



Open Access



Effet des huiles de coco et de soja sur la rémanence de l'huile essentielle de *Clausena anisata* pour la lutte contre les moustiques

✉ Ayaba Zita ABAGLI^{1*}, ✉ David MOUTOUAMA¹ & ✉ Thierry B. C. ALAVO¹

¹ Laboratoire d'Entomologie Appliquée / Centre Edward Platzer, Université d'Abomey-Calavi, BP 215 Godomey (Bénin)

*Corresponding author, E-mail: abaglizita@yahoo.fr

Copyright © 2024 Abagli et al. | Published by LENAF/ IFA-Yangambi | [License CC BY-NC-4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)



Received: 20 Décembre 2023

Accepted: 02 Mars 2024

Published : 15 Mars 2024

RÉSUMÉ

Dans le but de trouver un additif pour améliorer l'effet répulsif de l'huile essentielle de *Clausena anisata* contre les moustiques, la présente étude a évalué l'effet de l'huile de coco et celle de soja sur la rémanence de l'huile essentielle de *C. anisata*. Trois heures de temps après application, le pied gauche des volontaires traité a été introduit dans une cage contenant 25 femelles *Culex quinquefasciatus* élevées au laboratoire. Le nombre de moustiques qui venaient se poser sur le pied traité était compté sur une durée de 15 minutes et le nombre de moustiques effectivement gorgés de sang était déterminé. Les variantes suivantes ont été testées : Clausena 6%, Clausena 6% + huile de Coco 5%, Clausena 6% + huile de Soja 5% et DEET (30%). Pour chaque variante 10 répétitions ont été effectuées. Les résultats ont montré que trois heures de temps après application, le taux de répulsion des différentes formulations testées était de 72,14% ; 77,14% ; 83,57% et 92,87% respectivement pour Clausena 6%, Clausena 6% + huile de soja 5%, Clausena 6% + huile de Coco 5% et DEET. Ces résultats indiquent que l'huile de coco améliore plus l'effet répulsif de l'huile essentielle de *C. anisata*, avec un taux de répulsion proche de celui obtenu avec le répulsif chimique (DEET-30%). L'huile de coco peut donc être utilisée comme additif pour la formulation d'un répulsif anti-moustiques à base de l'huile essentielle de *C. anisata*.

Mots-clés : Moustiques, Additifs, Huiles essentielles, Effet répulsif, Lutte anti-vectorielle.

ABSTRACT

Effect of coconut and soybean oils on the persistence of the repellent of *clausena anisata* essential oil for mosquito control

In order to find an additive to improve the repellent effect of *Clausena anisata* essential oil against mosquitoes, the present study evaluated the effect of coconut oil and soybean oil on the persistence of the essential oil of *C. anisata*. Three hours after application, the left foot of each treated volunteer was placed in a cage containing 25 *Culex quinquefasciatus* females reared in the laboratory. The numbers of mosquitoes landing and biting on the treated skin during 15 min after application was recorded. The following variants were tested: Clausena 6%, Clausena 6% + Coconut Oil 5%, Clausena 6% + Soybean Oil 5% and DEET (30%). For each variant, 10 repetitions were carried out with one volunteer per repetition. The results showed that three hours after application, the repellency rate of the various formulations tested was 72.14%; 77.14%; 83.57% and 92.87% respectively for Clausena 6%, Clausena 6% + soybean oil 5%, Clausena 6% + Coconut oil 5% and DEET. These results indicate that coconut oil improves the repellent effect of *C. anisata* essential oil the most 3 hours after application, with a repellency rate close to that obtained with the chemical repellent (DEET-30%). Coconut oil can therefore be used as an additive for the formulation of a mosquito repellent based on the essential oil of *C. anisata*.

Keywords: Mosquitoes, Additives, Essential Oils, Repellent effect, Vector Control.

INTRODUCTION

Les moustiques sont les insectes d'une grande importance en santé publique. Ils transmettent un certain nombre de maladies telles que la dengue, le chikungunya, l'encéphalite japonaise, la filariose et le paludisme, causant des millions de décès chaque année. Les piqûres de moustiques peuvent également provoquer des réactions allergiques, notamment des réactions cutanées locales et des réactions systémiques telles que l'urticaire (Sritabutra et Soonwera, 2013). La protection individuelle contre les

piqûres de moustiques par l'application de répulsifs est considérée comme un outil de santé publique essentiel pour réduire la transmission des maladies et les piqûres irritantes (Osimitz et Grothaus, 1995 ; Fradin et Day, 2002). Les répulsifs chimiques à base du DEET (N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide), de l'IR3535 (Ethyl butylacétylaminopropionate) ou de l'icaridine (1piperidinecarboxyliqueacide, 2-(2-hydroxyethyl)-1-méthylpropylester) sont ceux recommandés par l'OMS.

Parmi ces répulsifs chimiques, le DEET, est actuellement le plus efficace et disponible sous diverses formulations commerciales (Golenda et al., 1999; Govere et al., 2000; Kamsuk et al., 2007). En effet, le DEET a un large spectre d'action contre différents insectes mais néanmoins, ce répulsif chimique peut déclencher des allergies (Brown et Hebert, 1997 ; Fradin, 1998 ; Qiu et al., 1998). Des études ont montré que ce produit peut entraîner des risques pour l'environnement et pour la santé humaine en particulier pour les femmes enceintes et les enfants (Corbel et al., 2009 ; Nerio et al., 2010 ; Abagli et Alavo, 2011). Il est donc urgent d'envisager l'utilisation de moyens alternatifs pour la lutte contre les moustiques. Dans cette optique, les extraits de certaines plantes tropicales peuvent être considérés. Les huiles essentielles en général ont été reconnues comme d'importantes ressources naturelles d'insectifuges car certaines sont sélectives, se biodégradent en produits non toxiques et ont peu d'effets sur les organismes non ciblés et sur l'environnement (Sritabutra et Soonwera, 2013). De plus, de nombreux insectifuges dérivés d'extraits de plantes, ont été étudiés comme répulsifs possibles contre les moustiques et ont démontré une bonne efficacité contre de nombreuses espèces de moustiques (Sritabutra et Soonwera, 2013). Néanmoins, selon certains auteurs, l'efficacité des huiles essentielles et des extraits de plantes sur les moustiques couvre une période relativement courte (Rozenaal, 1997 ; Barnard, 2000). D'où la nécessité de rechercher un additif pouvant améliorer la rémanence de l'effet répulsif de ces huiles essentielles. Des chercheurs avaient montré que l'huile essentielle de *Clausena anisata* à faible concentration permettait de chasser les moustiques, et la concentration de 1% chassait 100% des moustiques aussitôt après son application (Abagli et al., 2023a). Abagli et al., (2023b) avaient aussi évalué l'effet répulsif de différentes concentrations de cette huile et ont montré qu'à la concentration de 6 %, elle chassait plus de 80 % des moustiques 2 heures de temps après application. La présente étude a évalué, au laboratoire, l'effet de l'huile de Coco et de l'huile de Soja sur la persistance de l'effet répulsif de l'huile essentielle de *C. anisata*. Cette étude a aussi comparé l'effet répulsif des différentes formulations testées à celui du DEET (30%) sur le moustique *Culex quinquefasciatus*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'huile essentielle de *C. anisata* est extraite à partir des feuilles de cette plante. L'huile de coco et l'huile de soja sont des huiles pressées à froid et commercialisées par la société Tchaou Group. Ces huiles sont vendues pour la consommation alimentaire. La pommade pharmaceutique à base de DEET utilisée est une formulation commerciale appelée "Ungava". Celle-ci contient 30% de DEET (N, N-diéthyl-3-méthylbenzamide) et est fabriquée par la firme " Aerokure International Inc. (Canada).

Extraction de l'huile essentielle de *Clausena anisata*

Les feuilles sauvages de *C. anisata* au Bénin en juin et juillet 2022 ont été séchées à l'ombre pendant trois jours avant l'extraction de l'huile essentielle. La température dans le local où les feuilles sont séchées était de 27°C et l'humidité atmosphérique relative variait entre 30 et 40 %. L'extraction de l'huile essentielle est faite par la technique d'entraînement par la vapeur et le dispositif utilisé est un distillateur de type Clevenger (Clevenger, 1928).

Elevage des moustiques

Les imagos de *Cx. quinquefasciatus* ont été utilisés pour les tests. Les moustiques ont été élevés au laboratoire d'entomologie appliquée de l'Université d'Abomey-Calavi (Bénin). Pour l'élevage, les œufs de *Cx. quinquefasciatus* ont été introduits dans des bacs rectangulaires en plastique de 10 L (Longueur = 36 cm ; Largeur = 2,8 cm ; hauteur = 10 cm), contenant 3 L d'eau. Les œufs ont été répartis à raison de 15 radeaux par bac. Ces bacs ont été installés dans une salle aérée à température ambiante. Les larves issues des œufs ont été nourries trois fois par semaine avec de la provende de poisson T-Catfish Finisher-flot 7 fabriquée par la société "Le Gouessant Aquaculture". Cette provende a d'abord été écrasée puis mélangée avec de l'eau (25 g de provende écrasée pour 1 L d'eau). Ce mélange a été ensuite versé dans l'eau contenant les larves de moustiques, cela en tenant compte de la densité larvaire. Ces bacs ont été recouverts de voile de moustiquaire pour empêcher d'autres espèces de moustiques de venir pondre dans l'eau. Les imagos qui émergeaient de ces larves étaient recueillis directement dans des cages couvertes de voile de moustiquaire. Les cages contenant les adultes étaient installées dans l'insectarium à 28 °C. Les moustiques adultes étaient nourris avec de l'eau sucrée (sucrose) à la concentration de 10%. Les moustiques qui n'ont pas été utilisés pour les tests ont été gorgés une fois par semaine avec du sang de volaille.

Préparation des formulations

L'huile essentielle a été dissoute dans de l'isopropanol à 99,8%. Les différentes formulations ont été préparées comme suit :

- * Pour la solution de *Clausena* 6%, l'huile essentielle pure est dissoute dans le solvant à raison de 6 ml de l'huile de *C. anisata* pour 94 ml d'isopropanol.
- * Pour la solution de *Clausena* 6% + huile de coco 5%, l'huile essentielle pure est dissoute dans le solvant à raison de 6 ml de l'huile de *C. anisata* et 5 ml de l'huile de coco pour 89 ml d'isopropanol.
- * Pour la solution de *Clausena* 6% + huile de soja 5%, l'huile essentielle pure est dissoute dans le solvant à raison de 6 ml de l'huile de *C. anisata* et 5 ml de l'huile de soja pour 89 ml d'isopropanol.

Les différentes formulations préparées ont été conservées dans des bouteilles sombres hermétiquement fermées et gardées au réfrigérateur à une température d'environ 4 °C avant son utilisation.

Procédure des tests de répulsion au laboratoire

Les moustiques utilisés pour les tests de répulsion étaient âgés de huit à dix jours. Pour la réalisation des tests, les moustiques étaient triés par lot de 25 femelles à l'aide d'un aspirateur à bouche dans des cages couvertes de voile de moustiquaire. Afin de les affamer, ces moustiques étaient privés du jus sucré (sucrose) dix heures de temps avant le démarrage des tests. La formulation à tester était appliquée directement sur la peau du pied gauche des personnes participant à cette étude. Des volontaires (âgés entre 20 et 30 ans) ayant donné leur consentement éclairé ont été enrôlés. Le pied de chaque individu est traité avec la solution de l'huile essentielle à l'aide de 0,5 g de coton hydrophile imbibé de 3 ml de la solution. En ce qui concerne la formulation à base de DEET, une noisette de la pommade est appliquée sur le pied du volontaire. Trois heures de temps après application, le pied traité est introduit dans une cage contenant un lot de 25 femelles. Etant donné que les moustiques *Cx. quinquefasciatus* deviennent actifs en début de soirée et toute la nuit (Baldet, 1995), les tests de répulsion démarrent à 19 heures. Durant les 15 premières minutes qui suivent l'installation du pied traité dans la cage à moustiques, le nombre de moustiques qui venaient se poser sur le pied traité était noté. Après le test, les moustiques étaient aspirés à l'aide d'un aspirateur à bouche dans un gobelet couvert de voile de moustiquaire. Le gobelet contenant les moustiques était conservé au congélateur à une température d'environ -20 °C pendant 1 heure de temps afin de tuer les moustiques. Par la suite, les moustiques étaient observés à la loupe binoculaire pour déterminer le nombre de femelles effectivement gorgées de sang. Les variantes suivantes ont été testées : Clausena 6%, Clausena 6% + huile de coco 5%, Clausena 6% + huile de soja 5% et DEET 30%. Pour chaque variante, 10 répétitions ont été effectuées à raison d'un volontaire par répétition afin d'éviter que la différence d'attractivité des moustiques par les volontaires n'influe sur les résultats.

Analyse statistique des données

Pour analyser les données collectées, des tests non paramétriques (Mann-Whitney) ont été effectués en utilisant le progiciel de statistique SPSS 16.0 pour déterminer s'il y a une différence significative entre les variantes testées. Les tests non paramétriques (Mann-Whitney) ont été effectués puisque les données ne répondaient pas aux conditions des tests paramétriques (ANOVA). Le pourcentage de moustiques posés et le pourcentage de moustiques gorgés de sang ont été calculés en utilisant les formules ci-après :

* Pourcentage de moustiques posés = (Nombre total de moustiques posés / Nombre total de moustiques dans les cages) × 100

* Pourcentage de moustiques gorgés = (Nombre total de moustiques gorgés de sang / Nombre total de moustiques dans les cages) × 100

Le taux de répulsion de chaque formulation est déterminé par la formule de Sharma et Ansari (1994) que

voici :

$$\text{Taux de répulsion} = (N_{\text{témoin}} - N_{\text{exp}} / N_{\text{témoin}}) \times 100$$

$N_{\text{témoin}}$ est le nombre de moustiques collectés sur les volontaires servant de témoins.

N_{exp} est le nombre de moustiques collectés sur les volontaires traités.

RÉSULTATS

Effet des formulations sur le pourcentage de moustiques posés

Le pourcentage de moustiques posés sur le pied gauche des volontaires traités est de 14,23% (avec la formulation Clausena 6%) ; de 13,06% (avec Clausena + huile de soja 5%) ; de 9,16% (avec la formulation Clausena 6% + huile de coco 5%) et de 2,83% (avec le DEET), alors qu'il est de 55,55% pour les moustiques témoins (Fig.1).

Le taux de répulsion étant fonction du nombre de moustique posés, en utilisant sa formule, les différentes formulations ont engendré les taux de répulsion de 72,14% ; 77,14% ; 83,57% et 92,87% respectivement pour Clausena 6%, Clausena 6% + huile de soja 5%, Clausena 6% + huile de coco 5% et DEET trois heures de temps après application. Ces résultats montrent que le taux de répulsion de la formulation de : (1) Clausena 6% + huile de soja 5% est légèrement supérieur au taux de répulsion de la formulation de clausena 6% ; (2) Clausena 6% + huile de coco 5% à un taux de répulsion supérieur à celui de Clausena 6% + huile de soja 5%.

Ces résultats indiquent qu'il y a une augmentation du taux de répulsion de l'huile essentielle de *C. anisata* lorsqu'elle est mélangée avec l'huile de soja ou l'huile de coco. Néanmoins, l'huile de coco est l'additif qui a permis d'obtenir le taux de répulsion le plus élevé avec l'huile essentielle de *C. anisata* à la concentration de 6%.

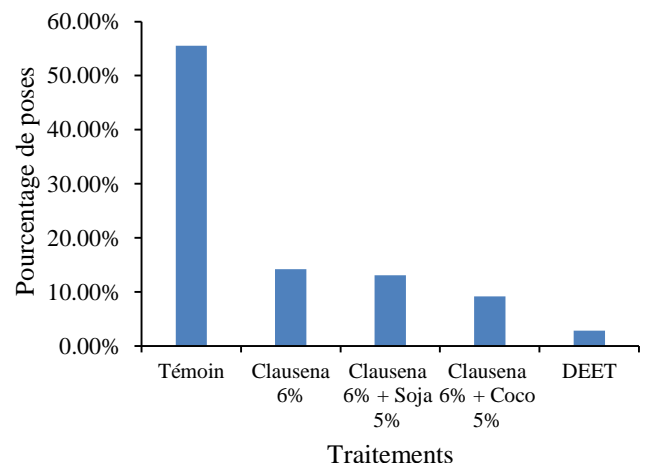


Figure 1. Effet répulsif de différentes formulations sur l'activité des moustiques : Pourcentage de moustiques posés trois heures après application

L'analyse statistique des données révèle d'une part qu'il existe une différence significative entre le nombre de moustiques posés sur les pieds traités avec la formulation de Clausena 6% et le nombre de moustiques posés sur

ceux traités avec le DEET ($p < 0,005$) et d'autre part, qu'il n'existe pas de différence significative entre le nombre de moustiques posés dans le cas des formulations de Clausena 6% + huile de soja 5%, Clausena 6% + huile de coco 5% et DEET ($p > 0,005$).

Effet des formulations sur le pourcentage de moustiques gorgés

Trois heures de temps après application des différentes formulations, le pourcentage de moustiques gorgés de sang est de 33,33% (lot témoin) ; 3,65% (avec la formulation Clausena 6%) ; 4,28% (avec la formulation Clausena 6% + huile de soja 5%) ; 2,39% (avec la formulation Clausena 6% + huile de coco 5%) et 0 % (avec le DEET) (Fig.2). L'analyse statistique des données révèle d'une part qu'il existe une différence significative entre le nombre de moustiques gorgés sur les pieds traités avec la formulation de Clausena 6% et le nombre de moustiques gorgés en lien avec le DEET ($p < 0,005$) et d'autre part, qu'il n'existe pas de différence significative entre le nombre de moustiques gorgés dans le cas des formulations de Clausena 6% + huile de soja 5%, Clausena 6% + huile de coco 5% et DEET ($p > 0,005$).

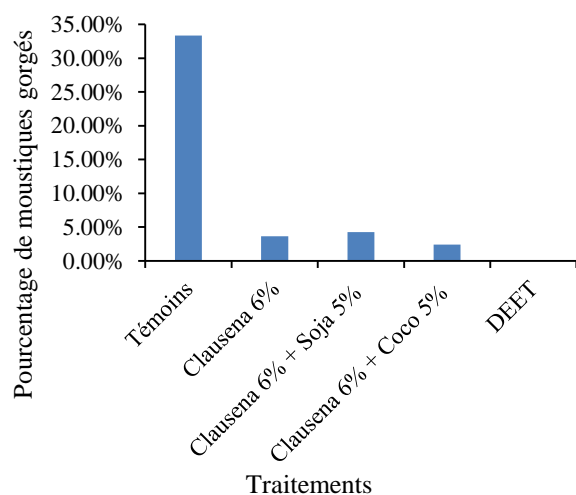


Figure 2. Effet répulsif de différentes formulations sur l'activité des moustiques : Pourcentage de moustiques gorgés de sang trois heures après application

DISCUSSION

Dans le but de trouver un additif pour améliorer l'effet répulsif de l'huile essentielle de *Clausena anisata* contre les moustiques, la présente étude a évalué l'effet de l'huile de coco et celle de soja sur la rémanence de l'huile essentielle de *C. anisata*. Les résultats de la présente étude indiquent que le taux de répulsion de la concentration de 6% de l'huile essentielle de *C. anisata* était de 72,14% trois heures de temps après application. En comparant ce taux de répulsion à celui obtenu par Abagli et al. (2023b) qui était d'environ 80 % deux heures de temps après application de la même concentration, on constate alors que plus le temps après application augmente, plus l'effet

répulsif de l'huile essentielle de *C. anisata* diminue. Ces résultats confirment donc la conclusion selon laquelle l'efficacité des huiles essentielles et des extraits de plantes contre les moustiques couvre une période relativement courte (Rozendaal, 1997 ; Barnard, 2000).

De nombreuses études ont démontré que certains additifs tels que la paraffine liquide (Oyedele et al., 2002), la vanilline (Tawatsin et al., 2001), l'acide salicylurique (Stuart et Estambale, 2003) et les huiles de moutarde et de noix de coco (Das et al., 1999), améliorent la rémanence des produits répulsifs topiques d'origine végétale. La présente étude qui porte sur l'huile de soja et de coco comme additif, a montré que le taux de répulsion 3 heures après application de la formulation contenant 6% de *C. anisata* + huile de soja 5% et celle contenant 6% de *C. anisata* + huile de coco 5%, était de 77,14% et 83,57% respectivement. Etant donné que le taux de répulsion de la formulation contenant uniquement l'huile essentielle de *C. anisata* à la concentration de 6 % était de 72,14%, trois heures après application, on conclut que l'huile de coco et celle de soja ont permis d'améliorer la rémanence de l'effet répulsif de l'huile essentielle de *C. anisata*. L'huile de coco ayant permis d'enregistrer le plus fort taux de répulsion, est donc considérée comme la plus performante et pourrait être recommandée comme additif pour l'amélioration de l'effet répulsif de l'huile essentielle de *C. anisata*.

Par ailleurs, le taux de répulsion de la formulation de DEET à 30% était de 92,87% trois heures après application. En comparant le taux de répulsion engendré par les différentes formulations au taux de répulsion de DEET, nous constatons que, la formulation de Clausena 6% + huile de coco 5% a produit un taux de répulsion (83,57%) est assez proche de celui du DEET. De plus, l'analyse statistique avait montré qu'il n'existe pas de différence significative entre le DEET et la formulation de Clausena 6% + huile de coco 5%. Etant donné que les produits naturels d'origine botanique sont plus sûrs pour la peau et pour l'environnement comparés aux produits synthétiques qui sont non biodégradables (Koul, 2008 ; Katz et al., 2008), nous estimons que la formulation contenant l'huile essentielle de *C. anisata* et l'huile de coco serait un bon alternatif aux répulsifs chimiques anti-moustiques comme le DEET.

CONCLUSION

En se basant sur les résultats obtenus, nous estimons que la formulation contenant l'huile essentielle de *C. anisata* 6 % et l'huile de coco 5 % pourrait être le meilleur alternatif aux répulsifs chimiques pour la protection individuelle contre les moustiques. Nous suggérons donc de tester cette formulation en milieu réel.

REMERCIEMENTS

Nos sincères remerciements à tous les volontaires qui ont participé à cette étude.
Ce travail n'a reçu aucun financement.

DÉCLARATION ÉTHIQUE

Avant le démarrage de l'étude, nous avons signalé aux volontaires que les moustiques utilisés pour les tests étaient des jeunes adultes qui n'avaient jamais piqué un vertébré. Les moustiques étaient donc sains c'est-à-dire sans infection. Tous les volontaires ont ainsi donné leur consentement éclairé avant leur participation à l'étude.

CONFLITS D'INTÉRÊTS

Nous, auteurs, déclarons que nous n'avons pas de conflit d'intérêt.

CONTRIBUTION DES AUTEURS :

Ayaba Z. Abagli, David Moutouama et Thiery B. C. Alavo ont contribué à part égale aux travaux et à la rédaction de cette publication.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abagli, A. Z., Alavo, T. B. C. (2011). Essential oil from the bush minth, *Hyptis suaveolens*, is as effective as DEET for personal protection against mosquito bites. *The Open journal* ; 5 : 49-53 <http://dx.doi.org/10.2174/1874407901105010045>
- Abagli, A. Z, Hangnilo, L. & Alavo, T. B. C. (2023a). Effet Répulsif de Faibles Concentrations de l'Huile Essentielle de *Clausena anisata* (Rutaceae) contre les Moustiques adultes (Diptera : Culicidae). *European Scientific Journal, ESJ,19(12)*, 139. <https://doi.org/10.19044/esj.2023.v19n12p139>
- Abagli, A. Z, Alavo, T. B. C. & Moutouama, T. D. (2023b). Etude comparative sur la rémanence de l'huile essentielle de *Clausena anisata* (Rutaceae) et de *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) pour la protection individuelle contre les moustiques (Diptera : Culicidae). *Int. J. Biol. Chem. Sci. 17 (4)* : 1662-1671 <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v17i4.29>
- Baldet, T. (1995). Etude comparative de deux stratégies de lutte contre *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 par *Bacillus sphaericus* Neide, 1904 dans la ville de Ma-roua (Nord-Cameroun). Thèse de Doctorat, Université de Montpellier, France, 376 p. <https://core.ac.uk/reader/39855410>
- Barnard, D. R. (2000). Repellents and toxicants for personal protection In: World Health Organization, Department of Control, Prevention and Eradication, Programme on Communicable Disease, WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES). WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2000.5. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Brown, M., Hebert, A. A. (1997). Insect repellents: an overview. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 36(2):243–249. [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(97\)70289-5](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(97)70289-5)
- Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 17: 345-349. <https://doi.org/10.1002/jps.3080170407>
- Corbel, V., Stankiewicz, M., Pennetier, C. et al (2009). Evidence for inhibition of cholinesterases in insect and mammalian nervous systems by the insect repellent deet. *BMC Biol* 7, 47. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-7-47>
- Das, N. G., Nath, D. R., Baruah, I., Talukdar, P. K., Das, S. C. (1999). Field evaluation of herbal mosquito repellents. *J. Commun. Dis;* 31(4): 241-245 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10937301/>
- Fradin, M. S. (1998). Mosquitoes and mosquito repellents: a clinician's guide. *Ann Intern Med. 1; 128(11)* : 931-40. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-128-11-199806010-00013>
- Fradin, M. S., Day, J. F. (2002). Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *New Engl J Med* 347: 13-8. <https://doi.org/10.1056/nejmoa011699>
- Govere, J., Durrheim, D. N., Baker, L., Hunt, R., Coetzee, M. (2000). Efficacy of three insect repellents against the malaria vector *Anopheles arabiensis*. *Med Vet Entomol* 14 (4): 441–444. DOI :[10.1046/j.1365-2915.2000.00261.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00261.x)
- Golenda, C. F., Solberg, V. B., Burge, R., Gambel, J. M., Wirtz R. A. (1999). Gender-related efficacy difference to an extended duration formulation of topical N,N-diethyl-m-toluamide (DEET). *Am J Trop Med Hyg* 60 : 654–657. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.60.654>
- Kamsuk, K., Choochote, W., Chaithong, U., Jitpakdi, A., Tippawangkosol, P., Riyong, D., Pitasawat, B. (2007). Effectiveness of *Zanthoxylum piperitum*-derived essential oil as an alternative repellent under laboratory and field applications. *Parasitol Res. Jan;* 100(2):339-45. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0256-2>
- Katz, T. M., Miller, J. H., Hebert, A. A. (2008). Insect repellents: historical perspectives and new developments. *J Am Acad Dermatol* 58: 865-71 <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2007.10.005>
- Koul, O. (2008). Phytochemicals and insect control: an antifeedant approach. *Crit Rev Plant Sci* 27:1-24. <https://doi.org/10.1080/07352680802053908>
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko E. (2010). Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology* 101: pp. 372–378. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.048>
- Osimitz TG, Grothaus RH (1995). The present safety assessment of deet. *J Am Mosq Control Assoc* 11:274–278. <https://europepmc.org/article/med/7595461>
- Oydele, A. O., Gbolade, A. A., Sosan, M. B., Adewoyin, F. B., Soyelu, O. L. Orafidiya, O. O. (2002). Formulation of an effective mosquito-repellent topical product from lemongrass oil. *Phytomede;* 9 : 259-262. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00120>
- Qiu, H., Jun, H. W., McCall, J. W. (1998).

- Pharmacokinetics, formulation, and safety of insect repellent N,N-diethyl-3-methylbenzamide (deet). a review. *J Am Mosq Control Assoc* ; 14 : 12-27
<https://europepmc.org/article/med/9599319>
- Rozendaal, J. A. (1997). Vector control : methods for use by individuals and communities. World Health Organization; p. 6-17
<https://www.who.int/publications/i/item/9241544945>
- Sharma, V. P, Ansari, M. A. (1994). Personal protection from mosquitoes (Diptera : Culicidae) by burning neem oil in kersosene. *J Med Entomol*; 31: 505-507. <https://doi.org/10.1093/jmedent/31.3.505>
- Sritabutra, D., Soonwera, M. (2013). Repellent activity of herbal essential oils against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.). *Asian Pac J Trop Dis* 3(4): 271- 276.
[https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60069-9](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60069-9)
- Stuart, A. E., Estambale, B. A. (2003). The repellent and antifeedant activity of Myrica gale oil against *Aedes aegypti* mosquitoes and its enhancement by the addition of salicylic acid. *J R Coll Physicians Edinb* 33: 209–214.
<http://ir.jooust.ac.ke/handle/123456789/2620>
- Tawatsin, A., Wratten, S. D., Scott, R. R., Thavara, U., Techadamrongsin, Y. (2001). Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *J Vector Ecol* 26: 76–82
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11469188/>