

Efficacité d'un composé d'huiles essentielles utilisé comme répulsif à moustique.

N° d'étude : 23INE-CpAa-LAB001

Substance : Mélange d'huiles essentielles en solution

Dose : 1ml pour 600 cm²

Organismes cibles :

Culex pipiens

Aedes albopictus

Site d'essai :

EcoAquatron Univ, Lyon UMR LEHNA^[1]_{SÉP}

LYON I, 43 Bd du 11 Novembre 1918, UMR CNRS 5023 – Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés, Bât. Darwin C, F-

69622 VILLEURBANNE Cedex France

Directeur d'étude

Bertrand GUILLET

Phone : + 33 (0)7 87 46 48 50

E-mail : bertrand.guillet@izinovation.com

Début de l'étude : 03/04/2023

Fin de l'étude : 20/04/2023

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	2
1 – INTRODUCTION.....	3
1.1 – Objectif de l'étude.....	3
1.2 – Textes réglementaires	3
2 – PRODUIT TESTE	3
2.1 – Détail du produit testé	3
2.2 – Préparation du produit à tester	3
3 – CONDITIONS EXPERIMENTALES	3
3.1 – Caractéristiques des espèces étudiées.....	3
3.2 – Conditions abiotiques	4
4 – DESCRIPTION DE L'ETUDE	4
5 – RESULTATS.....	5
6 – RESULTATS COMPLEMENTAIRES	6
7 – CONCLUSION	6

1 – INTRODUCTION

1.1 – Objectif de l'étude

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité répulsive d'une substance composée d'un mélange d'huiles essentielles sur le comportement de piqûre de deux espèces communes de moustiques.

Le test arm-in-cage effectué sur 3 volontaires permet d'évaluer la durée de la protection complète en condition de laboratoire.

1.2 – Textes réglementaires

L'essai présenté est issu des textes réglementaires suivants :

- Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and of the Council of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products Text with EEA relevance.
- Guidance on the Biocidal Products Regulation, Volume II Efficacy, Assessment and Evaluation (Parts B&C), Version 4.1, Feb 2022, paragraph 5.6.4. 'Insecticide and acaricide'
- Guidelines for efficacy testing of mosquitoes repellents for human skin. WHO/HTM/NTD/WHOPES/2009.4

2 – PRODUIT TESTE

2.1 – Détail du produit testé

Nom	Spray anti-moustique INEAL
Matières actives	Mélange d'huiles essentielles
Numéro de lot	DEVIN004-3
Date de production	28/03/2023
Fabricant	Laboratoires FP Cosmetics
Conditions de stockage	Température ambiante à l'abri de la lumière

2.2 – Préparation du produit à tester

Aucune préparation ne fut nécessaire car le produit est prêt à l'emploi.

3 – CONDITIONS EXPERIMENTALES

3.1 – Caractéristiques des espèces étudiées

Espèce	Moustique commun (<i>Culex pipiens</i>)
Justification	Le moustique commun est un organisme modèle pour l'homologation de substance en Europe.
Exigences particulières	Femelles adultes fécondées vieilles d'au moins 5 jours après émergence.
Nombre	- 1 cage (30*30*30cm) de 100 moustiques femelles par volontaire

Espèce	Moustique tigre (<i>Aedes albopictus</i>)
Justification	Le moustique tigre est un organisme modèle pour l'homologation de substance en Europe.
Exigences particulières	Femelles adultes fécondées vieilles d'au moins 5 jours après émergence.
Nombre	- 1 cage (30*30*30cm) de 100 moustiques femelles par volontaire

3.2 – Conditions abiotiques

Température : entre 24°C et 26°C
 Humidité relative : de 50% à 60% HR
 Photopériode : 12hr/12hr

4 – DESCRIPTION DE L'ETUDE

Pour chaque espèce de moustique et chacun des volontaires le test se déroule comme suit :

Les bras des volontaires sont préalablement lavés au savon sans odeur puis séchés.

Les traitements sont appliqués et étalés à raison d'un ml pour 600 cm² de la peau de l'avant-bras entre le poignet et le coude. Un bras est traité avec le produit tandis que l'autre sert de bras témoin sans traitement. Les mains sont protégées par des gants faits d'un matériau à travers lequel les moustiques ne peuvent pas piquer.

Dans un premier temps, il convient d'évaluer si les moustiques sont prêts à se poser et/ou à sonder aussi le bras témoin est inséré dans la cage pour une durée de 30 secondes durant laquelle on doit compter une dizaine de pose de sonde et/ou piqûre. Si ce niveau d'atterrissage n'est pas atteint l'expérience doit être abandonnée.

Le volontaire retire le bras témoin et insère le bras traité dans la même cage pendant 3 minutes.

Cette procédure est répétée toutes les 60 minutes jusqu'à apparition d'une pose de moustique sur le bras traité. La pose doit être confirmée par une autre pose dans le même intervalle de 3 minutes ou lors du test de l'heure suivante.

Lorsqu'une pose est ainsi confirmée, on définit alors le temps maximal de protection complète comme le temps écoulé jusqu'à la première pose confirmée.

On fait la moyenne des temps obtenus pour les volontaires afin de statuer de l'efficacité répulsive du produit par espèce de moustiques.

5 – RESULTATS

Culex pipiens

Volontaire 1	H0	H+1	H+2	H+3	H+4	H+5
Témoin 30sec	OK -Très excités	OK -Très excités	OK - Baisse d'activité	OK -Activité faible	Non validé - pas de pose	Non validé - pas de pose
Traitement 3 min	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose
Volontaire 2	H0	H+1	H+2	H+3	H+4	
Témoin 30sec	OK -Très excités	OK -Très excités	OK - Baisse d'activité	Non validé - pas de pose	Non validé - pas de pose	
Traitement 3 min	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	1 piqûre	
Volontaire 3	H0	H+1	H+2	H+3	H+4	H+5
Témoin 30sec	OK -Très excités	OK -Très excités	OK - Baisse d'activité	OK -Activité faible	Non validé - pas de pose	Non validé - pas de pose
Traitement 3 min	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	1piqûre	OK pas de pose	1 pose

Temps moyen de protection complète : **140 minutes**

Aedes albopictus

Volontaire 1	H0	H+1	H+2	H+3	H+4	H+5	
Témoin 30sec	OK -Très excités	OK -Très excités	OK -Très excités	OK -Très excités	OK - Baisse d'activité	OK -Activité faible	
Traitement 3 min	OK pas de pose	OK pas de pose	1 piqûre	OK pas de pose	1 piqûre	1 piqûre	
Volontaire 2	H0	H+1	H+2	H+3	H+4	H+5	H+6
Témoin 30sec	OK -Très excités	OK -Très excités	OK -Très excités	OK -Très excités	OK - Baisse d'activité	OK -Activité faible	Non validé - pas de pose
Traitement 3 min	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	1 piqûre	2 piqûres
Volontaire 3	H0	H+1	H+2	H+3	H+4	H+5	
Témoin 30sec	OK -Très excités	OK -Très excités	OK -Très excités	OK -Très excités	OK -Activité faible	Non validé - pas de pose	
Traitement 3 min	OK pas de pose	OK pas de pose	OK pas de pose	1 pose	OK pas de pose	2 poses	

Temps moyen de protection complète : **180 minutes**

Durant les tests, l'attention s'est portée sur la baisse drastique d'activité des moustiques lors de la validation du bras témoin. Les moustiques ont en effet subis une baisse d'activité ainsi qu'une surmortalité durant le test.

Cet effet semble avoir été provoqué par la rémanence du produit dans la cage de test. Afin d'évaluer cet effet, nous avons procédé à un test supplémentaire évaluant la mortalité induite par les vapeurs de produits.

6 – RESULTATS COMPLEMENTAIRES

Dans des boîtes de Petri de 10*10cm on dispose des plaques de surface poreuse (bois non traité) sur lesquelles a été appliqué 0.16ml de produit (1ml pour 600cm²). Une source d'humidité est ajoutée au dispositif.

Pour chaque espèce on ajoute 30 moustiques femelles réparties dans 3 boîtes ainsi préparées et on observe la mortalité pendant 24hrs.

On a ainsi constaté que les individus d'*Aedes albopictus* subissent jusqu'à 40% de mortalité en 24heures tandis que les individus *Culex pipiens* meurt à 90% après 24 heures.

7 – CONCLUSION

La répulsivité du produit est moyenne avec un temps de protection maximale de 140 à 180 minutes en fonction de l'espèce. Ces résultats sont cependant discutables car la non validation par le bras témoin de l'activité normale des moustiques ne permet pas de statuer clairement de l'effet répulsif du produit.

La substance possède un effet biocide important notamment sur *Culex pipiens* qui perturbe la validité des tests.