

Effet Répulsif de Faibles Concentrations de l'Huile Essentielle de *Clausena anisata* (Rutaceae) Contre les Moustiques Adultes (Diptera: Culicidae)

Ayaba Z. Abagli

Lydia Hangnilo

Thiery B. C. Alavo

Laboratoire d'Entomologie Appliquée / Centre Edward Platzer,
Université d'Abomey-Calavi, Godomey, Bénin

[Doi:10.19044/esj.2023.v19n12p139](https://doi.org/10.19044/esj.2023.v19n12p139)

Submitted: 28 December 2022

Accepted: 20 April 2023

Published: 30 April 2023

Copyright 2023 Author(s)

Under Creative Commons BY-NC-ND

4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Abagli A.Z., Hangnilo L. & Alavo T.B.C. (2023). *Effet Répulsif de Faibles Concentrations de l'Huile Essentielle de Clausena anisata (Rutaceae) Contre les Moustiques Adultes (Diptera: Culicidae)*. European Scientific Journal, ESJ, 19 (12), 139.

<https://doi.org/10.19044/esj.2023.v19n12p139>

Résumé

La présente étude a évalué l'effet répulsif de faibles concentrations de l'huile essentielle de *Clausena anisata* contre le moustique adulte *Culex quinquefasciatus* aussitôt après application au laboratoire afin de déterminer la concentration optimale à utiliser pour la mise au point d'un répulsif. L'huile essentielle est extraite des feuilles séchées de *C. anisata* en utilisant la technique de distillation par la vapeur. Les concentrations de 0,25 %, 0,50 %, 0,75 %, 1 %, 1,25 %, et 1,50 % de l'huile essentielle de *C. anisata* ont été testées sur la peau de dix personnes volontaires. Pour les tests, la peau de la main et de l'avant-bras a été traitée. Immédiatement après application, la partie traitée était placée dans une cage contenant 25 femelles de moustiques *Cx. quinquefasciatus* élevés au laboratoire. Le nombre de moustiques qui se pose sur la peau traitée durant les 15 premières minutes est compté et le nombre de moustiques effectivement gorgés de sang est déterminé. Les résultats ont montré que le taux de répulsion augmente au fur et à mesure que la concentration de l'huile essentielle augmente. Ce taux de répulsion était de 64,91, 75, et 84,21 % pour les concentrations de l'huile essentielle de 0,25 %, 0,50 % et 0,75 %, respectivement. Les concentrations de 1 %, 1,25 %, et 1,50

% ont repoussé 100 % des moustiques. Le pourcentage de moustiques gorgés de sang sur les personnes traitées était de 5,74, 1,64, et 1,22 % pour les concentrations de 0,25 %, 0,50 %, et 0,75 %, respectivement. Aucun moustique n'était gorgé de sang pour les tests réalisés avec les concentrations de l'huile essentielle de 1 %, 1,25 %, et 1,50 %. Les résultats de cette étude indiquent que les faibles concentrations de l'huile essentielle de *C. anisata* ont un effet répulsif contre les adultes du moustique *Cx. quinquefasciatus*. Ces résultats suggèrent que les concentrations de 1 %, 1,25 %, et 1,50 % sont les concentrations de l'huile essentielle qui ont permis d'obtenir un effet répulsif optimal durant les 15 premières minutes qui suivent leur application. Nous suggérons donc l'évaluation de la persistance dans le temps de l'effet répulsif de différentes concentrations de cette huile essentielle contre les moustiques.

Mots-clés: Moustiques, *Clausena anisata*, Huiles essentielles, Répulsifs, Lutte anti-vectorielle

Repellent Effect of Low Concentrations of Essential Oil of *Clausena anisata* (Rutaceae) Against Adult Mosquitoes (Diptera: Culicidae)

Ayaba Z. Abagli

Lydia Hangnilo

Thiery B. C. Alavo

Laboratoire d'Entomologie Appliquée / Centre Edward Platzer,
Université d'Abomey-Calavi, Godomey, Bénin

Abstract

This paper focuses on evaluating the repellent effect of low concentrations of *Clausena anisata* essential oil against *Culex quinquefasciatus* immediately after application in the laboratory in order to determine the optimal concentration to use for the development of a repellent. The essential oil was extracted from the dried leaves of *C. anisata* using the steam distillation technique. Concentrations of 0.25 %, 0.50 %, 0.75 %, 1 %, 1.25 %, and 1.50 % of *C. anisata* essential oil were tested on the skin of ten human volunteers. For the tests, the skin of the hand and forearm was treated. Immediately after application, the treated part was placed in the cage containing 25 female laboratory reared *Cx. quinquefasciatus* mosquitoes. The number of mosquitoes landing and biting on the treated skin during a 15-min period post-application was recorded. Results showed that the repellency rates increased with increasing essential oil concentration. This repellency rate was

64.91, 75, and 84.21 % for essential oil concentrations of 0.25 %, 0.50 %, and 0.75 %, respectively. Concentrations of 1 %, 1.25 %, and 1.50 % repelled 100 % mosquitoes. The percentage of mosquitoes taking blood on treated persons was 5.74, 1.64, and 1.22 % for concentration of 0.25 %, 0.50 %, and 0.75 %, respectively. For tests performed with essential oil concentrations of 1 %, 1.25 %, and 1.50 %, no mosquitoes took blood. The results of this study indicate that low concentrations of *C. anisata* essential oil has a repellent effect against adults of *Cx. quinquefasciatus* mosquitoes. These results suggest that the concentrations of 1%, 1.25%, and 1.50% are the concentrations of the essential oil which made it possible to obtain an optimal repellent effect during the first 15 minutes following their application. For further investigations, the persistence of the repellent effect of different concentrations of this essential oil against mosquitoes should be assessed.

Keywords: Mosquitoes, *Clausena anisata*, Essential oils, Repellents, Mosquito control

Introduction

Les moustiques sont vecteurs de nombreuses maladies comme le paludisme, la filariose, le chikungunya, la dengue, la fièvre jaune, la maladie à virus du Nil occidental et la maladie à virus Zika (Marimuthu et al., 2016).

Afin de protéger les humains contre les piqûres de ces moustiques, des répulsifs chimiques de synthèse ont été élaborés. Parmi ces répulsifs chimiques figure le DEET (N,Ndiethyl-m-toluamide). Le DEET est un répulsif à large spectre, efficace et persistant sur la peau (Nerio et al., 2010). Cependant, des études ont montré que ce produit peut entraîner des risques pour l'environnement et pour la santé humaine en particulier pour les femmes enceintes et les enfants (Abagli & Alavo, 2011; Nerio et al., 2010). De plus, le DEET coûte cher et n'est pas abordable pour les populations africaines.

Il est donc indispensable d'adopter une méthode de gestion intégrée des moustiques vecteurs de maladies et de rechercher activement des répulsifs anti-moustiques moins coûteux et respectueux de l'environnement.

Plusieurs plantes de familles variées (Rutaceae, Lamiaceae, Meliaceae, Asteraceae, Annonaceae, Malvaceae et Labiatae) sont utilisées comme sources d'insecticides botaniques (Dwijendra, 2014). Parmi ces plantes, il y a *Clausena anisata* (Wild) Hook.

Des études réalisées en Afrique du Sud, en Éthiopie et au Nigéria ont montré que les populations locales utilisent la plante *C. anisata* pour éloigner les moustiques du corps humain (Mavundza et al., 2011; Karunamoorthi & Husen, 2012; Okunade & Olaifa, 1987). De plus, Khamala (2004) a prouvé que l'huile essentielle de *C. anisata* a un effet répulsif contre le moustique *An. gambiae s.s.* et Mukandiwa et al. (2016) quant à eux avaient testé l'effet

répulsif de l'extrait brut d'acétone de *C. anisata* contre les adultes du moustique *Ae aegypti* et avaient conclu que *C. anisata* avait un effet répulsif sur ces moustiques. Cependant, les résultats de ces chercheurs ne permettent pas de connaître la concentration optimale à utiliser pour la formulation d'un répulsif fait à base de cette huile. La présente étude avait pour but d'évaluer de façon successive l'effet répulsif de faibles concentrations de l'huile essentielle de *C. anisata* contre l'adulte du moustique *Cx. quinquefasciatus* aussitôt après application au laboratoire. Cela permettra de déterminer la concentration optimale à utiliser pour la mise au point d'un répulsif à base de cette huile.

Matériel et Méthodes

Extraction de l'huile essentielle :

Les feuilles sauvages de *C. anisata* récoltées au Bénin ont été séchées à l'ombre à une température de 27°C pendant trois jours avant l'extraction de l'huile essentielle. L'extraction de l'huile essentielle est faite par la technique d'entraînement par la vapeur et le dispositif utilisé est un distillateur de type Clevenger (Clevenger, 1928).

Elevage des moustiques :

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

Tests de répulsion de différentes concentrations de l'huile essentielle de *Clausena anisata*

Préparation des solutions

L'huile essentielle a été dissoute dans l'isopropanol (pur à 99,8 %) à des concentrations de 0,25 %, 0,50 %, 0,75 %, 1 %, 1,25 % et 1,50 %. L'huile essentielle dissoute dans l'isopropanol a été conservée dans des bouteilles sombres hermétiquement fermées et conservées au réfrigérateur à une température d'environ 4 °C avant son utilisation.

Procédure des tests de répulsion au laboratoire

Avant de déterminer l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle sur les moustiques, l'effet répulsif du solvant utilisé en solo sur les moustiques a été déterminé. Pour le faire, le comportement des moustiques par rapport à la peau traitée avec le solvant (isopropanol pur) a été comparé au comportement des moustiques par rapport à la peau non traitée. Ensuite, les variantes suivantes ont été testées : 0 % (isopropanol pur à 99,8 %), 0,25 %, 0,50 %, 0,75 %, 1 %, 1,25 %, 1,50 % de l'huile essentielle. Pour chaque variante, 10 répétitions ont été effectuées à raison d'un volontaire par répétition afin d'éviter que la différence d'attractivité des moustiques par les volontaires n'influe sur les résultats.

Les moustiques utilisés pour les tests de répulsion étaient âgés de huit à dix jours. Pour la réalisation des tests, les moustiques étaient triés par lot de 25 femelles à l'aide d'un aspirateur à bouche dans les cages couvertes de voile de moustiquaire. Afin de les affamer, ces moustiques étaient privés du jus sucré (sucrose) dix heures de temps avant le démarrage des tests.

Pour les tests, la peau de la main et de l'avant-bras a été traitée. La solution de l'huile essentielle de *C. anisata* était appliquée directement sur la peau des personnes participant à cette étude. La peau de chaque individu est traitée avec la solution de l'huile essentielle à l'aide de coton hydrophile imbibé de 3 ml de la solution. La partie traitée est introduite dans une cage contenant un lot de 25 femelles. Les tests de répulsion démarrent à 19 heures, heure à laquelle les moustiques *Cx. quinquefasciatus* deviennent actifs.

Durant les 15 premières minutes qui suivaient le traitement, le nombre de moustiques qui venaient se poser sur la partie traitée était recensé. Après le test, les moustiques étaient aspirés à l'aide d'un aspirateur à bouche dans un gobelet couvert de voile de moustiquaire. Le gobelet contenant les moustiques était conservé au congélateur à une température d'environ -20 °C afin de tuer les moustiques. Par la suite, les moustiques décongelés étaient observés à la loupe binoculaire pour déterminer le nombre de femelles effectivement gorgées de sang.

Analyses statistiques des données collectées

Le test de corrélation de Pearson a été réalisé pour déterminer s'il y a une corrélation entre la concentration de l'huile essentielle et le nombre de poses d'une part et d'autre part entre la concentration de l'huile essentielle et le nombre de gorgés. Le Progiciel de statistiques SPSS 16.0 a été utilisé pour réaliser ces tests.

Le pourcentage de moustiques posés et le pourcentage de moustiques gorgés de sang ont été calculés en utilisant les formules ci-après :

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

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

Le taux de répulsion pour chaque variante de concentration testée au laboratoire a été également calculé en utilisant la formule suivante (Sharma & Ansari, 1994) :

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

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

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

Les différents graphes qui traduisent les résultats obtenus ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel.

Résultats

Effet du solvant sur l'activité du moustique *Culex quinquefasciatus*

Les Figures 1a et b montrent que l'activité des moustiques *Cx. quinquefasciatus* sur la peau non traitée avec l'isopropanol et la peau traitée avec l'isopropanol est similaire. Le pourcentage de moustiques posés était de 18 et 12, respectivement, sur la peau non traitée et la peau traitée avec le solvant (Figure 1a). Le pourcentage de moustiques gorgés de sang était de 3,26 et 3,61, respectivement, sur la peau non traitée et la peau traitée avec le solvant (Figure 1b). Ces résultats montrent que l'isopropanol pur n'avait pas un effet répulsif sur les adultes du moustique *Cx. quinquefasciatus*.

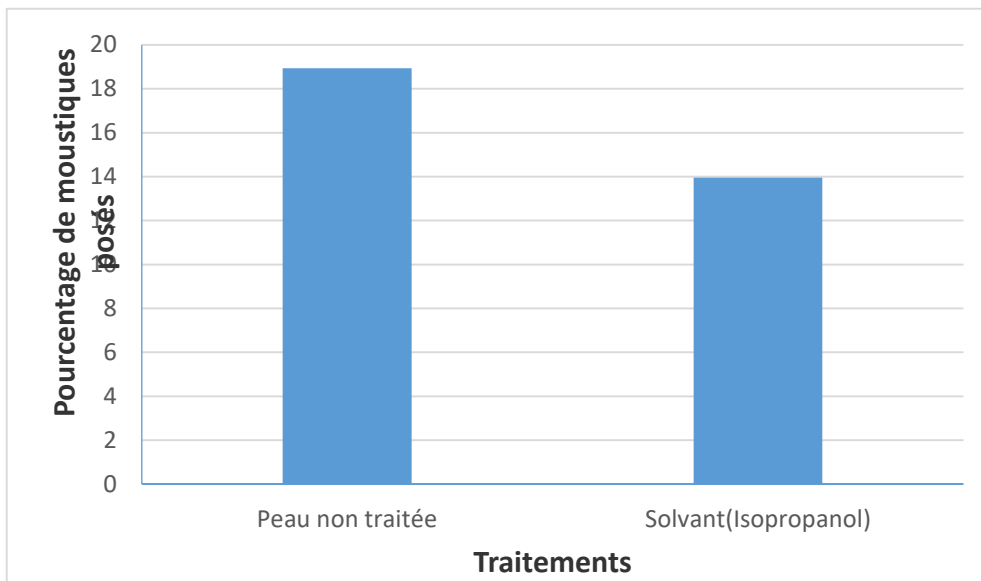


Figure 1a. Effet de l’isopropanol sur des moustiques adultes : pourcentage de moustiques posés sur la peau

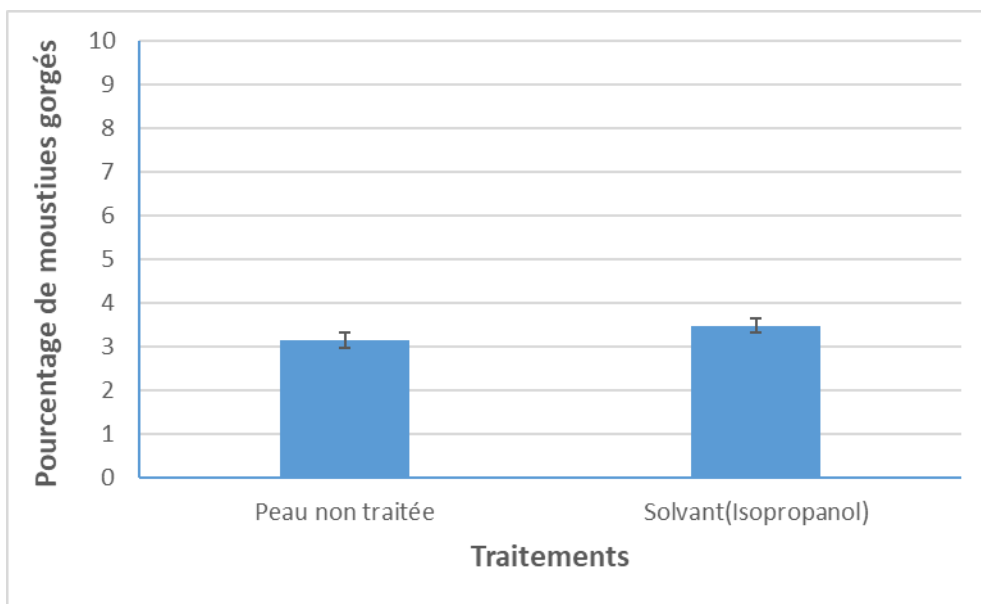


Figure 1b. Effet de l’isopropanol sur les moustiques adultes : pourcentage de moustiques gorgés de sang

Effet de l'huile essentielle de Clausena anisata sur les moustiques après application

Le pourcentage de moustiques posés sur des personnes impliquées dans l'étude était de 21,63 , 8,23 , 2,46 et 3,67 pour les concentrations de

0% (isopropanol), 0,25 % , 0,50 % et 0,75 % de l'huile essentielle, respectivement. Aucun moustique n'était posé sur la peau pour les concentrations de 1 % , 1,25 % , et 1,50 % (Figure 2a). Ainsi, le taux de répulsion de moustiques adultes était de 64,91 , 75 et 84,21% pour les concentrations de 0,25 % , 0,50 % et 0,75 % de l'huile essentielle, respectivement. Quant aux concentrations de 1 % , 1,25 % et 1,50 % , le taux de répulsion est de 100 %.

L'analyse statistique des données a révélé qu'il existe une corrélation négative ($r = - 0,589$) entre la concentration de l'huile essentielle et le nombre de moustiques posés. Ce qui signifie que le nombre de moustiques posés diminue au fur et à mesure que la concentration de l'huile essentielle de *C. anisata* augmente.

Le pourcentage de moustiques gorgés de sang sur les volontaires traités était de 10,17 , 5,74; 1,64 et 1,22 respectivement pour les concentrations de 0 % , 0,25 % , 0,50 % et 0,75 % de l'huile essentielle. Ce pourcentage de moustiques gorgés de sang est de 0% pour les concentrations de 1 % , 1,25 % et 1,50 % (Figure 2b).

L'analyse statistique des données a révélé qu'il existe une corrélation négative ($r = - 0,510$) entre la concentration de l'huile essentielle et le nombre de moustiques gorgés de sang. Ce qui indique que le nombre de moustiques gorgés de sang diminue au fur et à mesure que la concentration de l'huile essentielle de *C. anisata* augmente.

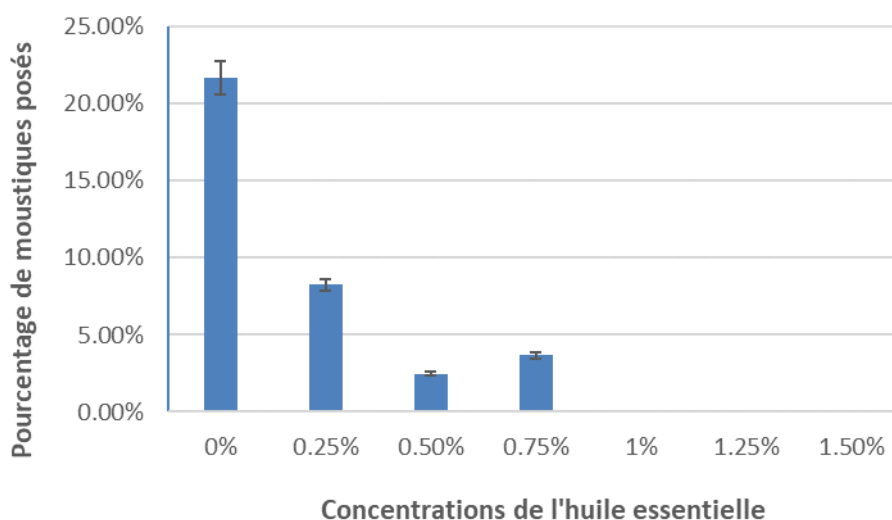


Figure 2a. Effet de différentes concentrations de l'huile essentielle de *Clausena anisata* sur les moustiques adultes : pourcentage de moustiques posés sur la peau

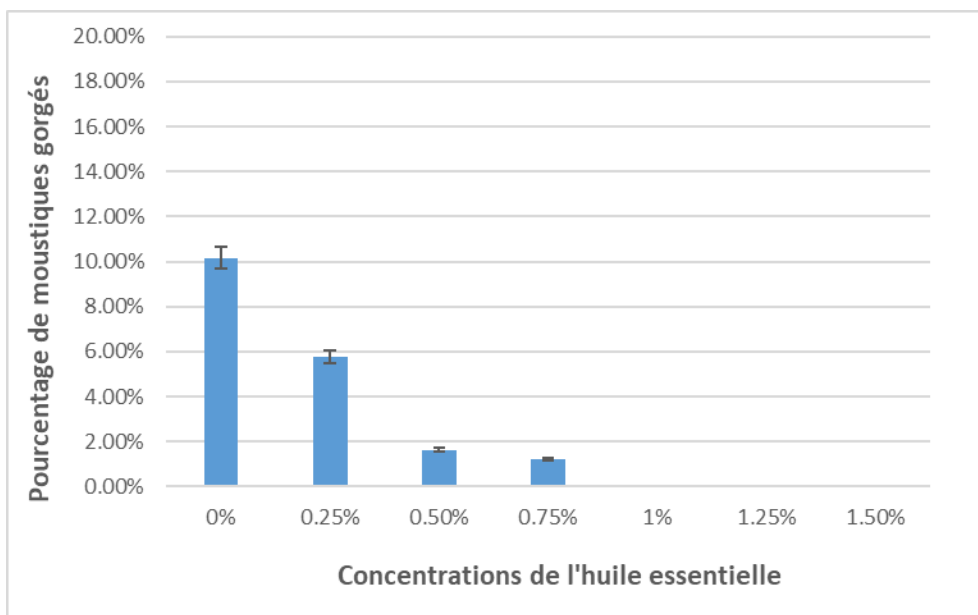


Figure 2b. Effet de différentes concentrations de l'huile essentielle de *Clausena anisata* sur les moustiques adultes : pourcentage de moustiques gorgés de sang

Discussion

Peu de travaux de recherches ont été consacrés à l'étude de l'effet répulsif de l'huile essentielle de *C. anisata* contre les moustiques. En effet, Khamala (2004) a prouvé que l'huile essentielle de *C. anisata* a un effet répulsif contre le moustique *An. gambiae s.s.* et Mukandiwa et al. (2016) quant à eux avaient testé l'effet répulsif de l'extrait brut d'acétone de *C. anisata* contre les adultes du moustique *Ae aegypti* et avaient conclu que *C. anisata* avait un effet répulsif sur ces moustiques. Cependant, ces travaux ne permettaient pas de connaître la concentration optimale à utiliser pour la formulation d'un répulsif fait à base de cette huile. En évaluant de façon successive l'effet répulsif de faibles concentrations de l'huile essentielle de *C. anisata* aussitôt après application, la présente étude a permis de déterminer la concentration optimale de l'huile essentielle à utiliser pour une protection maximale contre les moustiques.

Les résultats de la présente étude montrent que le pourcentage de moustiques posés et le pourcentage de moustiques gorgés de sang sur les volontaires traités diminuent au fur et à mesure que la concentration de l'huile essentielle augmente. Pour la concentration de 0,25 % de l'huile essentielle, le pourcentage de moustiques posés est de 8,23 % et le pourcentage de moustiques gorgés de sang est de 5,74 % tandis que pour la concentration de 1 %, aucune pose de moustique n'a été enregistrée et aucun moustique ne s'est gorgé de sang soient 0% de pose et 0 % de gorgé. A la concentration de 1 %, l'huile essentielle de *C. anisata* a donc permis de chasser 100 % des

moustiques pendant les 15 premières minutes qui suivent son application. Etant donné que, le taux d'élimination des moustiques est de l'ordre de 97 % pour les produits chimiques de synthèse reconnus comme efficaces (Balkew et al., 2006), la concentration de 1% de l'huile essentielle de *C. anisata* peut donc être considérée comme la concentration optimale à utiliser pour la mise au point d'un répulsif commercial.

Par ailleurs, l'analyse des résultats obtenus permet d'affirmer que l'effet répulsif de l'huile essentielle de *C. anisata* à faibles concentrations est meilleur à l'effet répulsif de l'huile essentielle de *Hyptis suaveolens* à des concentrations élevées. En effet, Abagli et al. (2012) ont testé l'effet répulsif immédiatement après application de différentes concentrations de l'huile essentielle de *H. suaveolens* et ont conclu que le pourcentage de moustiques posés pour les concentrations de 1 et 6 % est respectivement de 42 et 2 %. Pour ces mêmes auteurs, le pourcentage de moustiques gorgés de sang était de 22 et 3 % pour les concentrations de l'huile essentielle de 1 % et 6 %, respectivement. En comparant les résultats de la présente étude à ceux obtenus par (Abagli et al., 2012), il ressort que la faible concentration de 0,25 % de l'huile essentielle de *C. anisata* protège plus que la concentration de 1% de l'huile essentielle de *H. suaveolens*. De même, la concentration de 1% de l'huile essentielle de *C. anisata* repousse plus les moustiques que la concentration de 6% de l'huile essentielle de *H. suaveolens*. De plus, la concentration optimale de l'huile essentielle de *H. suaveolens* était de 6 % avec un taux de répulsion d'environ 97 % (Abagli & Alavo, 2020; Abagli et al., 2012) et celle de l'huile essentielle de *C. anisata* est de 1 % avec un taux de répulsion de 100 %. On en déduit alors que pour une protection optimale, la quantité de l'huile essentielle de *H. suaveolens* à utiliser est 6 fois supérieure à la quantité de l'huile essentielle de *C. anisata*.

Sachant que, le rendement en huile essentielle est d'environ 0,23 % pour les feuilles de *H. suaveolens* (Adjou & Soumanou, 2013) et de 0,14 % pour les feuilles de *C. anisata* (Avlessi et al., 2004), la quantité de l'huile obtenue après extraction à partir des feuilles de ces plantes est donc faible. Par conséquent, pour mettre au point un répulsif fait à base d'une huile essentielle, il serait important de privilégier l'huile qui offre une meilleure protection à une faible concentration. L'huile essentielle de *C. anisata* serait donc la mieux adaptée pour la formulation d'un tel répulsif qui nécessiterait une petite quantité d'huile. Ce répulsif serait alors moins coûteux et son prix serait à la portée des populations dans le besoin pour se protéger des piqûres de moustiques.

En Afrique subsaharienne, bien que les moustiquaires imprégnées d'insecticides chimiques soient recommandées dans la lutte contre les moustiques vecteurs de maladies, elles ne suffisent pas pour lutter contre ces vecteurs (Abagli et al., 2012). Ceci est plus préoccupant dans les conditions

d'Afrique de l'Ouest où l'urbanisation anarchique ou mal planifiée permet la prolifération des moustiques (Alavo et al., 2010). En réalité, les populations humaines, avant d'aller se coucher sous les moustiquaires imprégnées, se font piquées par les moustiques qui leur transmettent la maladie. Pour mieux réussir la lutte contre les vecteurs de maladies et réduire considérablement la prévalence du paludisme et autres maladies vectorielles il serait alors nécessaire d'opter pour la gestion intégrée de ces moustiques vecteurs de maladies comme l'ont recommandé Okech et al. (2008). Les résultats obtenus au cours des travaux de la présente étude permettent de conclure que l'huile essentielle de *C. anisata* est un produit à prendre en compte dans le système intégré de gestion des moustiques vecteurs de parasites à l'origine de différentes maladies.

S'il est vrai que les produits naturels d'origine botanique ont été utilisés pendant une longue période et ont été prouvés traditionnellement non toxiques et appropriés pour le contrôle des vecteurs (Koul, 2008), on peut estimer que l'huile essentielle de *C. anisata* est un bon candidat en tant que répulsif anti-moustique à passer sur la peau. Toutefois, il faudra d'une part, effectuer des tests de rémanences pour déterminer la concentration de l'huile essentielle de *C. anisata* qui protégera le plus longtemps possible et d'autre part, effectuer des tests de toxicité afin de confirmer que cette huile essentielle est utilisable sur la peau.

Conclusion

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que l'huile essentielle de *C. anisata* à faibles concentrations repousse effectivement le moustique *Cx. quinquefasciatus*. Les concentrations de 1 %, 1,25 % et 1,50 % de l'huile essentielle ont permis de chasser 100 % des moustiques durant les 15 premières minutes qui suivent leur application. L'évaluation de la persistance dans le temps de l'effet répulsif de différentes concentrations de cette huile essentielle contre les moustiques sera étudiée ultérieurement.

Remerciements

Nous remercions sincèrement toutes les personnes volontaires qui ont participé à cette étude.

Ce travail n'a reçu aucun financement.

Déclaration éthique

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

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

Paternité : Ayaba Z. Abagli, Lydia Hangnilo et Thiery B. C. Alavo ont contribué à part égale aux travaux et à la rédaction de cette publication.

References:

1. Abagli, A. Z. & Alavo, T. B. C. (2011). Essential oil from bush mint, *Hyptis suaveolens*, is as effective as DEET for personal protection against mosquito bites. *The Open Entomology Journal* 5, pp. 45-48.
2. Abagli, A. Z., Alavo, T. B. C., Avlessi, F., & Moudachirou, M. (2012). Potential of the bush mint, *Hyptis suaveolens* essential oil for personal protection against mosquito biting. *Journal of the America Mosquito Control Association*. 28(1), 15-20.
3. Abagli, A. Z. & Alavo, T. B. C. (2020). Potentialités insectifuges du gros baume, *Hyptis suaveolens* Poit. (Lamiaceae) : Perspectives pour la lutte contre les moustiques en zones tropicales. Review Paper. *Journal of Applied Biosciences* 149: 15330 – 15337..
4. Adjou, E. S. & Soumanou, M. M. (2013). Efficacité des extraits de plantes contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin *Journal of Applied Biosciences* 70:5555– 5566
5. Alavo, T. B. C., Abagli, A. Z., Accodji, M., & Djouaka, R. (2010). Unplanned urbanization promotes the proliferation of disease vector mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Open Entomol J* 4:1–7.
6. Avlessi, F., Dangou, J., Wotto, V. D., Alitonou, G. A., Sohounhloue, D. K., & Menut, C. (2004). Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena anisata* (Wild) Hook. C. R. Chimie 7 : 1057–1061.
7. Balkew, M., Elhassen, I., Ibrahim, M., Gebre-Michael, T., & Engers, H. (2006). Very high DDT-resistant population of *Anopheles pharoensis* Theobald (Diptera: Culicidae) from Gorgora, northern Ethiopia. *Parasite* 13(4) pp. 327-329.
8. Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 17: 345-349.
9. Dwijendra, S. (2014). *Advances in Plant Biopesticides* ISBN 978-81-322-2006-0. DOI 10.1007/978-81-322-2006-0_19, © Springer India (eBook).
10. Karunamoorthi, K. & Husen, E. (2012). Knowledge and self-reported practice of the local inhabitants on traditional insect repellent plants in Western Hararghe zone, *Ethiopia Journal of Ethnopharmacology* 141:212– 219.

11. Khamala, S. S. (2004). Bioevaluation of Insecticidal and Repellent Plants from Central Region of Kenya and Chemical Identification of Bioactive Derivatives. A thesis submitted in partial fulfillment for the award of the degree of Master of Science of Kenyatta University
12. Koul, O. (2008). Phytochemicals and insect control: an antifeedant approach. *Crit Rev Plant Sci* 27:1-24.
13. Marimuthu, G., Shine, K., Naiyf, S. A., & Giovanni, B. (2016). Acute toxicity and repellent activity of the *Origanum scabrum* Boiss. & Heldr. (Lamiaceae) essential oil against four mosquito vectors of public health importance and its biosafety on non-target aquatic organisms. *Environ Sci Pollut Res* DOI 10.1007/s11356-016-7568-2ui.
14. Mavundza, E.J., Maharaj, R., Finnie, J.F., Kabera, G., & Van Staden, J. (2011). An ethnobotanical survey of mosquito repellent plants in uMkhanyakude district, KwaZulu-Natal province, South Africa. *J. Ethnopharmacol.* 137, pp. 1516-1520.
15. Mukandiwa, L., Eloff, N.J., & Naidoo, V. (2016). Repellent and mosquitocidal effects of leaf extracts of *Clausena anisata* against the *Aedes aegypti* mosquito (Diptera: Culicidae) *Sci Pollut Res* 23: pp. 11257–11266.
16. Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko E. (2010). Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology* 101: pp. 372–378.
17. Okech, B. A., Mwobobia, I. K., Kamau, A., Muiruri, N., Mutiso, N., Nyambura, J., Mwatele, C., Amano, T., & Mwandawiro, C.S. (2008). Use of integrated malaria management reduces malaria in Kenya. *PLoS One* 3:e4050.
18. Okunade, A.L.I. & Olaifa, J. I. (1987). Estragole: an acute toxic principle from the volatile oil of the leaves of *Clausena anisata*. *Journal of Natural Products* 50, pp. 990–991.
19. Sharma, V. P. & Ansari, M. A. (1994). Personal protection from mosquitoes (Diptera: Culicidae) by burning neem oil in kerosene. *J Med. Entomol.*, 31: pp. 505-507.