

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GÉNIE DES PROCÉDÉS

Spécialité : Pharmacie industrielle

Intitulé du mémoire

**Contribution à la formulation de systèmes dispersés
sprayables répulsifs à base de matières actives
naturelles et synthétique.**

Présenté par :

ABDELLI Sabrina

GOUASMI Imane

Encadré par :

Mr HADJ SADOK Abdelkader

Co-encadreurs :

Mme GUELLOUR Amina

Mr BENALLAL Kamel

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah Le Tout Puissant de nous avoir donné la force, la patience, et l'inspiration pour accomplir ce travail.

Nous remercions nos familles pour leur soutien tout au long de cette expérience, qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles

Nous tenons à remercier chaleureusement notre promoteur Mr HADJ SADOK Abdelkader pour son dévouement, sa patience, et le partage de son savoir sans limite pour l'aboutissement de ce travail

Nous remercions également Mr BENALLAL Kamel Eddine pour son aide précieuse au cours de notre stage à l'institut PASTEUR

Nous présentons nos sincères remerciements à Mme BENBETKA Siham pour toutes les informations qu'elle nous a fournies au cours du stage à l'institut PASTEUR

Nos sincères remerciements pour Mme GUELLOUR notre Co-promotrice pour ses encouragements et pour son aide précieuse au cours de la réalisation de ce travail.

Egalement pour madame L.BELHADJI, nous la remercions tout particulièrement pour sa disponibilité et son aide précieuse

On remercie également tous les volontaires qui nous ont aidé durant notre évaluation

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions

On tient enfin nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont participé et contribué de près ou de loin pour accomplir ce travail.

TABLE DES MATIERES

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION	01
CHAPITRE I : ETAT DE L'ART SUR LES RÉPULSIFS CUTANÉS ANTI-MOUSTIQUES	04
I.1 Généralités sur les moustiques	04
I.1.1 Cycle de développement	06
I.1.2 Activité des espèces	06
I.1.3 Système d'orientation et de repérage chez la femelle	06
I.2 Pique du moustique	08
I.3 Définition des répulsifs	09
I.4 Réglementation	09
I.5 Recommandations	12
I.6 Evolution des substances répulsives	13
I.7 Substances répulsives	13
I.7.1 les huiles essentielles	15
I.7.2 Le DEET	16
I.7.3 L'IR3535	16
I.7.4 La picaridine	17
I.7.5 Le PMD	18
I.8 Mécanisme d'action	18
I.9 Formes galéniques et excipients des répulsifs	19
I.10 Caractéristiques du répulsif idéal	19
I.11 Mesure de l'efficacité des répulsifs	21

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES	21
II.1 Matériels	21
II.1.1 Appareillages	22
II.1.2 Matières premières	24
II.2 Méthodes	24
II.2.1 Orientation	24
II.2.2 Description du produit de référence	24
II.2.3 Caractérisation physique des produits de référence	25
II.2.3.1 Etude de l'écoulement sous cisaillement variable	25
II.2.3.2 Angle de pulvérisation	27
II.3. Préformulation	27
II.3.1 Caractérisation des matières premières	27
II.3.2 Essais préliminaires	28
II.3.2.1 Système lipido-alcoolique	28
II.3.2.2 Emulsion	29
Choix du tensioactif	29
Choix de la concentration du HEC	30
II.4 Formulation	31
II.4.1 Préparation des systèmes lipido-alcooliques	32
II.4.2 Les émulsions	32
II.4.2.1 Méthode des plans d'expériences	32
II.4.2.2 Planification expérimentale	33
II.4.2.3 Matrice d'expériences	33
II.4.2.4 : préparation des émulsions laiteuses	34
II.5 Caractérisation rhéologique des systèmes lipido-alcooliques	34
II.5.1 Etude de l'écoulement sous cisaillement variable	34
II.6 Caractérisation des émulsions laiteuses	34
II.6.1 Contrôle du pH	34
II.6.2 Etude microscopique	34
II.6.3 Etude de la stabilité des émulsions par vieillissement accéléré	34
II.6.3.1 Calcul de l'indice de crémage par centrifugation	34

II.6.3.2 Calcul de l'indice de crémage par effet de température	34
II.6.3.3 La rampe de fréquence	35
II.6.4 Etude rhéologique	35
II.6.4.1 Etude de l'écoulement	35
II.6.4.2 Etude de la viscoélasticité	36
II.7 Optimisation	36
II.8 Evaluation du temps de protection	40
CHAPITRE III RÉSULTATS ET DISCUSSION	40
III.1 Caractérisation rhéologique des systèmes lipido-alcooliques	40
III.1.1 Etude de l'écoulement sous cisaillement variable	41
III.2.Caractérisation des émulsions laiteuses	41
III.2.1.Contrôle du pH	41
III.2.2 Caractérisation morphologique des émulsions	42
III.2.3.Etude de la stabilité des émulsions par vieillissement accéléré	42
III.2.3.1.Indice de Crémage par centrifugation	43
III.2.3.2.Indice de crémage par effet de la température	44
III.2.3.3: Etude de la stabilité par le test de viscoélasticité en rampe de fréquence	45
III.2.4 Caractérisation rhéologique	45
III.2.4.1 Etude de l'écoulement sous cisaillement variable	45
III.2.4.2 Etude de la viscoélasticité	47
III.2.5. Modélisation en surface de réponses et optimisation	48
III.3 Evaluation de l'activité répulsive anti-moustiques des différents systèmes	51
III.3.1 Système lipido-alcoolique avec 1% de HEs	52
III.3.2 Système lipido-alcoolique avec 10% de DEET	52
III.3.3 Emulsion à 20 % de DEET	53
III.3.4 Emulsion à 30 %	54
III.3.5 Produit Algérien existant sur le marché « Moustiderm »	55
CONCLUSION GENERALE	57
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	59

Résumé :

Ce travail est une contribution à la formulation de systèmes de dispersion répulsifs, anti moustiques sprayables, à base de matières actives naturelles et synthétique connues par leur effet répulsif contre les arthropodes nuisibles. De prime abord, on a mis au point des systèmes lipido-alcooliques à pulvériser. La viscosité de tels systèmes a été contrôlée en fonction des paramètres technologiques liés à la pulvérisation. En deuxième phase on a travaillé sur l'optimisation d'une émulsion laiteuse répulsive et sprayable, par la méthode des plans d'expériences. On utilisé une panoplie d'analyse physique et rhéologique. Dans la dernière partie de ce projet, on a évalué le temps de protection complet de chaque système développé. Avec un résultat de près de 8h d'efficacité.

ملخص

هذا العمل هو مساهمة في صياغة أنظمة طاردة للبعوض قابلة للرش، على أساس مكونات طبيعية واصطناعية معروفة بتأثيرها ضد المفصليات الضارة. في المرحلة الأولى تم تطوير أنظمة قابلة للرش متكونة من الزيت والكحول. تم التحكم في لزوجة هذه الأنظمة وفقاً للمعايير التكنولوجية المتعلقة بالرش. في المرحلة الثانية، عملنا على صنع مستحلب حليبي طارد للبعوض و قابل للرش من خلال طريقة التصميم التجريبية. تم استخدام مجموعة من التحليلات الفيزيائية والريولوجية. في الجزء الأخير من هذا المشروع، قمنا بتقييم بيولوجي لكفاءة كل نظام تم تطويره. وتوصلنا إلى ما يقارب 8 ساعات من الفعالية.

ABSTRACT :

This work is a contribution to a formulation of sprayable mosquito repellent containing a dispersion systems, based on natural and synthetic active ingredients known by their repellent effect against these harmful arthropods. At first, a lipidic-alcoholic spray systems were developed. The viscosity of such systems was controlled according to the technological parameters related to the spraying function. In the second phase we worked on the optimization of a repulsive and sprayable emulsion, by the experimental design method. A range of physical and rheological analysis were used. In the last part of this project we evaluated the complete protection time of each system developed. and we find out system with near to 8 hours of protection.

Mots clés :

Répulsif- anti-moustiques-spray – pulvérisation-insectifuge.

LISTE DES ABREVIATIONS

A : Atterrissage

Ae : aedes

Ae.albopictus : aedes albopictus

AMM : autorisation de mise sur le marché

ARLA : Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire

C : degré Celsius

C.pipens : culex pipiens

CDC : Centers for Disease Control and Prevention

CE : Comité européen

Cm : centimètre

CO₂ : dioxyde de carbone

Cos : cosinus

CPT : complet protection time

Cx : culex

DEET : N,N-diethyl-m- toluamide

EPA : Environmental Protection Agency

g/mol : gramme par mole

h : heure

HE : huile essentielle

HEC : Hydroxyethyl Cellulose

HEs : les huiles essentielles

Hz : Hertz

IC : indice de crémage

IcC : indice de crémage par centrifugation

IcT : indice de crémage par température

IgE : Immunoglobulines

IPA : Institut PASTEUR d'Alger

IR3535 : Ethyl N-butyl-N-acetylaminopropionate.

kPa : kilopascal

L : larve

LVE : Linear Visco Elasticity

ml : millilitre

mPa : millipascal

OMS/WHO : organisation mondiale de la santé

ORNs : neurones récepteurs olfactifs

P : Pique

PA : principe actif

pH : Potentiel hydrogène

PMD : rich botanical oil

PPAV : protection personnelle anti vectorielle

PVP : polyvinylpyrrolidone

QSP : quantité suffisante pour

RSM : Modélisation en Surface de Réponses

Sin : sinus

T : température

TP : type de produit

UE : Union européenne

USDA : Département de l'Agriculture des États-Unis

V : Volontaire

WHOPES : World health organisation pesticide evaluation scheme

WNV : west nile virus

η : viscosité

LISTE DES FIGURES :

Figure (I.1) : Cycle de développement du moustique <i>Culex</i>	5
Figure (I.2) : Tête du moustique en 3D.....	7
Figure (I.3) : Pièces buccales du moustique.....	7
Figure (I.4) : Femelle <i>C.Pipiens</i> gorgée de sang.....	8
Figure (I.5) : Femelle <i>Ae.Albopictus</i> gorgée de sang.....	8
Figure (I.6) : Structure de la molécule de DEET.....	15
Figure (I.7) : Structure de la molécule de l'IR3535.....	16
Figure (I.8) : Structure de la molécule de la Picaridine.....	16
Figure (I.9) : Structure de la molécule de PMD.....	17
Figure (II.1) : Courbes d'écoulement des produits de référence, T= 25 °C.....	26
Figure (II.2) : Courbes d'écoulement du DEET, isopropyl myristate et de l'éthanol à 25 °C.....	28
Figure (II.3) : Photos des émulsions (isopropyl myristate /eau) contenant les tensioactifs 1. Tween, 2. Span et 3. Acide stéarique, après 01 heure de stockage à température ambiante.....	29
Figure (II.4) : Courbe d'écoulement du gel constituant la phase continue, à T=25 °C et 45 °C.....	31
Figure (II.5) : Préparation des cages et des produits à tester pour effectuer le test d'évaluation.....	38
Figure (II.6) : Application du produit sur les bras du volontaire.....	38
Figure (II.7) : Exposition des bras du volontaire dans les cages à moustiques.....	39

Figure (III.1) : Courbes d'écoulement des deux systèmes lipido-alcooliques, T=25 °C.....	40
Figure (III.2) : Photo microscopique d'une émulsion typique du plan d'expériences, grossissement X 1000.....	41
Figure (III.3) : Photo illustrant une séparation de phases à T ambiante, suite au test de centrifugation.....	42
Figure (III.4) : Photo présentant une séparation de phases, à 45°C, suite au test de la mise en étuve.....	43
Figure (III.5) : Evolution des modules de conservation, G' et de perte G'', en fonction de l'application d'une rampe croissante de fréquence à T = 25 °C et 45 °C. La déformation, $\gamma = 0.5\%$	44
Figure (III.6) : Courbes d'écoulement d'une émulsion typique du plan d'expériences, T=25°C et 45°C.....	45
Figure (III.7) : Evolution du module de conservation G' et de perte G'' d'une émulsion typique du plan d'expériences en fonction de la déformation. T=25 °C.....	47
Figure (III.8) : Histogramme illustrant les valeurs des quatre paramètres statistique, R^2 , Q^2 , le modèle validité ainsi que la reproductibilité.....	50

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau (I.1) : Molécules répulsives déposées auprès du CE.....	9
Tableau (I.2) : Nombre maximal d'applications de la concentration de chaque substance active, chez l'enfant et la femme enceinte.....	11
Tableau (II.1) : Matrice d'expériences.....	33
Tableau (III.1) : Valeurs du pH des émulsions laiteuses.....	41
Tableau (III.2) : Valeurs de l'indice de crémage, IcC, par le test de centrifugation.....	43
Tableau (III.3) : Valeurs de l'indice de crémage, IcT, par effet de la température de 45 °C.....	43
Tableau (III.4) : Valeurs de la viscosité apparente des deux paramètres η_0, η_∞ , ainsi que celles du coefficient de détermination R^2 , à T=25 °C et 45 °C.....	46
Tableau (III.5) : Matrice d'expériences en fonction des variables centrées réduites X_1, X_2 et X_3 et des réponses retenues.....	48
Tableau (III.6) : Matrice de corrélation réponse-réponse.....	49
Tableau (III.7) : Valeurs de réponses expérimentales obtenues après optimisation.....	51
Tableau (III.8) : TPC de la formule lipido-alcoolique à 1 % de HEs.....	52
Tableau (III.9) : TPC de la formule lipido-alcoolique à 10 % DEET.....	52
Tableau (III.10) : TPC de l'émulsion à 20 % en DEET.....	53
Tableau (III.11) : TPC de l'émulsion à 30 %.....	54
Tableau (III.12) : TPC de Moustiderm®.....	55
Tableau (III.13) : Tableau récapitulatif des durées de protection des formules testées.....	56

INTRODUCTION

Nombreuses sont les personnes qui expriment leur désagrément, suite à des piqûres de moustiques qui se manifestent généralement par des démangeaisons et des rougeurs, chez certaines personnes, des réactions allergiques et inflammatoires cutanées peuvent survenir. Les moustiques sont aussi les acteurs principaux et les mieux connus de la transmission des maladies vectorielles.

Une maladie à transmission vectorielle est une maladie qui est causée par un germe pathogène (virus, parasite, bactérie), véhiculé et inoculé par un vecteur (moustique, phlébotome, tique, punaise...). Ce vecteur s'étant lui-même infecté sur un hôte virémique. Les maladies vectorielles sont responsables de plus de 17 % des maladies infectieuses et provoquent plus d'un million de décès chaque année. Citant, à titre d'exemple, celles dont le vecteur de transmission sont les moustiques et qui ont atteint le plus haut niveau de morbidité et de mortalité : le paludisme (400 000 décès par an dans le monde), la dengue (menace plus de 2.5 milliards de personnes) et la fièvre jaune (60 000 décès en 2013). L'expansion des zones à risque, ne cessent de s'accroître faisant désormais, de ces maladies, un enjeu majeur de santé publique. Cette expansion tient aussi au changement climatique et au réchauffement planétaire ainsi que la mondialisation des échanges. On compte plusieurs espèces de moustiques vectrices, dont l'*Aedes* ou communément appelé moustique tigre (vecteurs de chikungunya, dengue, fièvre de la vallée de Rift, fièvre jaune et virus ZIKA) ; les *Anophèles* (vecteurs de paludisme), et les *Culex* (vecteurs de WNV, encéphalite japonaise, et filariose lymphatique) [1].

En Algérie, *Culex Pipiens* est le moustique qui présente le plus d'intérêt en raison de son abondance et de sa nuisance réelle dans les zones urbaines [2]. Par ailleurs, la présence du moustique tigre (*Aedes Albopictus*) a été signalée pour la première fois, en juin 2010, à Larbaa-Nath-Iraten, dans la wilaya de Tizi-Ouzou. En août 2017, la présence de moustiques tigres dans 5 wilayas d'Algérie a été démontrée, Il s'agit d'Alger, Tizi-Ouzou, Oran, Annaba

et Jijel. Cette espèce continue d'être signalée jusqu'à aujourd'hui cependant aucune maladie n'a été enregistrée, en Algérie [3].

Les récents épisodes de maladies transmises par les moustiques à l'homme inquiètent les autorités sanitaires, du fait de la gravité et de la vitesse de propagation de celles-ci. La seule façon de prévenir ou de réduire la transmission consiste à lutter contre les moustiques vecteurs, ou à empêcher le contact entre l'homme et le vecteur. L'OMS préconise l'approche stratégique appelée gestion vectorielle intégrée pour lutter contre les moustiques vecteurs [4].

La lutte anti-vectorielle repose d'une part sur la lutte collective, par l'élimination des vecteurs, en utilisant des méthodes physiques (élimination des gîtes larvaires), biologiques (utilisation de prédateurs), génétiques (réduction du potentiel reproducteur du vecteur) et biocides (traitement aux insecticides et aux larvicides) ; et d'autre part, sur la protection personnelle anti-vectorielle (PPAV) [5].

La PPAV est l'utilisation de produits répulsifs qui agissent comme barrière entre le moustique et l'hôte. Ils éloignent les moustiques sans les tuer, les termes « insectifuge » et « biocide » sont couramment utilisés pour qualifier les répulsifs. Parmi ces produits: les serpentins, les moustiquaires imprégnées et les répulsifs cutanés.

Le marché à l'étranger propose d'innombrables produits répulsifs anti-moustiques à usage cutanés, avec différentes substances actives, allant des principes actifs naturels aux actifs synthétiques, avec différentes formes galéniques : crèmes, gels, stick, sprays et lotions. En revanche, le marché Algérien connaît un appauvrissement de ces produits, ceux qui sont disponibles en officines sont des sprays : le SABRINEL[®] à base d'IR3535 et d'huile essentielle de citronnelle et le MOUSTIDERM[®] à base d'huiles essentielles d'eucalyptus, de citronnelle et de géranium, ainsi que les lingettes ZAHRA[®] à base d'huile essentielle de citronnelle difficiles à procurer.

A l'heure actuelle, les répulsifs cutanés forment un arsenal important dans le cadre de la PPAV, c'est pourquoi nous portons notre intérêt sur l'étude des répulsifs cutanés.

L'objectif de cette étude est de contribuer à la formulation de systèmes répulsifs à usage cutané, sprayables, du fait de leur aspect pratique à l'utilisation, stables dans le temps et efficaces contre un large spectre de moustiques. Pour ce faire, on dispose de matières actives naturelles et synthétiques dotées d'une activité répulsive, qui seront dispersées dans deux matrices différentes. La viscosité de tels systèmes sera contrôlée en fonction des paramètres

technologiques liés à la pulvérisation ; on réalisera des tests d'évaluation de la durée de protection sur le moustique tigre à l'Institut Pasteur d'Alger.

Ce mémoire s'articule sur trois chapitres principaux :

De prime abord, nous initierons ce mémoire avec une bibliographie regroupant l'ensemble d'informations collectées à partir des livres, articles et brevets d'invention concernant les répulsifs, leur réglementation et leur mécanisme d'action dans le chapitre état de l'art.

En second lieu, nous décrirons l'ensemble des méthodes utilisées dans le chapitre matériel et méthodes, notamment celles de caractérisation des produits de référence et de formulation ; on travaillera sur l'optimisation d'une émulsion huile dans eau laiteuse sprayable, par la méthode des plans d'expériences. On effectuera des analyses rhéologiques, de stabilité et d'évaluation de l'efficacité par un *test in-vivo*.

Le troisième chapitre est dédié à la présentation des résultats obtenus, et des discussions afin de les mettre à profit.

Et enfin, nous concluons avec des déductions et des perspectives pour des travaux ultérieurs.

CHAPITRE I

ETAT DE L'ART SUR LES RÉPULSIFS CUTANÉS ANTI-MOUSTIQUES

I.1 Généralités sur les moustiques

Les moustiques sont des insectes de la sous-classe des *Ptérygota*, de l'ordre des *Diptaires* (une seule paire d'ailes), de la famille des *Culicinae*, d'une taille de 1 cm environ [6]. A ce jour, on compte plus de 3500 espèces, les *Culicidae* se divisent en deux sous familles : les *Anophelinae* et les *Culicinae* [7].

I.1.1 Cycle de développement

Les moustiques sont des insectes à métamorphose complète, c'est à dire que les larves sont très différentes des adultes [8].

- **Moustique adulte**

Les adultes mâles et femelles se nourrissent de nectar de fleurs ; contrairement aux femelles, les mâles n'ont pas besoin de repas sanguin, nécessaire à ces dernières, pour porter à maturation leurs œufs [6, 8]. Les femelles vivent en moyenne 2 mois [9].

- **Accouplement**

La femelle ne s'accouple généralement qu'une seule fois, elle possède un spermathèque qui lui permet de conserver le sperme, pour qu'elle puisse pondre jusqu'à la fin de sa vie ; Suite à l'accouplement, la femelle se met à la recherche d'un repas de sang, nécessaire au développement de ses œufs [10].

- **Ponte et développement larvaire**

Les femelles pondent leurs œufs à la surface de l'eau, dans le cas des genres *Anophèles* et *Culex*, ou sur un support humide à l'interface avec l'eau, dans le cas des genres *Aedes* et *Ochlerotatus*. Tous les points d'eau, exceptée la mer constamment agitée, sont des lieux de ponte colonisés par les œufs de moustiques [6] ; Elles déposent leurs œufs isolément (*Aedes*), ou en amas, sous forme de radeaux (*Culex*). Les œufs éclosent au bout de 2 à 5 jours, lorsque

les conditions sont favorables [6], pour donner des larves qui se nourrissent de microorganismes et d'algues [11]. Les larves passent ainsi par quatre stades larvaires (L1 à L4) ; La fin du développement larvaire donnera une nymphe, d'où émergera le moustique adulte, ce qui permet un passage de la vie en milieu aquatique à la vie en milieu aérien. En résumé, la vie d'un moustique passe par quatre phases : œuf, larve, nymphe et adulte ; Le passage de l'œuf à l'adulte prend généralement de 7 à 13 jours [12].

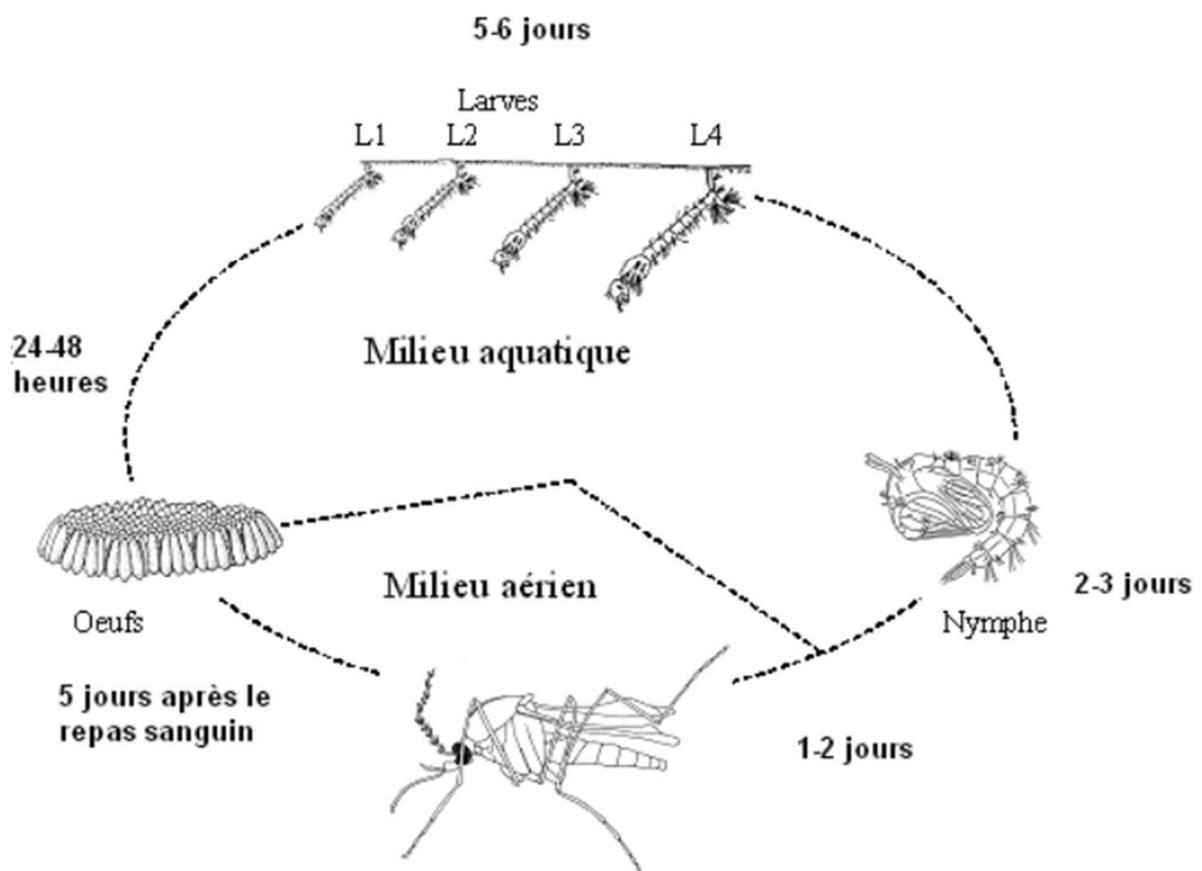


Figure (I.1) : Cycle de développement du moustique *Culex* [8].

I.1.2 Activité des espèces

Les moustiques femelles du genre *Aedes*, présentent une activité diurne, c'est à dire qu'elles préfèrent piquer le jour, contrairement à d'autres espèces comme *Culex* et *Anophèles* qui ont une activité nocturne, piquant principalement le soir [13].

I.1.3 Système d'orientation et de repérage chez la femelle [6, 14]

Quand la femelle moustique se met à la recherche d'un hôte (homme ou animal), elle utilise son système olfactif, qui est le principal siège de détection des odeurs. Les antennes qui sont le support de récepteurs détectant les stimulations aériennes, présentes au niveau de l'air expiré et de la peau, contiennent des soies sensorielles olfactives, particulièrement sensibles vis-à-vis des molécules chimiques odoriférantes, mais aussi vis-à-vis du dioxyde de carbone, de l'acide lactique et de différences de température. Les neurorécepteurs sont aptes à transformer la stimulation odorante en activité neuronale, perçue par le système nerveux central.

La température et l'humidité de l'hôte, le CO₂, l'acide lactique, la sueur, l'odeur propre de la peau, les acides aminés, les œstrogènes sont des facteurs attractifs favorisant la pique.

I.1.4 Pique du moustique [6]

Une fois l'hôte repéré, le moustique va se poser sur le corps, puis commence à déployer son labre, pour chercher des vaisseaux sanguins avec ses stylets. Une fois que les stylets traversent la paroi d'un vaisseau sanguin, elle commence à aspirer du sang, et injecter également de la salive par l'hypopharynx, pour empêcher la coagulation du sang durant le processus, qui dure en général entre 2 et 3 minutes.

Deux types de réactions cutanées aux piqûres de moustiques peuvent s'observer, la première est une réaction immédiate qui est liée à l'hypersensibilité médiée par les IgE ; et la seconde est une réaction retardée médiée par les lymphocytes T.



Figure (I.2) : Tête du moustique en 3D

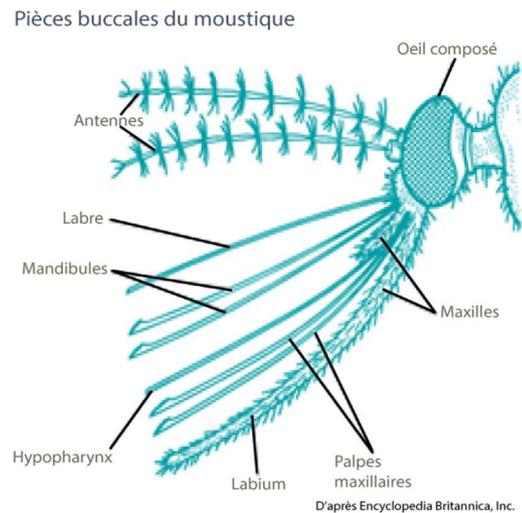


Figure (I.3) : Pièces buccales du moustique.

Les moustiques peuvent devenir vecteurs d'agents pathogènes et de virus, présents dans un hôte infecté, pour les réinjecter dans un nouvel hôte, lors de son prochain repas de sang via la salive [15]. Si le sang aspiré est contaminé, l'agent pathogène est ingéré, puis traverse la paroi stomacale du moustique, pour se développer dans les glandes salivaires. Une fois le moustique est infecté, il peut transmettre le virus tout le reste de sa vie [7].

Culex Pipiens l'espèce prédominante en Algérie [16], est le moustique que l'on retrouve dans la rue et dans nos habitations [6], il est considéré comme le vecteur principal du virus du Nil occidental, en Amérique du Nord [17]. Lorsque le moustique prend son repas sanguin sur un oiseau porteur de l'agent infectieux, le virus reste pendant quelques jours, dans la circulation sanguine. Puis il va se trouver dans la salive du moustique. Lors de son repas ultérieur, le virus peut être injecté à des êtres humains ou à des animaux. Et donc une chaîne de transmission de la maladie va être initiée [18].

Le moustique du genre *Aedes Albopictus*, appelé moustique tigre à cause des taches blanches et noires sur son abdomen, est connu par son agressivité envers l'homme ; Il a été démontré qu'il est capable de transmettre 26 virus, tels que le chikungunya, la dengue et le virus zika [19]. Il est notamment présent en Algérie, sa première apparition a été constatée en 2010 à Tizi ouzou [20]. Il s'est propagé par la suite à plusieurs autres wilayas [21]. Il s'adapte rapidement à son environnement. Une fois que ce moustique est installé, il est pratiquement impossible de l'éradiquer [7], Pour cela des mesures de protection personnelle sont nécessaires pour se protéger contre les piqûres de ces insectes nuisibles.



Figure (I.4): Femelle *C.Pipiens* gorgée de sang.



Figure (I.5): Femelle *Ae.albopictus* gorgée de sang.

Dans le cadre de la lutte antivectorielle, les répulsifs cutanés ont une place importante dans la PPAV, leur usage a été préconisé par l’OMS.

I.3 Définition des répulsifs

Les répulsifs sont classés parmi les pesticides, à côté des insecticides, des herbicides ou des fongicides. Un répulsif est une substance naturelle ou de synthèse, qui présente une propriété répulsive vis-à-vis des arthropodes hématophages. Repoussant le vecteur potentiel, elle limite le contact homme-vecteur [14] ; Autrement dit, les répulsifs cutanés éloignent le moustique sans toutefois le tuer [22].

Pour Tennstedt [6], la substance répulsive induit chez l’arthropode une modification, du processus de repérage de l’hôte, aboutissant à une déviation du vol, et l’éloignant de sa cible potentielle. Les répulsifs sont appliqués sur les parties découvertes du corps, y compris le visage ainsi que les parties se trouvant découvertes à l’occasion de mouvements, leur durée de protection varie entre 2 et 12 heures : elle dépend de la concentration en substance répulsive, la nature de la molécule, la formulation du produit répulsif, le volume appliqué et le rythme des applications, la température extérieure, la sudation, l’application simultanée d’un protecteur solaire ou encore la baignade.

I.4 Réglementation [14]

Les molécules répulsives utilisées, font l'objet de la directive européenne 98/8 sur les produits biocides, dont la phase finale d'instruction est en cours, après cette période d'instruction des molécules actives, les produits finis disponibles dans l'UE feront l'objet d'une procédure spécifique, d'autorisation de mise sur le marché (AMM).

Les produits répulsifs occupent le statut des biocides dans l'UE. Ils font l'objet de l'évaluation prescrite dans la directive européenne 98/8/CE dite « directive biocide » (UE, 1998). Ils sont classés dans le groupe 3 (produits anti parasitaires) section 19 « répulsifs et appâts ».

Les dossiers de seulement 4 substances actives de 88 substances ont été déposés au titre de la liste TP19 : le N,N-diethyl-m- toluamide (DEET) ; le mélange de cis et trans-p,mentahne-3,8-diol ou PMDRBO (PMD Rich Botanical Oil) connu sous le nom de la marque Citrodiol® ; le N-acétyl-N-butyl-béta-alaninate d'éthyle (IR3535®) et le carboxylate de sec-butyl-2-(2-hydroxyéthyl)-1-pipéridine (picaridine, icaridine ou KBR3023). Seules ces 4 substances pourront être utilisées pour l'élaboration de répulsifs.

Tableau (I.1) : Molécules répulsives déposées auprès du CE.

Substance active	N° CE	N° CAS	Abréviation
N,N-diethyl-m- toluamide	205-149-7	134-62-3	DEET
le mélange de cis et trans-p,mentahne-3,8-diol	255-953-7	42822-86-6	PMD
N-acétyl-N-butyl-béta-alaninate d'éthyle	257-835-0	52304-36-6	IR3535®
carboxylate de sec-butyl-2-(2-hydroxyéthyl)-1-pipéridine	423-210-8	119515-38-7	KBR 3023

En Algérie, les insectifuges sont considérés au même titre que les produits cosmétiques : ils doivent seulement être soumis à une autorisation préalable à la fabrication, ou à l'importation, selon les informations fournies dans le site du ministère du commerce.

I.5 Recommandations [23]

Actuellement, les recommandations d'usage sont variables selon l'organisme émetteur, il en résulte des controverses aboutissant à un message confus pour le public et pour les prescripteurs, médecins ou pharmaciens ; alors que l'ensemble des produits et moyens disponibles est en libre accès dans le commerce d'où provient l'exigence AMM. Il est

fortement recommandé d'utiliser comme répulsifs cutanés uniquement ceux dont les substances actives font actuellement l'objet d'une évaluation de leur innocuité (toxicité animale et humaine, génotoxicité, écotoxicité) et de leur efficacité dans le cadre de la réglementation européenne biocide (directive 98/8/CE) et d'en respecter les préconisations d'utilisation. Les substances actives actuellement en cours d'évaluation et susceptibles d'être contenues dans des produits biocides sont : le DEET, la picaridine (icaridine ou KBR3023), l'IR3535 et le PMD. A terme, les formulations commerciales seront soumises à une autorisation de mise sur le marché en Europe.

Les modalités d'utilisation doivent être adaptées à l'âge et aux conditions physiologiques (enfant, femme enceinte).

Il est recommandé, chez les femmes enceintes d'utiliser les répulsifs cutanés quel que soit le terme de la grossesse en cas de risque élevé de maladies graves à transmission vectorielle. La concentration minimale efficace de substance active doit être utilisée, une efficacité de 4 heures vis-à-vis des Anophèles en condition de terrain est obtenue par : 30% DEET, 20% IR3535, 20% Picaridine et 20% en PMD.

L'utilisation de répulsifs par une femme qui allaite est recommandé, en respectant les mêmes précautions que pour tout autre adulte en veillant à la non-application au niveau du sein et au lavage des mains avant la mise au sein.

Chez l'enfant, il est fortement recommandé dès l'âge de 6 mois d'utiliser les répulsifs cutanés dans les zones à risque de maladie grave à transmission vectorielle.

Une mise à jour des conditions d'utilisation des répulsifs a été publiée par le Haut conseil de la santé publique en mai 2019, en France [24].

Tableau (I.2) : Nombre maximale d'applications de la concentration de chaque substance active, chez l'enfant et la femme enceinte.

Nombre maximale d'application(s) quotidienne(s)						
Substance active et concentration		A partir de 6 mois et tant que l'enfant ne marche pas	Dès que l'enfant marche jusqu'à 24 mois	> 24 mois à 12 ans	>12 ans	Femme enceinte
DEET N,N-diéthyl-m-toluamide	10 % à 20 %		Posologie en fonction de l'indication de l'AMM	Posologie en fonction de l'indication de l'AMM	Posologie en fonction de l'indication de l'AMM	Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle Posologie en fonction de l'indication de l'AMM
	30 % à 50 %			Posologie en fonction de l'indication de l'AMM	Posologie en fonction de l'indication de l'AMM	Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle Posologie en fonction de l'indication de l'AMM
IR3535 N-acétyl-N-butyl-β-alaninate d'éthyle	20 %	1	2	2	3	3
	25 % à 35 %			2	3	
KBR3023 carboxylate de sec-butyl-2-(2-hydroxyéthyl)-1-pipéridine/icaridine	20 %			2	3	3
	25 %			2	3	
PMDRO = mélange de cis- et trans-p-menthane-3,8 diol) ou 2-Hydroxy-α,α,4-triméthylcyclohexane méthanol	19 % à 20 %	1	2	2	3	
	25 %	1	2	2	3	

I.6 Evolution des substances répulsives

L'usage de répulsifs remonte à très longtemps ; l'utilisation de plantes pour éloigner les moustiques date de la préhistoire, la fumigation était une pratique très courante, qui consistait à brûler les feuilles et les troncs d'arbre, en Afrique (Guinée-Bissau) et au sud-est d'Asie (Chine) cette pratique est toujours utilisée [25].

C'est plus tard que les extraits de plantes sont apparus, les huiles essentielles ont été largement utilisées pour des applications antiparasitaires et insecticides [26], parmi elles, l'huile essentielle de citronnelle, qui a été l'un des premiers répulsifs, utilisée après son introduction vers 1852, les extraits de neem et de l'absinthe ont également été utilisés (Charpentier). Le pyrèthre a lui aussi des propriétés répulsive et insecticide et a été développé au Japon dans les années 1890. Le premier répulsif élaboré par l'armée était à base d'huiles essentielles extraites de plantes, l'armée indienne a développé un répulsif à base de citronnelle et de camphre, mélangés à de l'huile de paraffine. Or, la durée de protection des huiles essentielles étant très limitée, la recherche d'une alternative plus efficace en termes de durée de protection a été relevée; Pendant la 2^{ème} guerre mondiale ; de nombreuses substances synthétiques ont été développées par les chercheurs américains en raison des risques liés aux maladies vectorielles sur les soldats envoyés dans les zones tropicales, il s'agit des 3 substances : le DMP : diméthylphtalate (1929), et le EHD :éthyl hexandiol (1935) l'Indalone (1937) [27], retirés du marché en 2006, ces produits n'ont pas été notifiés par les fabricants auprès des autorités européennes [28] ; ces même substances ont été combinées pour donner un produit nommé 6-2-2 ou M-250, mais a été retiré par les marchés américain et canadien en 1991 en raison de sa toxicité induisant des maladies pulmonaires graves. Simultanément, en 1946 le DEET, substance synthétique, a été développé par l'armée américaine, il a été mis sur le marché en 1953 aux Etats Unis, l'invention du DEET marque l'histoire de l'évolution des répulsifs, la substance est jusqu'à aujourd'hui la plus efficace et est surnommé the « gold-standard », le DEPA encore présent en Inde et le MGK 326 aux USA, ont été synthétisés au même temps que le DEET. Plus récemment, la recherche de nouvelles molécules insectifuges a permis la synthèse de l'IR3535 en 1975 par l'entreprise Allemande MERCK, qui a fait ses preuves en matière de répulsion en Europe, la substance a été introduite aux Etats Unis en 1999 après l'agrément par l'EPA ; La Picaridine ou KBR3023 a été développé dans les années 80 par l'entreprise BAYER ; suit le PMD, connu sous le nom de marque Ciriodiol®, développé dans la même période par la société anglaise CITREFINE. Le AL3-35765 et le AL3-37220 (1978) ainsi que le SS220 développés par l'USDA sont des isomères de la

pipéridine dont l'action est comparable au DEET, ces molécules n'ont jamais été commercialisées[14, 25, 28].

I.7 Substances répulsives

Les répulsifs commercialisés sont ceux dont les principes actifs synthétiques ont été approuvés aux USA lors de l'évaluation du « Centers for disease control and prevention » (CDCP) après qualification de l'EPA , elles sont également retenues par l'agence canadienne ARLA [23] ; en ce qui concerne les extraits de plantes et les huiles essentielles la situation reste mitigée : selon [14], les HEs ne pourront être utilisées seules en revendiquant une action répulsive , mais comme adjuvants dans d'autres produits finis à cause de leur efficacité qui reste à discuter, l'OMS déconseille l'usage des répulsifs à base de HEs dans les zones à risques à cause de la faible durée de protection; Cependant les produits à base d'huiles essentielles sont disponibles dans le commerce et sont retenues par les ministères du commerce.

I.7.1 les huiles essentielles

Les HEs sont des mélanges complexes et variables de constituants appartenant à 2 groupes quasi-exclusive : les terpénoïdes et les composés aromatiques qui leurs confèrent le caractère odorant et quelques molécules aliphatiques comme les alcools et les aldéhydes , dont le poids moléculaire est relativement faible, généralement compris entre 150 et 200 g/mol, d'où la forte volatilité des huiles essentielles [29].

Les HEs sont moins efficaces que les répulsifs de synthèse mais leur distance d'action est plus importante grâce à leur forte volatilité. En dermatologie, les huiles essentielles sont dermo-caustiques et photo-allergiques à cause de la présence systématique des aldéhydes, des terpènes et des phénols : le citronellal est surtout responsable d'eczéma [6, 27].

La littérature a cité un nombre abondant d'huiles essentielles douées d'activité répulsive, les plus utilisées sont :

- **HE de citronnelle:** utilisée dans de nombreuses préparations commerciales, elle contient essentiellement du Citronellal, du Géraniol et d'autres composés terpéniques, la toxicité par voie générale est considérée comme nulle or elle est susceptible de provoquer de l'eczéma et est considérée comme photo-allergiques [6].

Les produits à l'huile de citronnelle approuvés par l'ARLA sont efficaces contre les piqûres de moustiques pendant une période approximative de 30 à 120 minutes. Selon

l'ARLA, ces produits ne devraient pas être utilisés chez les nourrissons ou les tout-petits [30].

On en distingue 2 extraits :

- huile essentielle de *Ceylan*, extraite de *Cymbopogon Nardus Wats*, le composé principal est le Citronellal (20%) responsable en grande partie de l'odeur.

- huile essentielle de *Java*, extraite de *Cymbopogon winterianus Jowitt*, elle est très odorante [27], elle contient [31] :

limonène: 1,0% à 5,0%,

citronellal: 30,0% à 45,0%,

acétatedecitronellyle: 2,0% à 4,0%,

néral: inférieur à 2,0%,

géraniol: inférieur à 2,0%,

acétatedegéranyle: 3,0% à 8,0%,

citronellol: 9,0% à 15,0%,

géraniol: 20,0% à 25,0%.

- **HE d'eucalyptus citronné (*Eucalyptus citriodora*) :**

Concernant la composition de l'huile essentielle d'eucalyptus citronné, il est indiqué qu'il faut au minimum 75 % de citronellal et au maximum 10 % de néoisopulégol et d'isopulégol. Cette HE est composée de : citronellal ; de citronellol ; d'isopulégol et de néoisopulégol.

En raison du risque faible de toxicité chez les enfants, l'HE de *Corymbia citriodora* peut être employée avec parcimonie à partir de l'âge de 2 ans. De même, son usage est autorisé à partir du quatrième mois de grossesse, cependant toujours avec parcimonie et après avis d'un spécialiste. Toutefois, elle peut être dermocaustique, il est donc important de bien la diluer dans une huile végétale [32].

- **l'HE de menthe poivrée:** ou *mentha peperita*

elle contient : menthone (21.8 %), menthofurane (20.3 %), menthol (26.9 %), pulegone (6.4 %) [33].

- **l'HE de romarin :** 1,8-cinéole (29.5 %), camphor (11.5 %), bornéol (9.5 %), α -pinène (7.5 %) [34].

les HEs de géranium, de lavande, clou de girofle, de tea tree, de palmerose, fleur d'oranger, et les extraits de neem et de soja ont éventuellement été cités [6, 35].

Les huiles essentielles sont de plus en plus étudiées pour leur activité insecticide ou répulsive potentielle [36] ; Les recherches à l'heure actuelle s'orientent vers les plantes aromatiques du fait que la résistance des insectes à un seul principe actif est courante mais la résistance aux extraits de plantes entières est rare .[37]

Les HEs peuvent être combinées pour un effet synergique, l'ajout de la vanilline augmenterait la durée d'efficacité [13].

Parmi les produits existant dans le marché : Moustiderm (Algérie), E² STOP MOUSTIQUES, Puresentiel (France).

I.7.2 Le DEET

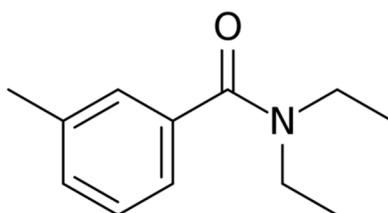


Figure (I.6) : Structure de la molécule de DEET.

le N,N-diethyl-m- toluamide est indiscutablement le répulsif de synthèse de référence, il possède de fortes propriétés répulsives à large spectre et une longue durée d'action, il est résistant à la chaleur, aux frottement par les vêtements. En moyenne il assure une protection moyenne de 4 à 5 h, le DEET est fréquemment associé à d'autres molécules odorantes comme la vanilline pour prolonger sa durée de protection initiale [6].

L'inconvénient majeur du DEET est son caractère solvant, il altère les matières plastiques, les fibres synthétiques, le cuir et les surfaces vernies. Sur le plan pharmacologique, le DEET présente une absorption percutanée surtout en présence d'éthanol (passée de 8,41 % à 15 %) et une élimination par voie rénale. Selon les données toxicologiques, il est toxique par ingestion, irritant pour les yeux et la peau (pour des concentrations > 75 %) [14].

I.7.3 L'IR3535

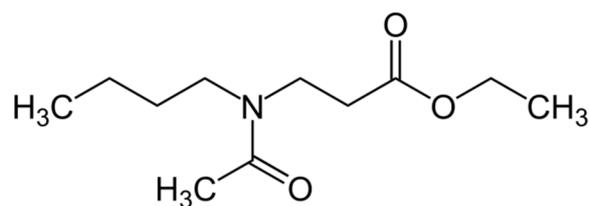


Figure (I.7) : Structure de la molécule de l'IR3535.

Il s'agit du : 3-(N-acétyl-N-butyl) acide aminopropionique éthyl ester ; il se présente comme un liquide incolore, pratiquement inodore, il altère les polymères et les matières plastiques [14]. Son efficacité est comparable à celle du DEET avec des variations selon les espèces de moustiques, il n'a pas été rapporté de cas de réactions annexes importantes, il a été déclaré comme « safe and effective repellent for human use » par le groupe d'expert de l'OMS [22].

I.7.4 La Picaridine (ou icaridine)

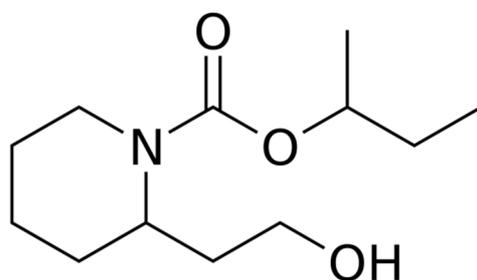


Figure (I.8) : Structure de la molécule de la Picaridine.

Connu sous le nom KBR3023, dérivé de la pipéridine, il s'agit du (RS)-sec-butyl 2-(2-hydroxyéthyl) pipéridine-1-carboxylate, il est neutre vis-à-vis des plastiques et des fibres synthétiques [14]. Le KBR3023 a une très faible toxicité, une grande efficacité, pour les experts de l'OMS c'est un répulsif de choix pour la prévention du paludisme [22].

I.7.5 Le PMD

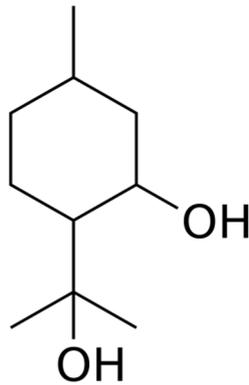


Figure (I.9) : Structure de la molécule de PMD.

Mélange de cis et trans p-menthane-3,8-diol, il s'agit d'un dérivé d'eucalyptus à odeur de citronnelle, produit par synthèse, obtenu après distillation de la plante (*Corymbia Citriodora*), connu sous le nom chinois *Quwenling*, c'est un des métabolite de menthol [23].

Le PMD s'est montré efficace contre *Aedes* (*Ae.aegypti*, *Ae vexans*, *Ae. Albopictus*) et les *Anophèles* vecteurs (*An.funestus*, *An.gambiae*, *An.darlingi*). C'est le seul produit d'origine végétale approuvée par le CDC des USA en prévention des maladies vectorielles [22].

Une étude récente, réalisée en laboratoire sur *Ae. Aegypti* et publiée dans le *New England Journal of Medicine*, sur les substances répulsives : les huiles essentielles offrent une durée de protection variant en moyenne de 3 à 20 minutes, contre plus de 5 heures pour du DEET dosé à 23,8 %. Seul le citriodiol dosé à 20 % se montre efficace pendant 2 heures à peine plus que du DEET dosé à 6,65 %. L'IR 3535 dosé à 7,5 % est 4 fois moins efficace que du DEET dosé à 4,75 % (22,9 contre 88,4 min) [28].

I.8 Mécanisme d'action [14, 23]

Le mode d'action des substances répulsives n'est pas connu avec précision ; l'hypothèse la plus probable est l'interférence du répulsif avec les récepteurs olfactifs perturbant la reconnaissance de la cible de l'arthropode.

Le DEET est le répulsif le plus étudié, il empêcherait le moustique femelle de repérer sa cible et donc de faire son repas de sang ; le DEET a été mis à l'épreuve au cours d'une expérimentation durant laquelle le CO₂ était le seul stimulus : le DEET présente un effet répulsif ; une autre étude menée sur l'acide lactique, il en résulte que le DEET inhiberait deux classes de récepteurs sensibles à l'acide lactique émis par la transpiration ; chez *Cx. quinquefasciatus*, le DEET est détecté par les récepteurs olfactifs (ORNs).

I.9 Formes galéniques et excipients des répulsifs

La durée de protection des produits répulsifs dépend sûrement de la concentration en substance active mais elle est intimement liée à la forme galénique. La réflexion sur la forme galénique a été relevée par les chercheurs américains, suite à une étude sur la toxicité du DEET, les concentrations utilisées par l'armée étant très élevée (75 % en DEET) a révélé un taux d'absorption cutanée de 0,8 % par heure, un taux relativement élevé, ce qui a soulevé des préoccupations concernant la sécurité sur la santé, tant sur la toxicité que sur la durée de protection. Cela a conduit à la recherche de nouvelles formules, moins toxiques mais tout aussi efficaces, en prolongeant la durée de protection, basées sur les crèmes, les polymères et les microcapsules [25].

La prolongation de la durée de vie des répulsifs se fait selon les 3 stratégies suivantes :

- Le contrôle de la libération du PA, en optant pour des formules où le PA est dispersé dans phase continue (émulsion) ou des procédés d'encapsulation.
- Abaisser la pression de vapeur de saturation, par l'utilisation de parfumants, comme le cas de la vanilline qui permettrait de prolonger la durée de vie de 95 % du DEET, mélangés en parties égales (1:1).
- Améliorer la résistance à l'abrasion et à la sueur, par l'ajout d'excipients hydrophobes comme les huiles minérales, qui peuvent réduire la volatilité et augmenter la résistance à l'abrasion ; et l'ajout d'un agent filmogène comme le silicone qui limiterait 2 fois

plus la volatilité du DEET, et les polymères (acryliques, vinyliques (PVP)) qui permettent de garder la substance active, sur la surface de la peau et donc par conséquent réduire considérablement son absorption ainsi que son évaporation [25].

Le marché propose aux consommateurs une panoplie de produits répulsifs à usage cutané : des crèmes, des lotions pulvérisables, des gels, des sticks, des aérosols, des roll-on et des lingettes.

I.10 Caractéristiques du répulsif idéal

Les dix caractéristiques idéales d'un répulsif sont [7] :

1. une efficacité sur un large spectre d'arthropodes,
2. l'absence d'effets irritants sur la peau,
3. l'absence d'odeur ou une odeur agréable,
4. l'absence d'altération des fibres textiles lors de l'application vestimentaire,
5. l'absence de résidus gras sur la peau et une résistance éprouvée au lavage et à l'abrasion,
6. l'absence d'effets sur les plastiques usuels,
7. une stabilité chimique,
8. un coût raisonnable pour un usage large,
9. l'absence de toxicité,
10. une rémanence suffisante.

I.11 Mesure de l'efficacité des répulsifs

L'efficacité des répulsifs, substances actives ou produits finis, est évaluée en laboratoire ou sur le terrain, elle est exprimée par le taux de réduction de piqûres de moustiques et le temps de protection complet. Il existe 4 référentiels communément utilisés pour tester les produits sur les moustiques [23] :

-WHO/OMS : La standardisation du protocole du test de la mesure de l'efficacité des répulsifs a été lancée suite à l'appel lancé par l'OMS en 2000 [25].

-ASTM : American society for testing and materials

-ASTM E939-94 actualisé en 2000,

-US-EPA : US environmental protection agency.

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Dans ce chapitre, nous présentons en premier lieu le produit de référence ainsi que les méthodes de caractérisation utilisées pour faire ressortir ses caractéristiques physiques liées à la viscosité et à la pulvérisation.

En second lieu, nous décrirons l'ensemble des essais préliminaires de la préformulation jusqu'à l'optimisation basée sur la méthode des plans d'expériences, ayant comme principal objectif une stabilité au cours du temps et une faible viscosité sous cisaillement extrême qui conditionne une bonne sprayabilité et une viscosité, au taux de cisaillement nul, maximale pour favoriser la stabilité dans le cas des systèmes laiteux.

Et enfin, l'efficacité sera déterminée par un test *in-vivo* effectué sur l'espèce de moustique *Aedes Albopictus*, très présente en Algérie.

II.1 Matériels

II.1.1 Appareillages

- Une balance électronique (KERN EG 220-3NM) : pour la pesée des matières premières.
- Un agitateur magnétique (VELP SCIENTIFICA) : pour le mélangeage des matières premières.
- Un homogénéisateur ultra-turrax® (IKA® T25 DIGITAL MODEL : T25D) : pour la dispersion des polymères (carbopol et HEC) et l'homogénéisation de l'émulsion.
- Un pH mètre (HANNA HI 8424) pour la mesure du pH lors de la gélification du gel.
- Une étuve (MEMMERT) pour l'étude de la stabilité par effet de température.
- Un rhéomètre (ANTON PAAR Modular compact rheometer MCR 302) pour l'étude de l'écoulement et la prédiction de la stabilité dans le temps.
- Un microscope optique (OPTIKA-DM 25) : pour apprécier la distribution granulométrique.
- Une centrifugeuse (prO-Analytical) pour l'étude de la stabilité par effet de la pesanteur.

Pour l'évaluation du temps de protection :

- Une loupe (OPTIKA) pour l'identification des moustiques.
- Des cages d'essais (40 x 40 x 40 (cm)) contenant 200 moustiques femelles affamées nourries seulement avec une solution de saccharose 24 h avant de commencer le test
- Un savon non parfumé (sans parfum), pour nettoyer le bras de volontaire
- Des gants en latex pour couvrir les mains des volontaires
- Une pipette graduée pour mesurer la quantité de produit à tester

II.1.2 Matières premières

- **DEET** : c'est un principe actif insectifuge, il se présente sous forme d'un liquide jaune pâle, avec une faible odeur. Il est légèrement huileux, sa formule brute est : $C_{12}H_{17}NO$. Il est insoluble dans l'eau et la glycérine, miscible dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, le propylène glycol et l'huile [14]. Sa pression de vapeur de saturation est de 0.003 kPa à 20°C [25]. Le DEET est le standard des répulsifs ; c'est un insectifuge à large spectre, il interfère entre le moustique et son hôte en perturbant la reconnaissance du CO_2 et de l'acide lactique. Selon les critères de la Directive européenne 67/548/CE concernant les substances chimiques, le DEET est classé, pour les phases R (risque), en R22 « toxique par ingestion », R36/R38 « irritant pour les yeux et la peau », R52/53 « nocif pour les organismes aquatiques ».
- **Huiles essentielles** : HE de citronnelle, HE d'eucalyptus et HE de géranium ; sont utilisées comme matières actives répulsives.
- **Isopropyle myristate** : utilisé comme véhicule, il se présente sous forme d'un liquide incolore pratiquement inodore, il possède une viscosité faible [5–7] mPa.s à 25 °C. Il est soluble dans l'éthanol (95%), l'acétone, le chloroforme, l'éthyle acétate, les lipides, les alcools lipidique, les huiles et les cires. Il est pratiquement insoluble dans la glycérine et l'eau et est généralement considéré comme un matériau non toxique et non irritant [38].
- **Ethanol** : utilisé comme co-surfactant, c'est un liquide incolore, volatil, inflammable, miscible avec l'eau, la glycérine, l'éther et le chloroforme. Sa viscosité dynamique est

de 1.22 mPa s à 20 °C: Les préparations contenant plus de 50% d'alcool peuvent causer une irritation cutanée lors d'une application topique [38].

- **Vitamine E : (tocophérol)** est un liquide huileux incolore ou brun jaunâtre, visqueux. Il est utilisé comme antioxydant et comme agent thérapeutique. Un contact prolongé et intensif avec la peau peut provoquer un érythème et dermite de contact. [38].
- **Extrait de vanille** : agent parfumant, sa solubilité dans l'eau est faible, très soluble dans l'alcool, l'acétone, l'éther, le chloroforme et les huiles, il n'est pas classé comme corrosif ou irritant pour la peau [38].
- **Diméthicone** : est un liquide clair et incolore visqueux, pratiquement insoluble dans l'eau, la glycérine et le propylène glycol Elle n'est pas classé comme corrosif ou irritant pour la peau [38]. Il est utilisé dans la formule comme agent hydrofuge.
- **Carbopol** : Il se présente sous forme de poudre blanche Les carbomères sont généralement considérés comme des substances non toxiques et non irritantes, il n'existe aucune preuve chez l'homme de réactions d'hypersensibilité aux carbomères utilisés par voie topique [38], il est utilisé comme un stabilisateur et modificateur de viscosité, selon son fabricant Lubrizol®. Il donne un gel après stabilisation de pH [6-7].
- **Hydroxyéthylcellulose (HEC)** : c'est un polymère non ionique et hydrosoluble qui se présente sous forme de poudre blanche, sans odeur et sans goût. Il est soluble dans l'eau chaude ou froide, pratiquement insoluble dans l'acétone, l'éthanol (95%), l'éther et la plupart des autres solvants organiques. Il est généralement considéré comme un matériau non toxique et non irritant [38]. Il est utilisé comme un agent filmogène.
- **Span**: c'est un liquide visqueux de couleur jaune, généralement soluble dans les huiles et dans la plupart des solvants organiques, dispersible dans l'eau Il est généralement considéré comme un matériau non toxique et non irritant. Cependant, des réactions cutanées et syndromes d'hypersensibilité ont parfois été rapportés après

l'application topique de produits contenant du span [38]. C'est un agent émulsifiant à dominance lipophile.

- **Tween** : c'est un liquide huileux de couleur jaune, soluble dans l'eau et l'éthanol, insoluble dans les huiles minérales et végétales. C'est un émulsifiant Il est généralement considéré comme non toxique et non irritant Des cas d'hypersensibilité parfois été rapportés après leur utilisation topique et intramusculaire [38].

- **Propylparabène** : il se présente sous forme d'une poudre blanche ou de cristaux incolores. Il présente une faible solubilité dans l'eau, il est soluble dans l'éthanol, l'acétone et l'éther.
C'est un conservateur qui peut être utilisé seul, ou en association avec d'autres parabènes, ou avec d'autres agents antimicrobiens. Il présente une activité antimicrobienne à un pH compris entre 4 et 8 [38].

- **Méthylparabène** : il se présente sous forme de cristaux incolores ou d'une poudre cristalline blanche, inodore ou presque inodore, soluble dans l'éthanol et légèrement soluble dans l'eau.
Il est efficace sur une large plage de pH. Un mélange de parabènes est fréquemment utilisé pour assurer une conservation efficace. Une combinaison de méthylparabène avec le propylparabène est souvent utilisée. De nombreuse étude toxicologique basé sur l'animal et sur des observations chez l'homme ont été réalisé et n'ont montré des effets que faiblement irritants et sensibilisants que ce soit par la voie cutanée ou la vois d'ingestion
Le propylparaben et le méthylparaben sont généralement considérés comme étant inapproprié pour les préparations ophtalmiques en raison du potentiel irritant des parabènes. Sur le plan systémique, aucune réaction indésirable aux parabènes n'a été rapportée. Signalés, des réactions d'hypersensibilité ont été signalées [38].

- **Solution de NaOH (0.3 M)**: agent alcalinisant ; le plus souvent comme ajusteur de pH dans les solutions. Il est non toxique à faible concentration [38]. Elle est utilisée dans la gélification de la dispersion des polymères, notamment le carbopol.

- **Eau distillée** : Utilisée dans la préparation du gel et comme véhicule de la phase aqueuse des émulsions laiteuses.

II.2 Méthodes

II.2.1 Orientation

La caractérisation du produit de référence constitue le point de départ du travail qui a pour but de faire ressortir les caractéristiques les plus importantes qu'on va utiliser en guise de réponses, dans notre cas, ça sera les viscosités, dans le cas où le produit a un comportement non newtonien, et le temps de protection ou d'efficacité.

II.2.2 Description du produit de référence

Insect écran® zones infestées est un répulsif à base de DEET, dosé à 50%. Il se présente sous forme d'un spray de 100 ml, mentionnant sur l'étiquette « 8 h d'efficacité ». Aucun excipient n'a été cité, ni sur l'étiquette ni sur internet. Insect écran a été le répulsif recommandé par le Haut Conseil de Santé Publique en 2015 [39] et a été le 2^{ème} produit le plus vendu en 2004 en France [28].

La concentration de ce produit en DEET étant très élevée, présente des risques sur la santé, sur le plan toxicologique à long terme. Il ne convient pas à son utilisation chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 12 ans (se référer au tableau (I.2)); éventuellement, l'odeur est trop forte et désagréable selon les avis des consommateurs, jouent en sa défaveur. Notre objectif est de proposer des formulations moins dosées en DEET qui tiennent compte des critères du répulsif idéal et qui présentent une efficacité similaire ou, à la limite, proche de celle de la référence. Nous proposons également des formulations contenant des substances répulsives naturelles à base d'huiles essentielles. En résumé, les formulations proposées sont :

- Un système lipido-alcoolique à base d'un mélange d'huiles essentielles de citronnelle, d'eucalyptus citronné et de géranium, pour l'obtention d'un effet synergique, la dose est de 1 %.
- Un système lipido-alcoolique contenant 10 % DEET.

- Des émulsions laiteuses, à diverses teneurs en DEET, obéissant à des critères d'optimalité et de stabilité. Ces conditions sont ressorties suite à l'exécution d'un plan d'expériences basé sur une stratégie de Modélisation en Surface de Réponses, RSM.

II.2.3 Caractérisation physique des produits de référence

II.2.3.1 Etude de l'écoulement sous cisaillement variable

Le but de cette analyse est d'étudier le comportement rhéologique de 3 sprays répulsifs : Insect écran®, OFF!®, et cinq sur cinq®, afin de se situer par rapport à l'intervalle de viscosité qui conditionne la sprayabilité. Pour ce faire, on se focalise sur les forts cisaillements (de l'ordre de 10^3), qui est l'équivalent de la contrainte appliquée lors d'une pulvérisation. La viscosité au repos, associée aux très faibles cisaillements, n'est pas considérée, étant donné que les produits de référence ne sont pas des systèmes multiphasiques et donc ne sont pas concernés par le problème d'instabilité.

Cette analyse a été effectuée à l'aide du rhéomètre ANTON PAAR Modular compact rheometer MCR 302, en mode continu, en utilisant la géométrie cône-plan (CP60-1/TG 56657). L'avantage de cette géométrie, est qu'elle assure un gradient de vitesse de cisaillement uniforme dans le gap (entrefer) et surtout est dédié aux fluides les moins visqueux, à l'image de l'eau. Le dispositif est muni du logiciel RHEOPLUS32 V3.62 qui permet le pilotage du rhéomètre et le traitement des données. L'analyse a été effectuée à 25 °C, dans la plage de cisaillement : $\dot{\gamma}$ [10^{-1} – 10^3 s^{-1}] et $d=0.121$ mm (distance entre le sommet du cône mobile et le plan fixe). La figure II.1 montre les courbes d'écoulements des trois produits de référence à 25 °C. Comme premier constat, la viscosité apparente associée aux faibles valeurs du cisaillement n'a pas pu être mesurée. Ceci démontre à quel point les produits sont faiblement visqueux. D'ailleurs, il apparaît clairement que la viscosité apparente est pratiquement insensible au cisaillement dans le domaine de mesure, et cela pour les trois produits. On déduit alors que le comportement est quasi-newtonien. Ceci étant prévisible, vue la nature monophasique organique des trois produits de référence.

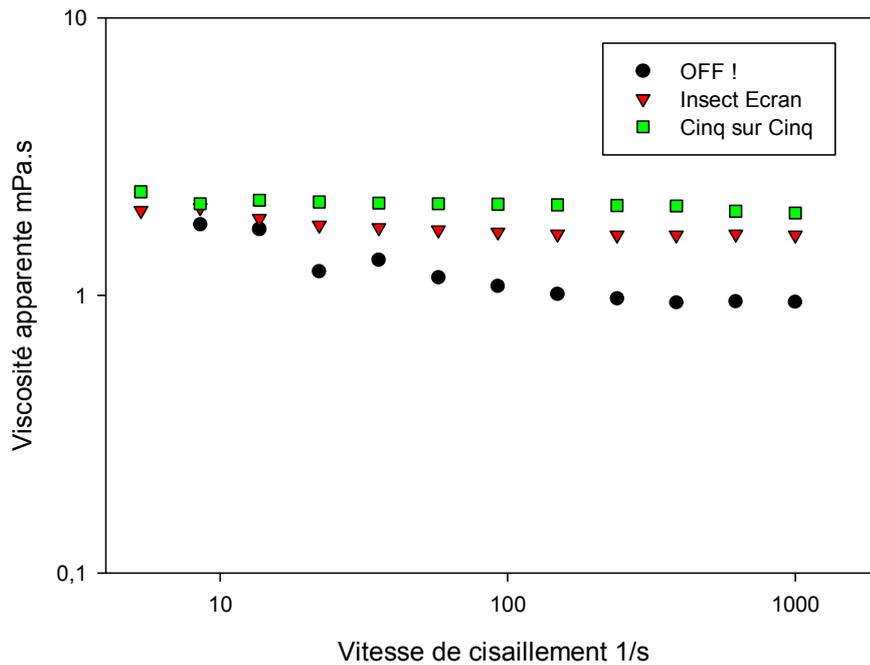


Figure (II.1) : Courbes d'écoulement des produits de référence, T= 25 °C.

Suite à la prise des valeurs moyennes des viscosités apparentes sur la plage de mesure de cisaillement, on évalue alors les valeurs de la viscosité newtonienne des trois produits :

- $\eta_{\text{insect écran}} = 5.6 \text{ mPa.s}$
- $\eta_{\text{OFF}} = 1.9 \text{ mPa.s}$
- $\eta_{\text{Cinq/cinq}} = 2.4 \text{ mPa.s}$

Visiblement, ces valeurs sont très petites, de l'ordre de la viscosité de l'eau, ce qui permet aux produits une bonne pulvérisation, vue la faible résistance à l'écoulement lorsque le liquide sort de la buse de pulvérisation. Aussi, il est important que la valeur de la viscosité, que ce soit newtonienne ou associée aux forts cisaillements (pour le comportement non newtonien), des formulations que nous envisageons, soit située aux alentours de ces valeurs pour garantir une aisance à la pulvérisation.

III.2.3.2 Angle de pulvérisation

Le but est d'évaluer la sprayabilité des systèmes, lors d'une pulvérisation, cette grandeur est proportionnelle à l'angle de pulvérisation.

Pour cela on teste la sprayabilité de deux produits, qui ont la plus faible et la plus grande viscosité OFF !® et insect écran® respectivement à l'aide d'un pulvérisateur.

On applique une pulvérisation sur une feuille positionnée verticalement, avec une distance de 10 cm, qui est la distance moyenne entre la main et le bras lors d'une pulvérisation.

L'angle α est égal à la tangente du rapport entre le diamètre de la pulvérisation et la distance de 10cm. Suite à ce test nous avons trouvé les valeurs suivantes :

- $\alpha_{\text{insect écran}} = 30,3^\circ$.
- $\alpha_{\text{OFF !}} = 42,5^\circ$.

Au regard de ces valeurs, nous pouvons supposer que l'angle de pulvérisation est inversement proportionnel à la viscosité du liquide.

II.3. Préformulation

II.3.1 Caractérisation des matières premières

- **Etude de l'écoulement sous cisaillement variable**

L'étude de l'écoulement des matières premières suivantes : DEET, alcool et isopropyl myristate a été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment, afin de permettre de situer leur viscosité en référence aux trois produits analysés. Sur la figure II.2 sont représentées les courbes d'écoulement de ces trois matières premières, en termes de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. Clairement, leur comportement rhéologique est newtonien, par contre la valeur de leur viscosité n'est pas du même ordre de grandeur :

- DEET qui représente la substance active a une viscosité de l'ordre de 20 mPa.s, une viscosité supérieure d'une décade des viscosités des trois produits de référence.
- En revanche, l'isopropyl myristate a une viscosité de 4 mPa.s, du même ordre de grandeur que celles des produits de référence. Ceci nous encourage à utiliser cet excipient pour être dans les conditions minimales de viscosité.
- Quant à l'éthanol, sa viscosité est très petite, à savoir, 0,4 mPa.s et donc son association avec DEET permet de baisser la viscosité de ce dernier.

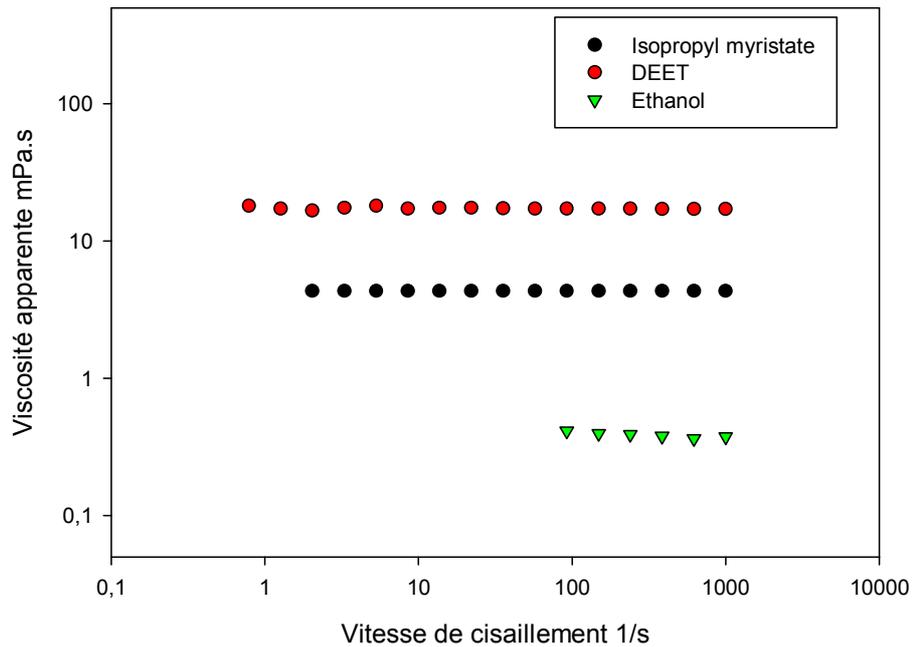


Figure (II.2) : Courbes d'écoulement du DEET, isopropyl myristate et de l'éthanol à 25°C.

II.3.2 Essais préliminaires

II.3.2.1 Système lipido-alcoolique

Le but est d'optimiser la sprayabilité de cette formule, en essayant différentes combinaisons entre l'alcool et l'isopropyl myristate pour arriver à une sprayabilité comprise dans l'intervalle des produits de référence.

Pour cela on teste 3 combinaisons :

- [10% alcool - 90% isopropyl myristate],
- [20% alcool - 80% isopropyl myristate]
- [30% alcool - 70% isopropyl myristate]

La combinaison qui présente le plus grand angle de pulvérisation est celle à 30% d'alcool ($\alpha = 38,4^\circ$).

II.3.2.2 Emulsion

1. Choix du tensioactif

Pour le choix du tensio-actif, nous avons réalisé 3 essais, les 3 échantillons contiennent les mêmes proportions d'isopropyl myristate et d'eau. Dans chaque échantillon, nous avons mis une quantité égale de tensio-actif qui sont : le Tween, le Span et l'acide stéarique. Après homogénéisation, une quantité de chaque préparation est versée dans 3 tubes à essais. Après 1h, une séparation de phases est observée dans les échantillons : 1 et 3, alors que l'échantillon 2 présente une meilleure stabilité, figure (II.3).

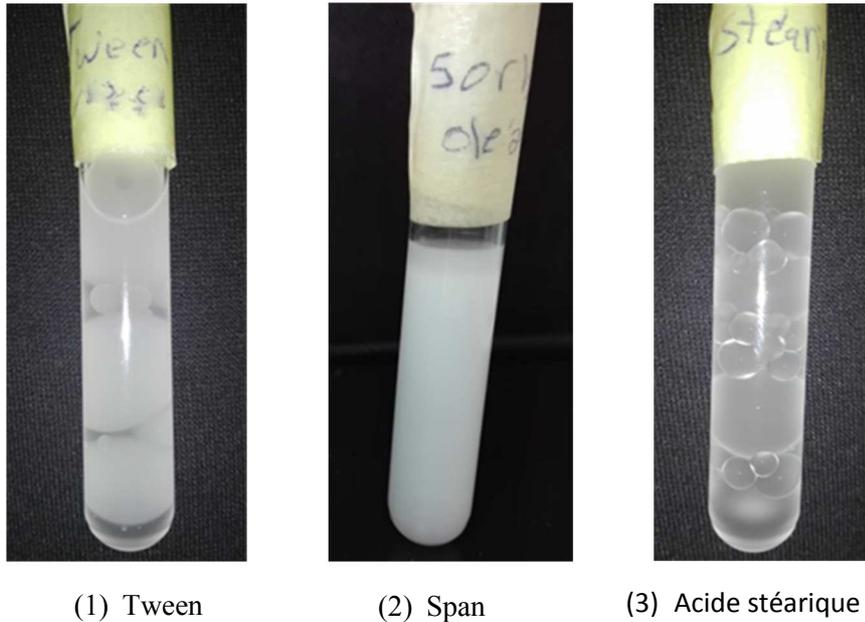


Figure (II.3) : Photos des émulsions (isopropyl myristate /eau) contenant les tensioactifs :

1. Tween, 2. Span et 3. Acide stéarique, après 01 heure de stockage à température ambiante.

A l'issue de cette étude de stabilité, notre choix de tensioactif est porté sur une combinaison de deux tensioactif, à savoir le Span et le Tween.

2. Choix de la concentration du HEC

Le HEC est utilisé dans le cadre de développement des émulsions laiteuses comme agent filmogène. Cependant, si on augmente fortement sa concentration, on risque d'augmenter la viscosité aux cisaillements forts et donc, l'émulsion qui en résulte risque d'avoir des problèmes de sprayabilité. Aussi, le but est d'optimiser la concentration du HEC qui fait partie de la phase externe de l'émulsion avec le carbopol (0,1 %), avec des propriétés d'un gel. Le challenge est de mettre en jeu une quantité nécessaire et suffisante pour garantir la

fonction filmogène et en même temps, ne pas trop impacter la viscosité aux cisaillements forts.

Pour ce faire, nous avons procédé à 3 essais de concentrations décroissantes en HEC, 0,5 %, 0,4 % et 0,3 %. L'écoulement, sous cisaillement variable des trois gels obtenus ont été analysés à 25°C et à 45°C. Les résultats associés aux deux concentrations de HEC 0,4 % et 0,5% n'ont pas été concluants : les gels étaient trop épais. Par contre, ceux associés à 0,3 % en HEC étaient intéressants. Sur la figure (II.4) sont représentées les courbes obtenues, en termes de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. A faible cisaillement, la viscosité est assez importante, dans la décade des centaines (en mPa.s), ce qui permet d'impacter positivement la stabilité de l'émulsion laiteuse contre une séparation de phase éventuelle, par crémage ou par floculation. A fort cisaillement, on observe clairement une chute de la viscosité dans la décade des dizaines (en mPa.s) et donc permettrait une pulvérisation aisée de l'émulsion. Il est important de souligner que l'augmentation de la température à 45°C n'a pas eu un effet significatif sur la chute de la viscosité apparente, vu que les valeurs dans toute la gamme de cisaillement sont dans les mêmes décades que celles à 25°C. Ceci va dans le sens d'une stabilité potentielle, dans des conditions climatiques chaudes, notamment en été.

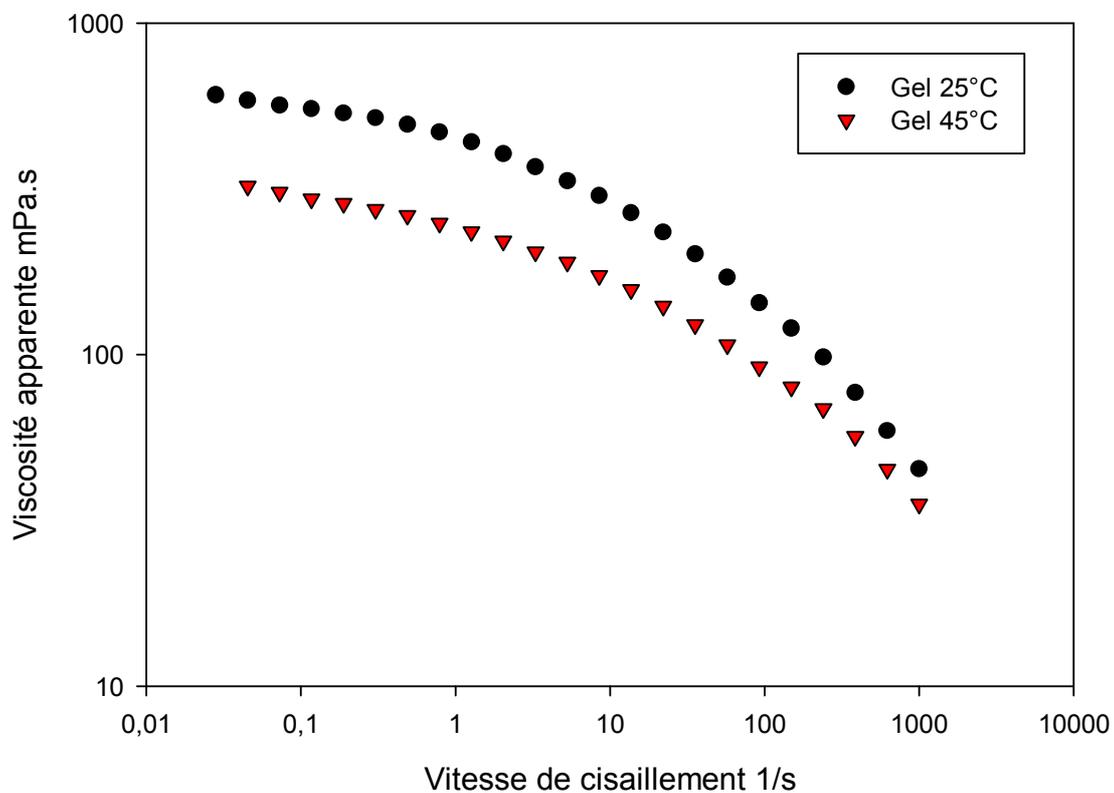


Figure (II.4) : Courbe d'écoulement du gel constituant la phase continue, à T=25 °C et 45 °C.

II.4 Formulation

II.4.1 Préparation des systèmes lipido-alcooliques

Les deux systèmes lipido-alcooliques ont suivi les mêmes étapes de préparation :

- **Système lipido-alcoolique avec huiles essentielles**

Mettre dans un bécher la quantité d'alcool (30 % massique), ajouter les huiles essentielles puis ajuster le QSP avec l'isopropyl myristate, mélanger pendant 1 min, le temps de mélange doit être court, car les huiles essentielles sont très volatiles.

- **Système lipido-alcoolique DEET 10 %**

Mettre dans un bécher la quantité d'alcool et le DEET, puis ajuster le QSP avec l'isopropyl myristate, mélanger pendant quelques minutes.

Lors de cette étude, nous avons eu recours à la planification expérimentale des essais, en faisant appel au logiciel MODDE6. La méthode est très avantageuse pour les raisons suivantes :

- Elle minimise le nombre d'essais, et par conséquent, permet un gain de temps et de cout ;
- Elle facilite l'interprétation des résultats expérimentaux ;
- Elle permet de cerner la formule optimale.

II.4.2 Les émulsions

II.4.2.1 Méthode des plans d'expériences

Les plans d'expériences permettent d'organiser de façon pragmatique les essais de formulation.

Cette méthode se base sur :

- Les facteurs, qui sont les causes supposées ou certaines, qui provoquent le phénomène. Un facteur peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu, contrôlable ou non contrôlable.
- les réponses sont des propriétés mesurables d'un produit ou d'un processus, dont la variation est analysée en fonction de la variation des facteurs ;

- les interactions : leur occurrence a lieu lorsque l'effet d'un facteur dépend de la valeur d'un autre facteur.

II.4.2.2 Planification expérimentale

L'objectif est de formuler des émulsions laiteuses sprayables répulsives à différentes concentrations de DEET. On s'intéresse aux effets induits par la variation du principe actif et des excipients sur la stabilité et la viscosité des émulsions. En adoptant une stratégie basée sur une Modélisation en Surface de Réponses RSM. La matrice d'expériences qui répond à l'objectif du RSM est un plan quadratique de type D-Optimal. La matrice contient 16 essais et le modèle polynomial de type RSM est du second degré contenant des interactions d'ordre d'écriture :

$$Y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{11} X_1^2 + a_{22} X_2^2 + a_{33} X_3^2 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3$$

Où :

X_1 : correspond à la concentration massique du DEET.

X_2 : correspond à la concentration massique des tensioactifs.

X_3 : correspond à la concentration massique de l'eau.

II.4.2.3 Matrice d'expériences

La matrice d'expérience proposée est donnée dans le tableau ci-dessous :

Tableau (II.1) : Matrice d'expériences.

Essais	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
X_1	0.5	1	0.5	1	0.5	0.5	1	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0
X_2	0.5	0.5	1	1	0	0	0	0	0.5	1	0.5	1	0	0	0	0
X_3	0	0	0	0	0.5	0.5	1	1	0.5	0.5	1	1	0	0	0	0

II.4.2.4 : préparation des émulsions laiteuses :

Nous avons suivi le protocole suivant :

- Remplir un béccher avec une quantité d'eau,

- b) Mettre sous agitation pour créer un vortex
- c) verser la quantité de Carbopol progressivement et laisser sous agitation faible pendant 10 min jusqu'à l'hydratation du polymère.
- d) Rajouter le HEC et continuer le mélangeage jusqu'à l'obtention d'un liquide peu visqueux translucide.
- e) Homogénéiser la dispersion sous fort cisaillement, mesurer le pH,
- f) Rajouter quelques gouttes de solution de NaOH jusqu'à gélification,
- g) Dans un autre bécher, mettre la quantité d'alcool et incorporer les parabènes et l'extrait de vanille, mettre sous agitation faible pendant 2 min. puis verser dans la dispersion précédente.
- h) Bien mélanger puis ajuster le pH à 7
- i) Dans un bécher, mettre la quantité de DEET, isopropyl myristate, diméthicone, le Span, le Tween et la vitamine E, puis mélanger pendant 5 min.
- j) Procéder à l'émulsification en incorporant la dispersion précédente dans la phase huileuse et mettre sous faible homogénéisation, cette étape dure 20 min.

II.5 Caractérisation rhéologique des systèmes lipido-alcooliques

II.5.1 Etude de l'écoulement sous cisaillement variable

Cette étude caractérise l'écoulement des systèmes lipido-alcooliques, elle a été effectuée dans les mêmes conditions que celles des produits de référence, à noter que le but est l'obtention de fluides newtonniens.

II.6 Caractérisation des émulsions laiteuses

II.6.1 Contrôle du pH : la mesure du pH a été effectuée pour toutes les émulsions à l'aide d'un pH-mètre.

II.6.2 Etude microscopique

Cette étude a pour but d'analyser la distribution des gouttelettes dans la phase continue, elle a été effectuée avec un microscope optique avec un grossissement 10x100 en rajoutant de l'huile à immersion sur la lamelle.

II.6.3 Etude de la stabilité des émulsions par vieillissement accéléré

II.6.3.1 Calcul de l'indice de crémage par centrifugation

La centrifugation permet de séparer les constituants selon un gradient de vitesse, elle traduit la vitesse de sédimentation au cours du temps. Cette analyse a été effectuée pour 16 échantillons, la vitesse est réglée à 5000/min. L'indice de crémage est donné par la relation : $IC = (L/L_0) \times 100$, il calcul le rapport de hauteur de l'émulsion dans le tube avant et après la centrifugation.

II.6.3.2 Calcul de l'indice de crémage par effet de température

L'évaluation a été menée sur tous les échantillons, qui ont été mis dans une étuve pendant 7 jours à 45°C, le but de ce test est d'essayer de déstabiliser l'équilibre thermodynamique des gouttelettes.

II.6.3.3 La rampe de fréquence

Cette étude permet d'anticiper le comportement du fluide au cours du temps en appliquant au système une rampe de fréquences décroissantes, elle permet de prédire la stabilité de l'émulsion au cours du temps.

II.6.4 Etude rhéologique

Cette analyse a été effectuée à l'aide du rhéomètre, en mode continu, en utilisant la géométrie cône-plan (CP60-1/TG 56657), à 25 °C.

II.6.4.1 Etude de l'écoulement

Ce test permet d'étudier le comportement du fluide, η_0 et η_∞ ont été calculées en utilisant le modèle de Carreau. Ces deux paramètres représentent la viscosité sous faibles cisaillements (repos) et sous fort cisaillements (pulvérisation).

II.6.4.2 Etude de la viscoélasticité

La viscoélasticité est régie par le module de conservation G' qui traduit le comportement rigide du fluide et le module de perte G'' qui représente le comportement liquide du système. On impose, dans le cas d'un rhéomètre à déformation imposée, une déformation sinusoïdale $\gamma(t)$ et on mesure une contrainte sinusoïdale $\sigma(t)$ de la forme :

$$\gamma(t) = \gamma_0 \sin(\omega t)$$

$$\sigma(t) = \sigma_0 \sin(\omega t + \delta)$$

où ω est la pulsation des oscillations, δ représente le déphasage et est appelé angle de perte. δ est égal à 90° dans le cas d'un liquide purement visqueux ou à 0° pour un solide purement élastique. On peut réciproquement imposer, dans le cas d'un rhéomètre à contrainte imposée, une contrainte sinusoïdale et mesurer la déformation sinusoïdale résultante.

On définit les modules de conservation G' et de perte G'' , relatifs respectivement à l'élasticité et au caractère dissipatif de l'échantillon, comme étant :

$$- G' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cos \delta$$

$$- G'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \sin \delta$$

- La tangente de perte est définie comme le rapport des dissipations sur le stockage d'énergie :

$$- \tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

II.7 Optimisation

L'optimisation de 3 émulsions a été faite par le logiciel MODDE 6.0, en tenant compte de paramètres de corrélation entre réponses, de l'analyse statistique des modèles en surface de réponses, par évaluation de quatre paramètres :

- Le coefficient de détermination, R^2 qui mesure le pourcentage de la variation de la réponse expliquée par le modèle.
- Le coefficient de prédiction, Q^2 mesure le pourcentage de la puissance prédictive du modèle ; lorsque $Q^2 \geq 0.7$, le modèle aurait une bonne capacité de prédiction et les erreurs de prédiction seront faibles.
- Le troisième paramètre est caractéristique de la validité du modèle PLS, « Model Validity » Lorsque sa valeur est supérieure à 25 %, l'erreur du modèle est dans la même plage que l'erreur pure et donc le modèle est intéressant et exploitable.
- Le dernier paramètre, « Reproducibility », mesure la variation de la réponse dans les mêmes conditions (erreur pure) par rapport à la variation totale de la réponse.

II.8 Evaluation du temps de protection

La méthode utilisée dans la majorité des essais testant l'efficacité d'un répulsif sur les moustiques adultes est « le test bras dans la cage » recommandée par l'OMS. Le test a été réalisé au sein de l'institut PASTEUR d'Alger au laboratoire d'éco-épidémiologie parasitaire et génétique des populations, pour pouvoir déterminer le temps de protection complète ou totale des produits testés. Le test est décrit par le système OMS d'évaluation de pesticides utilisés en santé publique (WHOPES) en 1996 et 2009 (WHO, 1996 ; WHO, 2009).

Description de la méthode « bras dans la cage » :

Méthode :

- les tests ont été effectués sur les bras de 3 volontaires pour chaque formule sur des moustiques élevés, entretenus et testés au laboratoire à une température de 27 °C à 78% d'humidité relative en photopériode 12:12
- Pour chaque produit, on utilise deux cages : une est destinée pour tester le produit candidat et l'autre est utilisée pour le contrôle positif. Dans chaque cage, on place 200 moustiques femelles qui ont été affamées 24 h avant le test.
- Les volontaires doivent porter des gants, pour protéger leurs mains contre les attaques des moustiques. La surface d'essai (le bras, du poigné au coude) doit être nettoyée avec du savon et rincée avec de l'eau, puis avec une solution d'éthanol 70 %, ensuite séchée avec une serviette. Les volontaires ne doivent utiliser aucun parfum ou répulsif, 12 h avant le test. ils ne devraient de préférence pas être des fumeurs de tabac ou au moins s'être abstenus de fumer 12 heures avant et pendant le test.
- Les volontaires doivent éviter les efforts qui pourraient augmenter la transpiration, le frottement, le contact ou le mouillage de la zone traitée.
- Avant le début de chaque test, les volontaire insèrent leur bras non traité à l'intérieure de la cage, pour observer l'atterrissage et / ou piqûres de moustiques pendant 30 secondes, 10 atterrissages /sondages soient comptés. La procédure est répétée avec l'autre bras dans la deuxième cage. Si ce niveau d'atterrissage et / ou de sondage n'est atteint dans aucune des cages, l'expérience doit être abandonnée.
- On applique 1 ml du produit à tester, à l'aide d'une pipette graduée sur 600 cm² de surface à tester, sur l'autre bras, on applique 1ml du témoin positif

- Après 30 minutes, le bras traité avec le produit à tester est inséré dans la cage appropriée et exposé pendant 3 minutes, pour déterminer l'activité d'atterrissage et / ou de pique. Ensuite, le bras appliqué au témoin positif est exposé dans l'autre cage. Cette procédure est répétée toutes les 30 minutes tout au long de l'expérience et le test est arrêté lorsqu'une 1^{ère} pique est confirmée. On considère que le produit ne protège plus
- Le temps de protection complète est le temps entre l'application de produit répulsif et la 1^{ère} pique confirmée (CPT) (complet protection time)



Figure (II.5): Préparation des cages et des produits à tester pour effectuer le test d'évaluation.



Figure (II.6): Application du produit sur les bras du volontaire.



Figure (II.7) : Exposition des bras du volontaire dans les cages des moustiques.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Caractérisation rhéologique des systèmes lipido-alcooliques

III.1.1 Etude de l'écoulement sous cisaillement variable

La figure (III.1) représente la courbe d'écoulement des deux systèmes lipido-alcooliques, leurs comportements sont caractérisés par la région newtonienne sous fort cisaillement, on peut dire que ces deux systèmes se comportent comme des fluides newtoniens.

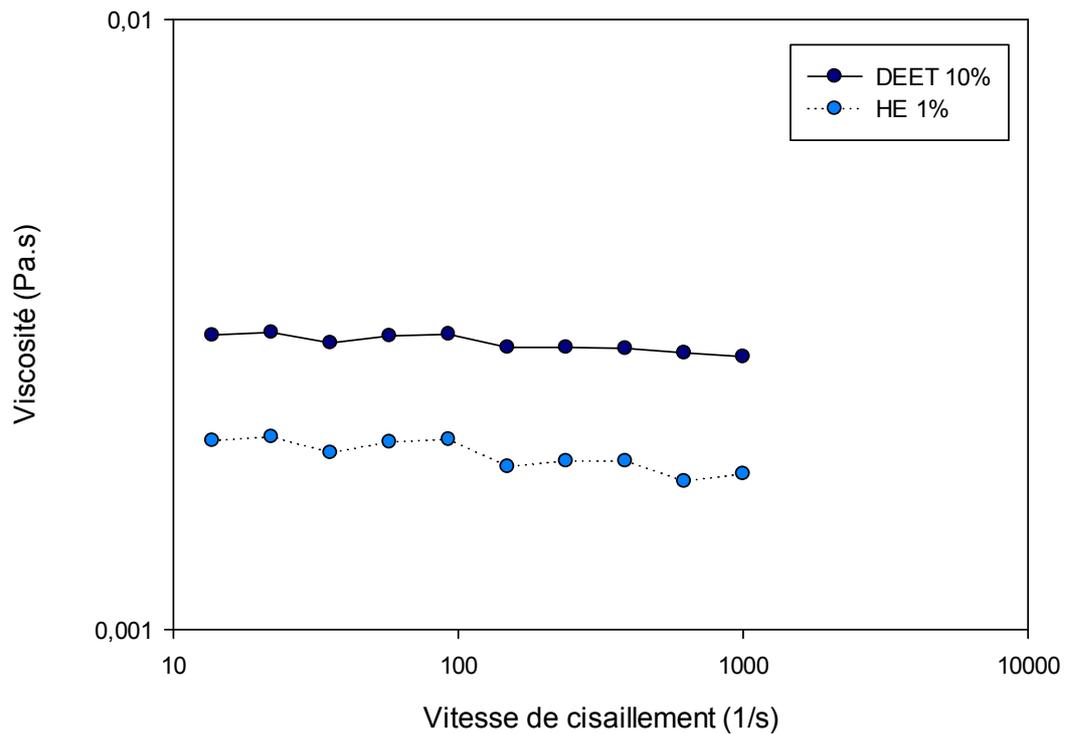


Figure (III.1) : Courbes d'écoulement des deux systèmes lipido-alcooliques, T=25 °C.

III.2.Caractérisation des émulsions laiteuses

III.2.1.Contrôle du pH

Les résultats de pH obtenus pour chaque formule sont regroupés dans le tableau (III.1), ci-dessous :

Tableau (III.1): Valeurs du pH des émulsions laiteuses

Essais	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
pH	7.5	7.2	7.2	7.5	7.4	7.3	7.5	7.5	7.4	7.3	7.4	7.4	7.3	7.1	7.2	7.3

Il apparait clairement que le pH des formulations est quasiment constant, aux alentours de 7,3. Ceci étant prévisible, du fait de l'opération de neutralisation du gel constituant la phase continue de l'émulsion qui contient du carbopol. Aussi, on s'abstient quant-à la prise comme réponse de cette caractéristique.

III.2.2.Caractérisation morphologique des émulsions

Sur la figure (III.2) est illustrée une des photos microscopiques typiques d'une formulation du plan d'expériences. Les photos des autres essais sont similaires à celle-là. On peut observer que la structure de la phase dispersée est floculée, par la présence des espaces vides interfloculats. Vue l'absence d'ingrédients électrolytiques, à l'image des agents tampons ou de chélation, on suspecte un mécanisme de floculation par déplétion dû au HEC. En effet, ce polymère est non ionique et sa concentration de 0.3 % est supérieure à la concentration critique associée au régime semi-dilué (0.2 %). Ainsi, ses macromolécules se présenteraient sous forme d'agrégats solubles suite à des interactions attractives de type Van Der Waals [40]. Ces agrégats qui sont dans la phase continue de l'émulsion, quittent les zones étroites (interstices) entre-gouttelettes huileuses (DEET + isopropyl myristate) et créent, par la même des zones riches en HEC et des zones de déplétion (pauvres). Ce déséquilibre génèrerait une différence de pression osmotique qui elle-même produirait la floculation par déplétion.

Sur le plan granulométrique, on constate que les gouttelettes ne sont pas de même taille. Aussi, faut-il conclure qu'il s'agit d'un système poly-disperse. Cette situation peut être favorable quant-au mécanisme de libération de la matière active répulsive, en l'occurrence

DEET, auquel cas les gouttelettes fines sont les premières concernées par la libération, puis viennent les grosses [41]. En conséquence, la durée d'action serait plus prolongée.

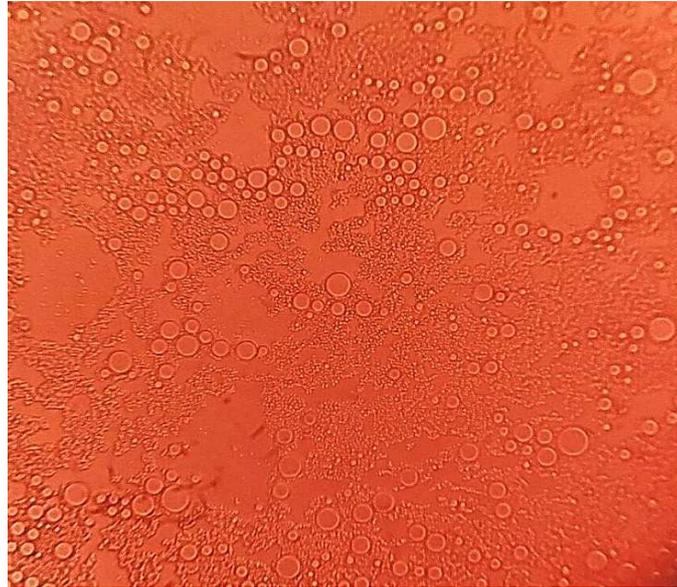


Figure (III.2) : Photo microscopique d'une émulsion typique du plan d'expériences, grossissement X 1000

III.2.3. Etude de la stabilité des émulsions par vieillissement accéléré

III.2.3.1. Indice de crémage par centrifugation

L'utilisation de la centrifugation a permis de générer des séparations de phases huile – eau (figure III.3). Les valeurs de l'indice de crémage obtenues, à la température ambiante (tableau III.2), paraissent varier en fonction des essais. Ceci nous incite à tenir compte de cette réponse, vue sa dépendance à la variation des facteurs de contrôle, X_1 , X_2 et X_3 .



Figure (III.3) : Photo illustrant une séparation de phases à T ambiante, suite au test de centrifugation.

Tableau (III.2): Valeurs de l'indice de crémage, IcC, par le test de centrifugation

Essais	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
IcC (%)	45	65	17.5	56	52.5	57.5	58.8	56.3	41	65	55	57.5	65	64	61.3	57.5

III.2.3.2 Indice de crémage par effet de la température

La mise en étuve pendant 7 jours à la température de 45°C, a engendré une séparation de phases huile-eau (figure III.4), les valeurs de l'indice de crémage obtenues pour tous les essais (tableau III.3), pourraient être très significantes, étant donné qu'elles varient dans un intervalle compris entre 0 et 23%. Ce qui nous a menés à retenir cette réponse dans le plan d'expériences.



Figure (III.4) : Photo présentant une séparation de phases, à 45°C, suite au test de la mise en étuve.

Tableau (III.3) : Valeurs de l'indice de crémage, IcT, par effet de la température de 45°C.

Essais	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
IcT (%)	11.7	11.7	0	8	0	0	23	8	0	17	8	6	11.7	11.6	23	5.8

III.2.3.3 Etude de la stabilité par le test de viscoélasticité en rampe de fréquence

L'étude de stabilité a été approchée par le test de viscoélasticité, en mode oscillatoire, par application d'une rampe croissante de fréquence. La valeur de la déformation appliquée a été choisie égale à 0.5 %, garantissant ainsi une sollicitation dans le domaine de viscoélasticité linéaire. La diminution de la fréquence implique l'augmentation du temps, traduisant ainsi le comportement et l'évolution des deux modules, à savoir, de conservation, G' et de perte G'' , dans le temps. Une stabilité de ces deux modules aux longs termes, impose une stabilité potentielle de l'émulsion.

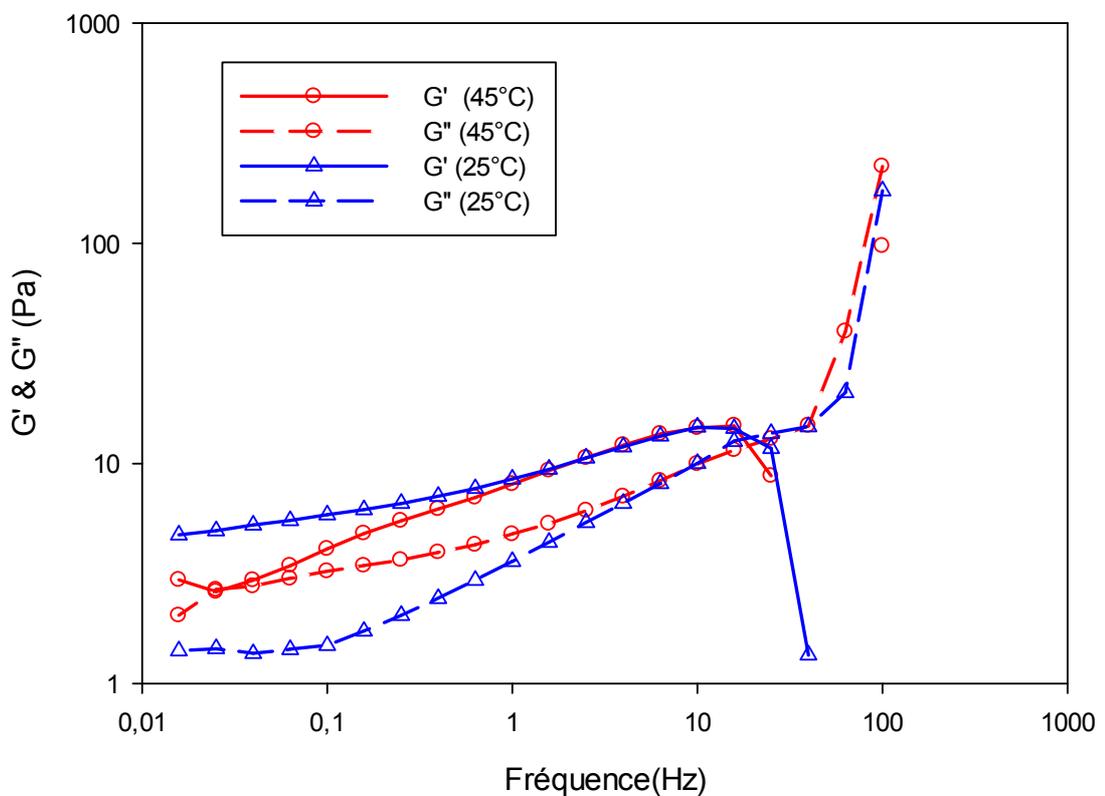


Figure (III.5) : Evolution des modules de conservation, G' et de perte G'' , en fonction de l'application d'une rampe croissante de fréquence à $T = 25\text{ °C}$ et 45 °C . La déformation, $\gamma = 0.5\%$

La figure (III.5) montre l'évolution typique d'un essai de formulation du plan d'expériences, de ces deux paramètres en fonction de la fréquence et cela pour $T=25\text{ °C}$ et 45 °C . Pour les faibles fréquences, on remarque que les modules de conservation sont au-dessus des modules de perte pour les deux températures. Ceci impose que l'émulsion a le comportement rhéologique d'un solide viscoélastique (dans le cas contraire, on aurait un comportement liquide viscoélastique qui peut signifier une instabilité potentielle). A

souligner que la quantification de cette analyse, en termes de stabilité, a été très difficile à réaliser, vue les différences des résultats des essais de formulation. Aussi, ce test a permis de faire ressortir une appréciation qualitative par rapport au comportement de l'émulsion au long terme, dans le sens d'une prédiction et d'appui.

III.2.4 Caractérisation rhéologique

III.2.4.1 Etude de l'écoulement sous cisaillement variable

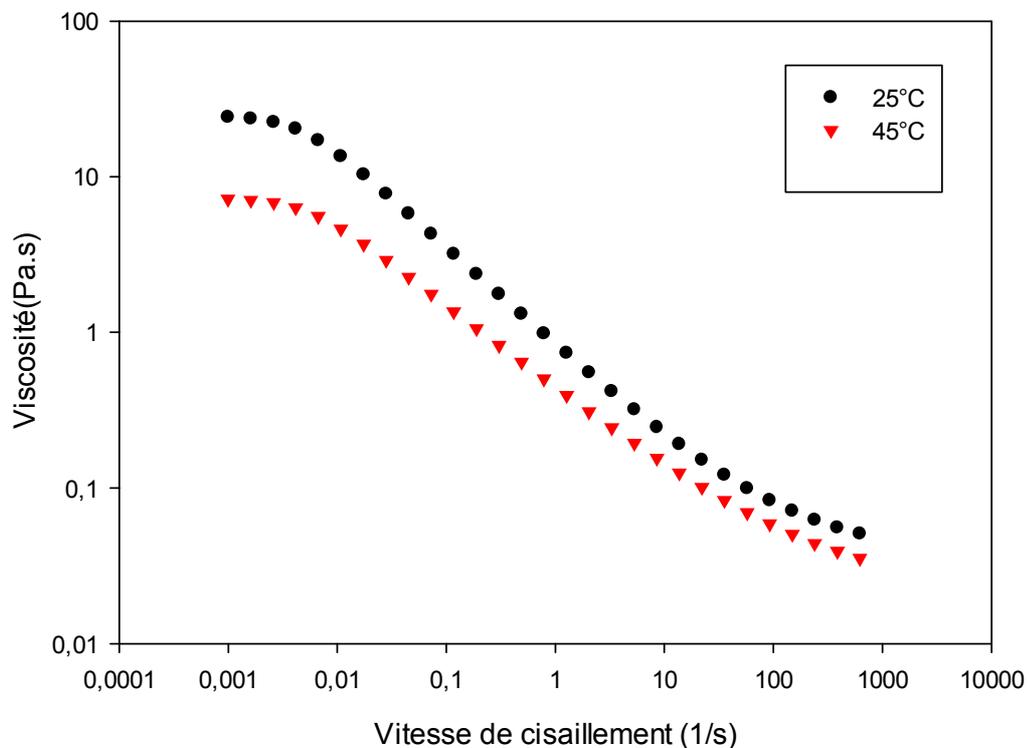


Figure (III.6): Courbes d'écoulement d'une émulsion typique du plan d'expériences, T=25 °C et 45 °C.

La figure (III.6) ci-dessus, illustre la variation de la viscosité apparente d'une émulsion typique du plan d'expériences, en fonction de la vitesse de cisaillement, et cela pour les deux températures 25 °C et 45 °C. Le comportement rhéologique observé semble de type structural, caractérisé par la présence des deux régions newtoniennes. η_0 et η_∞ sont les deux paramètres caractéristiques des deux plateaux newtoniens, à très faible cisaillement (quasi-repos) et à très fort cisaillement (lors de la pulvérisation) respectivement. L'ajustement de toutes les courbes d'écoulement a été effectué, par le modèle de Carreau qui prend en charge les deux viscosités

newtoniennes. Les résultats sont très satisfaisants, avec des valeurs du coefficient de détermination, R^2 , très proches de 1. On rappelle que le modèle de Carreau a pour écriture :

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (K\dot{\gamma})^2)^P}$$

K et P sont des paramètres caractéristiques du modèle de Carreau, leur variation par rapport au plan d'expériences n'a pas été prise en compte. En effet le paramètre K représente un temps de relaxation qui est généralement calculé à très faible cisaillement. Sa valeur est malheureusement conditionnée par la finesse des résultats dans ce domaine de cisaillement. Quant-au deuxième paramètre P, sa position (exposant) dans la formule du modèle de Carreau génère une fluctuation élevée. Le tableau (III.4) regroupe les valeurs des deux paramètres η_0, η_{∞} ainsi que celles du coefficient de détermination R^2 . Au regard de ces valeurs, on remarque une certaine sensibilité aux essais et donc à tenir en compte dans le plan d'expériences.

Tableau (III.4) : Valeurs de la viscosité apparente des deux paramètres η_0, η_{∞} , ainsi que celles du coefficient de détermination R^2 , à T=25 °C et 45 °C.

Essais	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
η_0 à 25°C (Pa.s)	24.4	9.3	51.8	10.2	35.3	31.9	1.1	26.4	10.7	10.5	1.3	9.5	10.6	9.9	2.6	14.8
η_{∞} à 25°C (Pa.s)	0.04	0.03	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04	0.03	0.02	0.03	0.04	0.03	0.02	0.04	0.05
R^2 25°C	0.97	0.86	0.99	0.89	0.98	0.99	0.93	0.99	0.98	0.99	0.87	0.81	0.99	0.98	0.89	0.96
η_0 à 45°C (Pa.s)	7.2	1.1	13.3	3.7	3.7	6.9	5.5	2.2	17.1	0.5	1.3	9.5	2.2	0.5	1.3	9.1
η_{∞} à 45°C (Pa.s)	0.02	0.01	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02	0.03	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.03
R^2 45°C	0.98	0.98	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99	0.90	0.97	0.98	0.98	0.99	0.91	0.97	0.95	0.99

III.2.4.2 Etude de la viscoélasticité

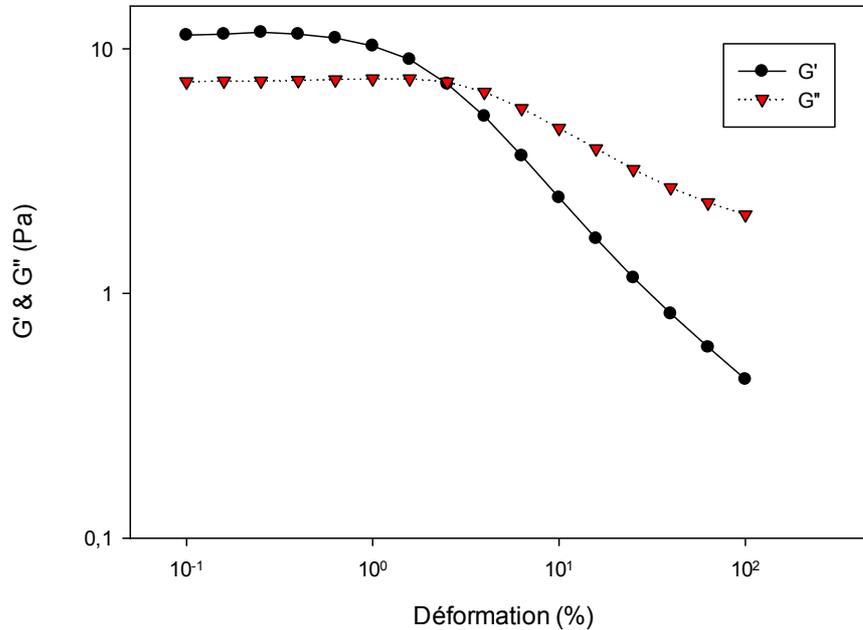


Figure (III.7) : Evolution du module de conservation G' et de perte G'' d'une émulsion typique du plan d'expériences en fonction de la déformation. $T=25$ °C.

La figure (III.7), montre l'évolution typique de G' et de G'' , en fonction de l'accroissement de la déformation de cisaillement. On distingue deux zones :

- Une zone de viscoélasticité linéaire auquel cas G' et G'' sont insensibles à la déformation. De cette région, on dégage les valeurs des deux paramètres caractéristiques G'_{LVE} et G''_{LVE} (LVE : Linear Visco Elasticity) qui sont regroupées dans le tableau (III.5) et cela pour tous les essais. Dans le cas où le $G'_{LVE} > G''_{LVE}$: l'émulsion est considérée comme étant un corps solide viscoélastique.
- Au-delà du LVE, on observe une évolution non-linéaire de G' et de G'' associée à un comportement viscoélastique non-linéaire. Ce comportement n'est malheureusement pas bien exploré et élucidé par les chercheurs et donc reste difficilement exploitable. Aussi, on s'abstient quant-à l'étude de cette deuxième zone. Toutefois le croisement des deux courbes G' et G'' est synonyme d'une situation transitoire menant l'émulsion à un changement de comportement du solide viscoélastique au liquide viscoélastique.

Le point de croisement, communément appelé « point de gel » est associé à la contrainte en deçà de laquelle le comportement est solide réversible et au-delà de laquelle le comportement est liquide plastique. Il s'agit de la contrainte seuil viscoélastique, τ_0 .

On s'abstiendra à la prise de ce paramètre comme réponse dans le plan d'expériences, en raison de l'écart considérable entre les valeurs. Effectivement, le croisement n'a pas eu lieu pour tous les essais, il en résulte une variation étendue des valeurs, ceci n'est pas avantageux.

III.2.5. Modélisation en surface de réponses et optimisation

Avant d'entreprendre la phase de modélisation, on analyse dans la matrice d'expériences, tableau (III.5), les corrélations éventuelles réponse-réponse. Le tableau (III.6) résume toutes les corrélations. On considère une dépendance significative entre deux réponses, lorsque le coefficient de corrélation $\geq 0,7$.

Tableau (III.5) : Matrice d'expériences en fonction des variables centrées réduites X_1 , X_2 et X_3 et des réponses retenues.

Exp No	Run Order	X_1	X_2	X_3	IcT	η_0 25°C	η_0 45°C
1	13	0,959	0	0,0408	11,7	10,6	2,2
2	9	0	0,959	0,0408	0	10,7	17,2
3	2	0,959	0,0408	0	11,7	9,3	1,1
4	3	0,0408	0,959	0	0	51,8	13,3
5	10	0,712	0	0,288	17	10,5	0,5
6	14	0,712	0	0,288	17,6	9,9	0,5
7	11	0	0,712	0,288	8	1,3	1,3
8	5	0	0,795	0,205	0	35,3	3,7
9	15	0,795	0	0,205	23	2,6	1,3
10	7	0,653	0,347	0	23	1,1	5,5
11	6	0,347	0,653	0	0	31,9	6,9
12	8	0,237	0,475	0,288	8	26,4	2,2
13	1	0,445	0,445	0,11	11,7	24,4	7,2
14	16	0,445	0,445	0,11	5,8	14,8	9,1
15	4	0,445	0,445	0,11	8	10,2	3,7
16	12	0,445	0,445	0,11	6	9,5	9,5

Tableau (III.6) : Matrice de corrélation réponse-réponse.

	IcC	IcT	η_0 25°C	η_∞ 25°C	η_0 45°C	η_∞ 45°C
IcC	1,00	0,57	-0,33	-0,38	-0,78	-0,07
IcT	0,57	1,00	-0,65	-0,70	-0,60	-0,56
η_0 25°C	-0,33	-0,66	1,00	0,73	0,38	0,54
η_∞ 25°C	-0,38	-0,70	0,73	1,00	0,54	0,50
η_0 45°C	-0,78	-0,60	0,38	0,54	1,00	0,30
η_∞ 45°C	-0,07	-0,56	0,54	0,50	0,30	1,00

Au vu des valeurs du coefficient de corrélation, on déduit les dépendances suivantes :

- L'indice de crémage par centrifugation, IcC, avec la viscosité au repos à 45 °C, η_0 , $R = -0,78$.
- L'indice de crémage par effet de la température, IcT, avec la viscosité au fort cisaillement à 25 °C, η_∞ , $R = -0,70$.
- La viscosité au repos à 25 °C, η_0 , avec la viscosité au fort cisaillement à 25 °C, η_∞ , $R = 0,73$.

Ainsi, on ne tiendra en compte que les réponses qui sont significativement indépendantes, à savoir : η_0 25 °C, IcT et η_0 45 °C.

L'exploitation des résultats des modèles RSM, en vue de l'optimisation de la formulation, est conditionnée par la qualité, au sens statistique de ces modèles. On se propose de représenter les valeurs des quatre paramètres conditionnant la qualité, à savoir, le coefficient de détermination, R^2 , le coefficient de prédiction, Q^2 , le paramètre traduisant « model validity » et le paramètre traduisant la reproductibilité. Ces valeurs sont illustrées par un histogramme, (figure III.8).

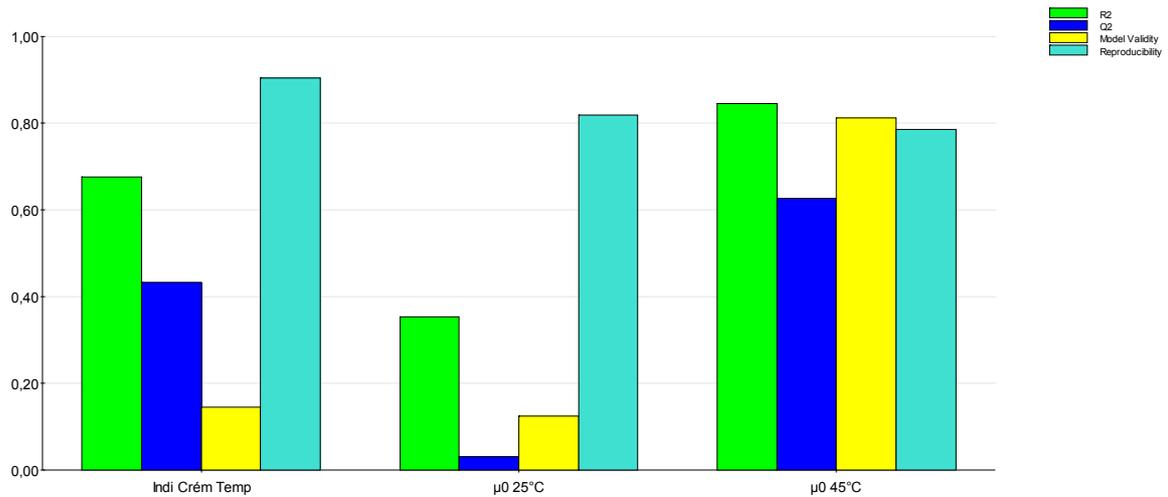


Figure (III.8) : Histogramme illustrant les valeurs des quatre paramètres statistique, R^2 , Q^2 , le modèle validité ainsi que la reproductibilité.

A la lumière de cet histogramme, la réponse viscosité newtonienne, η_0 25 °C, semble non satisfaisante sur le plan qualité, au sens statistique. En effet, le coefficient de prédiction de son modèle RSM est très médiocre, aux alentours de 3 %. Egalement, son coefficient de détermination de 35 % ne permet une explication satisfaisante de la variance. La valeur traduisant le pourcentage de la validité du modèle est de 12% et donc, clairement le modèle ne peut être exploité en termes d'optimisation. Aussi, on est dans l'obligation d'éliminer cette réponse. En revanche, les valeurs des deux autres réponses, à savoir η_0 45 °C et IcT sont satisfaisantes et feront l'objet de l'étape de de l'optimisation.

Les modèles des deux réponses à partir desquels on fera la simulation numérique en vue de la détermination des formulations optimales, s'écrivent :

$$\eta_0 \text{ 45}^\circ\text{C} (X_1, X_2, X_3) = 6,9029 - 1,1848 X_1 + 1,7552 X_2 + -1,7671 X_3 - 0,4208 X_1^2 \\ + 0,3247 X_2^2 - 1,6686 X_3^2 - 0,0355 X_1 X_2 + 0,9727 X_1 X_3 - 0,6697 X_2 X_3$$

$$IcT (X_1, X_2, X_3) = 0,0939 + 0,0277 X_1 - 0,03133 X_2 + 0,0124 X_3 - 0,0045 X_1^2 \\ - 0,0026 X_2^2 + 0,0121 X_3^2 + 0,0049 X_1 X_2 + 0,0079 X_1 X_3 - 0,0029 X_2 X_3$$

Le déroulement de la simulation numérique par le logiciel, via son module OPTIMIZER permet de faire ressortir les formules optimales. Les conditions sur lesquelles on s'appuie, pour ce faire, sont :

1. Obtention de formules à trois niveaux de concentrations de DEET : forte (30 %), moyenne (20 %) et faible (10 %).
2. L'indice de crémage par effet de température doit être minimal assurant une stabilité certaine.
3. La viscosité newtonienne au quasi-repos à 45 °C doit être maximale, assurant une bonne stabilité contre le crémage et une adhésion topique après étalement.

Au terme du déroulement du processus itératif, nous avons identifié deux formulations associées à des niveaux de DEET de 30 % et de 20 %. La formule à 10 % ne satisfait pas aux critères cités ci-dessus.

Dans le tableau (III.7) sont résumées les valeurs des réponses obtenues expérimentalement, après optimisation.

Tableau (III.7) Valeurs de réponses expérimentales obtenues après optimisation.

DEET	X_2	X_3	IcT (%)	η_0 25°C (Pa.s)	η_0 45°C (Pa.s)
20%	0	1	8.33	16.37	7.23
30%	1	0	-1.41	34.3	13.8

III.3 Evaluation de l'activité répulsive anti-moustiques des différents systèmes

L'évaluation des temps de protection complète sur les moustiques, des formules lipido-alcooliques et les émulsions ainsi qu'un produit algérien « Moustiderm », ont été quantifiés, sous les consignes du protocole « bras dans la cage » standardisé par l'OMS, les résultats sont indiqués dans les tableaux (III.8), (III.9), (III.10), (III.11) et (III.12) suivants :

III.3.1 Système lipido-alcoolique avec 1% de HEs

Tableau (III.8) : CPT de la formule lipido-alcoolique à 1% de HEs.

Temps de protection complète CPT		V1		V2		V3	
		Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif
1h	30 min	10 A	0	2 P	0	1 P	0
	60 min	4 P	0		0		0

III.3.2 Système lipido-alcoolique avec 10% de DEET

Tableau (III.9): CPT de la formule lipido-alcoolique à 10% DEET.

Temps de protection complète CPT		V1		V2		V3	
		Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif
1h	30 min	0	0	0	0	0	0
	60 min	0	0	0	0	0	0
2h	90 min	0	1 A	0	0	0	0
	120 min	0	0	0	0	0	0
3h	150 min	0	0	1 A	0	1 A	0
	180 min	0	3 A	1 A	0	0	0
4h	210 min	0	0	0	0	0	0
	240 min	0	0	1 A	0	0	0
5h	270 min	0	0	3 P	0	1 P	0
	300 min	2 P	0				

III.3.3 Emulsion à 20 % de DEET

Tableau (III.10) : CPT de l'émulsion à 20% en DEET.

Temps de protection complète CPT		V1		V2		V3	
		Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif
1h	30 min	0	6 A	0	1 A	0	0
	60 min	0	8 A	1 A	2 A	0	0
2h	90 min	2 A	4 A	1 A	0	0	0
	120 min	0	2 A	2 A	0	0	0
3h	150 min	0	1 A	0	1 A	1 A	0
	180 min	0	0	2 P	3 A	1 A	0
4h	210 min	2 A	0	0	0	0	0
	240 min	0	3 A	0	0	0	0
5h	270 min	0	0	8 A	0	0	0
	300 min	1 A	0	2 P	0	4 A	0
6h	330 min	5 A	0			1P	0
	360 min	1 P	0				

III.3.4 Emulsion à 30%

Tableau (III.11): CPT de l'émulsion à 30 %.

Temps de protection complète CPT		V1		V2		V3	
		Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif
1 h	30 min	0	0	0	0	0	0
	60 min	0	0	0	1 A	0	0
2 h	90 min	0	0	0	1 A	2 A	2 A
	120 min	0	0	0	4 A	0	0
3 h	150 min	0	0	0	0	0	0
	180 min	0	1 A	0	3 A	1 A	1 A
4 h	210 min	0	0	0	0	0	1 A
	240 min	0	0	0	0	1 A	0
5 h	270 min	0	0	0	0	6 A	0
	300 min	0	0	0	0	1 A	0
6 h	330 min	0	0	0	0	2 A	0
	360 min	0	0	0	0	3 A	0
7 h	390 min	0	0	8 A	0	1 P	0
	420 min	1 P	4 A	1 P	6 A		

8 h	450 min		1 P		1 P		
	480 min						

III.3.5 Produit algérien existant sur le marché « Moustiderm »

Tableau (III.12): CPT de Moustiderm® :

Temps de protection complète CPT		V1		V2		V3	
		Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif	Produit à tester	Témoin positif
1 h	30 min	2 A	0	0	0	0	0
	60 min	0	0	0	2 A	0	0
2 h	90 min	0	0	1 A	0	0	0
	120 min	0	0	0	0	0	0
3 h	150 min	0	0	0	1 A	0	0
	180 min	1 A	0	0	1 A	0	0
4 h	210 min	0	0	0	0	0	0
	240 min	2 A	0	1P	0	0	0
5 h	270 min	1 P	0			1 P	0
	300 min						

Les résultats de tous les tests sont résumés dans le tableau (III.13) ci-dessous :

Tableau (III.13): Tableau récapitulatif des durées de protection des formules testées.

Produit à tester	Le temps de protection complète
Formule lipido-alcoolique à 1 % de HEs	1.1 h
Formule lipido-alcoolique à 10 % en DEET	5.1 h
Emulsion à 20 % en DEET	5.8 h
Emulsion à 30 % en DEET	7.2 h
Moustiderm®	4.7 h

En conclusion de cette partie, on peut dire que le test « bras dans la cage », a permis de déterminer la durée d'efficacité répulsive sur les moustiques, de chaque formule développée. Dans le cas de la 1^{ère} formule lipido-alcoolique aux huiles essentielles, le temps de protection était faible en comparant avec la deuxième formule à base de DEET, où la durée d'efficacité a été prolongée jusqu'à 5 à 5 h30. Ceci explique le grand pouvoir répulsif de cette molécule synthétique par rapport aux huiles essentielles. Dans le cas du deuxième système, l'émulsion contenant 20 % de DEET, a assuré un temps de protection variant entre 5 h30 et 6 h30. L'émulsion à 30 % de DEET a assuré une durée de protection, la plus longue, de toutes les formules, et est la plus élevée par rapport au produit présent dans le marché algérien qui n'a donné qu'une protection de 4 h30 à 5 h. Enfin, les tests ont montré que l'émulsion dosée à 30 % de DEET a permis d'offrir un temps de protection très proche de celle de produit insecte écran® qui est plus dosé en DEET (50 %), Cela peut être expliqué par la présence d'agents filmogènes dans la formule ce qui a permis d'augmenter la résistance à l'humidité, ainsi que la technologie liée à la polydispersité des gouttelettes englobant le PA. Ces facteurs ont été favorables quant-à la prolongation de la durée de protection.

CONCLUSION GENERALE

Dans ce modeste travail, nous nous sommes proposées d'élaborer des systèmes répulsifs anti-moustiques sprayables.

Notre démarche était d'élaborer deux systèmes, le premier étant très commun dans le commerce qui est le système lipido-alcoolique à base d'huiles essentielles et de DEET, et le deuxième est une émulsion laiteuse à différentes teneurs en DEET; tous deux se présentant sous forme de spray.

Les systèmes lipido-alcooliques assureraient une protection de courte durée, à cause de la volatilité de l'alcool, réduisant ainsi la durée d'action des principes actifs, leurs avantages sont d'une part, la simplicité du procédé de fabrication et d'autre, leur bonne sprayabilité en raison de la faible viscosité de l'alcool. L'usage d'huiles essentielles comme insectifuges pourrait être à déconseiller dans les zones à risque de transmission de maladies vectorielles, en raison de leur faible durée de protection. Ceci dit, les systèmes lipido-alcooliques à base de DEET, offrent une durée de protection plus ou moins élevée.

Dans le cas des émulsions laiteuses, la difficulté résidait dans l'obtention d'un système stable dans le temps. Cette stabilité est assurée par une viscosité relativement élevée au repos. Le comportement liquide aux forts cisaillements qui est l'équivalent d'une pulvérisation, est un paramètre à prendre en compte car il traduit la sprayabilité de ces émulsions.

Les émulsions sont très avantageuses. En effet, le principe actif se trouvant dans la phase dispersée est « protégé » par la phase continue, celle-là contient du diméthicone et du HEC. Ces agents filmogènes qui assurent la fixation de la matière active répulsive sur la peau, prolongeraient leurs durées d'action, par un phénomène de rétention.

Sur le plan toxicologique, les émulsions obtenues sont moins dosées en DEET, en comparaison avec Insect écran®, et donc peuvent être utilisées par les femmes enceintes et les enfants à partir de 24mois, en tenant compte des recommandations récentes propres à l'usage des répulsifs cutanés.

Cependant, nous nous sommes heurtées face à des obstacles d'ordre expérimental, notamment la standardisation des méthodes de caractérisation physico-chimiques spécifiques aux répulsifs, vu qu'ils viennent tout juste d'intégrer la politique de la réglementation de l'autorisation de la mise sur le marché en Europe. Aussi, au cours de l'évaluation de la durée de protection complète, en raison du temps nécessaire à l'élevage pour obtenir plus de 6000 moustiques femelles, imposé par le protocole OMS.

En perspectives, la question sur l'efficacité des huiles essentielles contre les moustiques, reste relevée, leur durée d'action peut être prolongée, par des procédés de microencapsulation ou la nanotechnologie par exemple.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

1. OMS, *Maladies à transmission vectorielle*. 31 octobre 2017.
2. Berchi, S., *Résistance de certaines populations de Culex pipiens pipiens L. au malathion à Constantine (Algérie)(Diptera, Culicidae)*. Bulletin de la société entomologique de France, 2000. 105(2): p. 125-129.
3. Benallal Kamel, G.R.H.Z. *Aedes albopictus en Algérie*. 2018; Available from: <https://pasteur.dz/fr/vie-scientifique-pasteur/actualite/265-aedes-albopictus-en-algerie>.
4. OMS. *Maladies à transmission vectorielle*. 2017; Available from: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>.
5. Carnevale, P., et al., *The five pillars of family and individual protection against mosquitoes, vectors of pathogenic agents*. Medecine et sante tropicales, 2012. 22(1): p. 13-21.
6. Tennstedt, D., *Peau et moustiques*. Protèges en dermatoallergologie Lille, 2004: p. 91-104.
7. Goulu, M., *Développement d'une nouvelle stratégie de protection chimique contre les moustiques vecteurs de maladies: utilisation d'une association répulsif/insecticide afin d'optimiser l'efficacité du traitement tout en réduisant les doses utilisées*. 2015, Angers.
8. Toral y Caro, M., *Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur Culex pipiens pipiens*. 2005.
9. ATLANTIQUE, É.I.P.L.D.D.L. *LE CYCLE DE VIE DU MOUSTIQUE*. 2019; Available from: <https://www.eidatlantique.eu/page.php?P=144>.
10. Pages, F., E. Orlandi-Pradines, and V. Corbel, *Vecteurs du paludisme: biologie, diversité, contrôle et protection individuelle*. Médecine et maladies infectieuses, 2007. 37(3): p. 153-161.
11. Sérandour, J., *Contribution à l'étude des moustiques anthropophiles de France: le cas particulier du genre Coquillettidia*. 2007.
12. Rozendaal, J.A. and W.H. Organization, *La lutte antivectorielle: Méthodes à usage individuel et communautaire*. 1999.
13. Goislard, C., *Les répulsifs anti-moustiques à l'officine*. 2012.
14. de Gentile, L., *Protection personnelle antivectorielle*. 2012: IRD éditions.
15. OMS, *Maladies à transmission vectorielle*. 2017.
16. Berchi, S., *Bioécologie de Culex pipiens L.(Diptera: Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte*. Thèse Doc. Es. Scien. Univ. Constantine, 2000. 133.

17. Fonseca, D.M., et al., *Emerging vectors in the Culex pipiens complex*. Science, 2004. 303(5663): p. 1535-1538.
18. OMS, *Virus du Nil occidental*. 2017.
19. Paupy, C., et al., *Aedes albopictus, an arbovirus vector: from the darkness to the light*. Microbes and infection, 2009. 11(14-15): p. 1177-1185.
20. Benallal, K., et al., *First report of Aedes (Stegomyia) albopictus (Diptera: Culicidae) in Oran, West of Algeria*. Acta tropica, 2016. 164: p. 411-413.
21. IPA, i.p.d.A. 2018.
22. GENTILINI, *Médecine tropicale 6e édition*. 2012.
23. DUVALLET, et al. *Protection personnelle antivectorielle*. 2012; Available from: <http://books.openedition.org/irdeditions/9371>.
24. HCSP. *Recommandations d'usage des répulsifs*. 2019.
25. Debboun, M., S.P. Frances, and D. Strickman, *Insect repellents: principles, methods, and uses*. 2006: CRC Press.
26. Bakkali, F., et al., *Biological effects of essential oils—a review*. Food and chemical toxicology, 2008. 46(2): p. 446-475.
27. Combemale, P., *La prescription des répulsifs*. Med Trop, 2001. 61: p. 99-103.
28. Lundwall, E., et al., *Paludisme: se protéger des piqûres d'anophèles*. Rev Part, 2005. 55: p. 841-848.
29. Couderc, V., *Toxicité des huiles essentielles*. 2001.
30. Culex, E. and Z. Dengue, *Prévention des piqûres de moustiques (États-Unis)*. édition, P.e. 2007.
32. Couic-Marinié, F., D. Laurain-Mattar, and N. Koziol, *Huile essentielle de Corymbia citriodora*. Actualités Pharmaceutiques, 2018. 57(577): p. 55-56.
33. Kanko, C., et al., *Structure Des Composés Majoritaires Et Activité Insecticide Des Huiles Essentielles Extraites De Sept Plantes Aromatiques De Côte Divoire*. International Journal of Engineering and Applied Sciences. 4(10).
34. Kabouche, Z., et al., *Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria*. International Journal of Aromatherapy, 2005. 15(3): p. 129-133.
35. Debboun, M., S.P. Frances, and D. Strickman, *Insect repellents handbook*. 2014: CRC Press.
36. la Haute Autorité de Santé, H., *Protection personnelle antivectorielle*.
37. Burfield, T. and S.L. Reekie, *Mosquitoes, malaria and essential oils*. International Journal of Aromatherapy, 2005. 15(1): p. 30-41.
38. Rowe, R.C., P. Sheskey, and M. Quinn, *Handbook of pharmaceutical excipients*. 2009: Libros Digitales-Pharmaceutical Press.
39. HCSP, *Recommandations d'utilisation des répulsifs et biocides contre les moustiques* 2015: france.

40. Arfin, N. and H.B. Bohidar, *Concentration selective hydration and phase states of hydroxyethyl cellulose (HEC) in aqueous solutions*. Int J Biol Macromol, 2012. 50(3): p. 759-67.
41. Polywoda, A.D.G.H.P.T., *metastable insect repellent emulsion composition and method of use*. 2004.