

Efficacité de l'association DEET (20%) et EHD (15%) contre les piqûres de moustiques. Résultats d'une étude de terrain effectuée au Sénégal.

A. Izri (1), L. Konate (2), Y. Dieng (3), A. Alcais (4), A. Diop (2), M. L. Faye (2), C. Bouges-Michel (1), J.J. Rousset (1) & M. Deniau (1)

(1) Parasitologie-mycologie, EA ATHSCO, UFR Bobigny, Université de Paris 13, France

(2) Entomologie médicale, Université de Dakar, Sénégal

(3) Parasitologie, Université de Dakar, Sénégal

(4) INSERM U.436, Paris, France.

Manuscrit n° 2241. "Entomologie médicale". Reçu le 12 octobre 2000. Accepté le 26 avril 2001.

Summary: Efficacy of DEET (20%) and EDH (15%) association against mosquito bites. Results of a survey in the field in Senegal.

The authors report the results of a survey on the efficacy against mosquito bites of a repellent, Mousticologne® Spécial Zones Infestées (DEET 20%, EHD 15%). Two forms of the product, spray and gel, were tested in Senegal. Repellent efficacy was evaluated by exposing volunteers, both repellent-treated and untreated, to mosquito bites. The number of mosquito bites per person and per night was 0.63 in the spray treated group (group 1), 6.03 in the gel treated group (group 2) and 94.17 in the untreated group (group 3). The analysis of these results showed a significant difference between treated and untreated persons. Untreated persons were not protected against mosquito bites, persons treated with the spray were protected for 12 hours and those treated with the gel had over 8 hours' protection. We concluded that a single application of the repellent Mousticologne® in the field is capable of ensuring all-night protection against mosquito bites.

Résumé :

Les auteurs rapportent les résultats d'une étude sur l'efficacité d'un répulsif, Mousticologne® Spécial Zones Infestées (DEET 20 %, EHD 15 %), contre les piqûres de moustiques. Deux formulations, spray et gel, ont été essayées au Sénégal. L'activité répulsive a été évaluée par exposition aux piqûres de moustiques de sujets volontaires traités ou non par le répulsif. Le nombre de piqûres de moustiques par nuit et par homme est de 0,63 dans le groupe 1 traité par le spray, de 6,03 dans le groupe 2 traité par le gel et de 94,17 dans le groupe 3 témoin. L'analyse de ces résultats met en évidence une différence significative entre les sujets non traités qui ne sont pas protégés contre les piqûres de moustiques et les sujets traités qui le sont pendant plus de 12 heures dans le groupe 1 et plus de 8 heures dans le groupe 2. Cette étude sur le terrain montre donc qu'une seule application du répulsif est capable de protéger efficacement un sujet pendant une période de temps pouvant couvrir une nuit entière.

repellent
mosquito-bite
efficacy
Senegal
Sub-Saharan Africa

répulsif
piqûre de moustiques
efficacité
Sénégal
Afrique intertropicale

Introduction

Depuis quelques années, le développement spectaculaire des transports permet à des millions de personnes de voyager partout dans le monde. Ces déplacements comportent des risques dont les maladies transmises par les arthropodes figurent parmi les plus redoutables ; ainsi, le paludisme, la dengue ou la fièvre jaune touchent chaque année plusieurs milliers de voyageurs et provoquent des centaines de décès (2, 18). Si la vaccination ou la chimioprophylaxie aident à prévenir quelques-unes de ces maladies ou leurs manifestations cliniques, la protection contre les piqûres d'insectes reste un moyen incontournable pour éviter ces affections (1, 7). La

protection individuelle passe par l'utilisation d'insecticides, de moustiquaires et de produits répulsifs.

Parmi de nombreux répulsifs testés au laboratoire de parasitologie de la Faculté de médecine de Bobigny, le Mousticologne® Spécial Zones Infestées (SZI) a montré une longévité supérieure à douze heures dans son efficacité contre *Aedes aegypti* et *Anopheles stephensi* (A. IZRI, *Etude en laboratoire de l'activité répulsive du produit Mousticologne® contre Aedes aegypti et Anopheles stephensi*. 1996. Non publié). Pour vérifier cette activité, une étude de terrain a été réalisée du 27 octobre au 7 novembre 1999 dans une région fortement infestée de moustiques, Keur-M'baye, au Sénégal. Nous en rapportons les résultats.

Matériel et méthode

Keur-M'Baye est un village de 1 700 habitants, situé à moins de 1 km de la rive sud du fleuve Sénégal, à 10 km à l'est de la petite ville de Richard-Toll, elle-même située à 370 km au nord-nord-est de Dakar.

Le climat est de type tropical sahélien avec une courte saison de pluies de juillet à septembre et une longue saison sèche d'octobre à juin. Les précipitations, particulièrement abondantes en 1999, ont inondé de grandes surfaces de terre, créant ainsi de vastes gîtes larvaires favorisant la prolifération des moustiques. La température est restée stable durant toute cette étude : 37° à 39 °C le jour et 23° à 24 °C la nuit.

Les habitations, de type traditionnel en terre battue et toit de chaume ou de type moderne en dur, sont éparpillées dans un terrain de savane arbustive, relativement plat. Chaque propriété est constituée d'une ou plusieurs constructions de plain-pied et d'une cour. En saison chaude, les habitants, en majorité wolof, passent les nuits dans la cour, parfois sous moustiquaire, à proximité de quelques animaux domestiques (volailles et moutons).

Entre le village et le fleuve, des canaux irriguent un champ de canne à sucre et une rizière qui constitue un excellent milieu de prolifération des moustiques.

Le produit étudié est une association de deux principes actifs, le diéthyltoluamide (DEET) concentré à 20 % et l'éthylhexanediol (EHD) concentré à 15 %, auxquels sont ajoutés un filtre solaire IP5 et un excipient alcoolique à 35°. Deux formulations, spray et gel, ont été utilisées. Pour garder l'anonymat des produits, les flacons et tubes ont été recouverts d'un film adhésif noir.

Les essais ont été réalisés avec l'aide de 15 volontaires du village, tous des hommes adultes qui avaient donné leur consentement éclairé. Tous avaient déjà une expérience dans la capture de moustiques sur eux-mêmes.

Chaque jour, pendant six jours, trois groupes de 5 personnes ont été constitués par tirage au sort parmi les 15 volontaires. Les personnes du groupe 1 ont été traitées par le spray, les personnes du groupe 2 par le gel, les personnes du groupe 3 n'ont pas été traitées (groupe témoin). L'application du produit a été effectuée par l'un d'entre nous, tous les après-midi entre 14 et 15 heures, de façon uniforme sur les deux jambes, des chevilles jusqu'aux genoux. La quantité de produit avait été évaluée à 15 g par personne, soit 3 g de DEET et 2,25 g de EHD. Tous les sujets, traités et non traités, étaient libres de vaquer à leurs occupations habituelles, avec pour seule restriction de ne pas se laver les jambes jusqu'au lendemain.

Six heures après l'application des produits, les 15 volontaires étaient regroupés dans la cour d'une habitation du village pour exposer leurs jambes nues aux piqûres de moustiques. Les pieds étaient protégés par des chaussettes et les cuisses par le pantalon. Chacun procédait alors à la capture des moustiques qui venaient piquer ses jambes à l'aide de tubes à hémolyse, à raison d'un tube par moustique : il coiffait le moustique avec le tube qu'il refermait à l'aide d'une boule de coton. Il s'aidait d'une lampe torche qu'il n'allumait qu'au moment de la capture. Les captures ont été poursuivies jusqu'à la douzième heure après l'application du produit.

Toutes les heures, chaque volontaire rassemblait ses tubes de capture dans un sac portant ses références : nom, numéro de groupe et heure de capture. Les sacs étaient collectés et transportés au laboratoire de terrain. Les moustiques étaient identifiés dès le lendemain matin, un à un, à la loupe binoculaire, à l'aide de la clé d'identification de *DIAGNE et al.* (9).

Pour tester l'effet du traitement sur le nombre de piqûres par homme et par nuit, les trois groupes ont été dans un premier temps comparés entre eux, à l'aide d'une analyse de variance, à un facteur (le traitement). Compte tenu des résultats significatifs, les comparaisons ont été ensuite effectuées deux à deux. Pour ces dernières, la correction de BONFERRONI a été appliquée sur le degré de signification (p corrigé = p observé/nombre de comparaisons) afin de prendre en compte les tests multiples. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute, NC, Cary, États-Unis).

Résultats

Au total, 90 nuits-hommes ont permis la capture de 3025 moustiques dont 660 anophèles et 2 365 autres culicidés. Les 660 anophèles se répartissent en cinq espèces dont *Anopheles gambiae* et *A. funestus*. Les 2365 autres Culicidés se répartissent en cinq espèces de *Culex*, deux espèces de *Mansonia* et une espèce de *Coquilletidia* (tableau I).

Tableau I.
Répartition par espèces des Anopheles capturés et des 827 Culicinae identifiés sur 2365 capturés.
Distribution of species of Anopheles captured and of the 825 Culicinae identified among 2365 captured.

Culicinae		Anopheles	
Cx. antennatus	53	A. gambiae	56
Cx. neavi	2	A. funestus	116
Cx. poicilipes	67	A. pharoensis	186
Cx. quinquefasciatus	1	A. wellcomi	277
Cx. tritaeniorhynchus	183	A. ziemani	25
Mansonia africana	52		
M. uniformis	466		
Coquilletidia metallica	3		
total Culicinae	827	total Anopheles	660

Le nombre de moustiques capturés a été de 19 dans le groupe 1 (0,63 piqûre par homme et par nuit), de 181 dans le groupe 2 (6,03 piqûres par homme et par nuit) et de 2 825 (94,17 piqûres par homme et par nuit) dans le groupe 3 (tableau II).

Tableau II.
Répartition des captures de moustiques par groupe et nuit-homme (nombre de moustiques capturés/nombre d'hommes).
Distribution of captured mosquitoes by group and man-night (number of mosquitoes captured/number of men).

jours	groupe 1		groupe 2		groupe 3	
	total captures	total piqûres/nuit /homme	total captures	total piqûres/nuit /homme	total captures	total piqûres/nuit /homme
J1	1	0,2	19	3,8	387	77,4
J2	3	0,6	12	2,4	456	91,2
J3	7	1,4	36	7,2	361	72,2
J4	2	0,4	53	10,6	514	102,8
J5	4	0,8	26	4	470	94
J6	2	1,2	35	7	637	127,4
total pour 30 nuits-homme	19	0,63	181	6,03	2825	94,17

La répartition des captures et la densité correspondante des piqûres en fonction des tranches horaires sont données pour chaque groupe dans le tableau III.

Discussion

Sur la méthodologie

Le choix du site et de la saison résulte de la connaissance du terrain par les chercheurs sénégalais. Keur-M'Baye, village fortement infesté de moustiques, est situé en zone d'endémie palustre ; la transmission de la maladie atteint son maximum pendant et juste après la saison des pluies, soit de juillet à novembre.

Tableau III.

Répartition des captures par groupe, tranche horaire et nuit-homme (nombre de moustiques capturés/nombre d'hommes).
Distribution by capture group, hour slot and night-man (number of mosquitoes/number of men)

heure de capture (nombre de nuits-hommes)	groupe 1		groupe 2		groupe 3	
	total captures	total piqûres/nuit /homme	total captures	total piqûres/nuit /homme	total captures	total piqûres/nuit /homme
6-7 (20)	1	0,05	2	0,10	169	8,45
7-8 (30)	2	0,07	22	0,73	583	19,43
8-9 (30)	2	0,07	33	1,10	590	19,67
9-10 (30)	5	0,17	48	1,60	560	18,67
10-11 (30)	4	0,13	47	1,57	601	20,03
11-12 (20)	5	0,25	29	1,45	322	16,10
total pour 30 nuits-hommes	19	0,63	181	6,03	2825	94,17

La réalisation de 30 nuits-hommes de captures par groupe assure une puissance raisonnable à l'analyse. Le tirage au sort quotidien des 3 groupes permet de limiter les biais liés aux éventuels facteurs individuels observés par d'autres auteurs (10, 15), facteurs capables de modifier l'attraction ou la répulsion des moustiques ou d'accélérer ou ralentir l'élimination du produit.

En raison des résultats observés au laboratoire (A. IZRI, 1996), les captures de moustiques n'ont été commencées sur le terrain qu'à partir de la 6^e heure après application des produits. Le choix des horaires de captures, de 21 heures à 4 heures, a permis de cibler l'étude sur les *Anopheles* qui piquent plus volontiers dans la deuxième moitié de la nuit (8). Ce choix pourrait en partie expliquer l'absence dans nos résultats d'*Aedes* qui piquent plus volontiers en début de soirée ou tôt dans la matinée. Mais, contre ces derniers, Mousticologne® a fait preuve, au laboratoire, de la même efficacité contre *Aedes aegypti* que contre *Anopheles stephensi* (IZRI A, 1996). Par ailleurs, l'activité répulsive du DEET est déjà bien établie contre les moustiques de ce genre (4, 6, 17).

Enfin, il est à noter que cette étude n'a concerné que des hommes autochtones de peau noire. Une étude complémentaire intégrant des hommes, des femmes, des enfants, de différentes origines géographiques, reste souhaitable pour une analyse plus élargie aux facteurs individuels tels que facteurs hormonaux ou facteur couleur de la peau.

Sur l'efficacité des produits

Dans le groupe 1, sujets traités par le spray, les piqûres de moustiques ont été rares, moins d'une piqûre par homme et par nuit (tableaux II et III) et observées à la limite de la surface traitée, genoux et chevilles. De plus, deux des sujets piqués ont avoué avoir eu des activités agricoles d'irrigation, jambes dans l'eau, ce qui a certainement contribué à éliminer en partie le produit.

Dans le groupe 2, sujets traités par le gel, ont été relevées 6,03 piqûres par homme et par nuit. Ces piqûres ont été observées sur les jambes mais, en majorité aussi, à la limite de la surface traitée, genoux et chevilles.

Dans le groupe 3, sujets non traités, les captures de moustiques ont été très nombreuses sur les jambes, de l'ordre de 100 piqûres par homme et par nuit. La densité des piqûres a eu un rythme soutenu d'environ 20 piqûres par homme et par heure pendant toute la durée des captures (tableau III).

Il apparaît donc que les sujets traités par Mousticologne® ont été bien protégés contre les piqûres de moustiques: ils n'ont pas ou peu été piqués, alors que les sujets non traités n'ont pas été protégés et ont subi de très nombreuses piqûres. La différence entre sujets traités et non traités est fortement significative ($p < 0,0001$).

Bien que la différence entre les groupes 1 et 2 soit non significative (résultats à mettre en miroir avec la faiblesse des effectifs), les sujets du groupe 2 ont semblé moins protégés que les sujets du groupe 1 contre les piqûres de moustiques; en effet, il y a eu 10 fois plus de piqûres dans le groupe 2 que dans le groupe 1, surtout au-delà de la huitième heure après l'application des produits (tableau III). La concentration des principes actifs, DEET 20 % et éthylhexanediol 15 %, étant identique dans les deux produits étudiés, la tendance perçue après la huitième heure d'une moindre efficacité du gel ne pourrait s'expliquer que par la présentation galénique; le spray et le gel utilisent des supports (excipients) différents qui pourraient être à l'origine de cette tendance observée dans nos résultats; il est déjà connu que la galénique peut intervenir dans l'efficacité d'un répulsif (14) et il serait intéressant d'analyser l'influence de chacun des constituants des deux produits sur l'activité répulsive de l'association DEET-EHD. Mais la présentation des produits (spray/gel) n'ayant pas pu être cachée aux sujets, le rôle d'un effet pseudo-placebo ne peut être exclu.

Concernant la concentration du DEET, les produits Mousticologne®, avec une concentration de 20 % de ce principe actif, ont fait preuve d'une efficacité répulsive supérieure à celle de produits à concentration équivalente (13) ou plus élevée, 30 à 50 % (5, 6, 12).

Sur les espèces culicidiennes concernées

Le DEET est réputé plus efficace contre les moustiques du genre *Aedes* et l'EHD contre ceux du genre *Anopheles* (3, 4, 6). Dans notre cas, l'association de ces deux répulsifs se montre efficace contre un large éventail d'espèces de moustiques: 13 espèces sur le terrain dont *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus*, 2 espèces au laboratoire, *Anopheles stephensi* et *Aedes aegypti*.

Sur les effets indésirables liés aux produits

Les deux produits, spray et gel, ont été très bien tolérés par l'ensemble des sujets traités. En particulier, il n'a pas été noté de réaction cutanée en dehors d'une légère irritation observée chez deux personnes ayant utilisé le gel. Par contre, il a été noté pour ce même produit une altération des plastiques, notamment bracelets de montre, stylos à bille et règles; ces phénomènes, dus au DEET, sont connus (3, 6). La concentration du DEET limitée à 20% permet de restreindre ces inconvénients et surtout diminue les risques d'apparition des effets indésirables tels que les encéphalopathies décrites pour des concentrations plus élevées (7, 11, 16).

Conclusion

Cette étude confirme sur le terrain l'efficacité, déjà mise en évidence au laboratoire, du produit Mousticologne® Spécial Zones Infestées spray et gel contre les piqûres de moustiques. Le spray protège de manière très efficace contre un nombre élevé d'espèces de moustiques dont *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus*, vecteurs du paludisme en Afrique. Dans les mêmes conditions d'exposition, les sujets traités par le spray subissent moins d'une piqûre par homme et par nuit contre près de 100 piqûres par homme et par nuit pour les sujets non traités.

Cette étude montre également que la concentration en DEET n'est pas le principal facteur d'efficacité d'un répulsif, l'association de deux principes actifs complémentaires et la galénique

des produits interviennent certainement de manière significative. En effet, bien que ne comprenant que 20 % de DEET, le spray Mousticologue®, association de DEET et de EHD, fait preuve contre les moustiques d'une activité répulsive persistante, supérieure à douze heures après son application, permettant donc de protéger un sujet durant une nuit entière. Toutefois, une étude portant sur un plus grand nombre de volontaires incluant des hommes, des femmes et des enfants de différentes origines géographiques, reste souhaitable pour éliminer le rôle éventuel de facteurs individuels, notamment hormonaux. Cette étude pourrait également concerner autant les moustiques piquant en début de soirée que ceux piquant plus tardivement dans la nuit, jusqu'à l'aube.

Références bibliographiques

1. ANON - Recommandations sanitaires pour les voyageurs. *BEH*, 1999, **23**, 93-99.
2. BAUDON D & MARTET G- Paludisme et voyageurs : protection et information. *Méd Trop*, 1997, **57 bis**, 497-500.
3. CARNEVALE P - La protection du voyageur contre les piqûres d'arthropodes vecteurs. *Bull Soc Pathol Exot*, 1998, **91**, 474-485.
4. CARNEVALE P & MOUCHET J -La protection individuelle contre les insectes vecteurs. *Méd Trop*, 1997, **57 bis**, 505-510.
5. CHOU JT, ROSSIGNOL PA & AYRES JW - Evaluation of commercial insect repellents on human skin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*, 1997, **34**, 624-630.
6. COMBEMALE P, DERUAZ D, VILLANOVA D & GUILLAUMONT PH - Les insectifuges ou les répulsifs. *Ann Dermatol Vénéreol*, 1992, **119**, 411-434.
7. COSEMANS M & GUILLET P - La protection des voyageurs contre les piqûres de moustiques. *Méd Mal Infect*, 1999, **29 Sup**, 3, 390-396.
8. DANIS M & MOUCHET J - Paludisme. *Ed Marketing-ELLIPSES/AUPELF. Paris* 1991, 240 p.
9. DIAGNE N, FONTENILLE D, KONATE L, FAYE O, LAMIZANA MT, et al.- Les anophèles du Sénégal. Liste commentée et illustrée. *Bull Soc Pathol Exot*, 1994, **87**, 267-277.
10. GOLEND A CF, SILBERG VB, BURGE R, GAMBEL JM & WIRTZ RA - Gender-related efficacy difference to an extended duration formulation of topical N,N-diethyl-m-toluamide (DEET). *Am J Trop Med Hyg*, 1999, **60**, 654-657.
11. HAMPERS LC, OKER E & LEIKIN JB - Topical use of DEET insect repellent as a cause of severe encephalopathy in a healthy adult male. *Acad Emerg Med*, 1999, **6**, 1295-1297.
12. LE GOFF G, ROBERT V & CARNEVALE P -Évaluation d'un répulsif à base de DEET sur trois vecteurs du paludisme en Afrique centrale. *Cahiers Santé*, 1994, **4**, 269-273.
13. LINDSAY SW, EWALD JA, SAMUNG Y, APIWATHNASORN C & NOSTEN F - Thanaka (*Limonia acidissima*) and DEET (di-methyl benzamide) mixture as a mosquito repellent for use by Karen women. *Med Vet Entomol*, 1998, **12**, 295-301.
14. QIU H, JUN HW & MCCALL JW- Pharmacokinetics, formulation, and safety of insect repellent N,N-diethyl-3-methylbenzamide (DEET): a review. *J Am Mosq Control Assoc*, 1998, **14**, 12-27.
15. RUTLEDGE LC & GUPTA RK- Variation in the protection periods of repellents on individual human subjects: an analytical review. *J Am Mosq Control Assoc*, 1999, **15**, 348-355.
16. SCHOENNIG GP, OSIMITZ TG, GABRIEL KL, HARTNAGEL R, GILL MW & GOLDENTHAL EI -Evaluation of the chronic toxicity and oncogenicity of N,N-diethyl-m-toluamide (DEET). *Toxicol Sci*, 1999, **47**, 99-109.
17. SCHRECK CE & Mc GOVERN TP - Repellent and other personal protection strategies against *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc*, 1989, **5**, 247-250.
18. STEFFEN R & RAEBER PA - Les risques du voyageur. *Méd Trop*, 1997, **57 bis**, 423-425.