

Effets répulsifs du produit Tiques & Tac *in vitro*
sur la tique *Ixodes ricinus*

PREPARÉ POUR:

M. Christian Piaget

Centre Christian Piaget

Grand'Rue 180

1454 L'Auberson / Suisse

CH - 1211 Genève 8

Mai 2016

par Dr. Patrick Guerin Lab ID A03-09
Institut de Biologie, Rue Emile-Argand 11,
2000 Neuchâtel, Suisse

INSTITUTE OF
BIOLOGY

UNIVERSITY OF NEUCHATEL

Université
de Neuchâtel **unine**

Contenu

Contents

1. Objectif.....	3
2. Résumé	3
3. Matériels	3
4. Méthode.....	3
5. Procédure	4
6. Modifications	5
7. Resultats.....	5
7. Conclusions	6
8. Figure et Tableau.....	7
10. Référence	8

Numéro d'étude: CHP-2016-01

Sponsor:

M. Christian Piaget

Centre Christian Piaget

Grand'Rue 180

1454 L'Auberson / Suisse

Test Substance Identification: Tiques & Tac

Date de réception: le 6 avril 2016

Etude commencée le: 20 avril 2016

Test commencé le: 27 avril 2016

Test Terminé le: 28 avril 2016

1. Objectif

Evaluer les effets répulsifs de « Tiques & Tac », produit répulsif sur la tique européenne *Ixodes ricinus*, *in vitro*. Le produit a été fourni par M. Christian Piaget.

Afin d'évaluer l'efficacité du produit, on a comparé le comportement des nymphes d'*Ixodes ricinus* sur une plaque en verre chauffante traitée avec le produit contre la même surface traitée avec de l'éthanol (contrôle négatif) et une autre traitée avec le DEET (contrôle positif).

2. Résumé

Le produit évalué a démontré un effet répulsif contre les tiques équivalant ou proche de DEET, le contrôle positif.

3. Matériels

Disques ronds en aluminium (30 mm de diamètre), trois pinceaux fins, un bâton de colle, nymphes d'*I. ricinus* nymphes, une plaque en verre chauffante (avec un contrôle thermostatique).

Produit à tester (fournis par Christian Piaget).

Et deux contrôles:

1. Contrôle positif: DEET (16 µg/cm²) et
2. Contrôle négatif: Éthanol (C₂H₅OH).

Les nymphes d'*Ixodes ricinus* utilisées ont été capturées dans la nature.

4. Méthode

Les tiques montrent une réponse géotaxique négative marquée suite à un contact avec un hôte potentiel, c.-à-d. qu'elles grimpent pour localiser un site afin de s'attacher et de s'alimenter. Au contraire, les tiques exposées aux substances répulsives réagissent en sens inverse, c.-à-d. géotaxie positive et elles descendent ou tombent de l'hôte/surface traitée. Elles démontrent les mêmes réponses en condition *in vitro* sur une plaque en verre chauffante (34°C) en position verticale, que dans les situations naturelles.

Voir « Warm glass plate *in vitro* assay (Kröber *et al.* 2013) » pour plus d'informations.

5. Procédure

Test *in vitro* test sur une plaque en verre chauffante. Les tests ont eu lieu à la température ambiante (23°C) et à l'humidité 60%.

Les réponses comportementales individuelles des nymphes d'*Ixodes ricinus* aux produits à tester *in vitro* sur une plaque en verre chauffante ont été notées. La température de la plaque est contrôlée par un thermostat afin de maintenir une température constante de 34°C à la surface – la même température que la surface de la peau humaine. Un cercle de 130 mm de diamètre a été tracé sur la plaque, divisé par une ligne horizontale (voir Figure 1 dans Kröber *et al.* 2013). La zone circulaire a été traitée par le produit à tester.

Contrôles : 470 µl d'éthanol ont été étalés de façon égale sur la zone circulaire délimitée sur la plaque en verre chauffée à 34°C et laissés à évaporer (contrôle négatif). Le DEET a été étalé de façon égale à 16 µg/cm² sur la zone circulaire délimitée sur la plaque en verre chauffée à 34°C et laissé à évaporer pendant 15 minutes (contrôle positif).

Produit à tester : Le produit à tester a été étalé sur la zone circulaire délimitée sur la plaque en verre pour donner la concentration de produit selon les recommandations du fabricant (1 spray par le flacon original (100 µl) sur une surface de 60 mm diam. c.-à-d. 3.5 µl/cm² ou 470 µl pour le cercle de 130 mm diam.

Après l'application du produit, la plaque en verre a été chauffée à 34°C et laissée à évaporer pendant 15 minutes.

Un disque en aluminium (30 mm diam.) a été collé au centre du rond traité et la plaque a été penchée à l'angle 15° de la verticale. 15 minutes après l'application du produit, les nymphes ont été placées, une ou deux à la fois, avec le pinceau sur le disque en aluminium et leurs comportements ont été observés pendant 5 minutes. 12 nymphes ont été observées pour chaque répétition.

La procédure a été répétée trois fois pour chaque produit (c.-à-d. trois répétitions par produit ; 36 tiques), pour le DEET (contrôle positif) et le contrôle négatif (l'éthanol [C₂H₅OH]).

Afin d'évaluer les effets répulsifs des produits à tester, les comportements suivants ont été notés (voir Figure 2 dans Kröber *et al.* 2013):

1. Le nombre de tiques qui **marchent vers le bas** et qui quittent la zone traitée au-dessous de la ligne horizontale.
2. Le nombre de tiques qui **tombent** du disque en aluminium ou de la zone traitée alentour.
3. Le nombre de tiques qui **ne quittent** ni le disque en aluminium ni la zone traitée en 5 minutes.
4. Le nombre de tiques qui marchent vers le haut et qui quittent la zone traitée au-dessus de la ligne horizontale (**non-affectées**).
5. Les tiques qui quittent la zone traitée ayant marché parallèlement au long de la ligne horizontale ou qui changent le sens de marche du haut vers le bas ou vice-versa avant de quitter la zone traitée sont classifiées sous « **autres comportements** ».

Les "**Tiques Affectées**" par les produits sont la somme de celles qui se sont comportées d'une des manières suivantes:

Les tiques qui ont marché vers le bas (1).

Les tiques qui sont tombées du disque central ou de la zone traitée (2).

Les tiques qui n'ont quitté ni le disque central ni la zone traitée (3).

6. Modifications

Pas de modifications.

7. Resultats

Effets sur les nymphes d'*I. ricinus*

Contrôles

Sur le contrôle négatif d'éthanol [C₂H₅OH] la plupart des tiques (97 %) ont été non-affectées car elles ont quitté la zone traitée en marchant vers le haut. Seulement une tique (3.0 %) a changé de direction en marchant (Figure 1 et Tableaux 1).

Sur le DEET, le contrôle positif (16 µg/cm²), 94 % des tiques ont été affectées. La plupart (83 %) sont tombées du disque central en aluminium ou de la zone traitée (Figure 1 et Tableaux 1).

Produits testés

Tiques affectées

Le produit **Tiques & Tac** a démontré **un effet répulsif très bon ou excellent** sur les tiques, avec 86% (58- 92%) de tiques affectées (Figure 1 et Tableaux 1).

Le comportement des tiques


La moitié des tiques exposées au DEET à 16 µg/cm², sont tombées (47 %), l'autre moitié des tiques ont quitté la zone traitée en marchant vers le bas (42 %). Ce dernier comportement est une réponse typique des tiques aux doses élevées des constituants répulsifs.

Le même effet a été observé avec le produit **Tiques & Tac**. Le pourcentage de tiques qui ont marché vers le bas (47 %) vis-à-vis du pourcentage des tiques qui se sont laissées tomber (39 %) était même plus élevé ce qui constitue un signe d'efficacité du produit (voir Kröber *et al.* 2013, section 3.1.3. "*Mode of action of test products*").

7. Conclusions

Le produit **Tiques & Tac** a démontré un effet répulsif équivalant au DEET, le contrôle positif.

Je soussigné, déclare qu'il s'agit d'un compte rendu vrai et fidèle

A handwritten signature in blue ink, reading "Patrick Guerin". The signature is written in a cursive style with a horizontal line at the end.

Dr. Patrick Guerin

Directeur de recherches

Laboratoire de la Physiologie Animale

Neuchâtel, le 17 mai 2016

8. Figure et Tableau

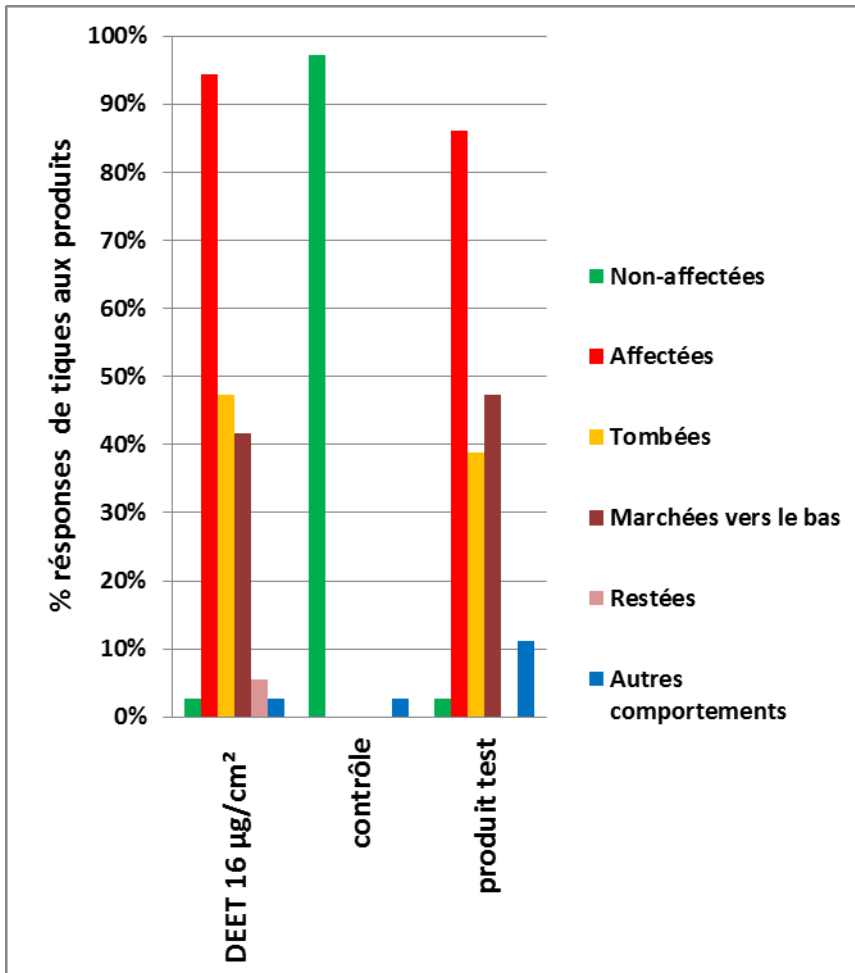


Figure 1

Pourcentage des catégories comportementales de nymphes d'*Ixodes ricinus* sur une plaque chauffante traitée par « Tiques & Tac » ainsi que les contrôles : le DEET et l'éthanol.

Un cercle de 130 mm de diamètre a été traité avec le produit fourni. Les pourcentages ont été calculés sur les totaux des trois répétitions de chaque produit dans chaque catégorie comportementale.

Tiques affectées : La somme des tiques qui quittent la zone traitée en marchant vers le bas, qui tombent de la plaque ou qui restent dans la zone traitée pendant plus de 5 minutes.

Tableau 1

Pourcentage de nymphes d'*Ixodes ricinus* affectées et leurs façons de réagir aux produit fournis par Christian Piaget ainsi qu'aux contrôle négatif (éthanol) et positif (DEET) *in vitro*.

	DEET 16 µg/cm ²	contrôle	produit test
Ayant marché vers le bas	42%	0%	47%
Tombées	47%	0%	39%
Restées	6%	0%	0%
Affectées	94%	0%	86%
Non-affectées	3%	97%	3%
Autres comportements	3%	3%	11%

10. Référence

1. Kröber et al. (2013) A standardised *in vivo* and *in vitro* test method for evaluating tick repellents, Pestic. Biochem. Physiol. 107, 160-168.

Disponible à: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357513001247>