



Institut national de recherche scientifique (INRS)
Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie

**Projet : Évaluation du potentiel antiviral des huiles essentielles sous forme d'émulsion
et de vapeur contre le coronavirus MHV-A59, virus de substitution du SARS-CoV-2
causant la COVID-19.**

Par Karelle Contant, étudiante à la maîtrise en microbiologie appliquée à l'INRS
Pr Monique Lacroix, PhD, professeure à l'INRS – Sciences, appliquées à l'alimentation
En collaboration avec Aliksir, Huiles Essentielles.

Suivi du mois d'août 2021

1. Inhibition de la réplication virale du coronavirus MHV-A59 par les huiles essentielles en émulsion

Les résultats de l'inhibition de la réplication virale du virus MHV-A59 par les huiles essentielles (HEs) à différentes concentrations sont présentées au Tableau I ci-dessous. Ils démontrent l'efficacité de certaines HEs à différentes concentrations pour inhiber la réplication virale du coronavirus MHV-A59. Ces résultats ont été obtenus par des titrations virales où il a été possible de lire la charge virale. Cette charge virale (titre viral, en pfu/mL, soit le nombre de particule virale dans un millilitre) se présente sous forme de plage de lyses sur les cellules DBT, c'est-à-dire un trou dans le tapis cellulaire visible à l'œil nu, puisque les cellules ont été tuées par l'infection du virus. Une plage de lyse démontre alors qu'un virus a été capable d'entrer dans une cellule, se répliquer, puis la tuer pour en sortir, ce qui crée donc un trou, et c'est comme ceci que nous pouvons calculer la charge virale. Des contrôles ont été effectués avec le virus MHV-A59 dans du milieu sain, c'est-à-dire sans HEs ou composés qui pourraient nuire à sa réplication. Les résultats des tests sont donc comparés à ces témoins afin d'évaluer la réduction de la charge virale, entre le test avec HEs et le contrôle sans HEs. Le pourcentage de réduction dans le tableau ci-dessous a été calculé pour chaque test en comparaison avec le contrôle, tout comme la valeur dans la colonne du nombre de fois que la charge virale fut réduite, entre le contrôle et le test HEs. Il est à noter que d'autres HEs sont encore en test au laboratoire présentement.

Le coronavirus murin MHV-A59 est utilisé comme un virus de substitution de choix au virus SARS-CoV-2, causant la COVID-19. Des analyses par le chercheur Anand en décembre 2020 suggèrent que pour le SARS-CoV-2, une infection du virus par une charge virale de moins de 2×10^5 pfu/mL ne causerait pas de cas détectables de COVID-19 ou bien des cas très légers seulement. Nous pouvons donc se servir de cette valeur afin de déterminer quelles HEs font diminuer la charge virale sous 2×10^5 pfu/mL, ce qui correspondrait à une très bonne efficacité dans le but d'inhiber la réplication virale pour éviter d'être malade par le virus. Ainsi, comme nous pouvons l'observer dans le Tableau I ci-dessous, les HEs ayant fait une charge virale associée sous 2×10^5 pfu/mL sont : *Ambrosia artemisiifolia* à 0,5% et 1,0%, *Angelica archangelica* à 1,0%, *Artemisia annua* à 1,0%, *Artemisia dracunculus* à 1,0%, *Cinnamomum camphora* à 1,0%, *Cinnamosma fragans* à 1,0%, *Eucalyptus citriodora* à 1,0%, *Eucalyptus globulus* à 1,0%, *Euthamia graminifolia* à 1,0% et *Picea mariana* à 1,0%.

Par la suite, à partir d'études et de preuves épidémiologiques sur des humains et des animaux, une dose infectieuse virale, et ce pour n'importe quel virus, est basse si elle possède une réduction de plus de 1000 fois par rapport à la charge virale du contrôle. Le Tableau I ci-dessous démontre que les HEs ayant réduit la charge virale de plus de 1000 fois sont : *Ambrosia artemisiifolia* à 1,0%, *Angelica archangelica* à 1,0%, *Artemisia annua* à 1,0%, *Artemisia dracunculus* à 1,0%, *Cinnamomum camphora* à 1,0%, *Euthamia graminifolia* à 1,0%.

Ainsi, les HEs respectant les deux règles ci-dessous, donc les plus efficaces pour inhiber la réplication virale du virus MHV-A59, sont *Ambrosia artemisiifolia* à 1,0%, *Angelica archangelica* à 1,0%, *Artemisia annua* à 1,0%, *Artemisia dracunculus* à 1,0%, *Cinnamomum camphora* à 1,0%, *Euthamia graminifolia* à 1,0%. Aucune HE testée

à une concentration de 0,5% n'a démontré une assez bonne efficacité afin d'être considérée. Toutes les autres ne diminuent pas assez la charge virale du virus de façon significative.

Tableau I. Inhibition de la réplication virale du coronavirus MHV-A59 au contact de différentes concentrations d'huiles essentielles en émulsion par titration virale sur cellules DBT

Groupe	Concentration d'HE (%)	Charge virale (pfu/mL) ¹	Pourcentage de réduction ²	Nombre de fois que la charge virale est réduite ³
Contrôle pour 1.0%*	N/A	1,70x10 ⁷	N/A	N/A
Contrôle pour 0.5%*	N/A	1,88x10 ⁷	N/A	N/A
<i>Achillea millefolium</i>	1,0	2,33x10 ⁶	87,60%	8,06
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	1,0	1,98x10 ³	99,99%	9493,67
	0,5	8,75x10 ⁴	99,49%	194,29
<i>Angelica archangelica</i>	1,0	2,13x10 ³	99,99%	8823,53
	0,5	9,25x10 ⁵	94,56%	18,38
<i>Artemisia annua</i>	1,0	3,25x10 ³	99,98%	5769,23
	0,5	8,75x10 ⁵	94,85%	19,43
<i>Artemisia dracunculus</i>	1,0	6,25x10 ³	99,97%	3000,00
	0,5	1,08x10 ⁶	93,68%	15,81
<i>Cinnamomum camphora</i>	1,0	7,50x10 ³	99,96%	2500,00
	0,5	9,25x10 ⁵	94,56%	18,38
<i>Cinnamosma fragans</i>	1,0	1,25x10 ⁵	99,33%	150,00
	0,5	1,28 x10 ⁷	25,00%	1,33
<i>Citrus limonum</i>	0,5	4,25x10 ⁶	75,00%	4,00
<i>Eucalyptus citriodora</i>	1,0	2,58x10 ⁴	99,86%	728,16
<i>Eucalyptus globulus</i>	1,0	1,68x10 ⁵	99,11%	111,94
	0,5	1,40x10 ⁶	91,76%	12,14
<i>Eucalyptus radiata</i>	0,5	8,00x10 ⁵	95,29%	21,25
<i>Euthamia graminifolia</i>	1,0	8,00x10 ³	99,96%	2343,75
	0,5	1,23x10 ⁶	92,79%	13,88
<i>Picea mariana</i>	1,0	9,25x10 ⁴	99,51%	202,70
	0,5	1,20x10 ⁶	92,94%	14,17

N/A : non applicable.

* : Deux contrôles ont été effectués, car la production virale n'a pas eu lieu en même temps pour les tests HEs à des concentrations en émulsion de 0,5% et de 1,0%.

¹ : La charge virale (titre viral) est calculé pour n=2 de chaque test.

² : Le pourcentage de réduction de la charge virale a été calculée par rapport au contrôle de chaque production virale, selon la charge virale associée au test. Il s'agit d'un pourcentage d'inhibition selon le nombre de plages de lyse visible sur cellules DBT.

³ : La réduction de la charge virale est calculée à partir du log en base 10 du contrôle sans HEs et le log en base 10 du test HE.

2. Suite du projet

Les mêmes tests sont réalisés, mais avec les HEs sous forme de vapeur au lieu d'être en émulsion dans une solution. Par la suite, les meilleures HEs démontrant le plus grand pouvoir inhibiteur sur la réplication virale du virus MHV-A59 seront sélectionnées en émulsion et en vapeur afin de déterminer si elles ont un effet synergique, par la méthode Checkerboard (FIC). Le Tableau II ci-dessous démontre la cédule de temps dans le but de réaliser toutes les prochaines étapes du projet.

Tableau II. Cédule de temps pour chaque objectif du projet

#	Objectif	Durée
1	Déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles sous forme d'émulsion contre le coronavirus MHV-A49 par titration virale :	
1.1	Déterminer les concentrations des HEs à tester selon leur toxicité sous forme d'émulsion sur les cellules hôtes DBT par test de viabilité cellulaire	Terminé
1.2	Déterminer l'effet inhibiteur des concentrations d'HEs choisies afin d'obtenir leur CMI par titration virale du virus MHV-A59 sur cellules DBT	Partiellement terminé (fin prévue 2021-08-07)
1.3	Évaluer, par la méthode du Checkerboard (FIC), la synergie des émulsions d'HEs les plus efficaces contre le coronavirus MHV-A59	2021-08-07 à 2021-10-01
2	Déterminer les CMI des huiles essentielles sous forme de vapeur contre le coronavirus MHV-A49 par titration virale :	
2.1	Déterminer les concentrations des HEs à tester selon leur toxicité sous forme vapeur sur les cellules hôtes DBT par test de viabilité cellulaire	Partiellement terminé (fin prévue 2021-09-10)
2.2	Déterminer l'effet inhibiteur des concentrations d'HEs choisies afin d'obtenir leur CMI par titration virale du virus MHV-A59 sur cellules DBT	2021-09-10 à 2021-11-01
2.3	Évaluer, par FIC, la synergie des vapeurs d'HEs les plus efficaces contre le coronavirus MHV-A59	2021-11-01 à 2022-01-30
3	Développer des formulations liquides qui pourraient servir de solution pour décontaminer les surfaces de travail et des aliments, et des formulations vapeur qui pourraient servir de produits pour décontaminer l'air dans les espaces de travail d'entreposage d'aliments, contre les coronavirus	2022

3. Références

1. Anand, S., Mayya, Y.S. Size distribution of virus laden droplets from expiratory ejecta of infected subjects. Sci Rep 10, 21174 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78110-x>
2. GUIDELINES FOR DRINKING-WATER QUALITY. Chapter 7 : Microbial Aspects. Page 122. Consulté le 3 août 2021.