

Évaluation de l'efficacité *in-vivo* d'une mixture d'extraits de plantes ethno vétérinaires sur les formes non imago et adultes de la tique *Rhipicephalus microplus* chez les bovins de race Borgou au Bénin

Safiou Bienvenu ADEHAN^{1*}, Kadidjatoulaï Opéyémi BADAROU³, Ferdinand DOUNKPÈ², Landry Maurice KOUNONZO⁴, Traoré MAMA YACOUBOU⁴, Eustache Igué BIAOU¹, Gérard Septime Olivier DOSSOU-GBÉTÉ¹, Maxime MADDER⁵ et Souaïbou FAROUGOU⁴

¹ Institut National des Recherches Agricole du Bénin (INRAB), Centre de Recherches Agricole (CRA) d'Agonkanmey, Laboratoire d'Appui à la Santé et à la Nutrition Animale et Halieutique (LASNAH), Calavi, Bénin

² Laboratoire National des Stupéfiants et de Toxicologie, Centre Béninois de Recherche Scientifique et de l'Innovation (CBRSI), UAC, Bénin

³ Institut National des Recherches Agricole du Bénin (INRAB), Centre de Recherches Agricoles en Productions Animales et Halieutique (CRA-PAH), Bénin

⁴ Université d'Abomey-Calavi (UAC), École Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC) Département de Production et Santé Animale, Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles (URMAT), Calavi, Bénin

⁵ Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Nationalestraat 155, 2000, Anvers, Belgique

(Reçu le 23 Octobre 2022 ; Accepté le 02 Décembre 2022)

* Correspondance, courriel : safiou.adehan@epac.uac.bj

Résumé

L'évaluation *in-vivo* de l'efficacité acaricide d'une mixture d'extraits de plantes médicinales composée des extraits volatils de *Azadirachta indica* (85 %), de *Cymbopogon citratus* (6 %) et de *Ocimum gratissimum* (6 %), le tout en émulsion stabilisée avec du tween 20 (3 %) dans 200 ml/litre d'eau a été effectuée. Les huiles essentielles de ces plantes ont été obtenues par hydrodistillation et leur efficacité démontrée sur les larves, les nymphes et les adultes de la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, Acariens, Ixodidae) par pulvérisation des animaux préalablement et artificiellement infestés avec des larves de la tique ciblée. Quatre lots de 02 animaux chacun ont été constitués. Il s'agit des lots témoins positifs, témoins négatifs et deux lots expérimentaux à savoir ceux ayant reçu les concentrations à 10 % et à 20 % de la mixture. Les différents types de traitements ont permis de réduire non seulement le nombre total de femelles tombées par jour et celui des femelles vivantes tombées par jour respectivement de 0,0963 ~ 0,1 [exp (-2,34003369)] et de 0,09578449 ~ [exp (-2,3456545)], mais aussi le nombre moyen d'œufs pondus et d'œufs éclos par différents traitements. Ainsi, le traitement expérimental à 20 % a permis de réduire le nombre total des femelles tombées et celui des femelles vivantes tombées respectivement de 0,042443606 [exp (-3,15957900)] et de 0,035649655 [exp (-3,3340158)]. Une grande efficacité de la mixture à 20 % a été obtenue par la réduction du poids des femelles vivantes. L'utilisation de la mixture a également permis de réduire le poids des œufs pondus et donc de réduire le nombre de larves de tiques à naître. L'efficacité des mixtures à 10 % et à 20 % est nettement plus prononcée que celle de la solution d'acaricide chimique appliquée au lot témoin positif.

Mots-clés : efficacité, *in-vivo*, mixture d'extraits de plantes, *Rhipicephalus microplus*, Bénin.

Abstract

Evaluation of the *in-vivo* efficacy of a mixture of ethno veterinary plant extracts on no imago and adult forms of the tick *Rhipicephalus microplus* in Borgou cattle in Benin

This work aims to evaluate *in-vivo* the acaricidal efficacy of a mixture of medicinal plant extracts composed of volatile extracts of *Azadirachta indica* (85 %), *Cymbopogon citratus* (6 %) and *Ocimum gratissimum* (6 %), all in emulsion stabilized with tween 20 (3 %) in 200 ml/litre of water. The extracts (essential oils) of these plants were obtained by hydrodistillation and their effectiveness on the larvae, nymphs and adults of the *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick (Canestrini, Mites, Ixodidae) by spraying animals previously and artificially infested with larvae of the target tick. Four batches of 02 animals each were formed. These are the batches of positive controls, negative controls and the two experimental batches, namely those having received the 10 % and 20 % concentrations of the mixture. The different types of treatments reduced not only the total number of fallen females per day as well as the number of live fallen females per day by $0,0963 \sim 0,1$ [exp (-2,34003369)] and $0,09578449 \sim$ [exp (-2,3456545)] respectively, but also the average number of eggs laid and eggs hatched by different treatments. Also, the experimental treatment at 1020 % reduced the total number of fallen females and fallen live females by $0,1216769 \sim 0,12$ $0,042443606$ [exp (-3,15957900-2,10638600)] and $0,035649655$ $0,1083187 \sim$ respectively, $0,1$ [exp (-3,3340158-2,2226772)]. A high efficacy of the 120 % mixture compared to the 20 % mixture was obtained in reducing the weight of live females. The use of the mixture also reduced the weight (number) of eggs laid and therefore reduced the number of tick larvae to be born. The effectiveness of the 10 % and 120 % mixture is much more pronounced than that of the chemical acaricide solution applied to the 20 % positive control batch.

Keywords : *efficiency, in vivo, mixture of plant extracts, Rhipicephalus microplus, Benin.*

1. Introduction

Au Bénin, le secteur agricole contribue pour 39 % au PIB et la part prise par l'élevage est estimée à 17 %, activité de laquelle la population tire entièrement ou partiellement ses revenus. Avec un cheptel numérique important et varié qui compte environ 2 166 000 têtes de bovins, 860 000 têtes d'ovins et également 860 000 têtes de caprins [1], le sous-secteur de l'élevage fournit annuellement en termes de ressources alimentaires 23 431 000 tonnes de viande et d'abats et 107 310 litres de lait [1]. En outre, cette activité constitue un puissant moyen de lutte contre la pauvreté, en ce qu'elle permet aux ménages particulièrement les plus vulnérables d'accéder à des ressources monétaires non moins négligeables appréciables. Cependant, une contrainte majeure limite le développement de l'élevage ainsi que l'amélioration des productions animales en Afrique de l'Ouest en général et au Bénin en particulier. Celle-ci demeure une entrave majeure au bon état sanitaire des animaux [2] qui est affecté par les infestations par les tiques et les maladies qu'elles transmettent au bétail [3]. Les tiques en général et la tique *Rhipicephalus microplus* (*Rh. microplus*) en particulier constitue un problème majeur à travers les régions tropicales et subtropicales de par le monde entier. Elles y transmettent la babésiose causée par des protozoaires (*Babesia bigemina* et *Babesia bovis*) ainsi que l'anaplasmose due à *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale* et *Anaplasma phagocytophilum* [4, 6] au bétail et parfois aux humains qui affectent considérablement leur état de santé [7]. C'est la plus importante tique parasite du bétail dans le monde. Ces acariens sont associés à la baisse des productions (lait et viande) ainsi qu'aux mortalités parmi les animaux, avec pour conséquences des pertes économiques de plusieurs millions de dollars sur le plan mondial [8, 11]. L'utilisation des acaricides de synthèse demeure jusqu'à nos jours le moyen le plus efficace de lutte contre les tiques. Toutefois, elle a montré ses limites en développant des phénomènes de résistance chez certaines espèces de tiques vis-à-vis de ces produits [12],

une faible rémanence entraînant du coup des utilisations répétées avec comme conséquences la pollution environnementale et des risques très importants de contamination des produits animaux (lait et viande) à partir de leurs résidus [13, 14]. Au vu de cette situation, il urge de développer des stratégies alternatives de contrôle des tiques et maladies transmises. Ainsi, depuis plusieurs années, des essais *in-vitro* sont entrepris pour tester l'efficacité de l'activité acaricide des extraits éthanoliques et des huiles essentielles voire d'autres types d'extraits issus de nombreuses autres espèces végétales médicinales à effets acaricides sur la tique exotique pour la mise au point d'acaricides moins nocifs pour l'environnement et les humains, à coûts réduits et abordables pour les éleveurs [12, 17]. Toutefois, l'utilisation des méthodes non chimiques de contrôle incluant celle des extraits de plantes contenant des composés acaricides ont été également proposées par certains auteurs [18, 19] dans le but de minimiser les impacts environnemental et économique des acaricides de synthèse. La recherche de procédés naturels [20] utilisant des bio acaricides à base d'extraits de plantes est une alternative pour le contrôle des populations de tiques. Les soi-disant pesticides verts prétendent être les moyens les plus attractifs dans le contrôle des ectoparasites [21, 26], mais ont montré de nombreuses failles qui mettent l'accent sur leurs potentiels souvent peu fiables de contrôle des populations de tiques [19]. Toutefois, ils peuvent être potentiellement associés à d'autres moyens de contrôle, en accord avec le critère de gestion intégrée des vecteurs [27, 28]. Des études ont montré que les huiles essentielles de certaines plantes telles que *Ocimum americanum* (Linn. *Lamiales*) et *Ocimum gratissimum* (Linn. *Lamiales*, *Lamiaceae*) possèdent des propriétés biologiques avérées. En effet, il a été démontré que *Ocimum americanum* possède des propriétés antimicrobiennes et insecticides [29, 30]. De même, les propriétés insecticides [32], antimicrobiennes [31] et acaricides [32] de *Ocimum gratissimum* ont été également signalées. La présente étude a été initiée suite aux résultats concluants obtenus après une série de tests *in-vitro* [33] pour se dérouler à l'Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles (URMAT) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC). Elle vise à évaluer l'efficacité *in-vivo*, d'une mixture d'huiles essentielles extraites de *Azadirachta indica* (*A. indica*), *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*) et *Ocimum gratissimum* (*O. gratissimum*) sur les non imagos et les formes adultes de la tique *Rhipicephalus microplus*.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel biologique animal

Le matériel animal est composé de huit bovins de race Borgou dont quatre expérimentaux et quatre témoins (deux positifs et deux négatifs) qui ont été tous installés dans des boxes individuels pour le déroulement de l'expérimentation puis des larves de 14 à 21 jours d'âge de *Rh. microplus* [12].

2-2. Matériel biologique végétal

Il comprend les plantes médicinales : *Azadirachta indica* (*A. indica*), *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*) et *Ocimum gratissimum* (*O. gratissimum*) à partir desquelles les huiles essentielles ont été extraites pour la préparation de la mixture dont l'efficacité a été évaluée.

2-3. Matériel technique

Le matériel technique est lui essentiellement constitué entre autres de boîtes de pétri, de tubes, d'un incubateur, d'un thermostat, d'un ruban adhésif, de toile de gaze à mailles fines, d'une balance et d'une loupe binoculaire.

2-4-Extraction des huiles essentielles à partir des plantes médicinales pour la préparation de la mixture

Les feuilles des trois différentes plantes médicinales ont été récoltées et séchées à l'abri du soleil et à la température ambiante du laboratoire (25°C) pendant 24 heures avant l'extraction de l'huile [34]. Les huiles ont été extraites par hydro distillation dans un alambic en inox de 250 litres. Elle a été réalisée à partir des feuilles fraîches de chacune des plantes ciblées à l'aide d'un extracteur de type Clevenger pendant 3 heures au Laboratoire d'Enzymologie et de Biochimie des Protéines de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi [35]. Les huiles essentielles recueillies sont laissées au repos dans une ampoule à décanter pendant une heure à l'abri de la lumière en vue d'éliminer toute trace d'eau. Elles ont été ensuite stockées dans des flacons en verre coloré et conservées à 4°C au réfrigérateur à l'abri de la lumière solaire et des températures excessives jusqu'à leur utilisation ultérieure [35]. Les diverses essences obtenues ont servi à mettre au point la mixture composée des extraits de *A. indica* (85 %), de *C. citratus* (6 %) et de *O. gratissimum* (6 %), le tout en émulsion stabilisée avec du tween 20 (3 %) dans 200 ml/litre d'eau.

2-5. Obtention des larves expérimentales de *Rhipicephalus microplus*

Les tiques femelles gorgées de l'espèce *Rh. microplus* collectées ont été fixées sur du papier carton et laissées à l'air libre au laboratoire de la section d'acarologie de l'Unité de Recherche sur les Maladies Animales Transmissibles (URMAT) de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi pour la ponte, et ceci pendant environ deux semaines [12]. Quatorze jours après, les œufs pondus ont été transférés dans des flacons de collecte de tique de 50 mL dont le couvercle perforé est doublé d'une toile de gaze à mailles fines pour faciliter l'aération et empêcher la sortie des larves après éclosion des œufs. Les flacons ont été placés à l'étuve à la température de 27 à 28°C et à 85 à 90 % d'humidité relative [36]. A 14 jours d'âge après éclosion, ces larves sont utilisées pour réaliser le présent test d'efficacité de la mixture des extraits de plantes [12].

2-6. Infestation des bovins par les larves expérimentales de *Rhipicephalus microplus*

Une fois les bovins installés dans les boxes individuels, une charge d'environ 2500 larves de *Rh. microplus* a été déposée sur chaque animal, successivement à trois reprises à intervalle d'environ une semaine (1^{ère} infestation, Jour J-18 ; 2^{ème} infestation Jour J-11 ; 3^{ème} infestation, Jour J-4) [37]. Cette pratique a été utilisée pour nous permettre d'obtenir tous les stades de développement de cette tique au jour du traitement (George *et al.*, 1998). Les infestations ont été réalisées tôt le matin à l'étable en fixant les tubes ouverts contenant les larves soigneusement maintenues sur le dos de l'animal au moyen d'un élastique. Les tubes posés ont été retirés du dos de ces bovins après y avoir séjourné pendant une durée de 2 heures pour chaque série d'infestation ou après nous être assurés que toutes les larves sont sorties des tubes pour s'installer sur l'animal.

2-7. Application des traitements sur les bovins infestés par *Rhipicephalus microplus*

Les bovins infestés artificiellement par les larves de *Rh. microplus* ont été regroupés en quatre lots de deux animaux chacun : celui des témoins positifs traités à l'Alphacyperméthrine à la dose recommandée par le fabricant, à raison de 2 millilitres dans 1 litre d'eau, le témoin négatif traité au mélange composé uniquement d'eau et de tween 20, le lot des bovins expérimentaux traités à la mixture à la concentration de 10 % puis celui des bovins traités à la mixture à la concentration de 20 %. Les traitements ont démarré trois jours après la dernière infestation [37]. Sur l'animal maintenu debout suite à une bonne contention, le traitement correspondant a été appliqué en pulvérisant tout le corps de ce dernier pendant 10 minutes avec la solution équivalente, quatre jours après la dernière infestation (le jour J) [37]. Les tiques mortes et vivantes ont été collectées 7 jours avant les traitements et 28 jours après, puis mises en ponte pour l'évaluation des taux d'éclosion.

2-8. Méthode de collecte et de comptage des tiques

Les tiques tombées sont collectées chaque jour tôt le matin à 7 heures, et ceci pendant cinq semaines, afin de déterminer d'une part l'efficacité de la mixture sur les différents stades de développement de cette tique monoxène et d'autre part son efficacité sur les différents stades et les taux de ponte. Pour le décompte, nous avons procédé à la fouille de chaque box afin de repérer les tiques aussi bien les nymphes, les mâles, que les femelles gorgées. A cet effet, le reste du fourrage de chaque box est ramassé et étalé sur une feuille de tôle permettant d'effectuer la fouille [37] ; les coins des caillebotis ont été fouillés grâce à une lampe électrique à éclairage blanc. Les caillebotis ont été ensuite soulevés afin d'accéder au fond des boxes. Une fois les déchets sortis, nous avons encore procédé à une deuxième fouille plus minutieuse nous permettant de voir si des femelles gorgées y sont restées. Les tiques collectées ont fait l'objet d'identification afin de connaître leur sexe, leurs stades de développement et leur nombre. Ainsi celles qui étaient viables ont été pesées et mises en ponte par lots journaliers afin de peser les œufs à la fin de la ponte. Les œufs incubés ont aussi fait l'objet d'une bonne estimation visuelle afin de déterminer le taux d'éclosion. Les femelles gorgées mises en ponte ont été pesées et répertoriées dans une base de données. Les œufs ont été incubés dans des étuves à la température de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ avec une hygrométrie de $90 \pm 5\%$. La température, les dates d'éclosion et l'hygrométrie à l'intérieur des étuves ont été relevées et le suivi de l'évolution des larves effectué.

2-9. Préparation à la mise en ponte

Après leur collecte, les tiques sont acheminées au laboratoire d'acarologie et les femelles gorgées sont pesées puis mises à la ponte. Pour la ponte, elles ont été collées par la face dorsale dans des boîtes de pétri.

2-10. Incubation des œufs

Après la collecte des œufs ils ont été pesés et mis ensuite dans des flacons de 2 cm de diamètre dont le couvercle est constitué de toile de gaze à mailles très fines. Chaque œuf récolté par boîte de pétri est mis dans un flacon. Les flacons contenant les œufs sont étiquetés et mis dans une étuve et sont conservés à la température de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ avec une hygrométrie de $90 \pm 5\%$.

2-11. Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel R version 4,1,1 [38]. Les données ont donc été enregistrées et stockées dans une base de données conçue avec le logiciel Excel. D'abord, l'étude de la variation du nombre total de femelles tombées par jour et du nombre de femelles vivantes par jour en fonction des traitements appliqués par box, s'est faite à partir d'un modèle linéaire généralisé (GLM) qui a été appliqué, plus précisément celui de la distribution binomiale négative à zéros gonflés (zero inflated negative binomial) étant donné que chacune de ces deux variables réponses était des données de comptage avec un nombre excessif de zéros observé. Ensuite, une analyse de variance (ANOVA) a été effectuée pour évaluer l'effet du poids des femelles vivantes (gramme/jour) et du poids des œufs pondus en fonction des traitements appliqués par box. Enfin, le nombre moyen de tiques mortes par jour ainsi que les taux d'éclosion des œufs en fonction des traitements ont été évalués à travers des proportions qui ont été calculées puis comparées entre elles avec un prop test. Cela a permis de voir si le taux d'éclosion a une influence sur les différents traitements appliqués par box.

3. Résultats

3-1. Effets des traitements sur le nombre total des femelles tombées et le nombre total des femelles vivantes

Le modèle linéaire généralisé (GLM) réalisé a permis d'évaluer l'effet des traitements appliqués sur le nombre total des tiques ayant infesté les bovins. Il ressort de ce modèle que l'ensemble des traitements appliqués aussi bien dans le box expérimental (10 %), le box expérimental (20 %) que dans celui du témoin positif ont permis de réduire le nombre total des femelles mortes par jour ainsi que celui des femelles vivantes comptées par jour avec des effets significatifs ($p < 0,001$). Ainsi, le traitement appliqué dans le box témoin positif a permis de réduire le nombre moyen par lot des femelles mortes par jour de même que celui des femelles vivantes par jour respectivement de $0,122456 \sim 0,12$ [exp (-2,100006)] et de $0,1083187 \sim 0,10$ [exp (-2,2226772)]. Par contre, le traitement à 10% a induit des diminutions de $0,099258 \sim 0,1$ [exp (-2,31003369)] et de $0,095784491 \sim 0,1$ [exp (-2,3456545)] respectivement dans le nombre moyen par lot des femelles mortes par jour que dans celui des femelles vivantes par jour. De même, le traitement appliqué dans le box expérimental (20%) a permis de réduire le nombre total des femelles tombées ainsi que celui des femelles vivantes respectivement de $0,049787 \sim 0,05$ [exp (-3,000001)] et de $0,035649655 \sim 0,036$ [exp (-3,3340158)] (**Tableau 1**). L'intercept constituant le box Témoin négatif, le traitement de référence par rapport auquel les trois autres ont été comparés, les nombres moyens de femelles tombées obtenus au niveau des intercepts constituent le nombre moyen de femelles mortes ($110,2136704 \sim 110$) et parmi elles le nombre moyen des femelles vivantes ($110,2908095 \sim 110$). On peut donc constater que la mixture à 20% a eu un effet considérable sur le nombre total des femelles tombées par jour et parmi elles sur le nombre total des femelles vivantes, et donc a réduit considérablement le nombre de larves de tiques à éclore,

Tableau 1 : Modèle Linéaire Généralisé/Generalized Linear Model (GLM) à distribution binomiale négative avec zéro gonflé

		Moyenne de tiques / lot	Estimate (Coefficient)	Std,Error	z-value	Pr (> z)	Signif,
Total des femelles tombées	(Intercept)	110,2136704	4,70242094	0,2165487	21,7153045	1,470653e-104	
	Box Expérimental (10 %)	0,099258	-2,31003369	0,3323338	-7,0412143	1,905716e-12	***
	Box Expérimental (20 %)	0,049787	-3,000001	0,3690454	-8,6946322	7,928841e-01	***
	Box Témoin Positif	0,122456	-2,100006	0,3633942	-5,7964215	6,774487e-09	***
Total des femelles vivantes tombées	(Intercept)	110,2908095	4,7031206	0,2159947	21,7742441	4,071306e-105	
	Box Expérimental (10 %)	0,095784491	-2,3456545	0,3316197	-7,0733269	1,512626e-12	***
	Box Expérimental (20 %)	0,035649655	-3,3340158	0,3681114	-9,0355956	7,589386e-01	***
	Box Témoin Positif	0,108318729	-2,2226772	0,3689868	-6,0237304	1,704422e-09	***

$P < 0,1$; * : $P < 0,05$; ** : $P < 0,01$; *** : $P < 0,001$.

3-2. Effets des traitements sur le poids des femelles vivantes ainsi que sur celui des œufs pondus

De l'analyse de variance réalisée, il ressort qu'il existe une grande différence ($p < 0,01$) entre le poids des femelles vivantes par jour obtenu en appliquant les différents traitements ainsi qu'une grande différence ($p < 0,01$) entre le poids des œufs pondus mesuré par jour en rapport avec les différents traitements (**Tableau 2**). Ainsi, en considérant le poids des femelles vivantes tombées par jour, la différence observée par rapport aux traitements est notée au niveau de ceux appliqués dans les box des témoins positifs, à 10 %

et à 20 %. On pourrait donc conclure que l'utilisation de la mixture mise au point a permis de réduire le poids des femelles vivantes. Il faut noter dans ce cas, une efficacité beaucoup plus prononcée de la mixture à 20 %. En considérant le poids des œufs pondus par jour, la différence observée a été constatée au niveau des box des témoins positifs, celui du traitement à 10 % ainsi que celui du traitement à 20 % en les réduisant considérablement par rapport au poids obtenu au niveau des box des témoins négatifs. On pourrait donc retenir que l'utilisation de la mixture mise au point a permis également de réduire le poids des œufs pondus, et que l'efficacité des mixtures est beaucoup plus prononcée avec la concentration à 20 %.

Tableau 2 : Comparaisons des poids des femelles tombées et de celui des œufs pondus

Variables / Traitements	Box Témoin négatif (n = 2)	Box Témoin positif (n = 2)	Box Expérimental 10 % (n = 2)	Box Expérimental 20 % (n = 2)	p-value
	Moyenne $\pm$ SD	Moyenne $\pm$ SD	Moyenne $\pm$ SD	Moyenne $\pm$ SD	
Poids des femelles vivantes (gramme/Jour)	69,11 $\pm$ 100,01 ^a	5,76 $\pm$ 16,56 ^b	0,84 $\pm$ 2,19 ^b	0,71 $\pm$ 1,09 ^b	***
Poids des œufs pondus (gramme/Jour)	6,69 $\pm$ 9,59 ^a	1,22 $\pm$ 4,24 ^b	0,28 $\pm$ 0,47 ^b	0,24 $\pm$ 0,71 ^b	***

*** : $P < 0,001$, SD = Standard Deviation ; Les valeurs de la même ligne suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes.

3-3. Effets des traitements sur les éclosions des œufs de la tique

Les quantités de larves obtenues ont été appréciées par rapport aux taux d'inhibition des éclosions en rapport avec les différents traitements. Le taux d'inhibition d'éclosion le plus élevé a été obtenu avec la mixture à 20 %, faisant de cette dernière le traitement le plus efficace en matière d'inhibition des éclosions et de ponte des œufs. Une différence significative a été donc notée entre l'ensemble des proportions calculées ($p < 0,05$) (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Pourcentage d'inhibition d'éclosion des œufs exposés aux différents traitements

Box	% d'inhibition d'éclosion $\pm$ SD
Box Témoin Négatif	12,07 $\pm$ 1,04 ^a
Box Témoin Positif	18,79 $\pm$ 3,15 ^a
Box Expérimental (10 %)	67,21 $\pm$ 14,69 ^b
Box Expérimental (20 %)	75,73 $\pm$ 25,01 ^b

SD = Standard Déviation ; Les valeurs de la même ligne suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes

4. Discussion

Plusieurs méthodes de lutte sont appliquées pour le contrôle de cette espèce de tique à savoir la lutte biologique, la lutte écologique, la lutte génétiques, la lutte chimique [39] et l'utilisation des vaccins qui constitue la dernière trouvaille dont les recherches sont toujours en cours [40]. Des phénomènes de résistance induite de certaines espèces de tiques vis-à-vis de ces substances se sont développés suite à l'utilisation abusive et incontrôlée de ces acaricides de synthèse [41]. A cet effet, la mise au point de nouvelles stratégies de lutte efficaces contre la tique *Rh. microplus*, basée essentiellement sur l'utilisation des ressources endogènes (bio acaricides) s'impose. Ainsi, les résultats concluants obtenus à la suite de nombreux tests *in-vitro* à partir d'extraits éthanoliques, aqueux et volatils de plusieurs plantes médicinales ont permis d'initier des tests *in-vivo*. C'est le cas de la mixture mise au point dans le cadre de la présente étude et qui est destinée à un meilleur contrôle des tiques en général et de la tique *Rh. microplus* en particulier.

4-1. Une alternative de choix pour le contrôle des tiques du bétail : les plantes médicinales à effets acaricides

Les traitements réalisés aussi bien sur les animaux des lots expérimentaux (mixture à 10 % et à 20 %) que sur ceux du lot témoin positif (traitement à l'Alphacyperméthrine) ont induit des réductions significatives ($p < 0,001$) du nombre total des femelles mortes par jour ainsi que celui des femelles vivantes comptées par jour. Les taux de réductions obtenus étant plus élevés avec le traitement à 20 % aussi bien dans le nombre total des femelles mortes par jour que dans celui des femelles vivantes par jour, nous pouvons conclure que la mixture à 20 % pourrait constituer une alternative de choix efficace à utiliser dans la lutte contre la tique *Rh. microplus*. Les extraits de *Ocimum gratissimum*, *Azadirachta indica* et de *Cymbopogon citratus*, ont fait l'objet de tests *in-vitro* et *in-vivo* dans la lutte contre les tiques avec des résultats encourageants, ce qui pourrait amener à croire que leur mixture aurait un effet cumulé positif dans la lutte contre la tique exotique [39]. Les résultats des analyses des divers composés chimiques de ces différentes plantes médicinales obtenus à partir de la littérature montrent la présence d'éléments chimiques communs dont le Thymol, les para-cymène et les γ -terpinène qui sont majoritaires. Les larves issues de l'éclosion des œufs pondus par des femelles restées vivantes, étant toutes viables, il faut forcément faire une application de bio acaricides pour venir à bout de ces tiques afin de les empêcher de poursuivre leur développement jusqu'aux stades adultes. Quant à l'activité acaricide de la mixture, elle pourrait être attribuée soit au composé majoritaire (Thymol) qui est une substance chimique qui attaque spécifiquement le système endocrinien des insectes, induisant ainsi un effet toxique [42], soit à une action synergique entre les autres composés : le mono terpènes comme le γ -terpinène, le p-cymène, terpénoïdes, le β -caryophyllène, et l'eugénol qui ont une activité insecticide avérée [43, 46]. En plus d'être des alternatives de choix dans la lutte contre les tiques dont la tique *Rh. microplus* [17, 47], ces nouvelles méthodes basées sur l'utilisation des extraits de plantes à vertus acaricides offrent de nombreux avantages dont une faible pollution de l'environnement ainsi qu'une faible contamination des aliments [48]. Par ailleurs, les préparations à base de plantes, utilisées en ethno parasitologie, sont pour la plus part dépourvues de toxicité pour les mammifères et favorisent rarement le développement de souches de tiques résistantes [13, 19].

Quant à l'analyse de variance réalisée suite à l'application des différents traitements, il a été observée une grande différence ($p < 0,01$) aussi bien entre le poids des femelles vivantes tombées par jour qu'entre celui des œufs pondus mesuré par jour. Globalement, le traitement avec la mixture à la concentration de 20 % s'est révélé plus efficace aussi bien dans la réduction du nombre des femelles mortes, de celui des femelles vivantes tombées, du poids des femelles vivantes ainsi que de celui des œufs pondus. [27] a réalisé une revue de littérature sur l'utilisation des acaricides chimiques et biologiques dans la lutte contre *Rh. microplus* avec pour l'objectif : faire la lumière sur les nouveaux acaricides pour le contrôle de cette tique du bétail. Les résultats ont conclu que très peu de travaux *in-vivo* ont été effectués concernant le contrôle de *Rh. microplus*. Les extraits de *Acorus calamus*, *Annona squamosa* et *Azadirachta indica* pourraient permettre de mieux contrôler les infestations dues à la tique *Rh. microplus* [4, 49, 50]. L'extrait éthanolique des rhizomes de *Acorus calamus* a donné 100 % de mortalité à 10 % de concentration lors d'un test *in-vitro*, alors que cette dernière a baissé drastiquement à 21,2 % lors d'une étude *in-vivo* à la même concentration de 10 %. C'est donc dire que l'efficacité de préparations d'extraits à base des parties de plantes a été déjà testée et reconnue par nombre de chercheurs de par le monde. C'est ainsi que certains auteurs tels [51, 53] ont rapporté que le développement de nouveaux médicaments et vaccins contre les tiques était coûteux et présentait certaines limites d'efficacité. Par ailleurs, la surutilisation des acaricides synthétiques conduisait à des préoccupations pertinentes majeures liées à la présence de leurs résidus dans l'environnement et dans les aliments d'origine animale, ainsi qu'au développement rapide des phénomènes de résistances au sein des populations de tiques ciblées. Les plantes médicinales pourraient alors constituer une alternative de choix efficace et bon marché pour le contrôle des tiques du bétail [54].

4-2. Des essais sur les bio acaricides vers une utilisation de plus en plus accrue et de plus en plus large

De nombreux extraits de plantes et huiles essentielles ont été testés en ethnomédecine vétérinaire avec succès pour leur activité antiparasitaire [55, 57]. L'efficacité de plus de 55 espèces de plantes appartenant à 26 familles a été évaluée contre *Rh. microplus* dans le monde entier [26, 48]. Au nombre de ceux-ci, trois huiles essentielles extraites respectivement de plantes aromatiques locales (*Chenopodium ambrosioides*, *Ocimum canum* et *Citrus aurantium*) ont été testées *in-vitro* sur les tiques de l'espèce *Rh. microplus* au Bénin [33]. Les résultats ont montré que ces trois huiles ont un effet positif. L'étude *in-vitro* sur l'effet acaricide des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et de *Cymbopogon citratus* ainsi que de leur mélange sur les femelles gorgées de la tique des bovins de l'espèce *Rh. microplus* au Bénin a donné des résultats satisfaisants [39]. Le Test d'Immersion des Adultes (AIT) réalisé a montré une sensibilité des tiques aux huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et de *Cymbopogon citratus*: 100 % de mortalité des femelles gorgées a été obtenue à la concentration la plus élevée, 10mg/ml, pour les deux huiles essentielles prises séparément tandis que leur mélange a induit 100 % de mortalité à une concentration de 1,25 mg/ml. Les doses létales 50, 90 et 99 % des individus ont été calculées et les valeurs d'inhibition de ponte les plus élevées de 90,3 % et 60,7 % respectivement pour *Syzygium aromaticum* et *Cymbopogon citratus* ont été obtenues à une concentration de 10 mg/ml. Cependant, aucune ponte n'a été observée à partir d'une concentration de 1,25 mg/ml du mélange des deux huiles essentielles. Par contre, les taux de réduction des éclosions ont été similaires. Ces résultats corroborent ceux de la présente étude et permettent de conclure que le mélange des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et de *Cymbopogon citratus* pourrait aussi être utilisé comme solution alternative de choix dans la lutte contre les tiques.

De la même façon, des essais *in-vitro* entrepris pour réaliser des tests d'efficacité des extraits aqueux des graines de *Azadirachta indica* sur la tique *Rhipicephalus sanguineus* du chien a permis d'obtenir d'importants résultats satisfaisants [58] qui ont révélé une sensibilité de *Rhipicephalus sanguineus* à l'extrait aqueux des graines de *Azadirachta indica* prouvée par un taux de mortalité de 95,07 % des larves à une concentration de 2 mg/ml d'extrait aqueux tandis qu'avec Alphacyperméthrine et la Deltaméthrine, à la même concentration sur les larves, les mortalités affichées sont respectivement de 70,31 % et de 57,25 %. En comparaison avec les acaricides de synthèse utilisés, l'extrait des graines de *Azadirachta indica* a été plus efficace sur les larves de *Rhipicephalus sanguineus*. L'évaluation de l'effet de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* sur la ponte des œufs chez la tique *Rhipicephalus microplus* en infestation contrôlée des bovins de race Borgou a donné des résultats remarquables [2]. Ces derniers ont permis de conclure que l'huile essentielle extraite de *Ocimum gratissimum* a un effet acaricide sur les larves et les nymphes, avec un nombre inférieur de femelles gorgées récoltées au niveau des animaux traités à celui des témoins pris individuellement. Le nombre de tiques femelles ayant varié significativement en fonction de la date de récolte, ce dernier est plus élevé dans la première semaine comparativement aux trois dernières de l'essai. Par ailleurs, le sexe des animaux n'a eu aucun effet significatif ($p < 0,05$). Ces résultats corroborent ainsi ceux obtenus au cours de la présente étude. Il a été évalué l'activité acaricide *in-vivo* de l'huile essentielle extraite de *Ocimum gratissimum* sur la tique *Rh. microplus*, en comparaison avec l'Alphacyperméthrine [59]. Le test *in-vivo* réalisé sur vingt-deux bovins de différents âges à partir de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* a permis de déterminer les doses létales qui constituent un facteur très important qui renseigne sur les quantités exactes de produit à utiliser pour obtenir une efficacité de ce dernier. Les travaux de Gbeto concernent une étude similaire mais cette fois avec les feuilles de *Lippia multiflora* en 2014. Les résultats ont conduit à l'obtention des doses létales DL_{50} , DL_{90} et DL_{99} de cet extrait et ont permis de constater que Alphacyperméthrine utilisé à la dose de 1 millilitre par litre d'eau en pulvérisation est aussi efficace que l'extrait d'huile essentielle de *Lippia multiflora*. De nombreux autres tests ont été réalisés par Rosa-Aguilar et Collaborateurs en 2010 à

partir des extraits de plusieurs autres plantes médicinales à effets acaricides sur les larves et les formes adultes de *Rh. microplus*. Ils ont montré l'aptitude desdits extraits à réduire les taux de ponte et d'éclosion des œufs pondus par cette espèce de tique, ce qui corrobore nos résultats, et qui permet de conclure à l'efficacité de l'extrait de *Ocimum gratissimum* sur la tique ciblée, Nirbhay et Collaborateurs ont étudié l'activité acaricide en 2013 de *Cymbopogon winterrianus*, de *Vitex negundo* et de *Withania somnifera* contre *Rh. microplus* résistante aux pyréthrinoides synthétiques. Le poids de masse d'œufs des tiques vivantes traitées avec différentes concentrations des extraits était significativement inférieur ($p < 0,01$) à celui des tiques témoins ; Par conséquent, la valeur de l'Indice de Reproduction (RI) et le pourcentage d'Inhibition de la ponte (%IP) des tiques traitées ont été réduits. De plus, l'inhibition complète de l'éclosion a été enregistrée au niveau des œufs pondus par des tiques traitées avec des extraits éthanoliques de feuilles de *Vitex negundo* et des extraits aqueux de feuilles de *Withania Somnifera* (l'Ashwagandha) [60]. Les résultats obtenus avec *Cymbopogon citratus* sont en concordance avec ceux de la présente étude, à la seule différence que dans la mixture il y a une action conjuguée de plusieurs composants végétaux issus de plusieurs plantes médicinales.

5. Conclusion

La tique *Rh. microplus* est un vecteur clé de maladies transmises causant directement et indirectement de lourdes pertes économiques dans les élevages. Au cours de ces dernières décennies, la gestion des tiques a été confrontée à des problèmes majeurs liés à l'utilisation d'importantes quantités d'acaricides et de répulsifs chimiques qui sont souvent responsables de l'induction du développement de résistances croissantes et croisées aux médicaments ainsi que de la présence généralisée de leurs résidus toxiques dans les aliments et dans l'environnement. La disponibilité des vaccins est encore limitée, et ceux actuellement disponibles ont montré des limites majeures lors de leur utilisation. Les recherches actuellement en cours se focalisent principalement sur des études *in-vitro* lors des tests de préparations des produits à base de plantes, ce qui explique le peu d'engouement pour les recherches *in-vivo*. Les pesticides, respectueux de l'environnement, utilisés pour le traitement et le contrôle des acariens du bétail tels les tiques et extraits principalement des plantes médicinales, constituent une source de matières premières intervenant dans la fabrication des médicaments. Par ailleurs, les nanoparticules vertes synthétisées à partir d'extraits de plantes et destinées au contrôle des tiques du bétail sont de préparations aisées, écologiques, rentables et prometteuses. Elles peuvent offrir d'autres voies pour la formulation de nouveaux médicaments efficaces pour le contrôle de *Rh. microplus*. Si des tentatives sont entreprises pour découvrir des acaricides d'origine végétale efficaces dans le contrôle des acariens en élevage, ceux destinés au contrôle de la tique *Rh. microplus* restent toujours un défi majeur à relever en entomologie médicale vétérinaire actuelle. Cependant, les mécanismes d'action des bio acaricides chez *Rh. microplus* doivent encore être mieux élucidés. Pour ce faire, il urge que les chercheurs se livrent à des analyses plus affinées des composantes des plantes médicinales en vue de la mise au point de bio acaricides pour un contrôle efficient des ectoparasites vétérinaires dont la tique *Rh. microplus*,

Références

- [1] - COUNTRYSTATS BENIN, Élevage : Total des effectifs d'animaux vivants par Année, Niveau administratif 2, Produits, (2018) 28 juin 2022, <http://www.countrystat.org/home.aspx?c=ben&ta=053SPD135&tr=-2>
- [2] - S. B. ADEHAN, D. DAH-NOUVLESSOUNON, K. O. BADAROU, Y. AKPO, S. E. ZINSOU, M. L. KOUNONZO, S. KANDE, A. M. GBAGUIDI, T. MAMA YACOUBOU et K. C. BOKO, "Évaluation *in-vivo* en station de l'activité acaricide de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* sur une infestation contrôlée de bovins Borgou par la tique exotique *Rhipicephalus microplus* au Bénin", *Journal of Animal & Plant Sciences* (J, Anim, Plant Sci, ISSN), 51 (1) (2022) 9201 - 9212, <https://doi.org/10.35759/JAnmPISci,v51-1>
- [3] - A. BIGUEZOTON, V. NOEL, S. ADEHAN, H. ADAKAL, G. K. DAYO, S. ZOUNGRANA, S. FAROUGOU & C. CHEVILLON, "*Ehrlichia ruminantium* infects *Rhipicephalus microplus* in West Africa, *Parasites and Vectors*", 9 (1) (2016), <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1651-x>
- [4] - S. GHOSH, P. AZHAHANAMBI and J. DE LA FUENTE, "Control of ticks of ruminants, with special emphasis on livestock farming systems in India : present and future possibilities for integrated control—a review, *Experimental & Applied Acarology*", 40 (1) (2006) 49 - 66
- [5] - J. DE LA FUENTE, C. MARITZ-OLIVIER, V. NARANJO, P. AYOUBI, A. M. NIJHOF, C. ALMAZAN, M. CANALES, J. M. P. DE LA LASTRA, R. C. GALINDO and E. F. BLOUIN, "Evidence of the role of tick subolesin in gene expression", *BMC Genomics*, 9 (1) (2008) 1 - 16
- [6] - N. BARRE and G. UILENBERG, "Propagation de parasites transportés avec leurs hôtes : cas exemplaires de deux espèces de tiques du bétail", 9 (1) (2010) 372
- [7] - L. J. PANGUI and S. SALIFOU, "Enquêtes parasitologiques sur les hémoparasites des bovins transmis par les tiques au Bénin", *Rev, Mond, Zootechnol*, 73 (1992) 48 - 50
- [8] - H. RAM, C. L. YADAV, P. S. BANERJEE et V. KUMAR, Tick associated mortality in cross-bred cattle calves, *Indian Veterinary Journal (India)*, (2004) 1203 - 1205
- [9] - P. POLAR, M. T. KAIRO, D. PETERKIN, D. MOORE, R. PEGRAM et S. A. JOHN, "Assessment of fungal isolates for development of a myco-acaricide for cattle tick control, *Vector-Borne & Zoonotic Diseases*", 5 (3) (2005) 276 - 284
- [10] - N. N. JOSSON, "The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses, *Veterinary Parasitology*", 137 (2006) 1 - 10
- [11] - L. GRISI, R. C. LEITE, J. R. S. MARTINS, A. T. M. de BARROS, R. ANDREOTTI, P. H. D. CANÇADO, A. A. P. de LEON, J. B. PEREIRA and H. S. VILLELA, "Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil", *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23 (2) (2014) 150 - 156
- [12] - J. A. ROSADO-AGUILAR, A. AGUILAR-CABALLERO, R. I. RODRIGUEZ-VIVAS, R. BORGES-ARGAEZ, Z. GARCIA-VAZQUEZ et M. MENDEZ-GONZALEZ, "Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae)", *Veterinary Parasitology*, 168 (3-4) (2010) 299 - 303
- [13] - V. L. S. RIBEIRO, E. TOIGO, S. A. BORDIGNON, K. GONÇALVES et G. VON POSER, "Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*", *Veterinary Parasitology*, 147 (1-2) (2007) 199 - 203
- [14] - J. M. BALBUS, A. B. BOXALL, R. A. FENSKE and T. E. MCKONE, L. ZEISE, "Implications of global climate change for the assessment and management of human health risks of chemicals in the natural environment", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32 (1) (2013) 62 - 78
- [15] - V. L. S. RIBEIRO, E. TOIGO, S. A. BORDIGNON, K. GONÇALVES et G. von POSER, "Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*", *Veterinary Parasitology*, 147 (1-2) (2007) 199 - 203

- [16] - H. E. NONGA, R. H. MDEGELA, E. LIE, M. SANDVIK et J. J. SKAARE, "Assessment of farming practices and uses of agrochemicals in Lake Manyara basin, *Tanzania*, (2011)
- [17] - A. C. S. CHAGAS, L. F. DOMINGUES, R. R. FANTATTO, R. GIGLIOTI, M. C. OLIVEIRA, D. H. OLIVEIRA, R. A. MANO and R. G. JACOB, "In vitro and in vivo acaricide action of juvenoid analogs produced from the chemical modification of *Cymbopogon* spp, and *Corymbia citriodora* essential oil on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*", *Veterinary Parasitology*, 205 (1-2) (2014) 277 - 284
- [18] - F. MURO CASTREJON, C. CRUZ-VÁZQUEZ, M. FERNANDEZ-RUVALCABA, J. MOLINA-TORRES, J. SORIA CRUZ and M. RAMOS PARRA, Repellence of *Boophilus microplus* larvae in *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* plants, *Parasitología Latinoamericana*, 58 (3-4) (2003) 118 - 121
- [19] - R. PAVELA, A. CANALE, H. MEHLHORN and G. BENELLI, "Application of ethnobotanical repellents and acaricides in prevention, control and management of livestock ticks: a review", *Research in Veterinary Science*, 109 (2016) 1 - 9
- [20] - S. M. HABEEB, "Ethno-veterinary and medical knowledge of crude plant extracts and its methods of application (traditional and modern) for tick control", *World Applied Sciences Journal*, 11 (9) (2010) 1047 - 1054
- [21] - G. BENELLI, "Research in mosquito control: current challenges for a brighter future, *Parasitology Research*, 114 (2015) 2801 - 2805
- [22] - G. BENELLI, "Plant-borne ovicides in the fight against mosquito vectors of medical and veterinary importance: a systematic review", *Parasitology Research*, 114 (2015) 3201 - 3212
- [23] - G. BENELLI, R. PAVELA, A. CANALE and H. MEHLHORN, "Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases", *Parasitology Research*, 115 (7) (2016) 2545 - 2560
- [24] - G. BENELLI, "Tools to fight ticks: A never-ending story? News from the front of green acaricides and photosensitizers", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6 (2016) 656 - 659
- [25] - G. BENELLI, "Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review", *Parasitology Research*, 115 (2016) 23 - 34
- [26] - G. BENELLI, "Green synthesized nanoparticles in the fight against mosquito-borne diseases and cancer—a brief review", *Enzyme and Microbial Technology*, 95 (2016) 58 - 68
- [27] - B. BANUMATHI, B. VASEEHARAN, P. RAJASEKAR, N. M. PRABHU, P. RAMASAMY, K. MURUGAN, A. CANALE and G. BENELLI, "Exploitation of chemical, herbal and nanoformulated acaricides to control the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*—A review", *Veterinary Parasitology*, 244 (2017) 102 - 110
- [28] - WORLD HEALTH ORGANIZATION, "Fifth meeting of the vector control advisory group, *Geneva, Switzerland*, 2–4 November (2016)
- [29] - Z. ILBOUDO, L. C. B. DABIRE, R. C. H. NEBIE, I. O. DICKO, S. DUGRAVOT, A.-M. CORTESERO and A. SANON, "Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), *Journal of Stored Products Research*, 46 (2) (2010) 124 - 128
- [30] - A. COULIBAL, A. TRAORÉ, V. B. BAZIÉ, A. S. BIGUEZOTON, L. P. OUATTARA, A. KONATÉ, A. TOURÉ, S. ZOUNGRANA, K. Martine and H. R. NEBIÉ, "Efficacité acaricide des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du Burkina Faso sur les adultes d'une tique de bétail résistante aux acaricides de synthèse", *Sciences Naturelles et Appliquées*, 30 (1) (2008)
- [31] - W. H. KPETEHO, S. HESSOU, V. T. DOUGNON, R. C. JOHNSON, G. HOUETO, E. E. HOUETO, F. ASSOGBA, E. POGNON, F. LOKO and M. BOKO, "Étude ethnobotanique, phytochimique et écotoxicologique de *Ocimum gratissimum* Linn (Lamiaceae) à Cotonou", *Journal of Applied Biosciences*, 109 (2017) 10609 - 10617

- [32] - A. COULIBAL, A. TRAORÉ, V. B. BAZIÉ, A. S. BIGUEZOTON, L. P. OUATTARA, A. KONATÉ, A. TOURÉ, S. ZOUNGRANA, K. MARTINE and H. R. NEBIÉ, "Efficacité acaricide des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du Burkina Faso sur les adultes d'une tique de bétail résistante aux acaricides de synthèse", *Sciences Naturelles et Appliquées*, 30 (1) (2008)
- [33] - K. J. ADINCI, Y. AKPO, A. TONOUHEWA, R. E. YESSINOU, P. SESSOU, M. YOVO, S. B. ADEHAN, C. ADOLIGBE, G. A. MENSAH and M. N. ASSOGBA, In vitro evaluation of the acaricidal effect of vegetal oils extracted from the kernel of *Thevetia peruviana* and *Annona muricata* on the *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae", *Scientific Journal of Veterinary Advances*, 6 (3) (2017) 162 - 169
- [34] - E. YAYI, "Contribution à l'étude des huiles essentielles de plantes aromatiques du Bénin ; cas de l'*Ocimum basilicum*, *O. Canum* et *O. Gratissimum* dans la perspective de leur production", PhD Thesis, Clermont-Ferrand 2, (1998)
- [35] - E. V. TIA, P. LOZANO, C. MENUT, Y. F. LOZANO, T. MARTIN, S. NIAMKE and A. A. ADIMA, "Potentialité des huiles essentielles dans la lutte biologique contre la mouche blanche *Bemisia tabaci*" *Genn. Phytothérapie*, 11 (1) (2013) 31 - 38
- [36] - A. M. G. IBELLI, A. R. B. RIBEIRO, R. GIGLIOTI, L. C. A. REGITANO, M. M. Alencar, A. C. S. CHAGAS, A. L. PAÇO, H. N. de OLIVEIRA, J. M. S. DUARTE and M. C. S. OLIVEIRA, "Resistance of cattle of various genetic groups to the tick *Rhipicephalus microplus* and the relationship with coat traits", *Veterinary Parasitology*, 186 (3-4) (2012) 425 - 430
- [37] - J. E. FRISCH, "Towards a permanent solution for controlling cattle ticks", *International Journal for Parasitology*, 29 (1) (1999) 57 - 71
- [38] - W. N. VENABLES and D. M. SMITH, "The R development core team, An Introduction to R", Version, 4.1 (2006)
- [39] - R. E. YESSINOU, Y. AKPO, C. ADOLIGBE, J. ADINCI, M. N. Assogba, B. KOUTINHOIN, I. Y. KARIM, S. FAROUGOU, "Resistance of tick *Rhipicephalus microplus* to acaricides and control strategies", *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4 (6) (2016) 408 - 414
- [40] - S. E. ZINSOU, S. FAROUGOU et S. B. ADEHAN, "Evaluation de l'effet de l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* sur la ponte des œufs chez la tique *Rhipicephalus microplus* en infestation contrôlée sur les bovins de race Borgou", Mémoire de licence EPAC/UAC, (2015)
- [41] - R. E. YESSINOU, Y. AKPO, A. SIDICK, C. ADOLIGBE, I. Y. A. KARIM, M. AKOGBETO et S. FAROUGOU, "Evidence of multiple mechanisms of alphacypermethrin and deltamethrin resistance in ticks *Rhipicephalus microplus* in Benin", *West Africa, Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9 (3) (2018) 665 - 671
- [42] - P. C. OJIMELUKWE, "Potential of zizitaldehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpineol and other phytochemicals for the control of the confused flour beetle (*Tribolium confusum* J, d, V.)" (*Col. Anzeiger Für Schädlingkunde*, 72 (4) (1999) 81 - 86,
https://www.academia.edu/47921732/Potential_of_zizitaldehyde_4_allyl_anisol_linalool_terpin_eol_and_other_phytochemicals_for_the_control_of_the_confused_flour_beetle_Tribolium_confusum_J_d_V_Col (accessed August 10th, 2022)
- [43] - F. TCHOUMBOUNANG, "Contribution à la détermination des teneurs, des caractéristiques chimiques et des activités antifongiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques, condimentaires et médicinales du Cameroun", PhD Thesis, Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3ème cycle en, (1997)
- [44] - A. F. NDOMO, A. L. TAPONDJOU, F. TENDONKENG and F. M. TCHOUANGUEP, "Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (*Myrtaceae*) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae)", *Tropicicultura*, 27 (3) (2009) 137 - 143
- [45] - D. OBENG-OFORI, "The use of botanicals by resource poor farmers in Africa and Asia for the protection of stored agricultural products", (2007) 1 - 8

- [46] - A. L. TAPONDJOU, C. ADLER, D. A. FONTEM, H. BOUDA and C. H. REICHMUTHA, "Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val", *Journal of Stored Products Research*, 41 (1) (2005) 91 - 102
- [47] - S. ATTIA, K. LEBDI GRISSA, Z. GHRABI-GAMMAR, A. C. MAILLEUX, G. LOGNAY, G. LE GOFF and T. HANCE, "Contrôle de *Tetranychus urticae* par les extraits de plantes en vergers d'agrumes", *Entomologie Faunistique*, 63 (4) (2011)
- [48] - L. M. F. BORGES, L. A. D. de SOUSA and C. S. BARBOSA, "Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*", *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20 (2011) 89 - 96
- [49] - R. SRIVASTAVA, S. GHOSH, D. B. MANDAL, P. AZHAHANAMBI, P. S. SINGHAL, N. N. PANDEY and D. SWARUP, "Efficacy of *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus*", *Parasitology Research*, 104 (1) (2008) 149 - 153
- [50] - S. MANGADUM, D. B. MONDAL et S. GHOSH, "Comparative efficacy of *Annona squamosa* and *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus* Izatnagar isolate", *Parasitology Research*, 105 (2009) 1085 - 1091
- [51] - L. AHMAD, A. KHAN and M. Z. KHAN, "Pyrethroid-Induced Reproductive Toxic-Pathology in Non-Target Species", *Pakistan Veterinary Journal*, 32 (2012)
- [52] - F. MUHAMMAD, I. JAVED, M. AKHTAR, M. M. AWAIS, M. K. SALEEM et M. I. ANWAR, "Quantitative Structure activity relationship and risk analysis of some pesticides in the cattle milk", *Pakistan Veterinary Journal*, 32 (2012)
- [53] - R. Z. ABBAS, M. A. ZAMAN, D. D. COLWELL, J. GILLEARD et Z. IQBAL, "Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: the state of play", *Veterinary Parasitology*, 203 (2014) 6 - 20
- [54] - W. BABAR, Z. IQBAL, M. N. KHAN et G. MUHAMMAD, "An Inventory of the Plants Used for Parasitic Ailments of Animals", *Pakistan Veterinary Journal*, 32 (2012)
- [55] - S. ATHANASIADOU, J. GITHIORI and I. KYRIAZAKIS, "Medicinal plants for helminth parasite control : facts and fiction", *Animal*, 1 (2007) 1392 - 1400
- [56] - R. ABBAS, Z. IQBAL, M. MANSOOR, Z. SINDHU, M. ZIA and J. KHAN, "Role of natural antioxidants for the control of coccidiosis in poultry", *Pak. Vet. J.* 33 (2013) 401 - 407
- [57] - R. Z. ABBAS, D. D. COLWELL, Z. IQBAL and A. KHAN, "Acaricidal drug resistance in poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and approaches to its management, World's Poultry" *Science Journal*, 70 (2014) 113 - 124
- [58] - A. M. S. GAUTHE, S. SALIFOU, J. ADINCI and C. ADOLIGBE, "Effet acaricide de l'extrait aqueux des graines d'*Azadirachta indica* sur la tique *Rhipicephalus sanguineus*", Mémoire de licence EPAC/UAC, Bénin, (2020)
- [59] - K. A. COLI, "Utilisation d'une méthode endogène de lutte contre les tiques au sud-Bénin", Mémoire de licence EPAC/UAC, Bénin, (2014)
- [60] - L. C. MISHRA, B. S. BETSY and D. SIMON, "Scientific basis for the therapeutic use of *Withania somnifera* (ashwagandha) : a review." *Alternative medicine review*, 5 (4) (2000) 334 - 346