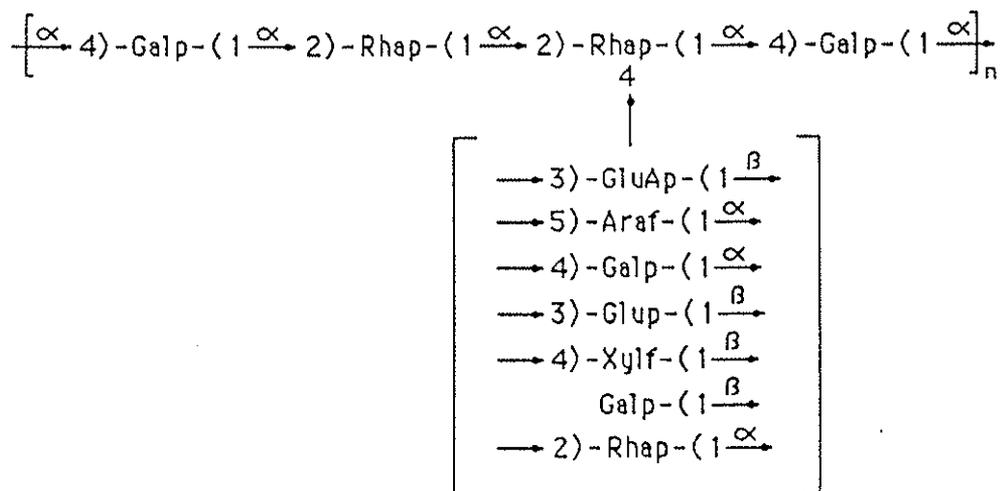


Figure 2 : Polysaccharide II d'*Echinacea purpurea* (94).

2/ LES POLYSACCHARIDES OBTENUS PAR CULTURE CELLULAIRE.

Trois polysaccharides possédant une structure chimique différente des deux précédents ont été extraits à partir de culture cellulaire d'*Echinacea purpurea* : il s'agit des polysaccharides A, E et F.

* Les polysaccharides A et E sont des fuco-galacto-xylo-glucanes. Ils contiennent du glucose, du xylose, du galactose et du fucose dans un ratio molaire de 1,5 ; 1 ; 0,4 ; 0,1. Ils diffèrent par leur poids moléculaire : 10.000 D pour le polysaccharide A et 25.000 D pour le polysaccharide E (figure 3).

B/ AUTRES SUBSTANCES IMMUNOMODULATRICES CHEZ *ECHINACEA* SP.

• Quatre sesquiterpènes non volatils, contribuant à l'activité immunomodulatrice d'*Echinacea purpurea*, ont été isolés des racines d'*E. purpurea* (figure 5)(11).

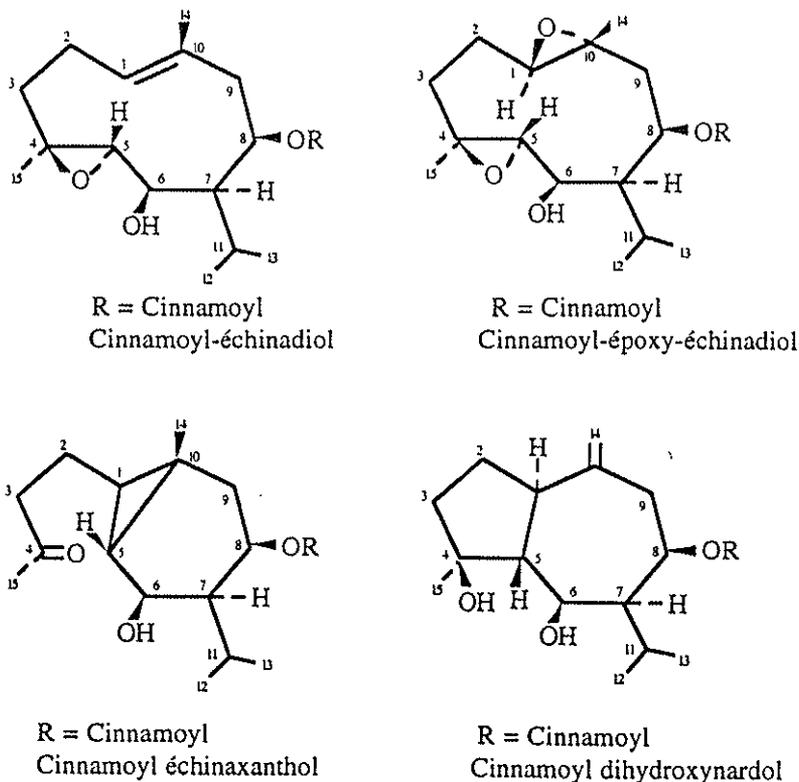
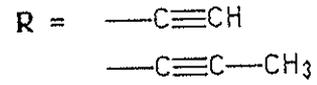
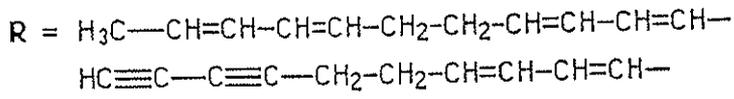
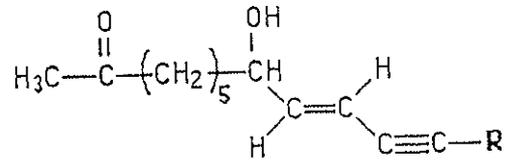
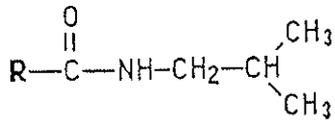


Figure 5 : Sesquiterpènes non volatils (11).

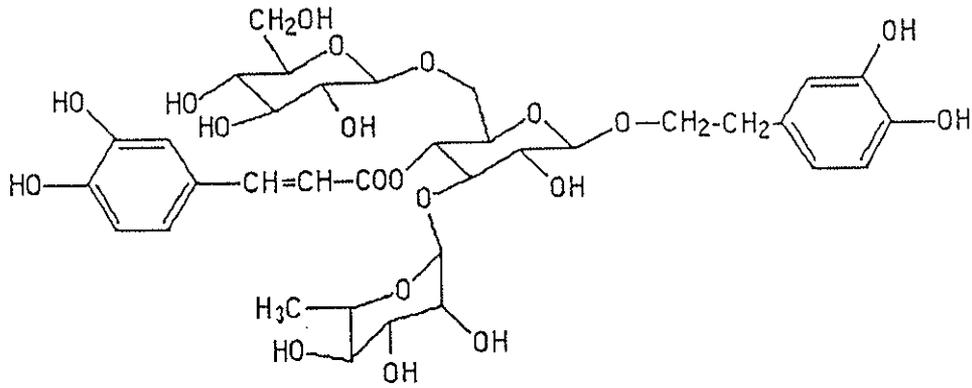
• Des principes actifs extraits de préparations alcooliques d'*Echinacea* possèdent également des activités immunomodulatrices, mais en proportion moindre que les polysaccharides présents dans ces plantes.

Il s'agit de composés liposolubles tels que les dérivés de l'isobutylamide sous forme d'acides gras insaturés, les polyènes ; et de composés hydrosolubles tels que l'échinacoside, l'acide cichoréique et leurs dérivés (figure 6)(7).

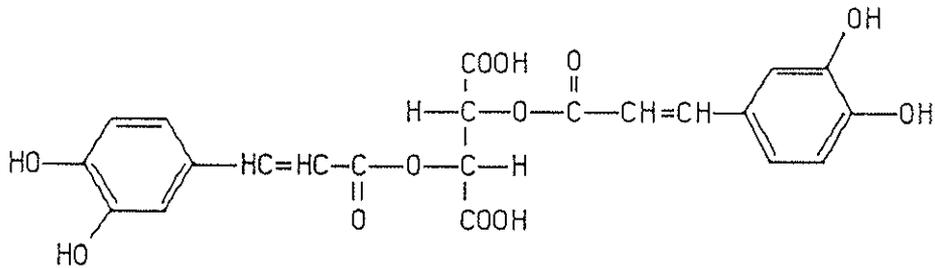


Isobutylamides.

Polyines.



Echinacoside.



Acide cichoréique.

Figure 6 : Autres substances immunomodulatrices chez *Echinacea* sp. (9).

V/ LES ETUDES SUR L'IMMUNOMODULATION.

Les différentes expériences réalisées dans le domaine immunitaire à partir des Echinacées, peuvent se répartir selon trois principaux niveaux d'activité :

- Influence sur les propriétés fonctionnelles des phagocytes.
- Effet mitogénique sur les cellules immunocompétentes.
- Influence sur la sécrétion de lymphokines par les cellules immunocompétentes.

Les polysaccharides d'*Echinacea* sont à l'origine de nombreux essais dans le domaine de l'immunomodulation.

Deux types d'extraits polysaccharidiques sont utilisés dans les essais :

- **Les polysaccharides purifiés obtenus par fractionnement de l'extrait aqueux des parties aériennes fraîches d'*Echinacea purpurea*.**

Ces polysaccharides sont désignés sous le terme d'EPS (Echinacea purified PolySaccharid). Ce terme, utilisé lors des études pharmacologiques, est à mettre en relation avec l'abréviation LPS désignant les lipopolysaccharides immunogènes des parois bactériennes.

La fraction EPS contient les polysaccharides I et II.

- **Les polysaccharides isolés de culture cellulaires des tiges feuillées fraîches d'*Echinacea purpurea*.**

Ce sont les polysaccharides A et E et le polysaccharide F .

Des études sur des souris et des cultures de cellules humaines ont montré une atoxicité ou une toxicité très faible pour ces différents polysaccharides.

DL 50 \geq 500 mg/ml chez la souris après administration intra-péritonéale (51,77).

A/ METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE IMMUNOMODULATRICE.

D'une manière générale, un immunomodulateur classique peut aussi bien exercer, sur les fonctions immunologiques, un effet stimulant qu'un effet supprimeur. Ces actions dépendent des doses de composés utilisées et de la nature des cellules immunitaires impliquées dans la réaction.

Par exemple, la stimulation des cellules « suppressives » ou un surdosage du composé à étudier entraînera préférentiellement un effet inhibiteur (89).

Il existe une dizaine de tests permettant l'évaluation d'une activité immunomodulatoire chez les plantes (89).

Parmi eux, on retrouve essentiellement, lors des études relatives aux Echinacées, les deux tests suivants :

1/ LE « GRANULOCYTE-TEST ».

Il s'agit d'un essai réalisé *in vitro*.

Ce procédé permet la mesure quantitative du taux d'ingestion de micro-organismes opsonisés par les différentes cellules phagocytaires (89).

Toutefois, de par leur nombre et leur efficacité, ce sont les polynucléaires neutrophiles qui demeurent les cellules phagocytaires les plus importantes lors de la réponse immunitaire.

Divers micro-organismes (levures, bactéries) peuvent être utilisés pour initier la réaction phagocytaire.

La technique consiste à centrifuger un mélange (sang héparinisé et Ficoll), afin de recueillir la fraction occupée par les granulocytes.

On incube ensuite ces granulocytes avec le composé immunomodulatoire à étudier.

Puis on les met en présence avec les micro-organismes (89).

L'évaluation de l'activité phagocytaire se fait sous microscope par comptage du nombre de particules opsonisées (se retrouvant à l'intérieur de la cellule phagocytaire).

L'index et le pourcentage de phagocytose se calculent de la façon suivante (89) :

$$\text{Index de phagocytose (IP)} = \frac{\text{nombre de particules ingérées}}{\text{nombre de granulocytes (200-300)}}$$

$$\text{Pourcentage de phagocytose} = \frac{[(\text{IP échantillon} - \text{IP contrôle}) / \text{IP contrôle}] \times 100}{1}$$

2/ LE TEST DE CLAIRANCE DU CARBONE.

Ce test se réalise *in vivo*.

L'évaluation du taux d'élimination d'atomes de carbone injectés dans la circulation sanguine est une méthode permettant la mesure de l'activité phagocytaire réticulo-endothéliale (89).

Les particules de carbone utilisées sont de taille uniforme et mesurent 2,5 µm de diamètre.

La préparation colloïdale des atomes de carbone est stable dans la circulation sanguine et n'entraîne pas de thromboses (89).

Cette préparation est injectée par voie intraveineuse chez des souris.

Les phagocytes intravasculaires du foie et de la rate vont ensuite oeuvrer pour l'élimination de ces particules de carbones, dans des proportions de 90% pour les cellules de Kupffer et de 10% pour les macrophages spléniques.

Cette expérience se réalise de la façon suivante :

On injecte le composé immunostimulant à des doses variant de 1 à 10 mg/kg en intrapéritonéal chez la souris.

Vingt-quatre heures après, on injecte en intraveineuse la suspension de carbone.

Consécutivement, sont prélevés des échantillons de sang au bout de 3, 6, 9, 12 et 15 min, obtenus suite à une lyse par de l'eau distillée des érythrocytes.

La mesure du taux des atomes de carbone résiduels se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 650 nm (89).

On établit ensuite une droite de régression linéaire où sont exprimés les logarithmes des absorbances en fonction du temps.

L'indice **RC** est le coefficient de régression, il constitue la pente de cette droite.

Si **RC échantillon / RC contrôle < 1** : l'échantillon n'a pas d'activité.

Si **1 < RC échantillon / RC contrôle < 1,5** : l'échantillon est faiblement actif.

Si **RC échantillon / RC contrôle > 1,5** : l'échantillon est très actif.

La valeur maximale de clairance observée avoisine 3.

Il faut un minimum de 10 souris pour réaliser cette expérience (89).

La plupart du temps, le test de clairance du carbone est en excellente corrélation avec le « granulocyte-test ».

B/ LES ETUDES *IN VITRO* ET *IN VIVO*.

1/ CYTOTOXICITE DES MACROPHAGES ACTIVES PAR LES EPS.

Plusieurs études concernant la cytotoxicité des Echinacées vis-à-vis des cellules tumorales ont été réalisées ; la démonstration des propriétés anticancéreuses des Echinacées n'entrant pas dans le cadre de cette recherche, nous ne les aborderons pas ici.

Toutefois, l'étude suivante montre, dans le domaine immunitaire, l'implication d'un extrait de polysaccharides purifiés d'Echinacée dans l'activation des macrophages, à l'encontre de cellules tumorales (53).

Cette étude a montré que les polysaccharides purifiés (EPS), préparés à partir d'*Echinacea purpurea* par extraction à l'eau alcalinisée puis purification, activent sélectivement les macrophages *in vitro*.

Les cellules activées développent une importante cytotoxicité extracellulaire contre les cellules tumorales.

A la quantité de 100 µg, l'extrait d'EPS double la toxicité des macrophages de la moelle osseuse vis-à-vis de la lignée des cellules tumorales (tableau 7).

Taux en % de ⁵¹Cr libéré par les cellules tumorales P 815 détruites par 2x10⁵ macrophages devenus effecteurs.			
Activation avec	Macrophages du liquide péritonéal.	Macrophages de la moelle osseuse.	Macrophages induits par le thioglycolate.
Témoin	28 +/- 3	29 +/- 4	31 +/- 4
100 µg d'EPS	62 +/- 4	58 +/- 5	64 +/- 5
10 U de IFN γ	68 +/- 3	60 +/- 4	72 +/- 5

Tableau 7 : Cytotoxicité des macrophages activés par les polysaccharides EPS (53).

Les macrophages sont incubés pendant 24 h avec le milieu contenant soit les EPS ou soit l'IFN γ (qui est le facteur d'activation des macrophages).

Après activation, les macrophages sont lavés et testés pour leur cytotoxicité contre les cellules marquées P 815.

Le taux de ^{51}Cr libéré spontanément par les cellules P 815 est de 28 à 31% selon la localisation des macrophages.

Une unité (1U) d'IFN γ est la plus faible quantité d'IFN γ requise pour rendre les macrophages pleinement cytotoxiques.

Après activation, les macrophages produisent une lymphokine, l'IL-1, qui joue un rôle essentiel dans la réaction inflammatoire et dans l'induction des réponses immunitaires spécifiques. Ils produisent également des radicaux libres de l'oxygène (53).

2/ LES ETUDES A PARTIR DU POLYSACCHARIDE I.

Un « granulocyte-test » effectué à partir du **polysaccharide I**, isolé de l'extrait aqueux des parties aériennes fraîches d'*Echinacea purpurea*, montre une augmentation *in vitro* de la phagocytose par les granulocytes polynucléaires de l'ordre de 23% pour des concentrations en polysaccharide I en solution allant de 10^{-1} à 10^{-4} mg/ml (31,67).

3/ LES ETUDES A PARTIR DU POLYSACCHARIDE II.

Le **polysaccharide II** possède une activité accrue sur la stimulation de la phagocytose.

Cette stimulation fut expérimentée lors de « granulocyte-test » *in vitro*, mais aussi lors du test de clairance au carbone *in vivo* mettant en évidence une élévation significative de l'élimination sérique des particules de carbone, préalablement administrées, traduisant ainsi une augmentation de la phagocytose (31).

Parallèlement à ces deux tests, on a mis en évidence, pour les **polysaccharides I et II** une activité mitogène à l'égard des lymphocytes T lors de tests d'incorporation de la thymidine tritiée (^3H) (qui est un marqueur permettant le suivi de l'assimilation des atomes d'hydrogène au cours des mitoses cellulaires ou lors de la synthèse de composés néoformés). La formation de lymphocytes B semble également stimulée mais à un degré moindre (9).

L'activité pharmacologique de ces deux polysaccharides lors des tests est dépendante du moment de leur administration (95).

4/ LES ETUDES A PARTIR DU POLYSACCHARIDE A.

Le **polysaccharide A**, soumis au « granulocyte-test » *in vitro*, produit une augmentation de la phagocytose de l'ordre de 20 à 28% à une concentration en solution aqueuse variant de 10^{-1} à 10^{-2} mg/ml. Ces résultats sont corroborés *in vivo* par le test de clairance au carbone qui montre une élévation significative de l'élimination des particules de carbone administrées (90,92,93).

5/ LES ETUDES A PARTIR DES POLYSACCHARIDES E ET F.

Les **polysaccharides E et F** stimulent également la phagocytose mais de façon moins importante.

Une étude relative au **polysaccharide F** isolé des cultures cellulaires d'*Echinacea purpurea*, a montré que cet arabinogalactane active les macrophages, *in vivo* aussi bien qu'*in vitro* (53).

L'activation de ces cellules augmente très fortement la production du $\text{TNF}\alpha$, qui est une cytokine antitumorale, antivirale et antiparasitaire agissant en synergie avec d'autres cytokines.

Le tableau 8 montre la relation, dose dépendante, entre l'incubation des macrophages avec le polysaccharide F à différentes concentrations et la sécrétion de TNF α par ces macrophages.

Incubation des macrophages avec	Sécrétion de TNF α en U/ml
Milieu	<4
Arabinogalactane (μ g/ml)	
500	>5.000
250	2560
125	1280
62,6	644
15,5	320
7,8	160
3,7	80

Tableau 8 : Production de TNF α par les macrophages activés par le polysaccharide F (53).

Les cellules activées induisent également la production d'IFN β_2 , molécule surtout antivirale, à un taux comparable à celui provoqué par la stimulation des macrophages par les lipopolysaccharides (LPS) des bactéries Gram-.

Suite à l'activation des macrophages, on observe une augmentation de 25% de la cytotoxicité contre les lignées de cellules tumorales sensibles au TNF α .

6/ LES ETUDES A PARTIR DES SESQUITERPENES.

Une étude réalisée à partir de quatre sesquiterpènes non volatils extraits d'*Echinacea purpurea* a montré qu'ils développaient une activité immunomodulatrice en stimulant la phagocytose. En effet, ils induisent une augmentation de la phagocytose des granulocytes *in vitro* pouvant atteindre 30% (23).

7/ LES ETUDES A PARTIR DES ALKYLAMIDES.

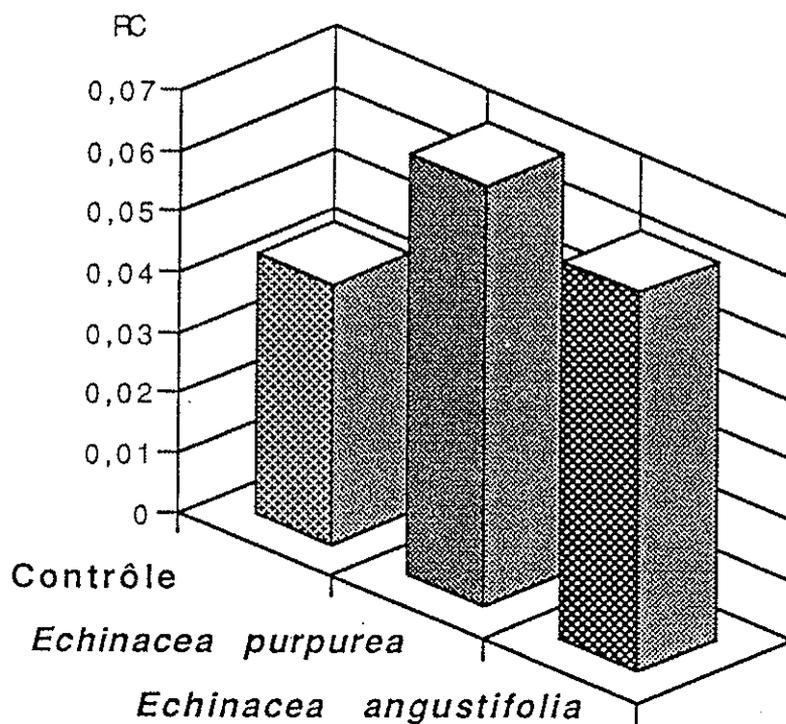
Un test de clairance du carbone a été réalisé *in vivo* à partir de fractions alkylamides d'*Echinacea purpurea* et *angustifolia*.

Ce test montre des valeurs RC de clairance du carbone supérieures au témoin (ne contenant pas les fractions alkylamides étudiées) ce qui traduit une augmentation de l'élimination sérique des atomes de carbones et donc une augmentation de la phagocytose en présence de ces fractions alkylamides (graphique 1).

Dans le cas d'*Echinacea purpurea* : $RC \text{ échantillon} / RC \text{ contrôle} = 1,7$.

Dans le cas d'*Echinacea angustifolia* : $RC \text{ échantillon} / RC \text{ contrôle} = 1,5$.

Les fractions alkylamides, et notamment celles d'*Echinacea purpurea*, manifestent une importante activité dans l'augmentation de la phagocytose (graphique 1).

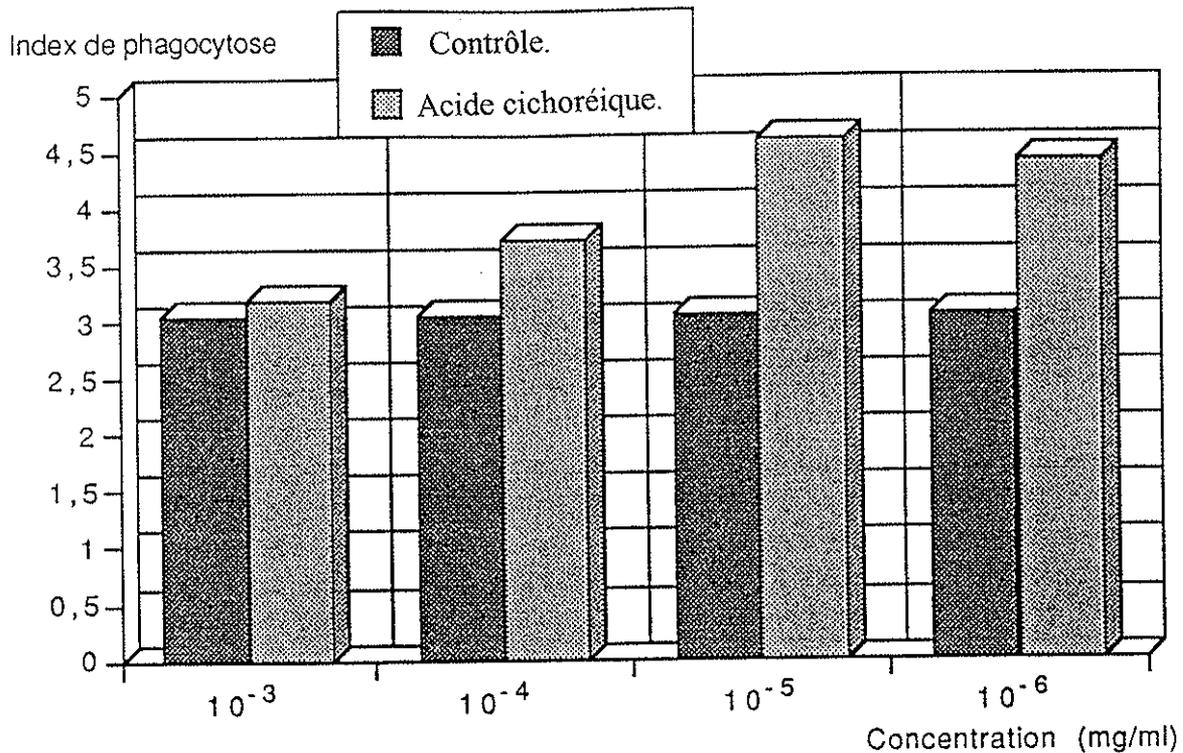


Graphique 1 : Test de clairance du carbone des fractions alkylamides d'*Echinacea purpurea* et *Echinacea angustifolia* (7).

8/ LES ETUDES A PARTIR DE L'ACIDE CICHOREIQUE.

Un « granulocyte-test » a été effectué *in vitro* à partir de solutions contenant différentes concentrations d'acide cichoréique extrait d'*Echinacea purpurea*.

Il met en évidence une activité phagocytaire des polynucléaires granulocytes, en présence des différentes concentrations d'acide cichoréique, supérieure à l'activité du contrôle avec un index de phagocytose maximal pour une concentration en acide cichoréique de 10^{-5} mg/ml (graphique 2) (7).



Graphique 2 : « Granulocyte-test » pour différentes concentrations d'acide cichoréique chez *Echinacea purpurea* (7).

9/ ACTION CHEZ LA SOURIS SUR L'IMMUNITE NON SPECIFIQUE.

Une étude de 1991 réalisée *in vivo* et *in vitro* chez la souris a montré que les polysaccharides isolés du milieu de culture d'*Echinacea purpurea* (polysaccharides A, E et F) stimulent plusieurs étapes de la réaction immunitaire non spécifique (72).

La stimulation immunitaire par ces polysaccharides se fait à différents niveaux :

- adhérence des phagocytes aux cellules endothéliales,
- mobilité spontanée des phagocytes,

- production d'intermédiaires actifs de l'oxygène,
- migration des polynucléaires neutrophiles de la moelle osseuse dans le sang périphérique,
- prolifération des cellules myéloïdes de la moelle par l'intermédiaire de la stimulation des facteurs de croissance,
- prolifération des phagocytes de la rate.

Les polysaccharides induisent également la production, par les macrophages, de l'IL-1, du TNF α et de l'IL-6 qui est à l'origine de la sécrétion de l'IFN β_2 (72).

10/ ACTION SUR LES SOURIS IMMUNODEPRIMEES.

Une étude réalisée en 1993 montre l'influence des polysaccharides extraits des cultures cellulaires d'*Echinacea purpurea* sur l'immunité non spécifique chez des souris immunodéprimées.

Les souris sont immunodéprimées par injection de cyclophosphamide (CP) ou de cyclosporine A (CA).

Le cyclophosphamide induit une forte activité anti-proliférative sur les précurseurs des leucocytes polymorphonucléaires (PMN) au niveau de la moelle osseuse et sur les lymphocytes T CD4 activés.

La cyclosporine A affecte seulement la réponse spécifique du système immunitaire en bloquant la fonction stimulante des lymphocytes T CD4 activés et donc en bloquant la sécrétion d'IL-2.

On injecte à la souris en intra-péritonéal de la cyclophosphamide au jour j1, puis une solution aqueuse de polysaccharides en IV au jour j1, j2, j3.

L'obtention des résultats consiste à dénombrer et à évaluer l'évolution du nombre de leucocytes (polymorphonucléaires et précurseurs des granulocytes) présents dans le sang de la souris. Dans un premier temps, on observe une neutropénie consécutive à l'injection de cyclophosphamide ; puis, on constate une augmentation nette dès j4 du nombre de PMN dans le sang périphérique et une stimulation de la différenciation des précurseurs des granulocytes (23).

C/ LES ESSAIS CLINIQUES.

Les essais cliniques sont presque tous relatifs à l'emploi de préparations à base d'*Echinacea purpurea*.

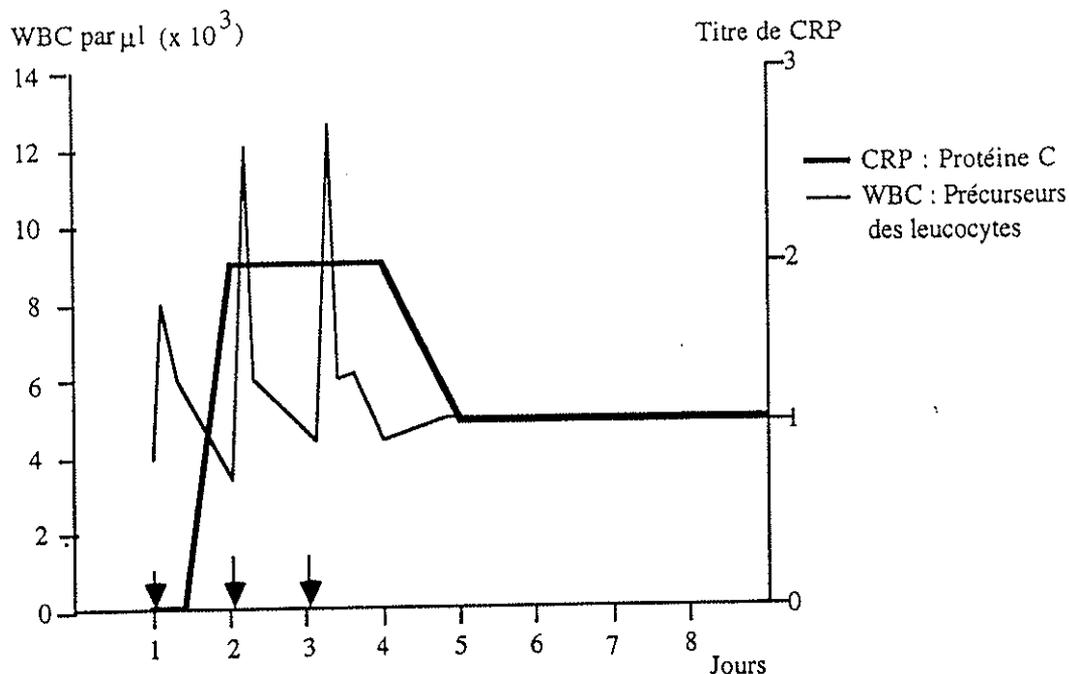
Des essais de pharmacologie clinique ont été réalisés sur des volontaires âgés de 20 à 45 ans (23).

Cette étude consiste en l'injection IV des polysaccharides cités plus haut, puis à la numération dans le sang du nombre de leucocytes.

L'injection IV de 5 mg de polysaccharides à l'homme sain produit les effets suivants :

- * en 30 à 60 min on constate une chute du nombre de polynucléaires dans le sang périphérique qui indique une activation aux cellules endothéliales,
- * ensuite le taux de polynucléaires et celui des monocytes remontent par migration des cellules de la moelle osseuse vers le sang périphérique.

On a également évalué le taux de Protéine C Réactive (CRP), qui est une protéine de l'inflammation, après la même injection IV réalisée chez des sujets porteurs de lésions tissulaires inflammatoires diverses. On constate que ce taux s'accroît sensiblement (graphique 3).



Graphique 3 : Evolution du nombre des leucocytes et du taux de CRP chez des sujets ayant reçu 3 injections de polysaccharides (23).

D/ REMARQUES SUR LES ESSAIS PHARMACOLOGIQUES.

Il est à noter que tous ces résultats sont obtenus pour des fractions de polysaccharides définies qualitativement et quantitativement, et qu'aucune conclusion ne peut être extrapolée aux préparations commerciales d'*Echinacea purpurea*.

Néanmoins ces résultats traduisent la possibilité d'une application thérapeutique dans la prophylaxie ou la thérapie à long terme chez les patients immunodéprimés (malades, enfants, personnes âgées) pour prévenir les infections récidivantes et opportunistes.

Malgré l'absence de toxicité à de très fortes doses (4 g/kg chez la souris) des polysaccharides d'*Echinacea*, et aux vues de l'activité non négligeable sur le système immunitaire de l'homme, il apparaît nécessaire de réaliser des études plus poussées en ce qui concerne la recherche d'éventuels effets secondaires.

Les effets des polysaccharides constatés lors des études pharmacologiques ne permettent pas d'affirmer l'efficacité des préparations à base d'*Echinacea purpurea* utilisées en phytothérapie et dont la composition qualitative et quantitative est variable.

VI/ LES AUTRES ETUDES.

L'énumération des études suivantes n'est pas exhaustive.

En effet, nous nous limiterons à l'étude de l'action pharmacologique des Echinacées dans le cadre d'un éventuel traitement des infections ORL chez l'homme.

Les propriétés antifongiques et de cicatrisation cutanée développées par les Echinacées ne seront pas abordées.

A/ LES PROPRIETES ANTIVIRALES SUR MYXOVIRUS INFLUENZAE.

Le virus *Myxovirus influenzae* est responsable de maladies infectieuses telles que les pharyngites, les laryngites, les rhino-pharyngites, la grippe et les bronchiolites.

Les extraits à base d'*Echinacea purpurea* ont fait l'objet de plusieurs études concernant leur activité antivirale vis-à-vis du virus *M. influenzae*.

1/ METHODE DE REDUCTION DU NOMBRE DE PLAGES.

La méthode de réduction du nombre de plages est envisagée pour déterminer l'activité antivirale de l'extrait d'*Echinacea purpurea* dans cette étude (88).

On incube préalablement le virus *M. influenzae* sur un tapis cellulaire.

Les zones d'attaque du virus sont visibles par les trous de lyse présents dans le tapis de cellules.

L'étude consiste à traiter ou non le tapis cellulaire avec l'extrait d'*Echinacea purpurea*, puis d'évaluer la différence du nombre de lyses cellulaires provoquées par le virus.

On compte le nombre de plages lysées préalablement traitées avec l'extrait d'*Echinacea purpurea* et on le compare au nombre de plages non traitées par l'extrait présentes dans les « témoins-virus » (tableau 9).

Nombre de plages	Extrait méthanolique de plante fraîche d' <i>E.purpurea</i>	Extrait aqueux de plante fraîche d' <i>E. purpurea</i>
Témoin-virus	79	79
extrait d'EP 10 µg/ml	48	64
25 µg/ml	54	41

Réduction du nombre de plages en %	Extrait méthanolique de plante fraîche d' <i>E.purpurea</i>	Extrait aqueux de plante fraîche d' <i>E. purpurea</i>
extrait d'EP 10 µg/ml	39	19
25 µg/ml	32	48

Tableau 9 : Activité antivirale d'*Echinacea purpurea* vis-à-vis de *Myxovirus influenzae* par la méthode de réduction du nombre de plages (88).

On constate que l'activité de réduction du nombre de plages, et donc l'activité virucide à l'encontre du virus *M. influenzae*, est plus importante à la concentration de 10 µg/ml pour l'extrait méthanolique, alors qu'elle est plus importante à 25 µg/ml pour l'extrait aqueux.

2/ MESURE DU DIAMETRE D'INHIBITION.

L'activité antivirale sur *M. influenzae* d'extraits aqueux d'*Echinacea purpurea* sur des cultures cellulaires a été étudiée (58).

La technique utilisée pour l'évaluation de l'activité antivirale par rapport à l'effet toxique est la suivante :

Les cellules hôtes, cellules Hela, sont cultivées en boîte de Pétri et inoculées par *M. influenzae*. Après une heure d'incubation, le milieu est solidifié par addition d'agar-agar. Des disques de papier filtre de diamètre 10 mm sont placés à la surface du gel et on dépose sur chaque papier 20 µl d'extrait d'*Echinacea purpurea*. Les cultures sont incubées 48 à 72 h à 37°C puis les cellules sont colorées par un colorant vital qui est le chlorure de tétrazolium.

L'activité antivirale de l'extrait se traduit par une zone d'inhibition autour du disque de papier filtre, où les plages sont inhibées.

L'absence de toxicité cellulaire, à la concentration d'extrait utilisée, est mise en évidence par la persistance de la coloration sur des cellules non incubées préalablement par le virus.

L'effet antiviral est mesuré par l'importance du diamètre d'inhibition :

- diamètre < 15mm : +
- diamètre 15-30mm : ++
- diamètre > 30mm : +++

	Toxicité cellulaire	<i>Myxovirus influenzae</i>
<i>Echinacea purpurea</i> (racines)	-	++
<i>Echinacea angustifolia</i> (racines)	-	-

Tableau 10 : Toxicité et activité antivirale sur *Myxovirus influenzae* du genre *Echinacea* (58).

On remarque dans cette étude l'absence de toxicité cellulaire mais également l'absence d'activité des racines d'*Echinacea angustifolia*.

Echinacea purpurea possède 2 modes d'action antivirale (13) :

- un effet antiviral indirect par stimulation du système immunitaire non spécifique,
- un effet virostatique par inhibition de l'adsorption et de la pénétration virale à l'intérieur des cellules ; et également par inhibition de la hyaluronidase.

B/ LES PROPRIETES ANTIBACTERIENNES.

Il a été testé l'activité antibactérienne de deux types de composés présents chez *Echinacea*.

1/ LES POLYPHENOLS DERIVES DE L'ACIDE CAFEIQUE.

L'échinacoside extrait d'*Echinacea angustifolia* DC possède une action inhibitrice *in vitro* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* et de *Streptococcus pyogenes* (83).

Cependant cette activité est très faible puisque 6,3 mg d'échinacoside ont la même action que 1 UI soit 0,6 µg de pénicilline G sur les souches sensibles à la pénicilline G.

2/ LES POLYACÉTYLÉNIQUES VRAIS.

Deux composés ont fait la preuve d'une activité antibactérienne *in vitro*, ce sont :

- le tridéca-1-ène-3,5,7,9,11-pentayne,
- le tridéca-1,11-diène-3,5,7,9-tétrayne.

On a étudié leur pouvoir antibactérien par la mesure de leur Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) qui est la plus faible concentration en composé capable d'inhiber une croissance bactérienne (70).

L'expérience est réalisée par ensemencement de bactéries, puis dépôt de disques buvard contenant les substances à étudier. L'action bactériostatique du composé s'observe par la présence d'une zone d'inhibition circulaire autour du disque où il n'y a pas de colonies bactériennes ; cette zone détermine la CMI.

La CMI est utilisée pour déterminer l'effet de stase bactérienne et non l'effet bactéricide.

	Bactéries testées et CMI obtenues		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
tridéca-1-ène-3,5,7,9,11-pentayne	10 mg/ml	100 mg/ml	5 mg/ml
tridéca-1,11-diène-3,5,7,9-tétrayne	5 mg/ml	0,5 mg/ml	5 mg/ml

Tableau 11 : Activité bactériostatique des composés polyacétyléniques d'*Echinacea* exprimée en CMI (70).

Il est à noter à titre comparatif que la CMI sur ces mêmes germes est inférieure à 4 µg/ml pour l'amoxicilline et inférieure à 100 µg/ml pour les sulfamides. L'activité antibactérienne de ces polyacétyléniques demeure faible d'autant plus que leur teneur dans la plante est peu élevée.

C/ LES PROPRIETES ANTI-INFLAMMATOIRES.

1/ LA REACTION INFLAMMATOIRE.

La réaction inflammatoire est un processus de défense et d'adaptation non spécifique de l'organisme face à une agression (25).

Les facteurs à l'origine de cette agression peuvent être microbiologiques (bactéries, virus, champignons), mais aussi mécaniques, physiques, chimiques et biologiques.

L'inflammation a pour but de diriger les molécules sériques et les cellules du système immunitaire vers le site de la lésion tissulaire.

La réaction se fait selon 3 étapes :

- augmentation du flux sanguin,
- augmentation de la perméabilité des vaisseaux capillaires de la zone infectée,
- émigration des cellules depuis les vaisseaux vers les tissus (56).

a/ LES MEDIATEURS DE L'INFLAMMATION.

Ce sont les médiateurs de l'inflammation qui sont à l'origine du processus inflammatoire.

Ces médiateurs sont néoformés à partir des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, des mononucléaires lymphocytes et monocytes, des mastocytes, des macrophages, des plaquettes et des cellules endothéliales.

Sous l'influence d'un stimulus, la phospholipase A2 (PL A2) est activée .

Cette phospholipase A2 va dégrader de l'acide arachidonique (AA) à partir des phospholipides membranaires des cellules citées plus haut.

L'acide arachidonique va être dégradé selon 2 voies :

- la voie de la cyclooxygénase (CO) qui aboutit à la formation des prostaglandines (PG) et des thromboxanes (TX),
- la voie de la lipoxygénase (LO) qui aboutit à la formation des leucotriènes (LT).

Ces deux voies aboutissent à la synthèse de composés à demi-vie brève.

b/ LE MECANISME DE L'INFLAMMATION.

Ce mécanisme s'opère selon différentes étapes :

- **La vasodilatation.**

L'activité des médiateurs sur les fibres musculaires lisses de la paroi des vaisseaux produit une vasodilatation induisant une augmentation du flux sanguin.

- **L'adhésion et la margination.**

La migration des cellules impliquées dans l'inflammation à partir du flot sanguin aboutit à leur adhésion sur les cellules de l'endothélium vasculaire. Elle s'aplatissent sur l'endothélium lors de la phase de margination.

- **La diapédèse.**

Les cellules endothéliales se rétractent permettant la migration à travers l'endothélium et dans les tissus.

- **La chimiotaxie.**

Les cellules sont attirées vers le site de l'inflammation par des médiateurs chimiques. Ce sont en général les neutrophiles qui sont les premières cellules arrivant au site de l'inflammation, suivis par les macrophages puis par les lymphocytes en cas de stimulation immunologique (56).

2/ LES ETUDES SUR L'INFLAMMATION.

a/ ACTIVITE SUR LE METABOLISME DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE.

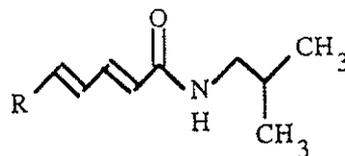
Les études qui ont été effectuées concernent l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des fractions alkylamides extraites d'*Echinacea*.

- Dans une première étude réalisée en 1989 (91), l'effet inhibiteur sur le métabolisme de l'acide arachidonique des composés alkylamides de plusieurs plantes a été testé dont celui d'*Echinacea*.

On constate la présence d'une activité inhibitrice sur la 5 lipoxygénase.

Cinquante μmol d'alkylamides des racines d'*Echinacea purpurea* inhibent à 92% la 5-lipoxygénase (5-LO).

Parmi ces différentes plantes, on note une structure commune aux alkylamides actifs sur la 5-lipoxygénase (figure 7).



Isobutylamides (R= C₆-C₁₃)

Figure 7 : Structure commune aux alkylamides actifs.

- Une étude parue en 1994 (65) a permis de montrer l'activité *in vitro* de 2 isomères isobutylamides, représentés par l'isobutylamide de l'acide dodéca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*E*/*Z*-tétraénoïque, présents majoritairement dans les racines d'*Echinacea angustifolia* et d'*Echinacea purpurea*.

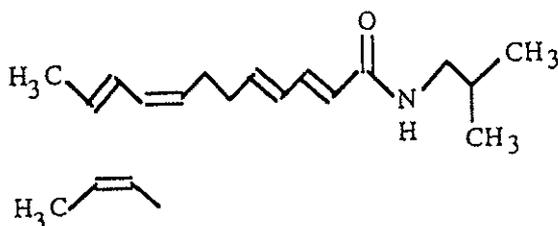
Ce composé, à une concentration de 50 µmol/l, inhibe à 54,7% la cyclooxygénase et à 62,2% la 5-lipoxygénase.

On a observé également une inhibition sur la cyclooxygénase par l'isobutylamide de l'acide pentadéca-2*E*,9*Z*-diène-12,14-diynoïque.

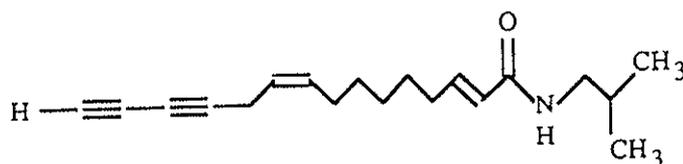
Une structure moléculaire similaire entre ces composés et l'acide arachidonique pourrait être à l'origine d'une inhibition compétitive par fixation sur les récepteurs cellulaires de l'acide arachidonique (figure 8) (65).



Acide arachidonique.



Isobutylamides des acides dodéca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*E*/*Z*-tétraénoïque.



Isobutylamide de l'acide pentadéca-2*E*,9*Z*-diène-12,14-diynoïque.

Figure 8 : Alkylamides d'*Echinacea purpurea* et *E.angustifolia* inhibant les enzymes du métabolisme de l'acide arachidonique (65).

b/ ACTIVITE ANTI-HYALURONIDASIQUE.

Les hyaluronidases sont des enzymes présentes dans certains organes et produites par certaines bactéries (pneumocoques, streptocoques), elles favorisent l'hydrolyse de l'acide hyaluronique et des polysides, rendant ainsi moins visqueux les milieux organiques qui en sont riches.

L'acide hyaluronique est un constituant du tissu conjonctif, il possède un haut degré de polymérisation, il a un rôle de ciment intercellulaire.

Les hyaluronidases facilitent la diffusion des médiateurs endogènes libérés lors de l'inflammation.

Certains composés contenus dans les racines d'*Echinacea purpurea* possèdent une activité anti-hyaluronidasique ; ce sont les dérivés de l'acide caféique: acide cichoréique et acide cafatarique. Ces composés sont employés comme adjuvants des thérapies anti-inflammatoires (20,80).

A moindre degré les alkylamides cités plus haut posséderaient cette même activité.

Certains micro-organismes sécrètent des hyaluronidases ce qui facilite la dissémination infectieuse en fluidifiant les liquides biologiques de l'organisme et en permettant ainsi une meilleure pénétration.

L'inhibition de l'activité de la hyaluronidase permet un accroissement de la résistance tissulaire à l'attaque de certains micro-organismes pathogènes. Le degré de polymérisation et la viscosité de l'acide hyaluronique sont des facteurs importants lors de l'attaque et de la propagation des infections, plus la polymérisation et la viscosité sont élevées, plus il est difficile à l'infection de s'étendre (32).

L'activité anti-hyaluronidasique des *Echinacea* est de ce fait à la fois une activité anti-inflammatoire et anti-infectieuse.

D/ LES ETUDES CLINIQUES SUR LA PREVENTION ET LE TRAITEMENT DES INFECTIONS ORL.

Les études cliniques suivantes ont eu pour objet d'évaluer l'efficacité de préparations à base d'extrait d'Echinacée dans la prévention et le traitement des rhumes et des infections respiratoires hautes (30).

Dans la majeure partie des études effectuées, l'extrait d'Echinacée a été testé avec d'autres extraits de plantes.

Sur 26 études cliniques recensées sur le sujet, seules 5 ont utilisé l'extrait d'Echinacée comme composant unique de la préparation testée (les études utilisant des extraits composés ne permettent pas de conclure quant à l'activité seule des extraits d'Echinacée).

1/ PROPHYLAXIE DES INFECTIONS ORL.

Trois études cliniques en double aveugle contre *placebo* ont été menées dans le but de prouver l'action prophylactique des extraits d'Echinacée dans la prévention des infections ORL récidivantes.

L'absence de résultats suffisamment significatifs est en partie due à la difficulté pour masquer le goût âcre des extraits d'Echinacée, ce qui ne garantit pas la fiabilité des résultats d'une étude menée en aveugle.

- Une première étude dirigée par Schoneberg a cherché à évaluer l'activité de jus pressé d'*Echinacea purpurea* (32,78).

Cent huit volontaires souffrant d'infections chroniques des voies respiratoires supérieures avec plus de 3 épisodes infectieux d'affections telles qu'otite, rhinite, angine, laryngite, bronchite, pneumonie, sinusite en l'espace de 6 mois, ont été sélectionnés pour cette étude.

Un groupe a reçu 4 ml deux fois par jour de jus pressé d'*Echinacea purpurea* pendant une période de 8 semaines, l'autre a reçu un *placebo*.

Par rapport au groupe *placebo*, le groupe traité par l'Echinacée a un taux de rechute infectieuse légèrement diminué, le temps entre deux épisodes infectieux est allongé, la durée des symptômes est raccourcie et leur sévérité est atténuée.

- **Une deuxième étude** menée par Melchart a évalué l'utilisation prophylactique dans la prévention des infections ORL d'extraits éthanoliques de racines d'*Echinacea purpurea* et d'*Echinacea angustifolia* contre *placebo* (37,60).

Ils ont évalué le temps au bout duquel apparaît la première infection, et le nombre de volontaires qui finalement ont développé une infection.

Trois cent deux patients, âgés de 18 à 65 ans et ayant présenté l'année passée au moins 3 infections ORL, ont reçu soit 50 gouttes d'extrait d'*Echinacea purpurea* et d'*Echinacea angustifolia* soit 50 gouttes de *placebo* 2 fois par jour, 5 jours par semaine pendant 12 semaines.

Dans le groupe *placebo* 36,7% ont eu une infection, dans le groupe ayant reçu un extrait d'*E. angustifolia* ; on en a dénombré 32% et dans le groupe *E. purpurea* 29%.

Cette différence entre les 3 groupes n'est pas suffisamment significative pour permettre de conclure en ce qui concerne l'éviction de rechutes infectieuses.

- **Une troisième étude**, randomisée, menée par Grimm, a été élaborée ; elle concerne les effets d'extraits fluide d'*Echinacea purpurea* sur l'incidence et la gravité des rhumes et des infections ORL (36).

Cent huit patients ayant eu au moins 3 rhumes l'année précédente, ont reçu en double aveugle 4ml d'extrait fluide d'*Echinacea purpurea* ou 4 ml d'un jus *placebo*, 2 fois par jour.

L'incidence et la gravité des symptômes des rhumes et des infections respiratoires ont été évaluées sur 8 semaines.

Durant ces 8 semaines, 65% des patients du groupe Echinacée et 74% des patients du groupe *placebo* ont eu un rhume ou une infection respiratoire.

Le nombre moyen d'infections par patient est de 0,78 pour le groupe Echinacée et de 0,93 pour le groupe *placebo*.

La durée moyenne de l'infection a été de 4,5 jours pour le groupe Echinacée et de 6,5 jours pour le groupe *placebo*.

Malgré des résultats légèrement positifs en faveur de l'extrait d'Echinacée, les différences entre les deux groupes ne sont pas suffisamment significatives pour établir une preuve d'efficacité de l'extrait fluide d'*Echinacea purpurea* dans la prévention des infections ORL.

On peut imputer ce manque d'écart significatif à la trop petite taille de l'échantillon de malades.

Melchart (37) tire la conclusion de ces 3 études que les préparations à base d'Echinacée doivent avoir un effet dans la prévention des infections ORL en les réduisant dans une proportion de 10 à 20%.

2/ TRAITEMENT DES INFECTIONS ORL.

Deux études contre *placebo* (16,17) ont évalué l'activité thérapeutique de préparations d'Echinacée chez des patients souffrant de rhumes et d'infections respiratoires hautes.

- **La première étude** a recherché l'efficacité du jus pressé des racines d'*Echinacea purpurea* (17).

Cent quatre-vingt patients ont été répartis en 3 groupes :

- * le premier groupe a reçu 450 mg par jour de jus d'Echinacée
- * le deuxième groupe a reçu 900 mg par jour de jus d'Echinacée
- * le troisième groupe a reçu un jus *placebo*.

Les jus contenaient de 50 à 55% d'éthanol.

Les paramètres d'efficacité du traitement, basés sur l'amélioration des symptômes cliniques après 3 à 4 jours et après 8 à 10 jours, ont permis de considérer l'existence d'une concentration minimale active.

En effet, la concentration la plus élevée en jus pressé des racines d'*Echinacea purpurea* a une action sensible sur l'atténuation des symptômes infectieux ; alors que la concentration la plus basse en jus pressé a une activité à peine supérieure à celui du *placebo*.

• **La deuxième étude contre *placebo*** a eu pour objet la recherche de l'efficacité d'un extrait éthanolique des racines d'*Echinacea pallida* (16).

Cent soixante patients atteints de rhumes et d'infections respiratoires ont reçu soit 900 mg par jour d'extrait éthanolique des racines d'*Echinacea pallida*, soit un jus *placebo*.

Ces patients ont été suivis et traités 8 à 10 jours durant.

L'origine des rhumes et des infections respiratoires hautes a été classée selon s'il s'agissait d'infections virales ou bactériennes.

Pour les infections bactériennes, la durée des symptômes est limitée à 9,8 jours en moyenne pour le groupe Echinacée contre 13 jours pour le groupe *placebo*.

Pour les infections virales, la durée des symptômes s'étend à 9,1 jours en moyenne pour le groupe Echinacée contre 12,9 jours pour le groupe *placebo*.

On constate donc une réduction de la durée des symptômes infectieux dans le cadre d'une prise quotidienne de 900 mg d'extrait éthanolique des racines d'*Echinacea pallida*.

E/ LA TOXICITE.

Une étude complète et récente a été effectuée sur la recherche d'une toxicité potentielle lors de l'utilisation thérapeutique des parties aériennes d'*Echinacea purpurea*.

Ces investigations ont été menées sur des rats et des souris (62).

1/ TOXICITE AIGUE.

La toxicité aiguë est caractérisée par la Dose Létale 50 (DL 50 : dose qui entraîne la mort chez la moitié de la population après administration du produit à tester).

La DL 50 a été recherchée chez le rat et la souris après administration orale et IV d'une solution à base des tiges feuillées d'*E. purpurea*.

On constate que même à des doses très importantes (plus de 30 g/kg à l'oral et plus de 10 g/kg en IV chez la souris) aucun effet ni aucune mort d'animal n'a été observé.

Il n'existe donc pas de toxicité aiguë (62).

2/ TOXICITE SUB-AIGUE.

La toxicité sub-aiguë fait état des symptômes apparaissant les jours suivant une administration massive du produit étudié.

Après 4 semaines chez le rat on n'observe aucun symptôme.

Il n'existe pas non plus de toxicité sub-aiguë (62).

3/ PHOTOTOXICITE.

Une phototoxicité a été démontrée pour quelques polyacétylènes d'*Echinacea* pour des radiations d'ultraviolet long allant de 320 à 400 nm. L'étude a été menée dans le cadre d'une

activité anti-bactérienne, antifongique, anti-virale, anti-helminthique et contre certains insectes (46).

4/ CARCINOGENESE ET MUTAGENESE.

Ces effets ont été testés sur des cultures bactériennes *in vitro* et sur des souris *in vivo*, mais aucun effet carcinogène ou mutagène n'a été observé (62).

F/ CONCLUSION SUR LES PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES.

L'activité immunomodulatoire des Echinacées étudiées est apportée majoritairement par les polysaccharides I, II, A, E et F qui exercent un effet sur l'activation des macrophages et la sécrétion de cytokines.

Parallèlement, il existe une activité antivirale des extraits d'Echinacée sur le virus *M. influenzae* impliqué dans de nombreuses pathologies ORL ; ainsi qu'une activité bactériostatique.

De plus, grâce à une action sur le métabolisme de l'acide arachidonique et à une activité anti-hyaluronidasique les extraits étudiés manifestent un effet anti-inflammatoire.

L'ensemble de ces propriétés constitue une action synergique bénéfique exploitable dans la lutte contre les infections.

Il est à noter l'absence de toxicité connue qui ajoute à l'intérêt de l'utilisation de l'Echinacée en thérapeutique.

VII/ UTILISATION.

A/ LA LEGISLATION.

Echinacea purpurea M., *Echinacea angustifolia* DC et *Echinacea pallida* Nutt. sont des plantes ne possédant pas de monographies à la Pharmacopée française.

Elles ne sont pas officinales mais sont inscrites sur la liste A des plantes médicinales de la Pharmacopée française 10^{ème} édition. La liste A correspond à la liste des plantes traditionnellement utilisées dans la thérapeutique en allopathie et en homéopathie.

Elles ne figurent pas sur la liste des plantes retenues par la commission AMM plantes.

Parmi les différents produits disponibles actuellement sur le marché français, seuls l'huile nasale, la pommade et le complexe homéopathique, à base d'Echinacée, ont reçu une AMM et sont considérés comme des médicaments.

Les autres produits sont considérés comme des produits de parapharmacie autrement appelés compléments alimentaires ou alicaments.

Toutefois, l'article 1 du décret 91-827 du 29 août 1991 relatif aux denrées alimentaires destinées à une alimentation particulière (DADAP) mentionne le fait que :

« Sont considérées comme denrées alimentaires destinées à une alimentation particulière les denrées alimentaires qui, du fait de leur composition particulière (...) se distinguent nettement des denrées alimentaires de consommation courante, conviennent à l'objectif nutritionnel indiqué (...).

Une alimentation particulière doit répondre aux besoins nutritionnels particuliers (...) de certaines catégories de personnes qui se trouvent dans des conditions physiologiques particulières et qui, de ce fait, peuvent tirer des bénéfices particuliers d'une ingestion contrôlée de certaines substances dans les aliments (...) ».

Au regard de ce décret, on peut considérer les produits à base d'Echinacée comme des compléments alimentaires pouvant être intégrés dans la catégorie des DADAP. En effet, ces produits permettent de répondre à des besoins particuliers chez des personnes sujettes à un affaiblissement de la réponse immunitaire consécutif à des affections multiples.

En Allemagne, il existe des monographies de la commission E pour *Echinacea angustifolia* DC et *Echinacea pallida* Nutt. (tableaux 12 et 13) :

<p>Ⓓ Extrait de la monographie de la Commission E (BANz n° 162 du 29.08.92)</p>	
<p>Propriétés pharmacologiques. Pharmacocinétique. Toxicologie.</p>	<p>6. Interactions médicamenteuses Aucune n'est connue.</p>
<p>Essais sur animal : les extraits alcooliques de racine augmentent la vitesse d'élimination des particules de carbone d'un facteur 2,2 (test de la clearance du carbone).</p> <p><i>In vitro</i> : sur des granulocytes, les extraits alcooliques de racine augmentent le taux de phagocytose de 23 %, pour une concentration de 10^{-2}-10^{-4} mg/ml.</p>	<p>7. Posologie Sauf prescription contraire : dose journalière : teinture (1:5) à 50 % d'éthanol (V/V) obtenue à partir de l'extrait sec initial (50 % d'éthanol, 7-11:1) correspondant à 900 mg de drogue.</p> <p>Aucune posologie n'est disponible en ce qui concerne l'enfant.</p>
<p>Données cliniques</p>	<p>8. Mode d'administration Voie orale : formes liquides.</p>
<p>1. Indications thérapeutiques Traitement complémentaire des infections grippales.</p>	<p>9. Durée du traitement Ne pas dépasser 8 semaines.</p>
<p>2. Contre-indications Ne pas utiliser en principe dans les maladies liées au système immunitaire comme la tuberculose, la leucose, la collagénose, la sclérose multiple, le sida et d'autres pathologies auto-immunes.</p>	<p>10. Surdosage Aucun n'est connu.</p>
<p>3. Effets secondaires Non connus.</p>	<p>11. Recommandations particulières Aucune n'est connue.</p>
<p>4. Précautions d'usage particulières Non connues.</p>	<p>12. Conséquences pour les conducteurs de véhicules et utilisateurs de machines Aucune n'est connue.</p>
<p>5. Utilisation en cas de grossesse ou d'allaitement Non connue.</p>	

Tableau 12 : *Echinacea pallida*. Monographie de la Commission E (97).

ⓓ Extrait de la monographie de la Commission E (BANz n° 162 du 29.08.92)

Propriétés pharmacologiques. Pharmacocinétique. Toxicologie

Expérimentations sur animal : utilisant le test de clearance du carbone, les extraits alcooliques de racine et les extraits de parties aériennes stimulent l'élimination des particules de carbone.

In vitro : sur granulocytes, les extraits alcooliques de racine accroissent la phagocytose.

Données cliniques

1. Indications thérapeutiques

Les préparations à base d'« *Echinacea angustifolia* » sont employées pour stimuler et renforcer les défenses naturelles de l'organisme, en particulier dans les domaines de l'ORL en cas de refroidissement, comme « modificateur de terrain » dans la grippe, mais aussi dans les lésions purulentes et inflammatoires, les abcès, les furoncles, les ulcères des jambes, l'herpes simplex, les phlegmons, les plaies, les maux de tête, les troubles métaboliques, comme sudorifique et antiseptique.

L'efficacité des indications revendiquées n'a cependant pas été prouvée.

2. Risques

Usage interne : Ne pas employer en cas de maladies évolutives comme la tuberculose, la leucose, la collagénose, la sclérose multiple, le sida et d'autres maladies auto-immunes.

Voie parentérale : En fonction de la dose, des frissons, des accès de fièvre de courte durée, des nausées et des vomissements peuvent survenir. Dans de rares cas, des réactions allergiques immédiates peuvent apparaître. Éviter toute utilisation parentérale en cas de tendance allergique, surtout vis-à-vis des Asteracées, et au cours de la grossesse.

Note : Chez les personnes diabétiques, l'état peut empirer à la suite d'une administration parentérale.

Évaluation

L'efficacité des indications revendiquées n'ayant pas été prouvée, l'utilisation thérapeutique ne peut être recommandée. Considérant les risques encourus, il est préférable de s'abstenir d'une utilisation par voie parentérale.

Tableau 13 : *Echinacea angustifolia*. Monographie de la Commission E (97).

B/ LES PRODUITS A BASE D'ECHINACEE.

Deux espèces sont plus particulièrement employées dans la thérapeutique :

Echinacea purpurea Moench (parties aériennes).

Echinacea angustifolia D.C. (racine).

En usage prophylactique des affections ORL, l'emploi thérapeutique des préparations à base d'Echinacée peut durer plusieurs semaines.

En traitement curatif, le schéma classique de prise nécessite 3 à 4 jours de médication intensive avec des intervalles de 3 à 4 jours sans administration de produit.

Dans le cas d'un traitement curatif, les Echinacées peuvent être employées comme traitement de soutien d'une antibiothérapie ou d'un traitement anti-inflammatoire en cours (32).

1/ LES TEINTURES MÈRES.

Il s'agit de teintures mères homéopathiques de plantes entières.

Elles sont commercialisées par les laboratoires Boiron et Dolisos.

Deux espèces d'Echinacée sont disponibles en teinture mère :

- *Echinacea purpurea* Moench.
- *Echinacea angustifolia* D.C.

Les teintures mères ne contiennent pas les polysaccharides immunoactifs cités précédemment.

L'intérêt des teintures mères réside dans la présence des polyènes et polyines.

Utilisation : antiseptique des voies respiratoires.

Posologie : *dans les infections aiguës : 50 gouttes 3 fois par jour en moyenne

*dans les autres infections : 10 à 25 gouttes une à deux fois par jour (24).

HOMEOROP ECHINACEE, Laboratoires Dolisos, est une teinture mère extraite de la plante entière des racines d'*Echinacea angustifolia* D.C. ; code CIP 4002935 (24).

2/ LES EXTRAITS FLUIDES.

SUPERDIET EXTRAIT FLUIDE ECHINACEE-EUCALYPTUS. Laboratoires SuperDiet.

Ce sont des ampoules buvables d'extrait fluide d'Echinacée et d'eucalyptus.

Utilisations : affections respiratoires, résistance de l'organisme.

Conseils d'utilisation : 1 ampoule par jour de préférence le matin, à diluer dans un demi-verre d'eau.

Composition : extrait fluide de racine d'Echinacée, extrait fluide de feuille d'eucalyptus, eau purifiée qsp une ampoule.

Présentation : boîte de 20 ampoules ; code CIP 7312702 (24).

3/ LES GELULES.

ARKOGELULES ECHINACEE. Laboratoires Arkopharma.

Utilisation : renforcement des défenses de l'organisme.

Conseils d'utilisation : 1 à 2 gélules 3 fois par jour au moment des repas.

Composition : racine d'Echinacée 325 mg, excipient qsp une gélule.

Présentation : boîte de 45 gélules ; code CIP 7363929.

ELUSANES ECHINACEE. Laboratoires Dolisos.

Utilisation : traditionnellement utilisé pour favoriser les défenses de l'organisme.

Composition : extrait sec de racine d'Echinacée 200 mg, excipient qsp une gélule.

Présentation : boîte de 30 gélules ; code CIP 7530600.

PHYTOSTANDARD ECHINACEE. Laboratoire Institut des substances végétales.

Composition : racine d'Echinacée 50 mg, son de blé 250 mg, cellulose 100 mg, qsp une gélule.

Présentation : gélules en boîte de 50 ; code CIP 7468195.

gélules en boîte de 150 ; code CIP 7468203.

SUPERDIET GELULE ECHINACEE. Laboratoires SuperDiet.

Utilisation : résistance de l'organisme.

Composition : Echinacée 300 mg, excipients qsp une gélule.

Présentation : flacon de 75 gélules ; code CIP 7261086 (24).

4/ L'HUILE NASALE.

MUCORHINE® Laboratoires Boiron.

C'est un antiseptique utilisé dans les affections des voies respiratoires supérieures. L'huile d'*Echinacea* est obtenue par macération de la plante entière d'*Echinacea angustifolia* DC dans de l'huile d'arachide, les alkylamides étant lipophiles se retrouvent en quantité non négligeable dans l'huile.

Indications : * affections nasales aiguës ou chroniques, coryza

* états grippaux avec inflammation rhino-pharyngée

Posologie : en pulvérisations nasales 2 ou 3 fois par jour.

Composition :

baume du Pérou	2,5 g
huile de Calendula	1,25 g
huile d'Echinacea	1,25 g
huile de Phytolacca	1,25 g
excipient qsp	100 g

Présentation : solution huileuse en flacon nébuliseur de 15 ml ; code CIP 3069015 (24).

5/ LA POMMADE.

HOMEORHINE® Laboratoires Boiron.

C'est un antiseptique nasal et adoucissant des irritations de la muqueuse nasale.

Indications : affections rhino-pharyngées, coryza.

Conseil d'utilisation : en applications locales plusieurs fois par jour.

Présentation : tube de 20 g ; code CIP 3050464. (24).

6/ LES COMPLEXES HOMEOPATHIQUES.

COMPLEXE LEHNING N°40. Laboratoire Lehning.

C'est un complexe homéopathique contenant de l'Echinacée.

Indications : sinusites, traitement adjuvant des suppurations localisées, en particulier ORL ou dermatologique.

Posologie : 20 gouttes 3 fois par jour. A prendre dans un peu d'eau, de préférence en dehors des repas.

Composition : <i>Echinacea</i> D1	20%
<i>Arctium lappa</i> D1	20%
<i>Arnica</i> D3	10%
<i>Phytolacca</i> D3	10%
<i>Mercurius corrosivus</i> D4	10%
<i>Acidum nitricum</i> D4	10%
<i>Scrophularia</i> D1	10%
<i>Sulfur</i> D4	10%

Présentation : gouttes buvables en flacon de 20 ml ; code CIP 3370329 (24).

VIII/ CONCLUSION.

L'Echinacéé est une plante connue et utilisée Outre Atlantique depuis des siècles. Très tôt, ses vertus anti-infectieuses ont été exploitées.

La présence des polysaccharides est à l'origine d'une mobilisation importante de la réponse immunitaire non spécifique grâce à une influence sur les fonctions et les sécrétions des cellules immunocompétentes présentes au centre de la lutte anti-infectieuse.

De plus, l'Echinacée possède des propriétés antivirales notamment contre le virus *M. influenzae* responsable d'infections de la sphère ORL. Elle est en mesure également de développer une activité antibactérienne et anti-inflammatoire.

Les études cliniques menées sur l'Echinacée ont permis d'évaluer les capacités de cette plante dans l'atténuation et la diminution de la durée des symptômes infectieux existant dans les affections de la sphère ORL.

De nos jours, l'Echinacée a trouvé son utilisation dans le domaine de la prophylaxie et dans le soutien au traitement des affections hivernales récurrentes en particulier les affections de la sphère ORL où elle demeure une référence en phytothérapie dans cette indication.

2^{ème} SOUS-PARTIE

LA PROPOLIS

I/ DEFINITION.

La propolis est une matière hétérogène constituée par un amalgame de substances résineuses, gommeuses, balsamiques, d'huiles essentielles, de pollens, de débris animaux et végétaux récoltés par les abeilles.

Ce mélange hétérogène est additionné de sécrétions propres aux abeilles telles que la cire et les sécrétions salivaires (25).

II/ HISTORIQUE DE SON UTILISATION.

La connaissance et l'utilisation thérapeutique de la propolis remonte à plusieurs millénaires avant notre ère.

En effet, elle fut employée par les prêtres de l'Égypte antique, puis plus tard par les grecs qui sont à l'origine de son appellation à la suite d'observations sur les moyens de défense de la ruche.

Étymologiquement, le mot propolis vient du grec *pro* qui signifie « en avant » et de *polis* signifiant « cité » ; la propolis étant édifiée à l'entrée de la ruche sous forme de chicanes destinées à prévenir l'intrusion de prédateurs (28,85).

Les Incas utilisaient la propolis dans le cadre d'infections fébriles. Les Mayas l'employaient lors des trépanations comme anti-infectieux et anti-inflammatoire.

Dans *Histoire des animaux*, Aristote décrit son utilisation par les grecs comme « remède aux affections de la peau, plaies et suppurations ».

Les médecins grecs Dioscoride et Galien en font état dans leurs travaux. C'est ainsi que les anciens textes grecs font mention de l'utilisation de la propolis par les médecins pour la fabrication de baumes.

Selon les écrits de Pline l'Ancien, les romains en donnaient à leur soldats pour soigner les blessures lors des différentes invasions.

Les textes hébreux la nommaient *tzori*. Ses propriétés thérapeutiques sont décrites dans l'Ancien Testament.

Les plaquettes du Moyen-Age européen décrivent des préparations médicales à base de propolis pour les traitements des maladies de la bouche et de la respiration.

Au XX^{ème} siècle, son utilisation thérapeutique s'est développée lors de la guerre des Boers contre les anglais en Afrique australe, à défaut d'antibiotiques, la propolis était utilisée dans le traitement et la cicatrisation des blessures.

Elle fut également utilisée au cours de la seconde guerre mondiale en URSS par des cliniques chirurgicales de Sverdlovsk pour traiter différentes affections cutanées (28,85).

Depuis de nombreuses recherches scientifiques sont menées sur la propolis dans le but d'approfondir ses propriétés antimicrobiennes et immunomodulatrices.

III/ LA PROPOLIS ET LES ABEILLES.

A/ ORIGINE DE LA PROPOLIS.

La propolis est récoltée par les abeilles butineuses à partir principalement des sudations des bourgeons de certains arbres. En effet, beaucoup de plantes protègent leur feuilles, bourgeons, fleurs et fruits en sécrétant une résine à pouvoir imperméabilisant, isolant thermique, anti-microbien et antiputréfaction (52).

L'origine et donc la composition de la propolis est variable.

L'origine est fonction de la répartition qualitative et quantitative des espèces végétales présentes dans l'ère de butinage, c'est-à-dire dans un rayon de quelques kilomètres autour de la ruche.

La propolis est récoltée à partir de l'espèce végétale dominante autour du rucher, elle est systématiquement complétée en moindres mesures par d'autres genres végétaux (49).

En Europe, ce sont les bourgeons de peuplier qui sont essentiellement butinés et l'espèce prépondérante sur laquelle est faite la récolte est *Populus nigra*.

A cette espèce s'ajoute une flore de complétage variée composée par :

- Les bouleaux, *Betula* sp.
- Les aulnes, *Alnus* sp.
- Les chênes, *Quercus* sp.
- Les saules, *Salix* sp.
- Les pruniers, *Prunus* sp.
- Les ormes, *Ulmus* sp.
- Les trembles, *Tremulus* sp.
- Le marronnier d'inde, *Aesculus hippocastanum*.
- Le frêne, *Fraxinus excelsior*.
- Les sapins, *Abies* sp.
- Les pins, *Pinus* sp.
- Les épicéas, *Epicea* sp.
- Les mélèzes, *Larix* (49).

Dans certaines régions tropicales où l'on ne trouve pas de peupliers, comme par exemple au Vénézuéla, l'abeille afin de fabriquer la propolis va butiner majoritairement des fleurs de la famille des Clusiaceae (Guttiferae) que sont les espèces *Clusia major* et *Clusia minor* (29).

B/ RECOLTE DE LA PROPOLIS PAR LES BUTINEUSES.

L'espèce d'abeille *Apis mellifera* est la seule utilisée en apiculture.

Cette espèce peuple actuellement l'Europe, l'Afrique, l'Asie occidentale, l'Amérique du Nord, l'Amérique du Sud, l'Australie et la Nouvelle Zélande (28).

La récolte de la propolis est rendue possible grâce à la morphologie particulière des abeilles ouvrières. En effet, elles peuvent répondre à un certain nombre de fonctions grâce à un ensemble d'organes et de cellules dont :

- **les glandes hypopharyngiennes ou salivaires** qui sécrètent la gelée royale : produit nourricier de la ruche,
- **les glandes cirières** sécrétant la cire : substance grasse indispensable à l'habitat de la colonie,
- **l'équipement des pattes** : un ensemble de brosses, de peignes, de poussoirs, de soies et de corbeilles de la troisième paire de pattes postérieures, est destiné à la récolte du pollen (aliment essentiel de l'abeille) et à la récolte de la propolis (produit majeur indispensable à la vie de la colonie) (28).

C'est, au cours de leur vie, après avoir été nettoyeuses, nourrices, soigneuses, cirières, bâtisseuses, ventileuses, gardiennes et magasinieres que les ouvrières deviennent butineuses.

Le rôle des butineuses est la récolte de l'eau, du nectar des fleurs (ou miellat aboutissant au miel), du pollen et de la propolis.

Peu d'ouvrières ont en charge la récolte de la propolis. Ces dernières semblent être spécialisées dans cette récolte particulière et ne se livrent à aucune autre collecte (85).

Afin de situer la source désirée de propolis, les butineuses font usage des organes sensoriels de leurs antennes.

Une fois la résine localisée, elles la prélèvent en la triturant avec leurs mandibules, et elles y déposent simultanément leurs propres sécrétions salivaires.

Ensuite, elles redressent la tête afin d'étirer et de faire rompre la proportion de résine.

Elles accumulent leur récolte en la faisant passer à l'aide de leurs premières pattes, sous forme de pelote, dans les corbeilles dont sont munies leur troisième paire de pattes grâce à l'équipement complet de brosses, poussoirs, peignes, soies...

On notera que la consistance visqueuse de la propolis n'est à aucun moment une entrave pour l'abeille dont la récolte n'est pas perturbée.

Les pelotes recueillies sont déchargées par d'autres ouvrières qui les enrichissent en cire, au niveau du trou de vol ou à l'intérieur de la ruche à l'endroit même où elles vont être utilisées.

La résine des végétaux, originellement pure, est naturellement enrichie par les sécrétions propres des abeilles aussi bien lors de la récolte qu'au cours de son arrivée à la ruche.

L'ajout de ces sécrétions, constituées par les sécrétions salivaires et la cire, à la résine pure se fait en quantités variables selon la fonction requise pour un arrivage donné de propolis dans la ruche (85).

La récolte de propolis s'effectue au printemps à la fin de la miellée ou au début de l'automne. Un regain d'activité pour la récolte de propolis est constaté lorsque la température avoisine et dépasse les 20°C permettant ainsi l'augmentation de la malléabilité de la propolis.

Les abeilles caucasiennes et les abeilles d'Asie Mineure propolisent davantage que les autres abeilles (85).

De même, les ruches situées dans des régions boisées propolisent davantage que les ruches des plaines (28).

C/ ROLE DE LA PROPOLIS DANS LA RUCHE.

La consistance visqueuse de la propolis représente un matériau semblable à une sorte de ciment, de mastic, de vernis ou de baume (28).

L'utilisation de la propolis dans la ruche est multiple.

- Par la construction de véritables barrières de défense, elle permet la réduction du diamètre de l'entrée au trou de vol interdisant l'incursion par les prédateurs.

- Elle permet la réduction des fentes et des fissures grâce à sa fonction de colmatage hermétique ce qui constitue un rempart efficace contre les déperditions thermiques de la ruche.
- Elle permet la réparation et la consolidation des rayons en mauvais état ainsi que le blocage des cadres mobiles (entravant la récolte par l'apiculteur).
- Elle permet de lisser et d'aplanir en vernissant toutes les surfaces intérieures de la ruche afin de supprimer toutes les aspérités.
- Elle est à l'origine de l'embaumement des prédateurs tués à l'intérieur de la ruche et de l'embaumement d'objet divers arrivés dans la ruche.
- Elle a un rôle de conservateur en inhibant la germination des grains de pollen stockés (indispensables à la nutrition des abeilles) : la propolis contient une importante proportion d'inhibiteurs de croissance végétale issus des bourgeons en dormance.
- Elle a un rôle d'aseptie en recouvrant d'une fine pellicule les nouveaux rayons et les cellules destinées à la ponte de la reine.
- Enfin, son rôle essentiel est celui de la défense prophylactique de la ruche contre une éventuelle prolifération microbienne qui pourrait être aisée dans des conditions de température (35°C) et d'humidité aussi propices (85).

Dans la ruche, le surplus de propolis est mis en réserve dans les cellules pour une utilisation ultérieure (28).

D/ RECOLTE DE LA PROPOLIS PAR L'APICULTEUR ET CONSERVATION.

La propolis impure est récoltée par raclage des cadres et des parois de la ruche à une température basse pour favoriser la récolte lorsque la propolis est dure et friable.

Elle se conserve de préférence à l'abri de la lumière et de la chaleur.

E/ STANDARDISATION DE LA PROPOLIS.

La composition de la propolis est extrêmement complexe.

Cette composition suit les variations liées aux répartitions végétales des régions de propolisation et elle dépend également de la période de la récolte.

Il existe cependant un certain nombre de composés communs aux propolis issues de différentes régions.

Cette variation de composition impose la notion de standardisation des propolis nécessaire pour obtenir une reproductibilité des résultats concernant les diverses études menées à partir de ce composé.

C'est pourquoi un protocole de standardisation a été proposé en 1979, il est basé sur :

- une détermination du résidu de calcination,
- une détermination du résidu insoluble dans les solvants et dans l'eau,
- une détermination de la teneur en cires au moyen de l'indice de saponification,
- une identification chromatographique d'au moins 5 acides aromatiques représentatifs (comme par exemple : l'acide benzoïque, l'acide para coumarique, l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide gentisique, et l'acide isoférulique) et une identification d'au moins 3 flavonoïdes caractéristiques (comme par exemple la chrysin, la tectochrysin et la galangine),
- une analyse microscopique du résidu insoluble dans les solvants et dans l'eau de manière à déceler les matières étrangères,
- des essais bactériologiques d'extraits bruts vis-à-vis de quelques micro-organismes bien définis (2).

F/ OBTENTION DE LA PROPOLIS PURE.

L'analyse de la composition chimique de la propolis exige un procédé d'extraction d'une propolis débarrassée de ses impuretés.

La méthode classique pour obtenir un échantillon de propolis pure consiste à isoler la fraction soluble dans l'éthanol en la séparant par filtrage des composés insolubles.

Pour l'analyse chimique, l'utilisation de l'extrait éthanolique de propolis (EEP) est le plus courant mais d'autres solvants ont également déjà été utilisés dans l'identification de beaucoup de constituants (57).

IV/ COMPOSITION ANALYTIQUE.

A/ ANALYSE PHYSIQUE.

La propolis se présente sous l'aspect d'une substance de couleur variable selon sa provenance du jaune clair au brun très foncé.

Elle a une saveur âcre et amère.

Elle possède une odeur douceâtre variable selon son origine.

Selon la température à laquelle elle est exposée, elle présente une consistance variable : à 15°C elle est dure et friable, à 30°C elle est molle et malléable, elle devient collante et gluante entre 30 et 60°C et fond entre 60 et 70°C en moyenne.

En la chauffant au bain marie, on arrive à extraire du surnageant les impuretés de cire fondue.

La propolis est insoluble dans l'eau à froid. Elle est soluble en partie dans l'acétone, l'éthanol, l'ammoniaque, le benzène, le chloroforme, l'éther et le trichloréthylène (28).

B/ COMPOSITION CHIMIQUE.

Jusqu'alors, il a été identifié plus de 180 composés présents dans la propolis. Des nouvelles molécules sont découvertes chaque année grâce à l'augmentation de la sensibilité des méthodes de fractionnement et d'analyse et à l'étude de plus en plus étendue des propolis du monde entier (2).

L'analyse moyenne des différentes propolis est représentée par :

- 50 à 55% de résines et de baumes,
- 30 à 40% de cires,
- 5 à 10% d'huiles essentielles,
- 5% de pollen,
- 5% de composés organiques et minéraux divers.

1/ LES ELEMENTS MINERAUX.

Une vingtaine a été identifiée, il s'agit : de l'argent, césium, mercure, lanthanum, antimoine, cuivre, manganèse, fer, aluminium, vanadium, silicium, magnésium, cobalt, nickel, zinc, plomb, titane, étain, barium, chrome. Sont également présents le calcium, le sodium et le potassium (57).

2/ LES VITAMINES.

Sont présentes les vitamines A, B1, B2, B6, C, E, PP.

3/ LES ACIDES AMINES.

Jusqu' alors, il a été recensé une vingtaine d'acides aminés présents dans les différentes propolis du monde entier (57).

LES ACIDES AMINES	alanine ; β -alanine ; acide α -aminobutyrique ; acide δ -amino butyrique ; arginine ; asparagine ; acide aspartique ; cystine ; cystéine ; acide glutamique ; glycine ; histidine ; hydroxyproline ; isoleucine ; leucine ; lysine ; méthionine ; ornithine ; phénylalanine ; proline ; acide pyroglutamique ; sarcosine ; sérine ; thréonine ; tryptophane ; tyrosine ; valine
--------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

4/ LES GLUCIDES.

Les sucres recensés sont les fructofuranose, α -D-glucopyranose, β -D-glucopyranose (57).

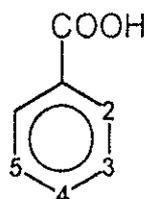
5/ LES ACIDES GRAS.

Parmi eux, on trouve : l'acide arachidonique, l'acide béhénique, l'acide cérotique, l'acide laurique, l'acide linoléique, l'acide lignocérique, l'acide montanique, l'acide myristique, l'acide oléique, l'acide palmitique, l'acide stéarique (57).

6/ LES COMPOSES AROMATIQUES.

Ils représentent la classe de composés la plus abondamment présente dans la propolis.

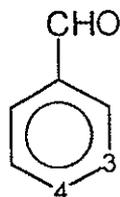
a/ LES DERIVES DE L'ACIDE BENZOÏQUE.



DERIVES	SUBSTITUANTS			
	2	3	4	5
acide benzoïque	H	H	H	H
acide 4-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
acide 4-méthoxybenzoïque	H	H	OCH ₃	H
acide salicylique	OH	H	H	H
acide 2-amino3-méthoxybenzoïque	NH ₂	OCH ₃	H	H
acide gentisique	OH	H	H	OH
acide gallique	H	OH	OH	OH

Tableau 14 : Les principaux dérivés de l'acide benzoïque (75).

b/ LES DERIVES DU BENZALDEHYDE.

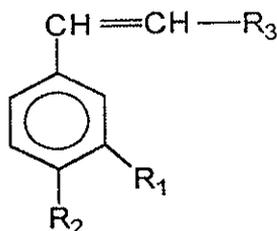


DERIVES	3	4
vanilline	OCH ₃	OH
isovanilline	OH	OCH ₃

Tableau 15 : Les principaux dérivés du benzaldéhyde (75).

c/ LES DERIVES DE L'ALCOOL ET DE L'ACIDE CINNAMIQUE ET LEURS ESTERS.

En plus des dérivés de l'alcool et de l'acide cinnamique, de nombreux esters sont présents dans la propolis, comme par exemple : les esters de l'acide férulique, les esters de l'acide isoférulique et les esters de l'acide caféique (86).



DERIVES	SUBSTITUANTS		
	R1	R2	R3
acide cinnamique	H	H	COOH
alcool cinnamique	H	H	CH ₂ OH
acide 3,4-diméthoxy-cinnamique	OCH ₃	OCH ₃	COOH
acide para coumarique	H	OH	COOH
acide caféique	OH	OH	COOH
acide férulique	OCH ₃	OH	COOH
acide isoférulique	OH	OCH ₃	COOH

Tableau 16 : Les principaux dérivés de l'alcool et de l'acide cinnamique (75).

d/ LES FLAVONOÏDES.

Ils représentent le plus grand nombre de composés présents dans la propolis.

Ils possèdent en thérapeutique un rôle important du fait de leurs intéressantes propriétés physiologiques :

- ils exercent une action directe sur les capillaires sanguins,
- ils potentialisent l'action de l'acide ascorbique,
- ils ont une activité anti-inflammatoire (28).

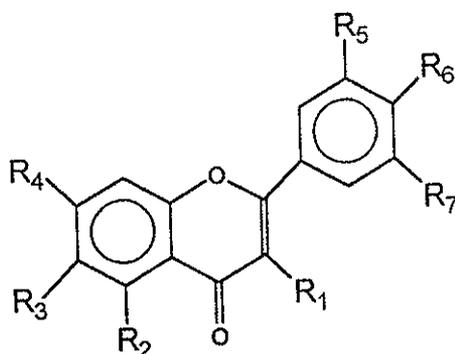
De par leur structure, les flavonoïdes se décomposent en 4 classes :

- les flavones,
- les flavonols,
- les flavanones,
- les flavanonols ou dihydroflavonols.

Parmi eux, on notera l'existence de la chryisine qui donne sa couleur jaune au miel, à la cire et à la propolis.

La galangine et la pinocembrine sont responsables d'une activité bactériostatique.

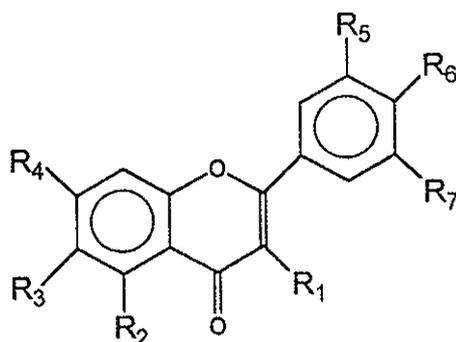
α / LES FLAVONES.



DERIVES	SUBSTITUANTS						
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
chrysin	H	OH	H	OH	H	H	H
tectochrysin	H	OH	H	OCH ₃	H	H	H
acacétine	H	OH	H	OH	H	OCH ₃	H
pectolinarigénine	H	OH	OCH ₃	OH	H	OCH ₃	H
apigénine	H	OH	H	OH	H	OH	H
lutéoline	H	OH	H	OH	OH	OH	H

Tableau 17 : Les principales flavones (75).

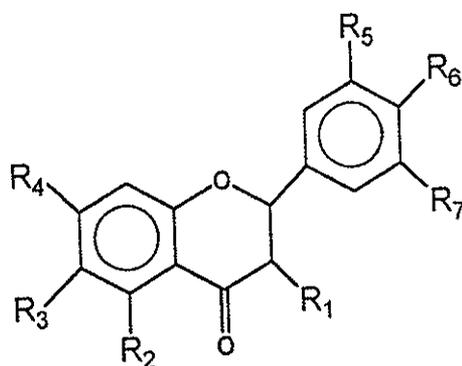
β / LES FLAVONOLS.



DERIVES	SUBSTITUANTS						
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
quercétine	OH	OH	H	OH	OH	OH	H
4'-méthyléther- kaempférol	OH	OH	H	OH	H	OCH ₃	H
rhamnocitrine	OH	OH	H	OCH ₃	H	OH	H
galangine	OH	OH	H	OH	H	H	H
izalpinine	OH	OH	H	OCH ₃	H	H	H
ermanine	OCH ₃	OH	H	OH	H	OCH ₃	H
bétulétol	OH	OH	OCH ₃	OH	H	OCH ₃	H
isorhamnétine	OH	OH	H	OH	H	OH	OCH ₃
kaempférol	OH	OH	H	OH	H	OH	H
rhamnazine	OH	OH	H	OCH ₃	H	OH	OCH ₃
rhamnétine	OH	OH	H	OCH ₃	OH	OH	H
albusine	OH	OH	OCH ₃	OH	H	H	H
5,6,7-trihydroxy-3,4'- diméthoxyflavone	OCH ₃	OH	OH	OH	H	OCH ₃	H
fisétine	OH	H	H	OH	OH	OH	H

Tableau 18 : Les principaux flavonols (75).

γ/ LES FLAVANONES ET FLAVANONOLS.



DERIVES	SUBSTITUANTS						
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
pinostrobin	H	OH	H	OCH ₃	H	H	H
pinocembrin	H	OH	H	OH	H	H	H
sakuranétine	H	OH	H	OCH ₃	H	OH	H
isosakuranétine	H	OH	H	OH	H	OCH ₃	H
alpinétine	H	OCH ₃	H	OH	H	H	H
pinobanksin	OH	OH	H	OH	H	H	H
4'-éthoxy aromadendrin	OH	OH	H	OH	H	OCH ₃	H

Tableau 19 : Les principaux flavanones et flavanonols (75).

7/ LES COMPOSES TERPENIQUES.

Ces composés possèdent des propriétés anti-inflammatoires, c'est le cas du β bisabolol, mais aussi des propriétés antitumorales c'est le cas du α -acétoxybétuléol (57).

Parmi eux, on trouve des monoterpènes (1,8-cinéole, α -copaène, cymène, limonène) et des sesquiterpènes (α -acétoxybétulinol, β -bisabolol, alcool sesquiterpène).

8/ LES STEROIDES.

On y trouve : l'acétate de calinastérol, l'acétate de β dihydrofucostérol, l'acétate d'ucostérol et l'acétate de stigmastérol (57).

9/ LES HYDROCARBURES.

Les hydrocarbures peuvent être hydroxylés, sous forme d'esters ou d'éthers.

Ce sont les constituants de la cire sécrétée par les glandes cirières de l'abeille et ajoutée à la propolis lors de la récolte, lors du dépôt à la ruche et lors de son utilisation par les abeilles. Ils représentent 30 à 40% de la composition de la propolis.

10/ LES HORMONES.

La présence d'hormones (acide abscissique et auxine) dans la propolis s'explique par le butinage des bourgeons qui sont de 3 sortes selon les phases de développement ou de dormance.

On distingue :

- les bourgeons d'été destinés à régénérer le feuillage détérioré ou à devenir des futurs bourgeons d'hiver,
- les bourgeons d'hiver,
- les bourgeons apicaux ou terminaux.

C'est pourquoi, selon leur destinée, les sécrétions qui entourent les bourgeons varient.

La propolis recueillie contient alors plus ou moins d'inhibiteurs de croissance (auxine) ou d'activateurs croissance (acide abscissique) s'il s'agit des bourgeons terminaux (85).

V/ LES PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES.

A/ ACTION IMMUNOMODULATRICE.

Récemment, une étude clinique allemande a été effectuée dans le domaine de l'efficacité prophylactique de la propolis sur l'immunomodulation (15).

Le but de cette recherche fut de mettre en évidence l'action prophylactique de la propolis dans la sollicitation du système immunitaire.

La réponse immune a été évaluée par la mesure des niveaux de cytokines sanguins (TNF α , IL-6, IL-8) *in vivo*.

Une étude clinique a testé 10 personnes âgées de 18 à 45 ans en bonne santé, avec un poids normal et quelque soit le sexe.

Les sujets ont reçu pendant 13 jours 500 mg de propolis XNP® sous forme de capsules produites par les laboratoires Börner. La prise a été effectuée par voie orale les matins.

Des différences significatives, pendant et après le traitement à base de propolis, ont été mises en évidence sur la stimulation de la sécrétion des cytokines étudiées, comparativement à des témoins sans médication.

Durant et après le traitement, la propolis a conduit à un accroissement sensible du taux sanguin de TNF α , IL-6, IL-8. Cette stimulation de la sécrétion de cytokines s'est poursuivie sur une culture *ex vivo* de leucocytes prélevés dans le sang périphérique.

L'augmentation du taux d'IL-6 s'est produite durant les 13 jours de traitement.

La sécrétion de TNF α et d'IL-8 a atteint un plateau à partir du 4^{ème} jour, la sécrétion de TNF α a même diminué après cela mais restant toujours supérieure au jour 0 de l'administration.

D'après cette étude, la prise prophylactique quotidienne de 500 mg propolis chez l'homme exerce une action significative sur l'immunomodulation en stimulant la sécrétion des cytokines TNF α , IL-6, IL-8 ; sans produire aucun effet secondaire notable comparativement au témoin.

B/ LES PROPRIETES ANTIVIRALES.

Dans plusieurs études, il a été démontré les propriétés antivirales de la propolis à l'encontre du virus *Herpes simplex*. Ce virus n'étant pas impliqué dans la genèse des affections ORL, nous ne développerons pas ici cet aspect de l'action de la propolis.

1/ ACTION SUR LE VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL (VRS).

a/ RAPPELS SUR LE VRS.

Les infections à VRS sévissent en zones tempérées sous forme d'épidémies hivernales annuelles débutant en octobre sur une période de 5 mois avec un pic en décembre et janvier.

Une infection à VRS touche toutes les tranches d'âge.

La contamination se fait par inhalation ou par contact cutané.

L'infection peut se manifester par des symptômes bénins des voies aériennes supérieures ; mais généralement elle reste cliniquement muette chez l'adulte sain.

Les personnes les plus exposées à des symptômes cliniques sont les enfants en bas âge, les personnes âgées et les immunodéprimés.

La symptomatologie débute par une infection localisée du nez qui s'étend aux sinus, à l'oreille moyenne et aux bronches. Ceci peut s'exprimer par un rhume, une laryngite, une trachéite, une bronchite, une bronchiolite ou une pneumonie (75).

b/ ETUDES *IN VITRO* SUR LA REDUCTION DU NOMBRE DE PLAGES.

Un extrait de propolis est obtenu après extraction à l'éther éthylique.

La souche de VRS utilisée est une souche de type A dont l'effet cytopathique se manifeste au bout de 6 jours et une souche B dont l'effet plus long se manifeste au bout de 12 jours (75).

α/ ETUDE DE LA PROPOLIS SEULE.

L'activité antivirale de l'extrait de propolis est évaluée suite à l'observation de la réduction du nombre de plages cellulaires virales formées.

Cette mesure est effectuée après addition croissante d'extrait de propolis.

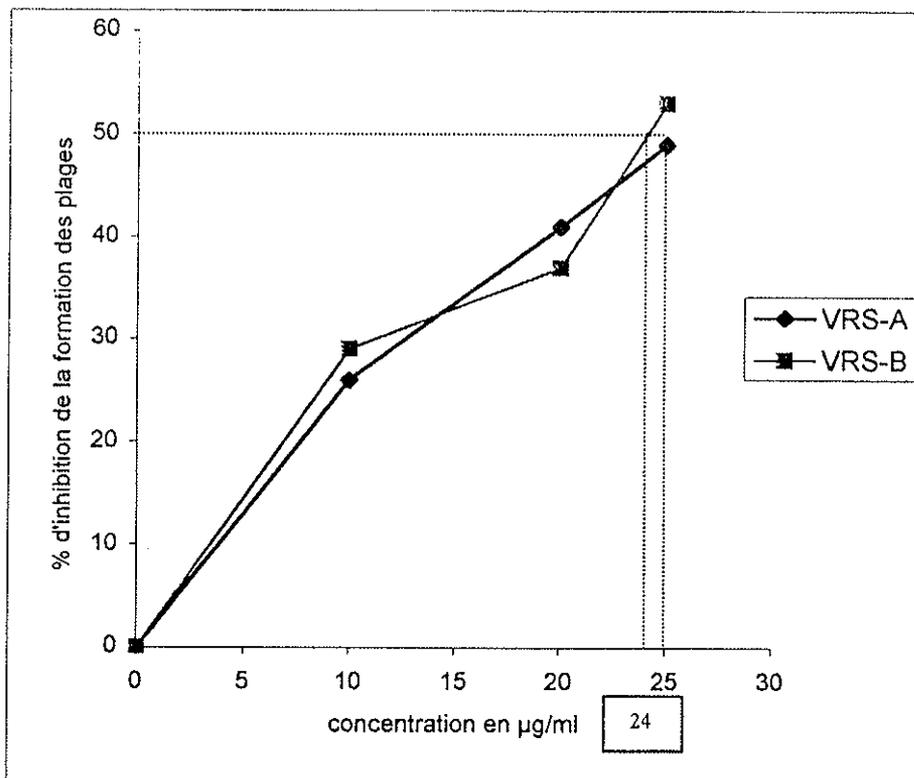
Le nombre de plages virales présentes dans chaque puits additionnés de propolis, est comparé à celui des puits témoins sans propolis.

De cette observation découle le calcul du pourcentage d'inhibition virale (75).

La formule du pourcentage d'inhibition s'exprime de la façon suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{nombre de plages témoin} - \text{nombre de plages testées}) / \text{nombre de plages témoin}] \times 100$$

Le calcul du pourcentage d'inhibition de la formation des plages virales par rapport au témoin virus permet donc de déterminer l'activité antivirale de la propolis.



Graphique 4 : Pourcentage d'inhibition de la formation des plages de VRS A et B en fonction de la concentration en propolis (75).

D'après le graphique 4, on peut déterminer la concentration inhibitrice 50 (CI 50) qui inhibe 50% du développement viral. Dans les conditions de l'expérience, il est égal à 25 µg/ml.

Ces résultats illustrent l'activité antivirale de la propolis vis-à-vis du VRS.

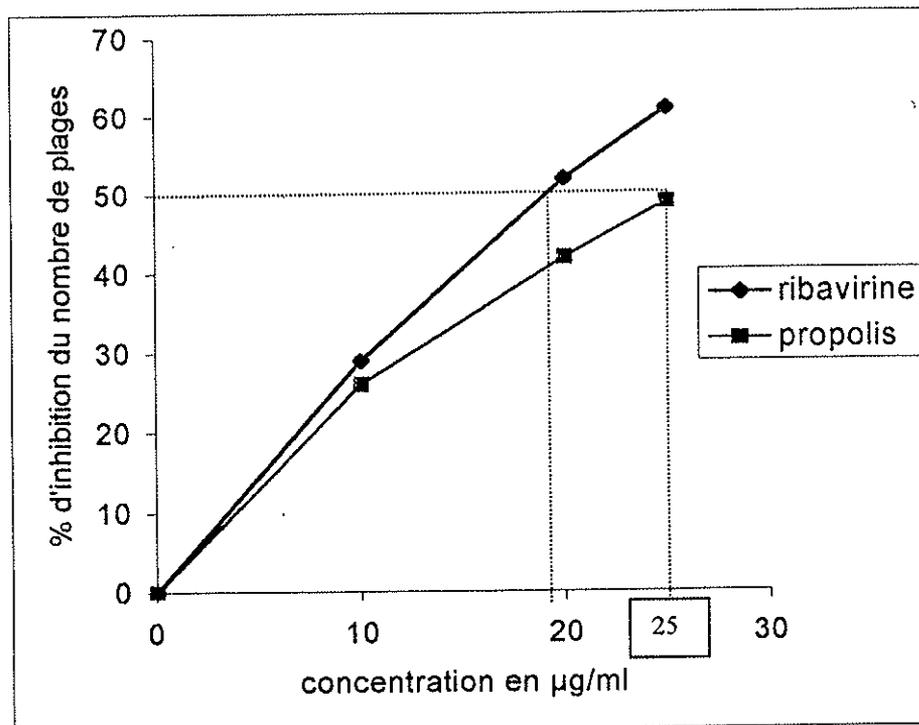
De plus, on constate une réduction de la taille des plages par rapport aux plages témoin qui correspondrait à une inhibition partielle du cycle de développement viral.

β / ETUDE COMPARATIVE AVEC LA RIBAVIRINE.

Une étude similaire comparative à un antiviral (la ribavirine) a été effectuée dans les mêmes conditions.

On constate un pouvoir antiviral supérieur pour la ribavirine.

La CI 50 de la ribavirine est de 19 $\mu\text{g/ml}$ dans les conditions de l'expérience et elle est de 25 $\mu\text{g/ml}$ pour la propolis (75).



Graphique 5 : Pourcentage d'inhibition de la formation de plages de VRS A en fonction des concentrations de propolis et de ribavirine (75).

2/ ETUDE IN VIVO SUR LE VIRUS MYXOVIRUS INFLUENZAE.

Une solution alcoolique de propolis dosée à 5% a été administrée de façon intranasale et sous forme d'aérosol à des souris. Cette administration a été faite de manière préventive 2 heures avant l'infection provoquée par le virus *M. influenzae*.

On constate que la prolifération de l'infection est complètement inhibée par cette administration préventive.

Cependant, la préparation n'a aucun effet si elle est administrée consécutivement à l'infection par le virus *M. influenzae* (76).

3/ ACTION VIRUCIDE GLOBALE.

L'activité antivirale est due aux flavonoïdes et aux dérivés des acides aromatiques, les esters de l'acide cinnamique tel que le férulate d'isopentyle (75).

C/ PROPRIETES ANTI-BACTERIENNES.

1/ ACTIVITE ANTIBACTERIENNE IN VITRO DE L'EXTRAIT ETHANOLIQUE DE PROPOLIS (EEP).

L'extrait éthanolique de propolis (EEP) inhibe la croissance de diverses bactéries incluant *Streptococcus* et *Bacillus*.

Trois mg/ml d'une préparation d'EEP inhibe complètement la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Escherichia coli* mais n'a pas d'effet sur *Klebsiella pneumoniae* (57).

L'EEP montre une activité prononcée contre les bactéries Gram+ incluant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* et le genre *Streptococcus* (57).

A côté des bactéries aérobies, l'effet anti-bactérien de solutions d'EEP a été testé sur 267 bactéries anaérobies. Ces cultures bactériennes ont montré, en général, une sensibilité élevée à partir d'une concentration en EEP de 1 mg/ml (57).

2/ ACTIVITE ANTIBACTERIENNE *IN VITRO* D'EXTRAITS AQUEUX.

L'activité anti-bactérienne de produits à base de propolis a été testée pour cinq bactéries Gram négatif et cinq bactéries Gram positif (27).

La propolis testée provient d'échantillons de produits polonais. Trois produits différents ont été étudiés dont deux formes contenant la propolis à des concentrations différentes et une forme contenant un extrait aqueux de pollen, il s'agit de :

- PG : granules contenant 300 mg de propolis par gramme de granules.
- PR : comprimés contenant 350 mg de propolis pour un poids par comprimé de 1,2g.
- PY : comprimés contenant 350 mg de pollen pour un poids par comprimé de 1,2 g.

La méthode utilisée est celle des disques de papier filtre imprégnés des solutions à tester (solutions aqueuses) de concentration donnée ; ces disques sont déposés dans un milieu cellulaire incubé avec la bactérie dont on veut tester la sensibilité.

Le diamètre du papier filtre est de 6 mm, les zones d'inhibition supérieures à 10 mm sont considérées comme significatives.

BACTERIES	péni- cilline 100 UI	strepto- mycine 1 mg	tétra- cycline 100 µg	PG 10 mg	PR 10 mg	PY 10 mg
Gram +						
<i>Staphylococcus aureus</i>	24*	18	28	16	16	11
<i>Streptococcus pyogenes</i>	27	18	28	16	17	12
<i>Streptococcus viridans</i>	24	12	27	13	16	10
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	21	14	30	13	14	10
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	22	12	18	11	12	6
moyenne	23,6	14,8	26,2	13,8	15	9,8
BACTERIES	péni- cilline 100 UI	strepto- mycine 1 mg	tétra- cycline 100 µg	PG 10 mg	PR 10 mg	PY 10 mg
Gram -						
<i>Escherichia coli</i>	13	26	16	13	13	10
<i>Salmonella typhi</i>	10	23	16	12	11	6
<i>Salmonella paratyphi A</i>	12	20	16	12	11	6
<i>Salmonella paratyphi B</i>	12	20	14	11	11	6
<i>Shigella flexneri</i>	12	23	16	13	12	12
moyenne	11,8	20,4	15,6	12,2	11,6	8

* Les valeurs sont exprimées en zone d'inhibition bactérienne mesurée en mm ; les valeurs inférieures à 10 mm sont considérées comme insignifiantes.

Tableau 21 : Activité anti-bactérienne de solutions aqueuses à base de propoliset de pollen (27).

La préparation PY à base de pollen n'a pas d'activité anti-bactérienne significative.

Les préparations à base de propolis PR et PG montrent une activité anti-bactérienne qui s'avère plus importante à l'encontre des bactéries Gram+ que des bactéries Gram- testées. Cependant, on constate que cette activité reste moindre que celle des antibiotiques testés.

Il a également été étudié la sensibilité de 75 bactéries à des extraits de propolis. Parmi elles, 69 appartenaient aux genres *Staphylococcus* et *Streptococcus*. Toutes les espèces bactériennes testées ont montré une sensibilité aux extraits de propolis.

L'activité anti-bactérienne contre *Staphylococcus aureus* est estimée par une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de 10 mg/ml et une Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de 120 mg/ml (57).

Il a été démontré que les extraits de propolis potentialisent l'action de certains antibiotiques. En particulier l'action antibiotique contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* est augmentée par l'addition de propolis au milieu nutritif (57).

De plus, la présence de propolis réduit la tolérance du genre *Staphylococcus* aux antibiotiques.

3/ ORIGINE DE CETTE ACTIVITE.

L'activité anti-bactérienne de la propolis est due aux composés flavonoïdiques et aux acides et esters aromatiques présents dans la résine (57).

La galangine, la pinocembrine et la pinostrobin ont été reconnues comme les agents flavonoïdiques les plus efficaces contre les bactéries (57).

Les acide férulique et caféique contribuent à l'activité bactéricide de la propolis ; il en est de même pour les sesquiterpènes (57).

Le mécanisme anti-bactérien semble compliqué, toutefois, son origine serait due à une synergie d'action entre les flavonoïdes, les hydroxyacides et les sesquiterpènes (57).

D/ PROPRIETES ANTI-INFLAMMATOIRES.

La recherche suivante concerne les trois formes étudiées précédemment ; elle fait état de l'activité anti-inflammatoire de différents produits à base de propolis originaires de Pologne (27).

Il s'agit de:

- PG : granules contenant 300 mg de propolis par gramme de granules.
- PR : comprimés contenant 350 mg de propolis pour un poids par comprimé de 1,2 g.
- PY : comprimés contenant 350 mg de pollen pour un poids par comprimé de 1,2 g.

Ces produits sont testés sous forme de suspension dans 1% de gomme d'acacia en solution aqueuse.

Ces études sont réalisées *in vivo* sur des rats albinos des deux sexes pesant de 150 à 250 g.

Les deux aspects, aigu et chronique, de l'inflammation ont été abordés.

Les techniques d'étude consistent à induire artificiellement l'inflammation chez le rat albinos puis de suivre l'évolution de cette inflammation, à la suite de l'administration des différentes solutions à base de propolis, par mesure du volume de l'oedème (27).

1/ EFFET SUR L'INFLAMMATION AIGUE.

On a préalablement provoqué, de façon pharmacologique, un oedème local au niveau de la patte de rats albinos par injection d'un médiateur inflammatoire endogène (PG E2) provoquant ainsi une inflammation aiguë.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des différentes préparations de propolis se fait par la mesure de la réduction de la taille de l'oedème.

Les effets contre l'oedème induit par les PG E2, des préparations de propolis sont discernables dès la 1^{ère} heure consécutive à l'administration de ces préparations et sont maximaux à la 4^{ème} heure.

On a comparé l'activité anti-inflammatoire de ces préparations à celle d'un anti-inflammatoire non stéroïdien : le flubiprofène (tableau 22).

Traitement oral en dose/kg suite à l'administration de 10ng de PG E2	Volume de l'oedème de la patte en cm ³ (Activité anti-inflammatoire en %)			
	+1 H	+2 H	+3 H	+4 H
sérum physiologique (10 ml)	0,5 +/- 0,05*	0,63 +/- 0,03	0,6 +/- 0,02	0,65 +/- 0,02
flubiprofène (1,7 mg)	0,38 +/- 0,06 (24)	0,16 +/- 0,05 (74,6)	0,33 +/- 0,06 (45)	0,32 +/- 0,04 (50,8)
PG (100 mg)	0,3 +/- 0,04 (40)	0,42 +/- 0,06 (33,3)	0,38 +/- 0,05 (36,7)	0,32 +/- 0,05 (50,8)
PR (200 mg)	0,3 +/- 0,03 (40)	0,38 +/- 0,04 (39,7)	0,42 +/- 0,02 (30,1)	0,28 +/- 0,07 (56,9)
PY (200 mg)	0,31 +/- 0,05 (38)	0,41 +/- 0,04 (34,9)	0,4 +/- 0,04 (33,3)	0,31 +/- 0,04 (52,3)

*Ces valeurs représentent une moyenne sur les observations de 6 à 7 rats.

Tableau 22 : Effets des préparations de propolis sur l'oedème de la patte induit par les PG E2 chez le rat albinos (27).

On constate pour les 3 préparations testées que cette activité anti-inflammatoire, évaluée en pourcentage d'inflammation, est supérieure à celle du flubiprofène au bout de la 1^{ère} heure après l'injection des PG E2, et qu'elle se retrouve égale à cet anti-inflammatoire à la 4^{ème} heure (27).

2/ EFFET SUR L'INFLAMMATION CHRONIQUE.

De même que précédemment, on a provoqué au préalable une inflammation locale par administration de formaldéhyde chez le rat albinos entraînant ainsi une arthrite chronique chimiquement induite.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des préparations de propolis repose sur la mesure de la réduction du volume de l'oedème de la patte du rat, après 10 jours de traitement par les solutions à étudier, comparativement au volume pré-existant de l'oedème induit par le formaldéhyde.

L'activité de chacune des 3 solutions aqueuses de propolis PG, PR et PY est comparée à celle d'un anti-inflammatoire stéroïdien (l'hydrocortisone) administré en intra-péritonéal à la dose de 25 mg/kg (tableau 23) (27).

Traitement (dose/kg, voie)	Volume de la patte en cm ³		Activité anti-inflammatoire en %
	Initial	10 jours après	
sérum physiologique (10 ml, orale)	1,57+/-0,05*	1,04+/-0,06	—
hydrocortisone (25 mg, intra-péritonéale)	1,23+/-0,06	0,96+/-0,06	49,1
PG (100 mg, orale)	1,26+/-0,02	0,93+/-0,02	36,7
PR (200 mg, orale)	1,34+/-0,04	1,01+/-0,04	37,7
PY (200 mg, orale)	1,34 +/- 0,5	0,98+/-0,06	32,1

*Ces valeurs représentent une moyenne sur les observations de 7 à 10 rats.

Tableau 23 : Effets des préparations de propolis sur l'arthrite induite chimiquement par le formaldéhyde chez les rats albinos (27).

Pour chacune des 3 solutions, on observe une activité anti-inflammatoire sur l'inflammation chronique allant jusqu'à 77% de l'activité existant avec l'hydrocortisone administrée dans les conditions de l'expérience (27).

E/ ETUDES CLINIQUES DANS LES MALADIES ORL.

Un traitement par des solutions de propolis dosées à 5 et 10% a été effectué sur 126 patients souffrant d'otites chroniques et de perforation tympanique.

Un résultat positif sur la rémission a été observé dans la plupart des cas (57).

Une série de recherches roumaines ont été effectuées sur les effets de la propolis dans les maladies ORL. Ces études concernaient l'inflammation aiguë de l'oreille, les pharyngites, bronchites chroniques, rhinopharyngolaryngites, pharyngolaryngites, les rhinites et le traitement vasomoteur de l'écoulement catarrhal. Dans tous ces cas il a été noté une action bénéfique de la propolis sur les symptômes (57).

F/ TOXICITE DE LA PROPOLIS.

La détermination de la toxicité aiguë de la propolis fait état de l'absence de méthode standardisée pour son extraction, ce qui aboutit à une variabilité des résultats.

Cependant, plusieurs données concernant la toxicité aiguë existent :

- en 1993, une étude rapporte une valeur de DL50 par voie orale chez les souris supérieur à 7340 mg/kg (3).
- une autre étude de 1977 a estimé la DL50 à 2050 mg/kg et la DL100 à 2750 mg/kg (45).

Malgré la disparité de ces valeurs, la toxicité des extraits de propolis est très basse : l'administration orale chez la souris à une dose de 2 g/kg n'a entraîné aucune mort durant les 48 h d'observation suivant (27).

G/ CONCLUSION SUR LES PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES.

Les dérivés hydrosolubles de la propolis (WSD) ont un effet immunomodulateur sur la stimulation de la réponse immunitaire non spécifique par activation des macrophages et sécrétion d'IL-1.

De même, la poudre de propolis employée par voie orale sous forme de gélules conduit à un accroissement, chez l'homme, du taux sérique de cytokines intervenant dans la réponse immunitaire lors de la défense contre une infection.

Sur le plan viral, la propolis possède un effet virucide à l'encontre du Virus Respiratoire Syncytial, mais aussi contre le virus *M. influenzae*. Elle constitue ainsi une défense efficace contre ces virus.

Les extraits de propolis en solution aqueuse développent une bactériostase et une bactéricidie à l'encontre de nombreuses bactéries impliquées dans les affections respiratoires.

En ce qui concerne l'inflammation, les extraits aqueux possèdent une activité anti-inflammatoire aussi bien dans l'inflammation aiguë que dans l'inflammation chronique.

VI/ UTILISATION.

En France, la propolis, produit d'origine à la fois végétal et animal, est utilisée comme complément alimentaire.

Il n'existe pas de spécialités contenant de la propolis.

Pour les mêmes raisons que pour l'Echinacée, les produits à base de propolis peuvent être intégrés dans la catégorie des DADAP dans la mesure où ils répondent à un besoin particulier chez des personnes dont l'immunité peut être affaiblie.

Les compléments alimentaires à base de propolis sont utilisés dans l'aide au traitement et en prévention des affections respiratoires et hivernales, ainsi que dans le renforcement des défenses immunitaires de l'organisme.

Les produits disponibles en France contenant de la propolis sont :

A/ LES GELULES.

SUPERDIET GELULES PROPOLIS. Laboratoires SuperDiet.

Propriétés : stimule, renforce et protège les défenses de l'organisme ; reconstituant et reminéralisant.

Utilisations : prévention des affections hivernales.

Conseils d'utilisation : 1 à 3 gélules matin et soir.

Contre-indication : allergie aux produits de la ruche.

Composition : propolis, argile qsp une gélule de 300 mg.

Présentation : gélules en flacon de 150 ; code CIP 7567402 (24).

SUPERDIET GELULES EUCALYPTUS-PROPOLIS. Laboratoires SuperDiet.

Utilisations : résistance de l'organisme, affections respiratoires.

Composition : eucalyptus, propolis, excipient qsp une gélule.

Présentation : gélules en flacon de 75 ; code CIP 7261063.

ARKOGELULES PROPOLIS. Laboratoire Arkopharma.

Propriétés : antivirale, bactériostatique, anti-inflammatoire et cicatrisante.

Utilisations : traditionnellement utilisé en cas d'affections respiratoires telles que refroidissements, angines, bronchites, toux, rhumes, états grippaux.

Conseils d'utilisation : 2 gélules matin et soir à prendre avec un grand verre d'eau.

Contre-indication : allergie aux produits de la ruche.

Composition : propolis purifiée 350 mg, excipient qsp une gélule.

Présentation : gélules en boîte de 45 ; code CIP 7263145 (24).

COMPLEXE OLEOPOLIS.

C'est un complément alimentaire à base d'huiles essentielles et de propolis.

Propriétés : stimule les défenses de l'organisme.

Utilisations : vitalité et résistance de l'organisme face aux agressions extérieures.

Conseils d'utilisation :

adulte : 2 à 6 capsules par jours à prendre au cours des repas pendant 15 jours minimum.

enfant : 1 à 2 capsules par jour.

Composition : huile de tournesol,

propolis 23,7%,

extrait sec d'*Echinacea purpurea* 13,2%,

huile essentielle de thym,

huile essentielle d'origan,

huile essentielle de clou de girofle,

huile essentielle de cannelle de Ceylan,

huile essentielle de lavande 8,4%,

cynorrhodon,

cire d'abeille,

lécithine de soja,

glycérine qsp une capsule ; code CIP 7489352 (24).

B/ LES PASTILLES A SUCER.

OROPOLIS TABLETTE. Laboratoires Richelet.

Propriétés : tablettes antalgiques, antibactériennes, antifongiques et cicatrisantes.

Utilisations : affections de la cavité buccale et de l'oropharynx, hygiène buccale, aphtes, stomatites, pharyngites.

Conseils d'utilisation : sucer sans croquer 4 à 5 tablettes par jour.

Composition : extrait standardisé de propolis 30 mg, excipient qsp une tablette de 2,5g.

Présentation : tablettes en boîte de 15 ; code CIP 6571927 (24).

PROPOLIN. Laboratoires Delsan.

Propriétés : pastilles régénératrices et protectrices de la muqueuse de la cavité buccale, renforce les défenses naturelles à ce niveau.

utilisations : affections de la gorge.

Conseils d'utilisation : sucer 5 à 6 pastilles par jour.

Contre-indications : enfant de moins de 3 ans.

Précaution : contient de la phénylalanine.

Composition : poudre de propolis 2 g, menthol 0,2 g, huile essentielle de menthe 0,1 g, isomalt 62 g, aspartam 0,08 g, excipient qsp 100 g.

Présentation : pastilles conditionnées en boîte de 30 ; code CIP 7388533 (24).

VII/ CONCLUSION.

La connaissance des vertus de la propolis et son utilisation dans les infections remontent à plusieurs siècles.

Malgré sa composition complexe, les recherches sur l'origine des propriétés de la propolis ont permis d'isoler des composés hydrosolubles responsables d'une action modulatrice sur l'immunité.

L'emploi de la propolis en thérapeutique est digne d'intérêt car elle possède une action à différents niveaux.

Tout d'abord, elle se manifeste comme un modulateur de l'immunité non spécifique, à la base des mécanismes de défense face aux agressions extérieures, puis comme un antibactérien, un antiviral mais aussi en tant qu'anti-inflammatoire.

L'ensemble cumulé de ces différentes propriétés constitue un atout majeur dans la lutte anti-infectueuse.

Plus particulièrement, la propolis a trouvé son indication dans les affections récurrentes et notamment ORL dans le domaine desquelles elle témoigne d'une réelle efficacité aussi bien dans la prévention que dans l'aide au traitement.

3^{ème} SOUS-PARTIE
LARIX OCCIDENTALIS

I/ INTRODUCTION.

L'exploitation en thérapeutique de la poudre de Mélèze fait suite à une découverte récente des propriétés immunomodulatrices des polysaccharides contenus dans l'écorce de *Larix occidentalis* (64).

Les propriétés sur l'immunité concernent uniquement les polysaccharides, le paragraphe suivant se limitera à l'étude de ces derniers.

Deux espèces de Mélèze possèdent un bois riche en arabinogalactanes, polysaccharides communément appelés « sucre du bois de Mélèze », « sève protectrice » ou encore « gomme de Mélèze », il s'agit de *Larix dahurica* et *Larix occidentalis*.

Parmi ces deux espèces, une seule espèce est préférentiellement utilisée dans la thérapeutique pour des raisons d'abondance de peuplement et de localisation géographique exploitable : il s'agit de *Larix occidentalis* (22).

Ces arabinogalactanes possèdent des propriétés intéressantes en tant que fibres diététiques, mais surtout ils confèrent au Mélèze des propriétés importantes dans le domaine de la modulation du système immunitaire permettant ainsi un accroissement de la défense de l'organisme face aux agressions extérieures (22,64).

II/ IDENTIFICATION BOTANIQUE.

embranchement : Spermaphytes

sous-embranchement : Gymnospermes

classe : Coniféroopsides

ordre : Pinales

famille : Pinacées

genre : *Larix*

espèce : *occidentalis*.

Le Mélèze est un arbre résineux de la famille des Pinacées (Conifères).

Il atteint 50 m de hauteur, un diamètre de 1,5 m et un âge de 600 à 800 ans.

Le tronc est droit, la cime est conique en altitude et plus large en plaine.

L'écorce est grisâtre, crevassée et très épaisse sur les arbres âgés.

Les rameaux ont une structure particulière en rosette d'aiguilles.

Les aiguilles mesurent 15 à 35 mm de long, elles sont molles, caduques, minces, à section triangulaire, groupées en touffe sur des rameaux courts.

Le Mélèze est réparti dans les montagnes et possède un feuillage caduque dont la couleur varie du vert clair au printemps au jaune orangé en automne (68).

Le genre *Larix* est représenté dans tout l'hémisphère Nord.

Une seule espèce est spontanée en Europe, il s'agit de *Larix decidua* Mill.

D'autres espèces sont implantées dans les forêts boréales en Sibérie et en Amérique du Nord.

L'espèce *Larix occidentalis* est présente au Nord-Ouest des Etats-Unis et au Canada (64).

III/ ORIGINE DES ARABINOGALACTANES.

Les arabinogalactanes sont une classe de polysaccharides à chaîne longue et de poids moléculaire élevé.

Dans la nature, on les trouve dans des systèmes microbiens. Plus particulièrement ils entrent dans la composition de certains acides du genre *Mycobacterium* où ils sont complexés entre des peptidoglycane et des acides mycoliques comme composants de la membrane cellulaire, leur rôle y est de stimuler l'immunoréactivité des monocytes et des macrophages de l'antigène tuberculeux (55,74).

Beaucoup de plantes comestibles ou non sont des sources riches en arabinogalactanes. La plupart de ces arabinogalactanes sont sous la forme de glycoprotéines liées à des protéines telles que la thréonine, la sérine ou la proline.

Les végétaux concernés sont le maïs, les carottes, les tomates, les radis, les poires, le blé, le poireau, mais aussi des plantes comme *Echinacea purpurea*, *Baptisia tinctoria*, *Thuja occidentalis*, *Angelica acutiloba* et *Curcuma longa*.

Dans l'espèce *Larix occidentalis*, les arabinogalactanes sont contenus en quantité importante dans l'écorce du bois, constituant ainsi une source d'extraction intéressante dont l'utilisation en thérapeutique s'étend dans le domaine de renforcement des défenses immunitaires (22).

IV/ CARACTERISTIQUES PHYSIQUES.

Le procédé d'extraction n'a pas été révélé par les laboratoires exploitants.

Cependant, l'extraction à partir des troncs de *Larix occidentalis*, permet d'obtenir une liqueur qui, après raffinage, se retrouve sous la forme d'une poudre sèche riche en arabinogalactane

La teneur en arabinogalactanes de cette poudre peut excéder les 98%.

L'aspect de cette poudre est fluide, de couleur « crème », avec une légère odeur de pin et une saveur acidulée.

La poudre est totalement soluble dans l'eau et dans les solutions à basse viscosité.

La durée de conservation de cette poudre n'est pas limitée.

En comparaison avec d'autres polysaccharides naturels, les arabinogalactanes du Méléze sont faciles à mettre en solution, totalement solubles et moins visqueux que la gomme guar et que la gomme arabique. Ce sont d'excellents dispersants et surfactants. Ils sont stables en concentrations, en pH et en température (22).

V/ ANALYSE CHIMIQUE.

L'arabinogalactane actif est composé d'unités de galactose et d'arabinose dans un ratio de 6 : 1, avec des traces d'acide uronique.

Les chaînes moléculaires constituant l'arabinogalactane sont longues et de poids moléculaire élevé. Les fractions polysaccharidiques qui les composent ont des poids moléculaires variant de 16 000 à 120 000 g/mol.

L'analyse chromatographique sur gel montre que l'arabinogalactane a un poids de 19 Kdalton (22).

La chaîne principale est constituée d'unités de galactopyranose liées entre elles en $\beta(1\rightarrow3)$.

Les chaînes secondaires se ramifient toutes les 3 unités de galactopyranose à partir d'arabinofuranose et de galactopyranose en $(1\rightarrow4)$ et en $(1\rightarrow6)$.

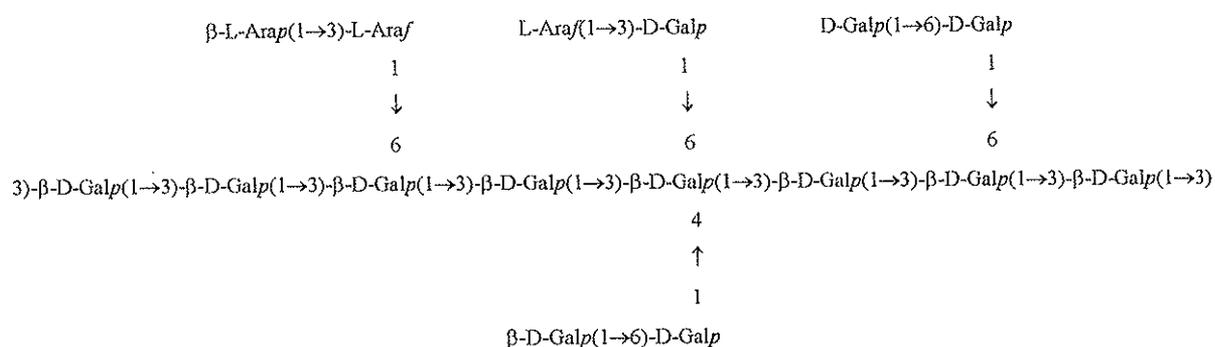


Figure 9 : Structure chimique de l'arabinogalactane de *Larix occidentalis* (22).

VI/ PHARMACOCINETIQUE.

La pharmacocinétique de l'arabinogalactane (AG) du Mélèze a été évaluée par des études cliniques (64).

Cependant les études réalisées à ce sujet sont peu nombreuses et la valeur des quantités absorbées par voie orale sont peu précises.

Des études sur l'animal montrent qu'une injection intraveineuse d'arabinogalactane de Mélèze purifié assure une présence de 52,5% en AG dans le foie et de 30% dans les urines 90 minutes après l'injection.

La clairance hépatique affiche une demi-vie de 3, 42 jours.

On remarque que la partie de la dose d'arabinogalactane non absorbée est fermentée activement par la microflore intestinale, augmentant ainsi de manière bénéfique le nombre de bactéries anaérobies telles que les *Bifidobacteria* et *Lactobacillus* (24).

VII/ PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES SUR L'IMMUNOMODULATION PAR ACTIVATION DES CELLULES NK.

Une étude menée *in vitro* sur des cellules mononucléaires extraites du sang humain périphérique prétraitées pendant 48 à 72 h par l'arabinogalactane isolé de *Larix occidentalis* témoigne d'une stimulation de la cytotoxicité des cellules Natural Killer (NK) (40).

La fonction des cellules humaines NK dans l'organisme se définit par leur capacité à engendrer une cytotoxicité à l'encontre des cellules tumorales et des cellules infectées par un micro-organisme sans qu'il y est de sensibilisation préalable par un antigène.

Cette fonction est développée par les cellules NK, mais aussi les monocytes, les macrophages et certains lymphocytes T.

L'activité de l'arabinogalactane, à l'origine de l'augmentation de la cytotoxicité des cellules NK, ne se produit pas de façon directe mais intervient au niveau du mécanisme d'action des cytokines.

En effet, la cytotoxicité naturelle des cellules NK est stimulée par l'interleukine 2 (IL-2), l'interféron α (IFN α), l'interféron γ (IFN γ) et le facteur nécrosant de tumeur α (TNF α). Quant à la cytotoxicité des monocytes, elle est augmentée par le TNF α , l'IFN γ et l'IL-1 (40).

Cependant, certaines cytokines peuvent influencer sur l'expression d'autres cytokines.

Il est montré que le prétraitement des cellules sanguines par l'arabinogalactane produit une augmentation de la libération de l'interféron γ (IFN γ) du facteur nécrosant de tumeur α (TNF α), de l'interleukine 2 (IL-2) et de l'interleukine 6 (IL-6). Mais la stimulation de la cytotoxicité des cellules NK implique majoritairement l'IFN γ (40).

Des modificateurs biologiques de la cytotoxicité des cellules NK ont déjà été mis en évidence. Et plus récemment, un polysaccharide (rhamnogalacturonane) extrait de *Viscum album* a montré son aptitude à engendrer une cytotoxicité à l'encontre des cellules tumorales en augmentant la libération de TNF α , IFN γ (40).

Le récepteur spécifique des cellules pour l'arabinogalactane n'a pas été clairement identifié.

Cependant, lorsque l'on étudie l'activité synergique du polysaccharide de *Viscum album* et celui de *Larix occidentalis* sur la stimulation de la cytotoxicité des cellules NK, on constate l'absence de toute activité synergique entre les deux polysaccharides.

Cette constatation tend à prouver l'existence d'un récepteur commun qui pourrait être également le récepteur cible de l'arabinogalactane (polysaccharide F) d'*Echinacea purpurea* (40).

VIII/ ETUDES CLINIQUES SUR LES OTITES.

Les otites moyennes récurrentes sont communes chez les enfants, et il est mis en évidence que la stimulation du système immunitaire permet la diminution de la fréquence et de la sévérité de ces infections (64).

Des recherches ont démontré que l'arabinogalactane de *Larix occidentalis*, comme d'autres arabinogalactanes, permet de stimuler la réponse immunitaire face à l'infection bactérienne, en particulier face aux bacilles Gram- tels que *Escherechia coli* et certaines espèces de *Klebsiella*, en activant la phagocytose et l'opsonisation bactérienne (64).

Une étude non publiée rapporte une diminution de la fréquence et de la sévérité des otites moyennes chez des enfants sujets aux récurrences, par apport prophylactique quotidien de l'arabinogalactane du Méléze (22).

IX/ EFFETS SECONDAIRES ET TOXICITE.

Des études sur la toxicité aiguë et sur la toxicité à long terme ont été effectuées chez des rats et des souris, celles-ci ne donnent aucun résultat sur l'existence d'une toxicité quelconque (64).

La consommation par l'homme n'a révélé aucun effet secondaire patent, hormis le fait qu'un faible pourcentage (<3%) de personnes ont éprouvé des ballonnements et des flatulences probablement dus à la fermentation active de l'arabinogalactane par la microflore intestinale (64).

X/ UTILISATION EN THERAPEUTIQUE.

Dans le genre *Larix*, les espèces *Larix decidua* Miller et *Larix europaea* D.C. sont utilisées en galénique comme plastifiant ; aucune preuve d'une éventuelle activité immunomodulatrice n'a été démontrée pour ces espèces.

Néanmoins, ces deux espèces sont inscrites sur la liste A des plantes médicinales de la Pharmacopée Française 10^{ème} édition.

L'espèce *Larix occidentalis* ne possède pas de monographie à la Pharmacopée Française 10^{ème} édition, elle n'est donc pas officinale.

Aux Etats Unis, la « Food and Drug Administration » a reconnu l'arabinogalactane du Mélèze comme une source de fibres diététiques, mais également en tant que complément alimentaire bénéfique dans le renforcement et la stimulation des défenses immunitaires de l'organisme dans les affections ORL, il y est commercialisé sous le nom de « Immune Enhancer® »(64).

En France, sont commercialisées, sous forme de complément alimentaire, des gélules contenant de la poudre d'arabinogalactane de *Larix occidentalis*.

Leur emploi se fait généralement avant le début de l'hiver, en cas d'affections hivernales ou ORL à répétition et en cas de mauvaise défense aux infections (chez l'enfant, les personnes âgées, les immunodéprimés...).

ARKOGELULES MELEZE. Laboratoires Arkopharma.

C'est un immunostimulant.

Indications : il est traditionnellement utilisé dans les affections ORL à répétition telles que otites, sinusites, rhinopharyngites, laryngites et dans les affections respiratoires.

Conseil d'utilisation : 1 gélule matin, midi et soir avant le début de l'hiver.

Durée du traitement : la durée de traitement peut atteindre 1 mois renouvelable.

Composition : poudre de gomme de mélèze riche en arabinogalactane 300mg, excipient qsp une gélule.

Présentation : boîte de 45 gélules ; code CIP 7550287 (24).

XI/ CONCLUSION.

Les caractères physiques, de solubilité dans l'eau, de saveur, de stabilité de conservation, de l'arabinogalactane de *Larix occidentalis*, sont des qualités très intéressantes dans le cadre de l'utilisation en thérapeutique et notamment pour la facilité de prise chez l'enfant.

Bien que les études, en particulier cliniques, sur le sujet soient encore peu nombreuses, l'arabinogalactane a démontré une action notable sur le système immunitaire.

Les phénomènes induits d'augmentation du taux sanguin de globules blancs, de prolifération des macrophages et de production accrue des cytokines sont autant de mécanismes permettant un renforcement des défenses naturelles de l'organisme face aux agressions extérieures par des micro-organismes ou des corps étrangers.

Ces qualités sont exploitées en thérapeutique pour soulager et prévenir les pathologies ORL récidivantes, notamment otites, sinusites, rhinopharyngites et laryngites, en particulier chez les personnes dont l'immunité est insuffisante ou déficiente.

CONCLUSION GENERALE.

Qu'il s'agisse de l'Echinacée, de la Propolis ou du Méléze, ces produits possèdent des composés qui, à l'état naturel, exercent des effets, à différents niveaux, sur l'activation du système immunitaire non spécifique impliqué dans la lutte contre les agressions dont peut être victime l'organisme.

Les composés responsables de cette activité sont identifiés comme étant les dérivés hydrosolubles pour la Propolis, et majoritairement les polysaccharides pour l'Echinacée et le Méléze dont il est à noter l'existence probable d'un récepteur commun pour les polysaccharides.

L'intérêt de l'utilisation de produits comme l'Echinacée et la Propolis réside dans le fait qu'ils développent, en plus de leurs propriétés sur l'immunité, un ensemble d'activités antivirales, antibactériennes et anti-inflammatoires dont l'efficacité, dans le contexte de la lutte anti-infectieuse, est manifeste.

Les Echinacées utilisées et le Méléze ne figurent pas sur la liste des plantes retenues par la commission AMM plantes.

L'Echinacée, la Propolis et le Méléze sont des produits de parapharmacie pouvant être considérés comme des DADAP dans la mesure où ils répondent à des besoins particuliers pour des personnes dont l'immunité se retrouve fragilisée. Ils ont trouvé leur utilisation, dans le renforcement du système immunitaire au cours d'affections à caractère récurrent telles que les affections ORL.

Les études pharmacologiques et cliniques, notamment pour le Méléze, restent à développer, ceci dans le but de découvrir d'éventuelles applications futures, pour ces composés naturels, dans le domaine vaste et complexe de l'immunité.

L'avenir de l'utilisation de ces produits réside dans leur reconnaissance par l'AFSSAPS en tant que produits ayant un intérêt réel en thérapeutique dans les indications étudiées ici, et dont le rapport bénéfice thérapeutique-risque est très positif.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

1-ABRAMSON J. S., WHEELER J. G.,

Virus induced neutrophil dysfunction : role in the pathogenesis of bacterial infections.
Pediatr. Infect. Dis. J., 1994 ; **13** : 643-652.

2-AHMED G. HEGAZI, FATEN K. ABD EL HADY, FAYRONZ A.M. ABD ALLAH.

Chemical Composition and Antimicrobial Activity of European Propolis.
Zeitsch. Naturforsch., 2000 ; **55** : 70-75.

3-ARVONET-GRAND A., LEJEUNE B., BASTIDE P. et al.

Propolis extract. Subacute toxicity and cutaneous primary irritation index.
Journal de Pharmacie de Belgique, 1993 ; **48** : 165-170.

4-BACH J.F., LESAVRE P.

Adjuvants et immunostimulation.

In : Immunologie.

Flammarion, Médecine Science, 1989.

5-BAUER R., WAGNER H.

Echinacea, Handbuch für Ärzte, Apotheker und andere Naturwis.
Naturwissenschaftler, Wiss. Verlagsges, Stuttgart, 1990.

6-BAUER R., REMIGER P.

TLC and HPLC analysis of alkamides in *Echinacea* drugs.
Planta Med., 1989 ; **55** : 367-371.

7-BAUER R., REMIGER P., JURCIC K. et al.

Beeinflussung der phagozytose-aktivität durch *Echinacea*-extracte.
Zeitsch. Phytother., 1989 ; **10** : 43-48.

8-BAUER R. , REMINGER P., WAGNER H.

Alkamides from the roots of *Echinacea purpurea* .

Phytochem., 1988 ; 27 : 2339-2342.

9-BAUER R., WAGNER H.

Echinacea-Der sonnenhut-Stand der forschung.

Zeitsch. Phytother., 1988 ; 9 : 151-159.

10-BAUER R., JURCIC K., PUHLMANN J. et al.

Immunologische *in vivo* und *in vitro* Untersuchungen mit *Echinacea* Extrakten Arzneimittel.

Forsch, Drug Res., 1988 ; 38 (I) : 276-281.

11-BAUER R., KHAN L.A., LOTTER H. et al.

Structure and stereochemistry of new sesquiterpene esters from *Echinacea purpurea* Moench.

Helv. Chim. Acta, 1985 ; 68 : 2355-2358.

12-BECKER H., HSICH W.

Chicoree-Säure und deren derivate aus *Echinacea*-Arten.

Naturforsch., 1985 ; 40 : 585-587.

13-BECKER H., HEIDELBERG M.

Gegen Schlangenbiß Und Grippe.

Dtsch. Apoth. Ztg., 1982 ; 122 (97) : 2320-2323.

14-BEUSCHER N. et al.

Phytother., 1995 ; 16 : 157.

15-BRÄTTER C., TREGEL M., LIEBENTHAL C., et al.

Prophylaktische Wirkungen Von Propolis zur Immunstimulation : Eine Klinische Pilotstudie.

Forsch Komplementärmed, 1999 ; 6 : 256-260.

16-BRÄUNING B., KNICK E.

Therapeutische Erfahrungsungen mit *Echinacea pallida* bei grippalen Infekten.

Naturheilpraxis, 1993 ; 1 : 72-75.

17-BRÄUNING B., DORN M., KNICK E.

Echinacea purpurea radix : Zur Stärkung der körpereigenen Abwehr bei grippalen Infekten.

Zeitsch Phytother., 1992 ; 13 : 7-13.

18-BRUNETON J.

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition.

Technique et Documentation, 1999.

19-BRUNETON J.

Eléments de phytochimie et de pharmacognosie.

Technique et Documentation, 1993.

20-BÜSING K.H.

Hyaluronidasehemmung durch Echinacin.

Arzneim. forsch., 1952 ; 2 : 467-473.

21-COHEN R.

Enquête nationale sur les critères de prescription d'une antibiothérapie dans les rhinopharyngites en pédiatrie de ville.

Ann. Ped., 1992 ; 39 (38) : 195-201.

22-D'ADAMO P.

Larch arabinogalactan.

Journal of Naturopathic Medecine, 1996 ; 6 : 33-37.

23-DELALANDE TOUCHAIS M.

Comparaison de l'activité antivirale *in vitro* de substances naturelles extraites de : *Echinacea purpurea*, *Asteracea*, *Anagallis arvensis*, *Primulacea* et de la propolis.

Thèse Pharmacie, Rennes I, 1996.

24-DICO PLUS OCP.

Mai 2001. 14^{ème} édition.

25-Dictionnaire des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.

Académie Nationale de Pharmacie.

Louis Pariente, 1997.

26-DIMOV V., IVANOVSKA N., MANOLOVA N. et al.

Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function.

Apidologie, 1991 ; **22** : 155-162.

27-DOBROWOLSKI J.W., VOHORA S.B., KALPANA S. et al.

Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products.

Journal of Ethnopharmacology, 1991 ; **35** : 77-82.

28-DONADIEU Y.

La propolis.

Les Thérapeutiques naturelles, 4^{ème} édition, 1996.

29-FANCISCO A., BARBERAN T., GURCIA-VIGNERA C. et al.

Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela.

Phytochemistry, 1993 ; **34** : 191-196.

30-FOSTER S.

Echinacea : Nature's Immune Enhancer.
Healing Arts Press, 1991.

31-GAISBAUER M., SCHLEICH M., STICKL H. et al.

Untersuchungen zum einfluss von *Echinacea purpurea* Moench auf die Phagocytose von.
Arzneim. Forsch., 1990 ; **40** (33) : 594-598.

32-GIRRE L.

Connaissances scientifiques actualisées sur *Echinacea purpurea* (L.) Moench.
Phytotherapy, 1995 ; **43** : 3-11.

33-GOETZ P.

Echinacea, potentialités immunostimulantes et problèmes galéniques.
R. Phytother. Prat.,1989 ; **3** : 14-19.

34-GREENAWAY W., SCAYSBROOK T., WHATLEY F.R.

The composition and plant origins of propolis : a report of a work at Oxford.
Bee World, 1990 ; **71** :107-118.

35-GRIMFELD A., GARABEDIAN E.N.

Moyens de défense des voies aériennes supérieures.
In : Infections ORL de l'enfant/ Garabedian E. N.
Vigot, 1990.

36-GRIMM W., MULLER H.H.

A randomized controlled trial of the effect of fluid extract of *Echinacea purpurea* on the
incidence and severity of colds and respiratory infections.
Am. J. Med., 1999 ; **106** : 138-143.

37-GUNNING K.

Echinacea in the treatment and prevention of upper respiratory tract infections.

Best Practice, 1999 ; **171** : 198-200.

38-HADDEN J.W.

The immunopharmacology of immunotherapy.

In : Immunostimulation.

Springer-Verlag, 1980.

39-HAHN G., MAYER A.

Echinacea Igelkopf oder Sonnenhut.

Österreichische Apotheker, Zeitung, 1984 ; **38** : 51-52.

40-HAUER J., ANDERER F.A.

Mechanism of stimulation of human natural killer cytotoxicity by arabinogalactan from *Larix occidentalis*.

Cancer Immunology Immunotherapy, 1993 ; **36** : 237-244.

41-HEUBL G.R., BAEUR R., WAGNER H.

Morphologische und anatomische Studien an *Echinacea purpurea*, *E. angustifolia*, *E. pallida* und *Parthenium integrifolium*.

Sci. Pharm., 1988 ; **56** : 145-160.

42-HIETALE J., UHARI M., YUOKK H.

Mixed bacterial and viral infections are common in children.

Pediatr. Infec. Diseases, 1989 ; **8** : 683-686.

43-HOBBS C.

Echinacea : a literature review.

Herbal Gram, 1994 ; **30** : 34-48.

44-HOUGHTON P.

Echinacea.

Pharm. J., 1994 ; **253** : 342-343.

45-HRYTSENKO V.I., TYKHONOV O.I., PRYAKHIN O.R.

Study of the polysaccharide preparation propolis.

Farmatsevtichnyi Zhurnal, 1977 ; **32** : 92-93.

46-HUDSON J.B., GRAHAM E.A., LAM J. et al.

Ultra-violet dependant biological activities of selected polyines of the *Asteraceae*.

Planta Med., 1991 ; **57** : 69-73.

47-JACOBSON M., REDFERN R.E., MILLS G.D.

Naturally occurring insect growth regulators. III Echinolone, a highly active juvenile hormone mimic from *Echinacea angustifolia* roots.

Lloydia, 1975 ; **38** (95) : 473-476.

48-JORGENSEN F., ANDERSON B., HANSON L.A. et al.

Gamma globulin treatment of recurrent acute otitis media in children.

Pediatr. Infec. Dis. J., 1990 ; **9** : 389-394.

49-KONIG B.

Plant sources of propolis.

Bee World, 1985 ; **66** (5) : 136-139.

50-LEGRAND T.

Contribution à l'étude des *Echinacea* utilisées en phytothérapie.

Thèse Sciences, Nantes, 1992.

51-LENK W.

Akute Toxizität von verschiedenen Polysacchariden aus *Echinacea purpurea* an der Maus.
Zeitsch. Phytotherap., 1989 ; **10** : 49-51.

52-LOEB M. R., PHILIPS E.

Evaluating vaccine candidates for the prevention of otitis media.
Pediatr. Infec. Dis., 1989 ; **8** : 548-550.

53-LUETTIG B., STEINMÜLLER C., GIFFORD G.E. et al.

Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from cell cultures of *Echinacea purpurea*.
J. Natl. Cancer Inst., 1989 ; **81** (6) : 669-675.

54-MAC GREGOR R.L.

The taxonomy of the genus *Echinacea*.
The University of Kansas, Science Bulletin, 1968 ; **48** (5) : 113-142.

55-MAC NEIL M., WALLNER S. J., HUNTER S.W. et al.

Demonstration that the galactosyl and arabinosyl residues in the cell wall arabinogalactan of *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium tuberculosis* are furanoid.
Carbonhydr. Res. 1987 ; **166** (45) : 299-308.

56-MALE D.

Immunologie. Aide-mémoire illustré.
De Boeck Université, 1996.

57-MARCUCCI M.C.

Propolis : chemical composition, biological properties and therapeutic activity.
Apidologie, 1995 ; **26** : 83-99.

58-MAY G., WILLUHN G.

Antivirale Wirkung wässriger Pflanzenextrakte in Gewebekulturen.
Arzneim. Forsch., 1978 ; **28** :1-7.

59- MEILLOT C.

Rhinopharyngites : les antibiotiques sont trop souvent prescrits.
Médecine et Enfance, Infectiologie, 1994 ; 305-308.

60-MELCHART D., WALTHER E., LINDE K. et al.

Echinacea root extracts for the prevention of upper respiratory tract infections.
Arch. Fam. Med., 1998 ; **7** : 541-545.

61-MELCHART D., LINDE K., WORKU F. et al.

Immunomodulation with *Echinacea*, a systematic review of controlled trials.
Phytomedicine, 1994 ; **3** : 245-254.

62-MERGS U., CLARE C.B., POILEY J.A.

Toxicity of *Echinacea purpurea*.
Arzneim. Forsch., 1991 ; **41** (8) : 1076-1081.

63-MOFFET H. L.

Pediatric infections diseases.
Lipincot, 1989.

64-Monograph : Larch Arabinogalactan.

Alternative Medicine Review, oct 2000, 5.

65-MÜLLER-JAKIC B., BREU W., PRÖBSTLE A. et al.

In vitro inhibition of cyclooxygenase and 5 lipoxygenase by alkamides from *Echinacea* and *Achillea* species.
Planta Med., 1994 ; **60** (44) : 37-40.

66-PERELMAN R.

Pathologie ORL du pédiatre. Rhinopharyngites.

La Médecine Infantile, dec 1990 ; 623-635.

67-PROKSCH A., WAGNER H.

Structural analysis of a 4-O-methyl-glucuroarabinoxylan with immunostimulating activity from *Echinacea purpurea*.

Phytochem., 1987 ; 26 (98) : 1989-1993.

68-RAMEAU J-C., MANSION D., DUME G.

Flore forestière française. Guide écologique illustré, tome 2, montagne.

Institut pour le développement forestier. 1994.

69-REINERT P.

Rhinopharyngites et otites récidivantes : rôle immunodépresseur des virus, immunomodulateurs, vaccin *Haemophilus*, vaccin pneumococcique.

Méd. Mal. Infect., 1997 ; 27 : spécial 482-484.

70-REISCH J., SPITZNER W., SCHULTE K.E.

Zur Frage der mikrobiologischen Wirksamkeit einfacher Acetylen-verbindungen.

Arzneim. forsch., 1967 ; 17 (98) : 816-825.

71-ROEDER E., WIEDENFELD H., HILLE T. et al.

Pyrrrolizidine in *Echinacea angustifolia* D.C. und *Echinacea purpurea* M.

Deutsch Apoth. Ztg., 1984 ; 124 (26) : 2316-2318.

72-ROESLER J., STEINMÜLLER C., KIDERLEN A., et al.

Application of purified polysaccharides from cell cultures of the plant *Echinacea purpurea* to mice mediates protection against systemic infections with *Listeria monocytogenes* and *Candida albicans*.

Int. J. Immunopharmac., 1991 ; **13** (44) : 27-37.

73-ROESLER J., EMMENDÖRFFER A., STEINMÜLLER C. et al.

Application of purified polysaccharides from cell cultures of the plant *Echinacea purpurea* to test subjects mediates activation of the phagocyte system.

Int. J. Immunopharmac., 1991 ; **13** (98) : 931-941.

74-ROITT I.

Essential Immunology.

Balckwell Scientific Publications, 6^{ème} édition.

75-ROSPARS L.

L'étude de l'activité antivirale de la propolis sur le virus respiratoire syncitial.

Thèse Pharmacie, Rennes I, 1999.

76-SCHEVCHENKO L.F., CHASOVODTSEVA O.A., PESCHANSKII A.N.

Inhibiting activity of propolis on the *influenza* virus.

Conférence title : Khimioprofilakike I Khimioterapiya Grippa, Materialy Vsesoyuznogo simpozivma po Khimioprofilaktike I Khimioterapil Grippa.

Edited by Smorodintsev A.A. and Vlydhikov D.M., 1972 ; 56-57.

77-SCHIMMER O., ABEL G., BEHNINGER C.

Utersuchungen zur gentoxischen Potenz eines neutralen Polysaccharids aus *Echinacea*. Gewebekulturen in menschliden lymphozytenkulturen.

Zeitsch. Phytother., 1989 ; **10** : 39-42.

78-SCHÖNEBERG D.

Zeit Immunologie Praxis.

Forum Immunologie, 1992 ; 8 : 2-12.

79-SOICKE H., GOERLER K., KRUEGER D.

Glycine-betaine in *Echinacea* species and their preparations.

Fitoterapia, 1988 ; 59 (44) : 73-75.

80-SOICKE H., AL-HASSAN G., GÖRLER K.

Weitere Kaffeesäure-Derivate aus *Echinacea purpurea*.

Planta Med., 1988 ; 4 : 175-176.

81-STEINMÜLLER C., ROESLER J., GRÖTTUP E. et al.

Polysaccharides isolated from plant cell culture of *Echinacea purpurea* enhance the resistance of immunosuppressed mice against systemic infections with *Candida albicans* and *Listeria monocytogenes*.

Int. J. Immunopharmac., 1993 ; 15 (33) : 605-614.

82-STIMPEL M., PROKSCH A., WAGNER H. et al.

Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharides fractions from the plant *Echinacea purpurea*.

Infect. Immun., 1984 ; 46 (38) : 845-849.

83-STOLL A., RENZ J., BRACK A.

Isolierung und Konstitution des Echinacosids, eines Glykosids aus der Wurzeln von *Echinacea angustifolia* DC.

Helv. Chim. Acta, 1950 ; 33 (95) : 1877-1893.

84-TOURAINÉ J.L.

Les immunomodulateurs en pharmacologie clinique.

In : Immunopathologie clinique.

Editions Masson, 1990.

85-VAILLANT J., MARY A.

Comprendre la propolis.

Bio-ordonnance, nov-déc 1992 ; 4.

86-VAN HAELEN M., VAN HAELEN-FASTRE R.

Propolis : origine, micrographie, composition chimique et activité thérapeutique.

J. pharmacologie belge, 1979 ; 34 (33) : 253-259.

87-Vidal 2001, 77^{ème} édition.

Editions Vidal.

88-WACKER A., HIBBIG W.

Virushemmung mit *Echinacea purpurea*.

Planta Med., 1978 ; 33 : 89-102.

89-WAGNER H., JURCIC K.

Assays for immunomodulation and effects on mediators of inflammation.

In : Methods in plant biochemistry (DEY P.M., HARBORE J-B.).

Hostettmann K., 1991, 6.

90-WAGNER H., STUPPNER H., PUHLMANN J. et al.

Gewinnung von immunologisch aktiven Polysacchariden aus *Echinacea*-Drogen und Gewebekulturen.

Zeitsch. Phytother., 1989 ; 10 : 35-38.

91-WAGNER H., BREU W. , WILLER F. et al.

In vitro inhibition of arachidonate metabolism by some alkamides and prenylated phenols.

Planta med., 1989 ; **55** : 566-567.

92-WAGNER H., STUPPNER H., SCHÄFER W., et al.

Immunologically active polysaccharides of *Echinacea purpurea* cell cultures.

Phytochem., 1987 ; **27** (44) : 119-126.

93-WAGNER H., STUPPNER H., PUHLMANN J. et al.

Immunstimulierend wirkende Polysaccharide aus Zellkulturen von *Echinacea purpurea*.

Zeitsch. Phytother., 1987 ; **8** : 125-126.

94-WAGNER H.

Immunostimulants from medicinal plants.

In : Advances in chinese medicinal materials research (CHANG H. M., YEUNG W., TSO W. et al.)

World Scientific Publ. Co., 1985.

95-WAGNER H., PROKSCH A.

Immunostimulatory drugs of fungi and higher plants.

In : Economic and medicinal plant research.

Academic Press Inc., 1985.

96-WAGNER H., PROKSCH A., RIESS-MAUNER I. et al.

Immunstimulierend wirkende Polysaccharide (heteroglykane) aus hoeheren pflanzen.

Arzneim.-Forsch., 1985 ; **35** (7) : 1069-1075.

97-WICHTL M., AUTON R.

Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 3^{ème} édition.

Editions Médicales Internationales, Technique et Documentation, 1999.

98-WISS C.

Les substances immunostimulantes chez les plantes supérieures.

Thèse Pharmacie, Strasbourg, 1991.

99-ZONTEWELLE G., VAN WIJK R.

Effects of *Echinacea purpurea* extracts on fibroblast populated collagen lattice contraction.

Phytotherapy Res., 1990 ; 4 : 77-81.

TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE.....	6.
INTRODUCTION.....	9.
1^{ère} PARTIE : LES INFECTIONS ORL RECIDIVANTES.....	11.
I/ Les étiologies.....	12.
II/ Les facteurs favorisants.....	14.
A/ Le terrain.....	14.
B/ L'environnement.....	14.
III/ Les mesures et traitements préventifs.....	15.
A/ Les mesures étio-pathogéniques.....	15.
B/ Correction de l'état pathologique associé.....	16.
C/ L'antibiothérapie préventive.....	16.
D/ L'immunothérapie.....	17.
1/ L'administration d'immunoglobulines.....	17.
2/ Les immunomodulateurs d'origine bactérienne.....	18.
3/ Les vaccins spécifiques.....	22.
a/ Le vaccin <i>Haemophilus</i>.....	22.
b/ Le vaccin anti-pneumococcique.....	22.
c/ Le vaccin anti-grippal.....	22.

2^{ème} PARTIE : PHARMACOLOGIE DE L'IMMUNOMODULATION.....	23.
I/ Le système immunitaire.....	24.
A/ L'immunité à médiation humorale.....	24.
B/ L'immunité à médiation cellulaire.....	25.
C/ La lutte anti-infectieuse.....	26.
1/ La lutte anti-infectieuse non spécifique.....	26.
a/ La phagocytose.....	26.
b/ Les interférons.....	29.
2/ La lutte anti-infectieuse spécifique.....	29.
a/ Intervention des lymphocytes T CD4 et T CD8.....	29.
b/ Le système du complément.....	30.
II/ Définition d'un immunomodulateur.....	31.
III/ Les niveaux d'action des composés immunomodulateurs dans l'organisme.....	32.
IV/ Complexité de l'étude clinique d'un immunomodulateur.....	34.
3^{ème} PARTIE : LES IMMUNOMODULATEURS NATURELS.....	37.
1^{ère} SOUS-PARTIE : <i>ECHINACEA PURPUREA</i> MOENCH, <i>PALLIDA</i>	
NUTT., <i>ANGUSTIFOLIA</i> D.C.....	39.
I/ Utilisation à travers l'histoire.....	40.
A/ Chez les Amérindiens.....	40.
B/ Aux Etats-Unis à la fin du XIX^{ème} siècle.....	40.
C/ En Europe à partir du début du XX^{ème} siècle.....	41.
D/ De nos jours.....	41.

II/ Identification botanique.....	42.
A/ Historique de sa dénomination.....	42.
B/ Classification.....	42.
C/ Habitat.....	43.
D/ Caractères botaniques.....	43.
1/ Caractères macroscopiques.....	43.
a/ <i>Echinacea purpurea</i> Moench.....	44.
b/ <i>Echinacea pallida</i> Nutt.....	44.
c/ <i>Echinacea angustifolia</i> D.C.....	45.
d/ Possibilités de confusion.....	49.
2/ Examen microscopique d'<i>Echinacea purpurea</i> Moench.....	50.
a/ La tige.....	50.
b/ La feuille.....	51.
c/Le cryobroyat de plantes fraîches.....	52.
III/ Composition chimique des Echinacees utilisées en thérapeutique.....	53.
A/ L'eau.....	53.
B/ Les vitamines et les sels minéraux.....	53.
C/ Les acides aminés.....	53.
D/ Les acides gras et leur dérivés.....	54.
1/ Les acides gras.....	56.
2/ Les alkylamides.....	57.
3/ Les polyènes et polyines.....	61.
a/ Les dérivés polyacétyléniques.....	61.
b/ Les cétoalcènes et les cétoalcynes.....	62.
E/ Les dérivés phénoliques.....	65.
1/ La vanilline.....	65.
2/ Les esters de l'acide caféique.....	66.
a/ Les esters des acides caféique et quinique.....	66.
b/ Les esters des acides caféique et tartrique.....	67.

c/ Les esters hétérosidiques de l'acide caféique.....	68.
3/ Les flavonoïdes et les anthocyanosides.....	68.
a/ Les flavonoïdes.....	69.
b/ Les anthocyanosides.....	72.
F/ Les alcaloïdes.....	72.
G/ Les stérols et les terpènes.....	73.
H/ Les huiles essentielles.....	73.
I/ Les polysaccharides.....	73.
IV/ Les composés participant à l'action immunomodulatrice.....	76.
A/ Les polysaccharides d' <i>Echinacea</i> sp.....	76.
1/ Les polysaccharides naturels.....	77.
2/ Les polysaccharides obtenus par culture cellulaire.....	78.
B/ Autres substances immunomodulatrices chez <i>Echinacea</i> sp.....	81.
V/ Les études sur l'immunomodulation.....	83.
A/ Méthodes d'évaluation de l'activité immunomodulatrice.....	84.
1/ Le « granulocyte-test ».....	84.
2/ Le test de clairance du carbone.....	85.
B/ Les études <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	86.
1/ Cytotoxicité des macrophages activés par les EPS.....	86.
2/ Les études à partir du polysaccharide I.....	88.
3/ Les études à partir du polysaccharide II.....	88.
4/ Les études à partir du polysaccharide A.....	89.
5/ Les études à partir des polysaccharides E et F.....	89.
6/ Les études à partir des sesquiterpènes.....	91.
7/ Les études à partir des alkylamides.....	91.
8/ Les études à partir de l'acide cichoréique.....	92.
9/ Action sur la souris sur l'immunité non spécifique.....	93.
10/ Action sur les souris immunodéprimées.....	94.

C/ Les essais cliniques.....	95.
D/ Remarques sur les essais pharmacologiques.....	96.
VI/ Les autres études.....	97.
A/ Propriétés antivirales sur <i>Myxovirus influenzae</i>	97.
1/ Méthode de réduction du nombre de plages.....	98.
2/ Mesure du diamètre d'inhibition.....	99.
B/ Les propriétés antibactériennes.....	100.
1/ Les polyphénols dérivés de l'acide caféique.....	100.
2/ Les polyacétyléniques vrais.....	101.
C/ Les propriétés anti-inflammatoires.....	102.
1/ La réaction inflammatoire.....	102.
a/ Les médiateurs de l'inflammation.....	102.
b/ Le mécanisme de l'inflammation.....	103.
2/ Les études sur l'inflammation.....	104.
a/ Activité sur le métabolisme de l'acide arachidonique.....	104.
b/ Activité anti-hyaluronidasique.....	106.
D/ Les études sur la prévention et le traitement des infections ORL.....	110.
1/ Prophylaxie des infections ORL.....	107.
2/ Traitement des infections ORL.....	109.
E/ La toxicité.....	111.
1/ Toxicité aiguë.....	111.
2/ Toxicité sub-aiguë.....	111.
3/ Phototoxicité.....	111.
4/ Carcinogénèse et mutagénèse.....	112.
F/ Conclusion sur les propriétés pharmacologiques.....	112.
VII/ Utilisation.....	113.
A/ La législation.....	113.
B/ Les produits à base d'Echinacée.....	115.

1/ Les teintures mères.....	116.
2/ Les extraits fluides.....	116.
3/ Les gélules.....	117.
4/ L'huile nasale.....	118.
5/ La pommade.....	118.
6/ Les complexes homéopathiques.....	119.
VIII/ Conclusion.....	120.
2^{ème} SOUS-PARTIE : LA PROPOLIS.....	121.
I/ Définition de la propolis.....	122.
II/ Historique de son utilisation.....	122.
III/ La propolis et les abeilles.....	123.
A/ Origine de la propolis.....	123.
B/ Récolte de la propolis par les butineuses.....	124.
C/ Rôle de la propolis dans la ruche.....	126.
D/ Récolte de la propolis par l'apiculteur et conservation.....	127.
E/ Standardisation de la propolis.....	127.
F/ Extraction de la propolis pure.....	128.
IV/ Composition analytique.....	129.
A/ Analyse physique.....	129.
B/ Composition chimique.....	129.
1/ Les éléments minéraux.....	130.
2/ Les vitamines.....	130.
3/ Les acides aminés.....	130.

4/ Les glucides.....	131.
5/ Les acides gras.....	131.
6/ Les composés aromatiques.....	131.
a/ Les dérivés de l'acide benzoïque.....	131.
b/ Les dérivés du benzaldéhyde.....	132.
c/ Les dérivés de l'alcool et de l'acide cinnamique et leurs esters.....	132.
d/ Les flavonoïdes.....	133.
α/ Les flavones.....	134.
β/ Les flavonols.....	134.
γ/ Les flavanones et flavanonols.....	135.
7/ Les composés terpéniques.....	136.
8/ Les stéroïdes.....	136.
9/ Les hydrocarbures.....	136.
10/ Les hormones.....	137.
V/ Les propriétés pharmacologiques.....	137.
A/ Action immunomodulatrice.....	137.
B/ Les propriétés antivirales.....	139.
1/ Action sur le Virus Respiratoire Syncytial (VRS).....	139.
a/ Rappels sur le VRS.....	139.
b/ Etude <i>in vitro</i> sur la réduction du nombre de plages.....	139.
α/ Etude de la propolis seule.....	140.
β/ Etude comparative avec la ribavirine.....	142.
2/ Etude <i>in vivo</i> sur le virus <i>Myxovirus influenzae</i>	142.
3/ Action virucide globale.....	143.
C/ Propriétés antibactériennes.....	143.
1/ Activité antibactérienne <i>in vitro</i> de l'extrait éthanolique de propolis (EEP).....	143.

2/ Activité antibactérienne <i>in vitro</i> d'extraits aqueux.....	144.
3/ Origine de cette activité.....	146.
D/ Propriétés anti-inflammatoires.....	146.
1/ Effet sur l'inflammation aiguë.....	147.
2/ Effet sur l'inflammation chronique.....	149.
E/ Etudes cliniques dans les maladies ORL.....	150.
F/ Toxicité de la propolis.....	151.
G/ Conclusion sur les propriétés pharmacologiques.....	151.
VI/ Utilisation.....	152.
A/ Les gélules.....	153.
B/ Les pastilles à sucer.....	154.
VII/ Conclusion.....	155.
3 ^{ème} SOUS-PARTIE : <i>LARIX OCCIDENTALIS</i>	156.
I/ Introduction.....	157.
II/ Identification botanique.....	157.
III/ Origine des arabinogalactanes.....	158.
IV/ Caractéristiques physiques.....	159.
V/ Analyse chimique.....	160.
VI/ Pharmacocinétique.....	161.

VII/ Propriétés pharmacologiques sur l'immunomodulation par activation des cellules NK.....	161.
VIII/ Etudes cliniques sur les otites.....	163.
IX/ Effets secondaires et toxicité.....	163.
X/ Utilisation en thérapeutique.....	164.
XI/ Conclusion.....	165.
CONCLUSION GENERALE.....	166.
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	167.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 352'

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur **HABRIOUX** Gérard

ASSESSEURS : Madame le Professeur **CHULIA** Dominique
Monsieur **COMBY** Francis, Maître de Conférences

PROFESSEURS :

BENEYTOUT Jean-Louis

BOSGIRAUD Claudine

BROSSARD Claude

BUXERAUD Jacques

CARDOT Philippe

CHULIA Albert

CHULIA Dominique

DELAGÉ Christiane

DREYFUSS Gilles

DUROUX Jean-Luc

GHESTEM Axel

HABRIOUX Gérard

LACHATRE Gérard

MOESCH Christian

LOUDART Nicole

BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE-PARASITOLOGIE
PHARMACIE GALENIQUE
CHIMIE ORGANIQUE-CHIMIE THERAPEUTIQUE
CHIMIE ANALYTIQUE
PHARMACOGNOSIE
PHARMACIE GALENIQUE
CHIMIE GENERALE et MINERALE
PARASITOLOGIE
PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
BOTANIQUE et CRYPTOLOGIE
BIOCHIMIE FONDAMENTALE
TOXICOLOGIE
HYGIENE-HYDROLOGIE-ENVIRONNEMENT
PHARMACODYNAMIE

**SECRETARE GENERAL DE LA FACULTE-CHEF DES SERVICES
ADMINISTRATIFS :**

Madame **ROCHE** Doriane

MAITRES DE CONFERENCES :

ALLAIS Daovy

BASLY Jean-Philippe

BATTU Serge

PHARMACOGNOSIE

CHIMIE ANALYTIQUE

CHIMIE ANALYTIQUE et BROMATOLOGIE

RESUME

La sollicitation du système immunitaire est la base de la défense de l'organisme face aux agressions extérieures.

Certaines affections hivernales telles que les affections ORL sont l'objet de rechutes successives notamment chez les personnes dont l'immunité est fragilisée (enfants, personnes âgées, immunodéprimés...).

La prévention et le traitement de ces récurrences est possible dans la mesure où intervient une modulation préalable ou simultanée de la réaction immunitaire.

Parallèlement aux immunomodulateurs bactériens utilisés en prévention dans ces indications, il existe des immunomodulateurs naturels représentés par l'Echinacée, la Propolis et le Mélèze.

Connue et utilisée depuis des siècles, l'Echinacée possède un ensemble de propriétés dont celles sur la modulation du système immunitaire, permettant une synergie d'action dans la prévention et le combat contre les infections ORL.

Il en est de même pour la propolis, produit complexe élaboré par les abeilles, qui manifeste un ensemble de vertus dont des effets dans le domaine immunitaire. Son action sur la réponse immunitaire s'inscrit dans le cadre d'une lutte efficace pour la prévention et le traitement de ces affections respiratoires hautes.

Plus récemment, il a été découvert l'activité de polysaccharides contenus dans l'écorce du Mélèze (*Larix occidentalis*). Ces polysaccharides participent à la modulation de la réponse immunitaire. Leur emploi en thérapeutique concerne le renforcement du système immunitaire lors d'affections telles que les infections ORL à caractère récurrent.

TITRE en anglais

Natural immunomodulators used in prevention and in treatment of recurrent ORL infections.

DISCIPLINE PHARMACIE

MOTS-CLES Immunomodulateur ; infections ORL ; Echinacée ; Propolis ;
Larix occidentalis.

ADRESSE DE L'U.F.R.

Faculté de Médecine et de Pharmacie
2 rue du Dr Raymond Marcland
87025 LIMOGES Cedex.