

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

Adehan S. B.^{1,2}, Dah-Nouvlessounon D.², Badarou K. O.¹, Akpo Y.², Zinsou S. E.², Kounonzo M. L.², Kandé S.³, Gbaguidi A. M.², Mama T.², Boko K. C.², Farougou S.²

¹Laboratoire des Recherches Zootechnique Vétérinaire et Halieutique (LRZVH) – Santé Animale, Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB), Abomey-Calavi, Bénin.

²Unité de Recherches sur les Maladies Animales Transmissibles (URMAT), Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC) / Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Bénin.

³Laboratoire Régional de Bouaké (LRB) – Santé Animale, Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole (LANADA), Bouaké, Côte d'Ivoire.

Mots-clés : Huile essentielle ; *O. gratissimum* ; *in vivo* ; *Rhipicephalus microplus* ; Acaricide, Bénin.

Keywords : Essential oil ; *O. gratissimum* ; *in vivo* ; *Rhipicephalus microplus* ; Acaricide, Benin.

Submission 19/10/2021, Publication date 31/01/2022, <http://m.elewa.org/Journals/about-japs/>

1 RESUME

L'activité acaricide de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* sur la tique *Rhipicephalus microplus* a été évaluée sur des bovins Borgou au Bénin. Les bovins ont été infestés trois fois (J-18 ; J-11 et J-4) avec des larves de *Rh. microplus* âgées de 14 à 21 jours. Trois des cinq animaux infestés ont été pulvérisés avec une solution d'huile essentielle de *O. gratissimum* à 5 % quatre jours après la dernière infestation. Deux animaux témoins ont été traités avec la même solution mais sans huile essentielle. Les tiques tombées ont été recueillies chaque matin pendant quatre semaines consécutives. L'effet de l'huile essentielle de *O. gratissimum* sur les différents stades de développement et les taux de ponte de *Rh. microplus* a été déterminé. Les résultats montrent une diminution du taux d'infestation par les tiques (4,43 %) chez les bovins traités par rapport aux témoins (15,11%). Les mâles étaient plus infestés que les femelles et l'infestation diminuait progressivement après chaque semaine de traitement.

ABSTRACT

The acaricidal activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* on the tick *Rhipicephalus microplus* was evaluated on Borgou cattle in Benin. The cattle were infested three times (D-18; D-11 and D-4) with *R. microplus* larvae aged between 14 to 21 days. Three of the five infested animals were sprayed with 5% *O. gratissimum* essential oil solution four days after the last infestation. Two control animals were treated with same solution but lacking the essential oil. Fallen ticks were collected each morning for four consecutive weeks. The effect of *O. gratissimum* essential oil on different developmental stages and egg-laying rates of *Rh. microplus* was determined. Results show a decreased tick infestation rate (4.43%) in treated cattle compared to the controls (15.11%). Males were more infested than females and the infestation gradually declined after each week of treatment.

2 INTRODUCTION

Les tiques sont les parasites obligatoires des vertébrés auxquels elles sont fixées pendant une période plus ou moins longue, où elles sont bien adaptées à ce mode de transport. Une fois cette étape accomplie, et détachées dans le milieu extérieur de destination, elles ont aussi la faculté d'attendre pendant plusieurs mois la venue d'un nouvel hôte sur lequel elles vont poursuivre leur cycle. Ainsi va se fonder une population secondaire. Deux espèces de tiques tropicales du bétail, *Rhipicephalus microplus* (*Rh. microplus*) et *Amblyomma variegatum* (*A. variegatum*) ont parfaitement réussi cette stratégie de colonisation et d'occupation des espaces favorables (Biguezoton et al., 2016). Ces deux tiques sont vectrices de maladies du bétail particulièrement graves : la babésiose et l'anaplasmose pour la première espèce et la cowdriose pour la seconde (Barré Nicolas, Uilenberg Gerrit. 2010). Dans toutes les régions tropicales et subtropicales, les tiques constituent une grande menace pour l'élevage bovin. L'importation du Brésil des bovins de race Girolando au Bénin dans les années 2008 a conduit à l'introduction accidentelle de la tique *Rh. microplus* qui représente depuis lors la principale contrainte pour l'élevage à cause de son pouvoir invasif. Cette dernière a de façon spécifique développé des niveaux de résistance les plus élevés et ceci sur tous les continents (Lovis et al., 2013). La tique *Rh. microplus* est ainsi devenue résistante à tous les acaricides de synthèse au Bénin (Madder et al., 2012 ; Adehan et al., 2016) d'où la nécessité de mettre au point

de nouvelles méthodes de contrôle par l'utilisation d'extraits volatils de plantes à effets acaricides (Attia et al., 2011 ; Barbosa et al., 2013). Jusqu'à un passé récent, la lutte contre les tiques ne relevait que de l'usage exclusif des acaricides de synthèse, mais les différents problèmes dont la pollution de l'environnement, la présence de résidus dans les produits d'origine animale et la résistance aux acaricides chimiques qu'a engendré cette pratique suite à l'utilisation anarchique et abusive de ces produits, l'exploration d'autres moyens de lutte commence à s'imposer. La promotion des bio-acaricides semble être une option de choix très intéressante à étudier. Les pratiques ethno vétérinaires basées sur l'utilisation des plantes sont largement utilisées en Afrique pour le traitement des maladies du bétail, y compris les infestations par les tiques et les maladies transmises. *O. gratissimum* est déjà reconnue pour sa propriété répulsive contre les insectes (Usip et al., 2006), pour son activité contre les larves de moustiques (Cavalcanti et al., 2004), ou pour son activité acaricide (Hocayen et Pimenta, 2013, Adehan et al., 2016). Compte tenu des nombreux travaux *in vitro* déjà effectués avec la plante *O. gratissimum* et les résultats concluants obtenus et eu égard à tout ce qui précède, il s'est avéré utile voire intéressant d'évaluer cette espèce végétale. Ainsi, l'objectif de la présente étude est d'évaluer l'activité acaricide *in vivo* de l'huile essentielle de cette plante sur une infestation contrôlée des bovins de race Borgou par la tique *Rhipicephalus microplus* au Bénin.

3 MÉTHODOLOGIE

3.1 Description de la zone d'étude : La ville d'Abomey-Calavi abrite le campus universitaire d'Abomey-Calavi (UAC) où se situe l'Unité de Recherches sur les Maladies Animales Transmissibles (URMAT) dans sa section d'acarologie qui a servi de cadre pour la conduite des essais. La Commune d'Abomey-Calavi est la deuxième Commune la plus peuplée du Bénin après Cotonou. Elle a une superficie d'environ 539 km² soit 0,48% de la superficie du Bénin et se situe entre 06°18'36" et 06°41'24" de latitude

et 02°12' et 02°18'12" de longitude. (L. Dègbégnon, 2017). Elle est limitée au Nord par la Commune de Zê, au Sud par l'Océan Atlantique, à l'Est par les Communes de Sô-Ava et Cotonou puis à l'Ouest par les Communes de Tori-Bossito et de Ouidah. Son climat est de type subéquatorial caractérisé par quatre saisons :

- Une grande saison de pluie de mars à juillet ;

- Une petite saison sèche en août ;
- Une petite saison pluvieuse de septembre à octobre et ;
- Une grande saison sèche de novembre à mars avec une pluviométrie moyenne variant entre 800 et 1200 mm par an.

Le réseau hydrographique est constitué essentiellement de deux plans d'eau que sont le Nokoué et la Lagune côtière. Par ailleurs, la Commune d'Abomey-Calavi dispose d'une façade maritime juxtaposée à la Lagune côtière, des marais, des ruisseaux et des marécages. Cette variation annuelle des saisons permet une disponibilité des pâturages aussi bien naturels qu'artificiels presque permanente tout au long de l'année, garantissant ainsi une bonne alimentation aux animaux.

3.2 Matériel biologique et végétal : Le matériel biologique est constitué de larves de *Rhipicephalus microplus*, de cinq bovins de race Borgou dont trois mâles et deux femelles logés dans des boxes individuels installés dans une animalerie. Le matériel végétal utilisé est la plante *O. gratissimum* à partir de laquelle l'huile essentielle a été extraite. Les échantillons de *Ocimum gratissimum* ont été récoltés dans la Commune de Calavi précisément dans l'arrondissement de Zinvié (6°38'13,224"N et 2°19'25,338"E). La plante a été certifiée par l'Herbier National du Bénin. La position géographique des plantes a été prise à l'aide d'un GPS de marque Garmin Extrex Venture. Le matériel utilisé au laboratoire est essentiellement constitué de boîtes de pétri, de tubes de collecte de tiques de 50 ml, d'une étuve, d'un thermostat, d'un ruban adhésif, d'une loupe binoculaire, de tissus à mailles fines et d'une balance.

3.3 Extraction de l'huile essentielle : Les feuilles de *O. gratissimum* ont été séchées à la température ambiante du Laboratoire (25°C) pendant 24 heures avant l'extraction de l'huile. La technique d'extraction de l'huile essentielle est l'hydrodistillation. Elle se réalise par distillation des feuilles séchées par la méthode de l'entraînement à la vapeur d'eau réalisée avec un alambic en inox (250 L). Elle a été réalisée à

partir de 300 g de feuilles fraîches de *Ocimum gratissimum* à l'aide d'un extracteur de type Clevenger pendant 3 heures au laboratoire de pharmacologie et des huiles essentielles de la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC. Elle consiste en une distillation classique dans un alambic porté à ébullition dans lequel la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau, au passage dans la matière végétale se charge des composés volatils et se condense à l'intérieur d'un réfrigérant. Les huiles essentielles, moins denses que l'eau, sont recueillies par simple décantation à la surface de celle-ci (Tia et al., 2013). 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 sont ensuite stockées dans des flacons en verre coloré et conservées à 4 °C dans un réfrigérateur à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

3.4 Obtention des larves de *Rhipicephalus microplus* : Le traitement des tiques a été effectué dans la section d'acarologie de l'Unité de Recherche sur les Maladies Animales Transmissibles (URMAT) de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi. Les tiques femelles gorgées prélevées ont été fixées sur du papier carton et laissées à l'air libre au laboratoire pour la ponte. Quatorze jours après, les œufs ont été transférés dans des flacons de collecte de tique de 50 ml dont le couvercle percé est superposé d'un tissu à mailles fines pouvant empêcher les larves de sortir après éclosion. Les flacons ont été placés à l'étuve dans les conditions décrites par Ibelli et al. (2012) (27 à 28°C, 85 à 90% d'humidité relative). Les larves utilisées pour réaliser le test d'efficacité sur les extraits de plante avaient entre 14 à 21 jours d'âge après éclosion.

3.5 Infestation des bovins par les larves de *Rhipicephalus microplus* : Après l'installation des bovins dans les boxes individuels, environ 2500 larves de *Rh. microplus* ont été déposées sur chaque animal, successivement pendant trois séances d'infestations (1^{ère} infestation, Jour J-18 ; 2^{ème}

infestation Jour J-11 ; 3^{ème} infestation, Jour J-4) afin 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 de la section d'Acarologie de l'URMAT en fixant les tubes contenant les larves de *Rhipicephalus microplus* sur le dos de l'animal à l'aide d'un élastique préalablement attaché.

3.6 Évolution des larves de *Rhipicephalus microplus* sur les bovins 21 jours après la première infestation : Les bovins ont été infestés pendant trois séances successives à intervalles d'une semaine chacune (George et al., 1998). Les tubes ont été retirés de ces bovins après une durée de 2 heures pour chaque infestation ou après que toutes les larves soient sorties des tubes.

3.7 Préparation du bio acaricide : Trois bovins infestés (lot test), âgés de deux à trois ans, ont été choisis pour être traités avec le bio acaricide. Chacun des trois bovins a été traité avec 5% d'une solution du bio acaricide constituée de 225 ml d'huile essentielle de *O. gratissimum*, de 150 ml de tween-20 (émulsifiant), de 150 ml d'huile d'olive (adjuvant permettant la rétention de l'huile essentielle pour un effet à longue rémanence) et de 4,5 litres d'eau. Les deux autres bovins infestés simultanément que les trois autres ont servi de témoins et ont été traités avec une solution témoin constituée des mêmes quantités des éléments qui a composé la solution expérimentale, soustraite de celle de l'huile essentielle de *O. gratissimum*. Les essais se sont déroulés dans l'animalerie de l'URMAT/EPAC de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC).

3.8 Application du bio acaricide sur les bovins infestés par *Rhipicephalus microplus* : Les bovins ont été regroupés en deux lots : un lot témoin (Box N°4 et Box N°5 ou bovins A4 et A5) traités avec la solution témoin et un lot test (Boxes N°1, 2 et 3 ou bovins A1, A2 et A3) à traiter avec l'huile essentielle de *O. gratissimum*. Sur l'animal maintenu debout et bien conventionné la solution correspondante a été appliquée en pulvérisation sur tout le corps de ce dernier, quatre jours après la dernière infestation.

3.9 Méthode de collecte et de comptage des tiques : Les tiques tombées ont été collectées chaque jour tôt le matin à 7 heures, et ceci pendant 4 semaines, pour déterminer d'une part l'efficacité du produit 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. Nous avons procédé aux fouilles de chaque box afin de repérer les tiques aussi bien nymphes, mâles, que femelles gorgées. Le reste du fourrage de chaque box a été ramassé et étalé sur une feuille de tôle permettant de collecter les femelles gorgées tombées dans les débris. Les coins des caillebottis ont été fouillés grâce à une lampe électrique à éclairage blanc. Les caillebottis ont été ensuite soulevés afin d'accéder au fond des boxes. Une fois les déchets sortis, il a été encore procédé à une fouille minutieuse nous permettant de voir si des femelles gorgées y sont restées. Les tiques collectées ont fait l'objet d'identification afin de connaître le sexe, le stade et le 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 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 une température de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ et une hygrométrie de $90 \pm 5\%$. La température, les dates d'éclosion et l'hygrométrie à l'intérieur des étuves ont été relevées. Le suivi de l'évolution des larves a été aussi effectué.

3.10 Analyses statistiques : Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R 3.0.3 (R Core Team, 2014). À Cet effet, une analyse descriptive a été effectuée en vue d'avoir une idée générale sur les variables à expliquer. Un modèle linéaire généralisé a été appliqué pour évaluer la variation du nombre de tiques femelles récoltées par jour et le nombre de tiques mortes par animal en fonction des traitements (Concentration 5% et Concentration 0%), du sexe de l'animal, du jour de récolte et de l'animal. Les variables à expliquer étant des données de

comptage, la distribution négative binomiale a été utilisée pour ajuster les données et éviter les situations de dispersion des erreurs résiduelles. Cette analyse a été exécutée avec la commande « glm.nb » du package MASS (Venables & Ripley, 2002). Une analyse de

variance a été ensuite effectuée pour évaluer l'effet des facteurs sus cités sur la quantité des œufs pondus. Une régression linéaire a été établie pour modéliser le poids des œufs en fonction des poids des femelles récoltées.

4 RESULTATS

4.1 Probabilité de signification des modèles GLM : Le nombre de tiques femelles récoltées varie significativement suivant l'animal (prob = 0,001), le type de traitement

(prob = 0,002) et la période de récolte (prob < $2,2 \cdot 10^{-16}$) (Tableau 1).

Tableau 1 : Résultats des modèles GLM réalisés

Facteurs	Nombre de tiques femelles récoltées	
	Dev. Res	Probabilité
Animal	19,756	0,001***
Sexe de l'animal	0,181	0,671
Traitement	10,656	0,002**
Date de récolte	264.07	< $2,2 \cdot 10^{-16}$ ***

** : $P < 0,01$; *** : $P < 0,001$

4.2 Variables mesurées accompagnées de leur groupe : Une brève description du nombre de tiques femelles récoltées par jour, de leur poids et du poids des œufs pondus est présentée dans le tableau 2. Le nombre moyen de tiques récoltées par jour est de 8,71. Les forts taux de collecte ont été obtenus au niveau des animaux témoins A4 et A5 respectivement de 17,31 et de 12,91 tiques par jour (Tableau 2). En considérant le sexe des animaux, la collecte des femelles gorgées a été plus abondante que celle des mâles. Après l'application de bio acaricide, nous avons constaté une baisse du taux des tiques sur les animaux traités qui est de 4,43% à une concentration de 5% par rapport au témoin qui est de 15,11%. Les tiques collectées sur les animaux A4 et A5 présentent des poids moyens respectifs de 3,6 mg et de 2,60 mg qui

sont supérieurs aux poids des femelles gorgées récoltées sur les animaux A1, A2, A3. La collecte moyenne de tiques par animal chez les témoins a été plus abondante (15,11 ; tableau 2) qu'avec le traitement de 5% (4,43 ; tableau 2). Le poids moyen des tiques femelles est de 1,88g. Les tiques ayant un poids moyen élevé ont été récoltées sur les animaux A4 et A5 respectivement 3,61 mg et 2,60 mg spécialement les bovins femelles (2,03 mg, Tableau 2) qui n'ont pas subi de traitement (3,10 mg ; tableau 2). Le poids moyen des œufs récoltés par tique est de 0,18 mg. La quantité moyenne d'œufs pondus récoltés chez les tiques collectées sur les animaux A1, A2, A3 et A4 sont respectivement de 0,10; 0,17 ; 0,08 et 0,11 mg (tableau 2). Les œufs proviennent le plus des tiques récoltées sur l'animal A5 (0,42 mg, tableau 2).

Tableau 2 : Moyenne et écart-type de quelques variables mesurées accompagnées de leur groupe

		Nombre de tiques femelles		Poids des femelles		Poids des œufs	
		Moyenne	SD	Moyenne	SD	Moyenne	SD
Animal	A1	1,88	3,44	0,45	0,82	0,10	0,24
	A2	8,66	13,21	2,06	3,63	0,17	0,30
	A3	2,78	1,29	0,67	1,31	0,08	0,12
	A4	17,31	44,19	3,61	9,36	0,11	0,32
	A5	12,91	28,59	2,60	5,33	0,42	1,50
Sexe	Femelle	9,59	32,05	2,03	6,78	0,11	0,28
	Mâle	8,11	18,63	1,78	3,85	0,22	0,89
Traitement	5%	4,43	8,72	1,06	2,36	0,12	0,23
	0%	15,11	36,99	3,10	7,57	0,26	1,08
TOTAL		8,71	24,80	1,88	5,20	0,18	0,71

4.3 Quantité d'œufs pondus par animal :

Les résultats de l'analyse de variance montrent que la période de récolte est le seul facteur qui a un effet significatif sur la quantité d'œufs pondus (prob=0.002)

4.4 Résultats de SNK : Les résultats de SNK (Tableau 3) indiquent que ces différences

significatives ont été observées chez l'animal A4 (témoin), les animaux femelles, le traitement 0% et la première semaine de collecte qui ont donné les valeurs les plus élevées du nombre de tiques. Les valeurs les plus faibles de tiques femelles récoltées ont été observées dans la période de la semaine 5.

Tableau 3 : Résultats du SNK test

		Nombre de tiques femelles		Poids des œufs	
		Moyenne	SD	Moyenne	SD
Animal	A1	1,88 ^c	3,44	0,10 ^a	0,24
	A2	8,66 ^c	13,21	0,17 ^a	0,30
	A3	2,78 ^d	4,29	0,08 ^a	0,12
	A4	17,31 ^a	44,19	0,11 ^a	0,32
	A5	12,91 ^b	28,59	0,42 ^a	1,50
Sexe	Femelle	9,59 ^a	32,05	0,11 ^a	0,28
	Mâle	8,11 ^a	18,63	0,22 ^a	0,89
Traitement	5%	4,44 ^b	8,72	0,12 ^a	0,23
	0%	15,11 ^a	36,99	0,26 ^a	1,08
Date de récolte	Semaine 1	30,20 ^a	46,48	0,59 ^a	1,44
	Semaine 2	8,54 ^b	7,45	0,17 ^b	0,15
	Semaine 3	0,97 ^c	1,44	0,04 ^b	0,08
	Semaine 4	0,09 ^d	0,37	0,00 ^b	0,00
	Semaine 5	0,00 ^d	0,00	0,00 ^b	0,00

Les moyennes suivies de différentes lettres (a, b) diffèrent significativement au seuil de 5%

5 DISCUSSIONS

Les plantes ont depuis très longtemps présenté un rôle très important pour l'humanité, car elles peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes dotées souvent d'activités biologiques potentielles. On s'en sert traditionnellement pour se soigner, se détendre aromatiser la nourriture et conserver les aliments ou autres (Kouamé, 2012). Le continent africain est doté d'une biodiversité, très riche avec beaucoup de plantes utilisées comme aliments naturels et aussi pour des buts thérapeutiques. Les effets secondaires des molécules de synthèse et les contraintes économiques ont conduit ces dernières années à l'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques (Kpodékon et al., 2014). Parmi les plantes les plus utilisées au Bénin, *Ocimum gratissimum* Linn y figure en bonne position. C'est une plante herbacée à port dressé, tige quadrangulaire et feuilles odorantes pétiolées opposées et pérenne qui se reproduit par des graines. Une étude conduite par Oussou et al. (2010) a permis d'obtenir dans l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum*, le thymol (34,6 %), le p-cimène (25,2 %), a-sélinène (6,8 %), le myrcène (5,4 %), le (E)-b- caryophyllène (4,9 %) et a-thujène (4,5 %). Par contre, les travaux de Kobenan et al., (2018) ont montré la présence de dix-huit composés représentant 100 % des composants identifiés. Dans le groupe des monoterpènes hydrocarbonés, le p-Cymène avec une teneur de 37,79% et le Sabinène (6,60%) ont constitué les éléments terpéniques les plus représentés. Le Thymol (24,57%) et le Camphre (5,53%) ont occupé une place prépondérante parmi les monoterpènes oxygénés qui sont présents dans cette essence. L'huile essentielle de *O. gratissimum* est aussi composée de sesquiterpènes tels que le β -cis-Caryophyllène (4,42%), le Sélinène (1,55%), le Copaène (1,14%) et le α - Caryophyllène (0,63%). Les variations observées au niveau de la composition chimique de chacune de ces huiles pourraient être liées à l'écologie, à la période au cours de laquelle les plantes ont été récoltées dans l'année et surtout à la structure pédologique sur laquelle les plantes ont poussé, sans oublier la procédure d'extraction de ces différentes huiles.

L'étude menée à l'URMAT sur l'efficacité des extraits éthanoliques et volatils des feuilles de quatre plantes acclimatées au Bénin, visait à contribuer à la recherche de bio acaricides, efficaces sur les tiques et inoffensifs pour l'environnement. À cet effet, le test d'immersion des larves modifiées a été réalisé pour déterminer l'efficacité des extraits de quatre plantes sur les larves de *Rh. microplus* âgées de 14 jours environ. Une concentration de 5% d'extraits d'huile essentielle de *Lantana camara* L. (Camara commun), *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Gros baume), *Tephrosia vogelii* Hook. f. (Téphrosie de Vogel) et de *Ocimum gratissimum* L. (Faux basilic) ont provoqué une mortalité de 100% à partir de 1,25% de concentration (Adehan et al., 2016). C'est ainsi que Kpètèhoto et al., (2017) ont conduit des travaux relatifs à l'étude ethnobotanique, phytochimique et éco toxicologique de *Ocimum gratissimum* Linn à Cotonou. Des résultats de leurs investigations, il ressort que plusieurs usages sont faits de cette plante médicale, alimentaire, rituelle, chimique et ornementale. Les analyses phytochimiques et nutritionnels confirment les usages empiriques identifiés lors de l'étude ethnobotanique qui sont que cette plante est un remède dans la prévention et le traitement de certaines maladies, un complément alimentaire, une solution alternative dans la lutte chimique.

Le contrôle de *Rhipicephalus microplus* reste le problème majeur de tous les éleveurs. Comme l'ont rapporté certains auteurs, cette espèce de tique est résistante aux pyréthrinoides et à l'amidine au Brésil (Domingues et al., 2012; Lovis et al., 2012 ; Santos et al., 2013) et l'utilisation abusive des produits chimiques pour son contrôle a accéléré l'apparition des phénomènes de résistance.

Les résultats des présentes études nous ont révélé que l'huile essentielle de *O. gratissimum* semble efficace contre *Rhipicephalus microplus*. Après l'application du bio acaricide nous avons constaté une baisse du taux des tiques sur les animaux traités qui est de 4,43% à une concentration de 5% par rapport à celui obtenu chez le témoin qui est de 15,11%. Ceci pourrait

s'expliquer par le fait que l'huile essentielle de *O. gratissimum* regorge de plusieurs composés naturels dont l'un des principaux est le thymol. Ce composé est une substance chimique très sélective qui attaque des aspects spécifiques du système endocrinien des insectes, induisant ainsi un effet toxique (Ojimelukwe et Alder, 1999). Ces résultats sont similaires à ceux de Borges et al., (2005) qui ont observé qu'après application de l'extrait d'huile essentielle de *Lippia multiflora* le nombre de femelles gorgées a connu une chute progressive. A l'issue de ce test, nous avons constaté que le sexe des bovins n'a eu aucune différence significative par rapport au nombre de femelles récoltées ; ce qui est contraire aux observations de Morel et al., (2000) qui a rapporté que les tiques sont ordinairement plus fréquentes sur les mâles que sur les femelles. Le même constat a été fait par Bouhous et al., (2008). En ce qui concerne l'effet de l'huile essentielle de *O. gratissimum*, le nombre de tiques a connu une chute progressive au cours des semaines. Le même constat a été fait par Madzimure et al., (2011) qui ont observé une haute efficacité de l'huile essentielle de *Lippia javanica* sur les larves et les adultes dans plusieurs sous-genres de *Rh. (Boophilus)*. Martinez-Velazquez et al., (2011) ont rapporté que même 1,25% de l'huile essentielle de *Pimenta dioica* et de *O. basilicum* ont eu un effet larvicide sur *Rh. microplus*.

En Nouvelle-Calédonie, Hüe et al., (2014) ont étudié l'activité acaricide *in vitro* des huiles essentielles de trois espèces différentes de *Ocimum* sur les larves de *Rh. microplus*. Cette activité acaricide a été évaluée à partir de cinq huiles essentielles extraites de *O. gratissimum* L. (trois échantillons), *O. urticaefolium* Roth et *O. canum* Sims a été évaluée sur des larves de tiques de *Rh. microplus* âgées de 14 à 21 jours à partir d'un essai biologique qui est le « Larval Packet Test » (LPT). Ces huiles essentielles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse (GC) et chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse (GC / MS) montrant de grandes variations de leurs compositions chimiques selon les espèces botaniques et même au sein des espèces *O. gratissimum* ; l'activité

acaricide de leurs principaux composés a également été évaluée. Les huiles essentielles de *O. urticaefolium* et de *O. gratissimum* collectées au Cameroun étaient les plus efficaces avec des valeurs respectives de CL50 de 0,90 et 0,98%. Les deux huiles essentielles obtenues à partir de *O. gratissimum* récoltées en Nouvelle-Calédonie étaient partiellement actives à une dilution de 5% tandis que l'huile essentielle de *O. canum* récoltée au Cameroun n'avait aucune activité acaricide. L'analyse chimique montre cinq profils différents. Alors que les huiles essentielles de *O. urticaefolium* du Cameroun et de *O. gratissimum* de Nouvelle-Calédonie contiennent des quantités élevées d'Eugénol (33,0 et 22,3–61,0%, respectivement), le 1,8-Cinéole était la principale composante de l'huile d'un échantillon de *O. canum* collecté du Cameroun (70,2%) ; les échantillons d'huiles de *O. gratissimum* de Nouvelle-Calédonie sont également caractérisées par leur forte teneur en (Z) - β -Ocimène (17,1–49,8%) tandis que l'huile essentielle de *O. gratissimum* collectée au Cameroun est principalement constituée de deux p -dérivés de menthane : thymol (30,5%) et γ -Terpinène (33,0%). De plus, l'huile essentielle de *O. urticaefolium* a montré la présence d'élémicine (18,1%) comme composé d'origine. Les tests réalisés avec les principaux composés ont confirmé l'activité acaricide de l'Eugénol et du Thymol avec une activité résiduelle jusqu'à 0,50 et 1%, respectivement, et ont révélé la propriété acaricide de l'élémicine, qui était le composé le plus efficace avec 100% d'activité acaricide à une dilution de 0,25% et pourrait être un acaricide précieux pour la lutte contre la tique du bétail *Rh. microplus*. Ces résultats corroborent ceux la présente étude.

En Côte d'Ivoire, Kobenan et al., (2018) ont comparé le potentiel insecticide des huiles essentielles de *O. gratissimum* L. et de *Ocimum canum* Sims sur *Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera : Gelechiidae), insecte ravageur du cotonnier. L'utilisation abusive des pesticides de synthèse dans la protection phytosanitaire du cotonnier en Côte d'Ivoire menace la variabilité du système de production. La recherche de méthodes de lutte alternatives s'avère nécessaire.

Des stratégies phytosanitaires impliquant les bios pesticides à base de végétaux ont été explorées. L'activité insecticide des huiles essentielles des espèces végétales du genre *Ocimum* a fait l'objet de nombreuses investigations. Au cours de cette étude, il a été comparé le potentiel insecticide de deux espèces de du même genre *O. gratissimum* et *O. canum* sur un important ravageur du cotonnier, le ver rose *Pectonophora gossypiella*. Les adultes de l'insecte ont été exposés au laboratoire, à l'effet toxique des différentes concentrations de ces huiles par application topique au moyen d'un micro applicateur. Les concentrations létales causant respectivement la mort de 50% (CL₅₀) et de 90% (CL₉₀) des populations testées ont été

6 CONCLUSION

La présente étude a permis de mettre en évidence par des tests *in vivo*, l'activité acaricide de l'huile essentielle extraite de la plante aromatique locale *O. gratissimum*, une plante largement utilisée au Bénin aussi bien en médecine traditionnelle qu'en alimentation. Ses propriétés thérapeutiques et biologiques sont induites par divers principes actifs dont notamment le Thymol, l'Eugénol et l'Elémicine en particulier. Depuis l'apparition des phénomènes de résistance induits avec l'utilisation des acaricides commerciaux, disponibles sur le marché et qui ont montré leurs limites, le thymol, l'eugénol et l'élémicine contenus dans *O. gratissimum* pourraient être indiqués comme des alternatives prometteuses utilisables dans le contrôle des tiques du bétail. Le contrôle de *Rh. microplus*, une tique très envahissante reste le problème majeur des éleveurs. Les travaux réalisés *in vivo* nous ont permis de constater que l'huile essentielle de

déterminées pour chacune des huiles essentielles. L'huile extraite de *O. gratissimum* a été la plus toxique avec des valeurs respectives de CL₅₀ et CL₉₀ de 1,01% et 5,05% par rapport à *O. canum* (CL₅₀ = 11,33% et CL₉₀ = 30,04%). La toxicité élevée de *O. gratissimum* peut s'expliquer par la présence de 24,57% de Thymol et de 37,79% de p-cymène dans sa composition chimique. La plupart des résultats obtenus au cours de ces différentes études concourent à conférer à l'huile essentielle de *O. gratissimum* son pouvoir acaricide avec la présence des éléments chimiques tels le thymol, l'élémicine, l'eugénol et le γ -Terpinene qui y sont représentés en majorité.

O. gratissimum a une influence sur le poids, les œufs et même sur le taux d'infestation des animaux. L'huile essentielle de *O. gratissimum* peut donc constituer une alternative aux acaricides chimiques dans les systèmes intégrés de lutte contre *Rhipicephalus microplus* au Bénin. De même, son application et sa large diffusion auprès des éleveurs et agro éleveurs serait peu onéreuse et respectueuse de l'environnement et la santé des populations par la réduction drastique dans les produits d'origine animale des résidus d'acaricides de synthèse. Dans ce contexte, la recherche de nouvelles stratégies pourrait se pencher sur la formulation de bio acaricides dans le but de développer de nouvelles technologies capables d'être utilisées dans le contrôle stratégique des tiques et prenant en compte l'efficacité du produit, la réduction des coûts de production et respectueuses de l'environnement.

7 REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à l'Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles (URMAT) de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi et à son Responsable le Professeur Farougou pour le

soutien dans l'exécution des essais. Nos remerciements vont également aux différents coordonnateurs des groupes de recherche de l'URMAT pour leurs différents apports.

8 REFERENCES

- Adehan S. B., Biguezoton A., Adakal H., Yessinou E., Gbaguidi A. M., Dossa F., Dougnon T. J., Sessou P., Aboh A. B., Youssao A. K. I., Assogba N., Mensah G. A., Madder M., Farougou S., 2016b. Acaricidal activity of ethanolic and volatile extracts of the leaves of selected plants used in veterinary pharmacopeia on the larvae of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Benin Alexandria Journal of Veterinary Sciences, 49: 1-11.
- Attia S., Grissa K., Ghrabi-Gammar Z., Catherine Mailleux A., Lognay G., Hance T., Le Goff G., 2011. Contrôle de *Tetranychus urticae* par les extraits de plantes en vergers d'agrumes. Faunistic Entomology 63 : 229-235.
- Barré Nicolas, Uilenberg Gerrit. 2010. Propagation de parasites transportés avec leurs hôtes : cas exemplaires de deux espèces de tiques du bétail. *Revue scientifique et Technique - Office International des Epizooties*, 29 (1) : 135-147.
- Caio Márcio de Oliveira Monteiro, Erik Daemon, Andressa Mendes Ribeiro Silva, Ralph Maturano, Carolina Amaral, 2010. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari : Ixodidae) Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari : Ixodidae)). *Parasitol Res* (2010) 106:615–619 DOI 10.1007/s00436-009-1709-1. Received: 4 December 2009 /Accepted: 15 December 2009 /Published online: 14 January 2010 # Springer-Verlag 2010. 6p.
- Cavalcanti E. S. B., Morais S. M. D., Lima M. A. A., Santana E. W. P. 2004. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99(5):541–544
- Dégbègnon L., 2017. La problématique de l'aménagement foncier au Bénin vue par un géomètre-expert : cas de la Commune d'Abomey-Calavi. Semaine de travail de la FIG 2017 «Enquête sur le monde de demain – De la numérisation à la réalité augmentée » 21p.
- de Monteiro C. M., Maturano R., Daemon E., Catunda-Junior F. E., Calmon F., Senra Tde S., Faza A., de Carvalho M. G., 2012. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus* (Acari : Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari : Ixodidae) larvae. *Parasitol Res*. 2012 Sep; 111(3) :1295-300. DOI: 10.1007/s00436-012-2964-0. Epub 2012 May 24.
- De Oliveira Monteiro C. M., Daemon E., Silva A. M. R., Maturano R., Amaral C., 2010. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari : Ixodidae). *Parasitol Res* 106(3) :615–619
- Hocayen P. A., Pimenta D. S. 2013. Herbal extract against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks. *Rev Bras Pl Med Campinas* 15(4) :627– 631
- Hüe T., Cauquil L., Hounda Fokou J. B., Jazet Dongmo P. M., Bakarnga-Via I., Menut C. 2014. Acaricidal activity of five essential oils of *Ocimum* species on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. *Parasitol Res*. DOI 10.1007/s00436-014-4164-6. Received: 28 July 2014 /Accepted: 23 September 2014 # Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014
- Ibelli A. M. G., Ribeiro A. R. B., Giglioti R., Ragitana L., Alencar M. M., Chagas A. C. S., Paco A. L., de Oliveira H. N., Starling J. M. C., Oliveira M. C. S., 2011. Resistance of cattle of various genetic groups to the tick *Rhipicephalus microplus* and the relationship with coat traits. November 2011. *Veterinary Parasitology* 186 (3-4) :425-30. DOI : [10.1016/j.vetpar.2011.11.019](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.019). Source PubMed

- Georges J. E., Davey R. B., Ahrens E. H., Pound J. M. and Drummond R. O., 1998. Efficacy of amitraz (Taktik® 12.5% EC) as a dip for the control of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari : Ixodidae) on cattle. Prev. Vet. Med. 37 : 55 - 67.
- Kouamé F. B., 2012. Valorisation de trois plantes médicinales ivoiriennes : études phytochimiques. Thèse unique de Doctorat de l'Université de Nantes et de l'Université de Cocody-Abidjan. 200 pages.
- Kpodékon M. T., Boco K. C., Mainil J. G., Farougou S., Sèssou P., Yèhouénou B., Gbénou J., Duprez J-N., Bardiau M., 2014. Composition chimique et test d'efficacité in vitro des huiles essentielles extraites de feuilles fraîches du Basilic commun (*Ocimum basilicum* L. et du basilic tropical (*Ocimum gratissimum* L.) sur *Salmonella enterica* sérotype Oakland et *Saimonella enterica* sérotype Legon. 25 pages.
- Kobenan K. C., Ochou C., N. Bini K. K., Dagnogo M., Dick A. E., Ochou O. G., 2018. Comparaison du potentiel insecticide des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum* L. et de *Ocimum canum* Sims sur *Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera : Gelechiidae), insecte ravageur du cotonnier en Côte d'Ivoire. DOI : 10.19044/esj.2018.v14n21p286.
- [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n21p286](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n21p286). European Scientific Journal July 2018 Edition Vol.14, No.21 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857-7431
- Kouassi E. K., Ouattara S., Seguin C., Fournel S., Frisch B., 2018. Etude De Quelques propriétés biologiques de *Ocimum gratissimum* L., Une Lamiaceae récoltée à Daloa (Côte d'Ivoire). European Scientific Journal January 2018 edition Vol.14, No.3 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431. DOI : 10.19044/esj.2018.v14n3p477
- [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n3p477](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n3p477)
- Kpètèhoto W.H., Hessou S., Dougnon V. T., Johnson R. C., Boni G., Houéto E. E., Assogba F., Pognon E., Boko F. L. M., Gbénou J. 2017. Étude ethnobotanique, phytochimique et écotoxicologique de *Ocimum gratissimum* Linn (Lamiaceae) à Cotonou. Journal of Applied Biosciences 109: 10609-10617. ISSN 1997-5902 9p.
- Laryssa Xavier Araújo, Tatiane Pinheiro Lopes Novato, Viviane Zeringota, Renata Silva Matos, Tatiane Oliveira Souza Senra, Ralph Maturano, Márcia Cristina Azevedo Prata, Erik Daemon, Caio Márcio Oliveira Monteiro, 2015. Acaricidal activity of thymol against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) under semi-natural conditions. Parasitol. Res (2015) 114:3271–3276 DOI 10.1007/s00436-015-4547-3. Received: 8 May 2015 /Accepted: 18 May 2015 /Published online: 4 June 2015 # Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 6p.
- Lovis L., Reggi, J., Berggoetz M., Betschar B. T., Sager H., 2013. Determination of Acaricide Resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) Field Populations of Argentina, South Africa, and Australia with the Larval Tarsal Test. Journal of Medical Entomology 50(2):326-335.
- Madder M., Adehan S., De Deken R., Adehan R., Lokossou R., 2012. New foci of *Rhipicephalus microplus* in West Africa 30. Exp. Appl. Acarol. 56:385-390.
- Usip L. P. et al., 2006. Longitudinal evaluation of repellent activity of *Ocimum gratissimum* (Labiatae) volatile oil against *Simulium damnosum*. Mem Inst Oswaldo Cruz 101(2):201–205
- Martinez-Velazquez M., Castillo-Herrera G. A., Rosario-Cruz R., FloresFernandez J. M., Lopez-Ramirez J., Hernandez-Gutierrez R., del Carmen Lugo-Cervantes E., 2011a. Acaricidal effect

- and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Piment adioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acarie: Ixodidae). *Parasitology Research*, 108, 481-487.
- Matos R. S., Melo D. R., de Oliveira Monteiro C. M., Zeringóta V., Senra T. O. S., Calmon F., Maturano R., Prata M. C. A., Daemon E. 2014. Determination of the susceptibility of unengorged larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) to different methods of dissolving thymol. *Parasitol Res* 113(2):669– 673
- Rosado-Aguilar J. A., Aguilar Caballero A. J., Rodríguez-Vivas R. I., Borge- Argáez R., García-Mendez Z., Méndez-González M. 2010. Screening of the acaricidal efficacy of phytochemical extracts on the cattle tick *Rhipicephalus (boophilus) microplus* (Acari: ixodi- dae) by larval immersion test. *Trop Subtrop Agroecosyst* 12(2):417– 422
- Santos F. D., Vogel F. S. F., Monteiro S. G. 2012. Essential basil oil effect (*Ocimum basilicum* L.) on cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro experiments. *Semina: Ciências Agrárias (Londrina)* 33(3):1133–1140
- Scoralik M. G., Daemon E., de Oliveira Monteiro C. M., Maturano R. 2012. Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in eth- anol. *Parasitol Res* 110(2):645–648
- Tia, E. V., Lozano, P., Lozano, Y. F., Martin, T., Niamké, S. et Adima, A. A. 2013. Potentialité des huiles essentielles dans la lutte biologique contre la mouche blanche *Bemisia tabaci* Genn. *Phytothérapie*, 11 (1), 31-38. URL : <https://doi.org/10.1007/s10298- 012- 0736-8>.